



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

.....

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de
la Recherche Scientifique

THESE DE DOCTORAT

Mention : Biologie-Santé

Spécialité : Biochimie - Pharmacologie

**Contribution au processus d'homologation d'un
médicament traditionnel « DAOUTRA EPIGASTRO »
utilisé dans le traitement des gastrites en Côte d'Ivoire
: Innocuité, efficacité et caractérisation phytochimique**

CANDIDAT

Nom : CHOHO

Prénoms : Meney Frédéric

Soutenue publiquement le

Le 30 Novembre 2024

JURY

Président : M. KONE Tidiani, Professeur Titulaire,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. KPOROU Kouassi Elisée, Maître de Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : M. KOFFI Allali Eugène, Maître de Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

Examineur : M. N'DIA Kouadio Frédéric, Maître de Conférences,
Université Nangui ABROGOUA

Examineur : Mme. EKISSI Alice Christine Epse KOUAME, Maître de
Conférences,
Université Jean LOROUGNON GUEDE

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	viii
AVANT- PROPOS	ix
REMERCIEMENTS	x
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	xiii
LISTE DES TABLEAUX	xv
LISTE DES FIGURES	xvi
LISTE DES ANNEXES	xiii
INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : GENERALITES	6
1.1. MEDECINE ET MEDICAMENTS TRADITIONNELS	7
1.1.1. Définitions de quelques concepts	7
1.1.2. Classification des médicaments traditionnels	7
1.1.3. Pratique de la médecine traditionnelle	8
1.1.3.1. Praticiens de médecine traditionnelle	8
1.1.3.2. Modes d’acquisition des savoirs traditionnels	9
1.1.3.3. Pratique de la médecine traditionnelle en Côte d’Ivoire.....	9
1.1.3.3.1. Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle	9
1.1.3.3.2. Organisation Nationale des Associations des Praticiens de la Médecine Traditionnelle des Districts Sanitaires (O.N.A.P.M.T.D.S.)	10
1.1.4. Contrôle des remèdes à base de plantes.....	10
1.1.4.1. Caractérisation botanique.....	10
1.1.4.2. Contrôle de l’innocuité	11
1.1.4.2.1. Définition de la toxicité.....	11
1.1.4.2.2. Types de toxicité.....	11
1.1.4.3. Contrôle qualité microbiologique	12
1.1.4.3.1. Evaluation de la qualité microbiologique	12
1.1.4.3.2. Critères d’acceptabilité des germes totaux et des germes spécifiques	12
1.1.4.4. Recherche des éléments traces métalliques.....	13
1.1.4.5. Recherche de résidus de pesticides	14
1.1.4.6. Recherche de radioactivité	16
1.1.4.7. Contrôle chimique	16
1.1.4.7.1. Analyse chimique qualitative	16

1.1.4.7.2. Dosage de groupes chimiques d'intérêt ou substances actives	17
1.1.4.8. Recherche de contamination par les solvants	17
1.1.4.9. Contrôle de stabilité	18
1.2. PROCESSUS D'HOMOLOGATION D'UN MEDICAMENT A BASE DE PLANTES	19
1.2.1. Principes de base	19
1.2.2. Procédure d'homologation	19
1.2.3. Dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché des MTA	20
1.2.3.1. Composition du dossier d'AMM des MTA de catégorie 2	20
1.2.3.2. Composition du dossier d'AMM des MTA de catégorie 3	20
1.2.3.3. Composition du dossier d'AMM des MTA de catégorie 4	21
1.2.3.4. Procédure d'évaluation d'un dossier de demande d'octroi d'une Autorisation de Mise sur le Marché des MTA	21
1.3. METABOLITES SECONDAIRES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES	22
1.3.1. Alcaloïdes.....	22
1.3.2. Composés Phénoliques.....	23
1.3.2.1. Phénols simples et acides phénoliques.....	23
1.3.2.2. Polyphénols	23
1.3.3. Terpènes et stérols	24
1.3.4. Autres familles de métabolites secondaires	24
1.3.4.1. Saponosides.....	24
1.3.4.2. Mucilages.....	24
1.4. PLANTES ENTRANT DANS LA COMPOSITION DU REMEDE	25
1.4.1. <i>Cassia sieberiana</i> DC. (Caesalpiniaceae)	25
1.4.1.1. Description botanique	25
1.4.1.2. Classification phylogénétique	25
1.4.1.3. Utilisations ethno-médicales	26
1.4.1.4. Activités biologiques et pharmacologiques	26
1.4.1.5. Constituants chimiques	27
1.4.1.6. Toxicité	27
1.4.2. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (Zingiberaceae).....	27
1.4.2.1. Description botanique	27
1.4.2.2. Classification phylogénétique	28

1.4.2.3. Utilisations ethno-médicales	28
1.4.2.4. Activités biologiques et pharmacologiques	28
1.4.2.5. Constituants chimiques	28
1.4.2.6. Toxicité	29
1.4.3. <i>Capsicum frutescens</i> L. (Solanaceae)	29
1.4.3.1. Description botanique	29
1.4.3.2. Classification phylogénétique	30
1.4.3.3. Utilisations ethno-médicales	30
1.4.3.4. Activités biologiques et pharmacologiques	30
1.4.3.5. Constituants chimiques.....	30
1.4.3.6. Toxicité	30
1.4.4. <i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich. (Annonaceae).....	31
1.4.4.1. Description botanique	31
1.4.4.2. Classification phylogénétique	31
1.4.4.3. Utilisations ethno-médicales	32
1.4.4.4. Activités biologiques et pharmacologiques	32
1.4.4.5. Constituants chimiques	32
1.4.4.6. Toxicité	32
1.4.5. <i>Nauclea latifolia</i> Smith (Rubiaceae)	33
1.4.5.1. Description botanique	33
1.4.5.2. Classification phylogénétique	33
1.4.5.3. Utilisations ethno-médicales	33
1.4.5.4. Activités biologiques et pharmacologiques	34
1.4.5.5. Constituants chimiques	34
1.4.5.6. Toxicité	35
1.5. GASTRITES ET LEUR TRAITEMENT.....	35
1.5.1. Définition et étiologie	35
1.5.2. Classifications des gastrites chroniques.....	35
1.5.3. Symptômes d'une gastrite chronique.....	35
1.5.4. Complications de la gastrite chronique.....	36
1.5.4.1. Hémorragies digestives.....	36
1.5.4.2. Ulcère gastroduodéal	36
1.5.4.3. Perforations aiguës.....	37

1.5.4.4. Sténoses pyloro-bulbaires.....	37
1.5.4.5. Cancérisation.....	38
1.5.5. Traitement des gastrites chroniques	38
1.5.5.1. Traitement en médecine moderne.	38
1.5.5.2. Contribution de la phytothérapie	38
1.6. DOULEUR	40
1.6.1. Définition	40
1.6.2. Voies de transmission	40
1.6.3. Classifications	40
1.6.4. Traitement	40
1.7. CICATRISATION	41
1.7.1. Définition.....	41
1.7.2. Physiologie de la cicatrisation.....	41
1.7.2.1. La phase vasculaire	41
1.7.2.2. Phase inflammatoire	42
1.7.2.3. Phase de réparation tissulaire.....	42
1.7.2.4. Phase de la maturation.....	43
1.8. STRESS OXYDATIF	44
1.8.1 Définition et origine	44
1.8.2. Physiologie des radicaux libres.....	45
1.8.3. Conséquences	45
1.8.4. Cibles biologiques	46
1.8.5. Pathologies occasionnées.....	46
1.8.6. Antioxydants.....	47
PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES	48
2.1. MATERIEL	49
2.1.1. Cadre d'étude	49
2.1.2. Matériel végétal.....	49
2.1.3. Matériel animal.....	50
2.1.4. Matériel chimique.....	51
2.1.5. Matériel technique	51
2.2. METHODES	53
2.2.1. Préparation du résidu sec du remède	53

2.2.1.1. Obtention du résidu sec du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »	53
2.2.1.2. Détermination de la concentration en matière sèche du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » dans un verre de thé.	53
2.2.1.3. Détermination de la Dose Journalière Maximale (DJM) fixée par le thérapeute ...	53
2.2.2. Enquête ethnopharmacologique.....	54
2.2.3. Tests d'évaluation de l'innocuité	54
2.2.3.1. Test de toxicité aiguë	54
2.2.3.1.1. Conditionnement des animaux	54
2.2.3.1.2. Préparation et administration des doses aux animaux	54
2.2.3.2. Test de toxicité subaiguë.....	55
2.2.3.2.1. Préparation et administration des doses aux animaux	55
2.2.3.2.2. Prélèvement du sang et des organes	55
2.2.3.2.3. Détermination des paramètres biochimiques et hématologiques	56
2.2.3.2.4. Analyse des coupes histologiques	56
2.2.4. Evaluation de la qualité du remède.....	56
2.2.4.1. Contrôle qualité microbiologique du remède	56
2.2.4.1.1. Dénombrement des germes d'intérêt.....	56
2.2.4.1.2. Expression des résultats	58
2.2.4.2. Recherche des éléments traces métalliques	58
2.2.4.2.1. Minéralisation et dosage des éléments traces métalliques	58
2.2.4.2.2. Calcul des concentrations maximales permises (CMP).	59
2.2.4.2.3. Evaluation du niveau de risque.	59
2.2.4.3. Recherche des résidus de pesticides	60
2.2.4.3.1. Extraction et purification des résidus de pesticides	60
2.2.4.3.2. Séparation et dosage	60
2.2.5. Evaluation de l'efficacité du remède	60
2.2.5.1. Evaluation de l'activité antiulcéreuse du remède	60
2.2.5.1.1. Etude de l'activité gastroprotectrice du remède	60
2.2.5.1.1.1. Préparation des animaux et administration des solutions	60
2.2.5.1.1.2. Prélèvement des estomacs et cotation des ulcérations.....	61
2.2.5.1.2. Etude de l'activité curative des ulcérations gastriques par le remède.....	61
2.2.5.1.2.1. Induction de l'ulcère et traitement des animaux.....	61
2.2.5.1.2.2. Prélèvement des estomacs et évaluation des lésions gastriques	62

2.2.5.2. Evaluation de l'activité cicatrisante	62
2.2.5.3. Etude de l'activité analgésique	63
2.2.5.3.1. Activité analgésique périphérique : Writhing-test	63
2.2.5.3.2. Activité analgésique centrale : Tail-flick test	64
2.2.5.4. Evaluation de l'activité antioxydante	64
2.2.5.4.1. Test de DPPH	64
2.2.5.4.2. Test de l'ABTS	65
2.2.6. Caractérisation phytochimique	66
2.2.6.1. Etude qualitative des métabolites secondaires.....	66
2.2.6.2. Etude quantitative	67
2.2.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux	67
2.2.6.2.2. Dosage des flavonoïdes	67
2.2.6.2.3. Dosage des tanins condensés.....	67
2.2.7. Reformulation du remède en gélules.....	68
2.2.7.1. Formulation des gélules.....	68
2.2.7.2. Examen macroscopique.....	68
2.2.7.3. Test d'uniformité de masse.....	68
2.2.8. Analyse statistique.....	68
2.2.9. Considération éthique.....	69
PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	70
3.1. RESULTATS.....	71
3.1.1. Données ethno-pharmacologiques.....	71
3.1.1.1. Pratique quotidienne du praticien dans son cabinet.....	71
3.1.1.2. Profil socio-anthropologique	71
3.1.1.3. Aspect ethnobotanique et préparation du remède.....	71
3.1.1.4. Mode d'emploi du remède.....	72
3.1.1.5. Données sur le suivi des patients	73
3.1.1.5.1. Profils sociodémographiques des patients	73
3.1.1.5.2. Effets gênants et avis de satisfaction dans l'utilisation du remède.....	73
3.1.1.5.2.1. Effets gênants dans l'utilisation du remède.....	73
3.1.1.5.2.2. Avis de satisfaction dans l'utilisation du remède.....	74
3.1.2. Innocuité du remède.....	75
3.1.2.1. Toxicité aiguë.....	75

3.1.2.2. Test de toxicité subaiguë.....	76
3.1.2.2.1. Evaluation des paramètres comportementaux et de la croissance pondérale....	76
3.1.2.2.2. Effets du remède sur le poids relatif des organes des rats.....	77
3.1.2.2.3. Evaluation des paramètres biochimiques et hématologiques.....	77
3.1.2.2.4. Evaluation des paramètres lipidiques et ioniques.....	80
3.1.2.2.5. Analyses histologiques.....	82
3.1.3. Evaluation de la qualité du remède.....	86
3.1.3.1. Qualité microbiologique.....	86
3.1.3.2. Teneurs en éléments traces métalliques.....	88
3.1.3.3. Teneurs en résidus de pesticides.....	90
3.1.4. Efficacité du remède.....	90
3.1.4.1. Activité antiulcéreuse du remède.....	90
3.1.4.1.1. Activité gastroprotectrice du remède.....	90
3.1.4.1.2. Activité curative du remède sur les ulcérations gastriques	92
3.1.4.2. Activité cicatrisante du remède.....	95
3.1.4.3. Activité analgésique.....	97
3.1.4.3.1. Activité analgésique périphérique	97
3.1.4.3.2. Activité analgésique centrale	98
3.1.4.4. Activité antioxydante.....	99
3.1.4.4.1. Test de DPPH.....	99
3.1.4.4.2. Test de l'ABTS.....	100
3.1.5. Caractérisation phytochimique.....	101
3.1.5.1. Composés phytochimiques	101
3.1.5.2. Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés.....	102
3.1.6. Caractéristiques macroscopiques et uniformité de masse des gélules.....	102
3.2. DISCUSSION	105
CONCLUSION	118
REFERENCES	121
ANNEXES.....	147

DEDICACE

Je dédie ce travail :

à DIEU pour m'avoir accordé la vie, la santé et l'intelligence afin de conduire à terme ces travaux de thèse.

à mes parents **BEDA Choho Albert** et **DJOA Amon Agnès** *in memorium* : vous qui avez quitté ce monde quand j'étais encore adolescent. Sachez que, vous m'avez insufflé le courage qui me stimule à toujours bien faire une tâche qui m'est confiée. Je prie DIEU afin que mes actions quotidiennes soient pour vous, chers père et mère, une miséricorde là où vous vous trouvez auprès de lui. Reposez en paix.

à Madame **CHOHO Clémentine** *in memorium* , pour m'avoir pris en charge dès le bas âge et contribué à mon éducation après le décès de mes parents. L'aboutissement de cette thèse est le fruit de tes nombreux sacrifices et prières à mon endroit. Paix à toi là où tu te trouves.

à mon épouse **AGBA Mélanie** pour le soutien sur tous les plans que j'ai reçu de toi et qui a été la source de ma motivation dans mes travaux de recherche. Tu m'as accompagné dans cette aventure ; j'ai vu en toi l'amour qu'une femme peut avoir pour son époux.

à mes enfants **CHOHO Béda yohoan**, **CHOHO M'boya Gemima Alexia Prunelle** et **CHOHO Koffi Uruel Nolan** ; votre père vous adore et prie pour vous afin que ce travail vous stimule à faire preuve de courage dans la vie. Vous pouvez mieux faire que papa.

à mon frère aîné, **CHOHO Lucien** ; toi qui a pris en charge mes études secondaires et a tout le temps voulu que j'arrive un jour à ce niveau ; qu'honneur te soit rendu à travers le dénouement de ces longues années d'attente.

à mes frères et sœurs qui m'aviez apporté assistance sur les plans matériel et moral pendant les moments difficiles que j'ai pu traverser tout au long de ces années de travail. Je vous souhaite beaucoup de joies et succès dans vos différentes familles.

à toute la famille « **M'bodjé** » pour vos différentes prières et votre sollicitude à mon endroit.

AVANT-PROPOS

Les maladies gastro-intestinales, en particulier les gastrites, représentent un enjeu de santé publique croissant en Côte d'Ivoire. Face à la demande accrue de solutions thérapeutiques efficaces et sûres, la médecine traditionnelle offre une alternative prometteuse, fondée sur l'utilisation empirique de plantes aux vertus reconnues. Dans ce contexte, le remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO », employé pour le traitement des gastrites en milieu traditionnel, suscite un intérêt grandissant aussi bien au sein des communautés locales que du monde scientifique.

Ce travail de recherche s'inscrit dans une démarche visant à apporter des données scientifiques rigoureuses pour étayer l'efficacité et l'innocuité de ce remède traditionnel en vue de son homologation. La thèse présente ainsi une évaluation approfondie du médicament, incluant des essais *in vitro* et *in vivo*, ainsi qu'une caractérisation phytochimique de ses composés actifs. Toutefois, certaines contraintes techniques n'ont pas permis d'étendre les tests sur *Helicobacter pylori*, bactérie reconnue comme un agent pathogène majeur des gastrites. Malgré ces difficultés, les résultats obtenus fournissent des perspectives encourageantes, prometteuses et confirment la pertinence de poursuivre ces investigations.

REMERCIEMENTS

Ce document est le résultat de quatre (04) années de travail acharné, qui n'aurait pas pu être à son terme sans l'assistance de certaines personnes à qui nous tenons à exprimer nos sincères remerciements. Il s'agit de :

- madame **KROU Adohi Adjo Viviane**, Professeur Titulaire de Physiques, Présidente de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG) de Daloa, qui m'a accueilli au sein de cette institution en m'accordant l'autorisation d'inscription en année de thèse ;
- monsieur **SORO Dognimeton**, Professeur Titulaire de Pédologie, Vice-Président en charge de la pédagogie, de la recherche, de la vie Universitaire et de l'innovation technologique à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE pour sa disponibilité et sa promptitude à répondre aux préoccupations des étudiants au plan académique.
- monsieur **KONE Issiaka**, Professeur Titulaire de Sociologie, Vice-Président en charge des relations extérieures et de la planification à l'université Jean LOROUGNON GUEDE pour son implication au bien-être des étudiants,
- madame **TONESSIA Dolou Charlotte**, Maître de Conférences en phytopathologie, Directrice de l'UFR Agroforestérie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG), pour avoir autorisé mon inscription en thèse au sein de son UFR,
- monsieur **BEUGRE Avit Grah Maxwell**, Professeur Titulaire de Nutrition, Directeur du Laboratoire d'Agrovalorisation de l'UFR Agroforestérie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG), pour avoir accepté de m'accueillir au sein du laboratoire dans le cadre de mes études doctorales,
- monsieur **DIOMANDE Massé**, Professeur Titulaire de Microbiologie, Directeur du Département Biochimie Microbiologie de l'UFR Agroforestérie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG) pour ses conseils dont nous avons bénéficié durant toutes ces années de thèse,
- monsieur **KPOROU Kouassi Elisée**, Maître de Conférences en Pharmacologie-Biochimie, Coordonnateur du Groupe d'excellence de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT), Directeur Scientifique de cette thèse pour avoir accepté d'encadrer ce projet de thèse. Je suis très sensible à l'honneur qu'il m'a fait en dirigeant ce travail, toujours prêt à me conseiller, à me partager ses connaissances et sa riche expérience. Puisse ce travail qu'il a suivi de bout en bout être le meilleur gage de ma respectueuse considération,

- monsieur **KONE Tidiani**, Professeur Titulaire d'Hydrobiologie et Enseignant-Chercheur à l'UFR Agroforesterie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE. Par ailleurs, Directeur Général de la Recherche et de l'Innovation pour avoir accepté de présider cette thèse et de juger ce travail malgré vos diverses responsabilités. Veuillez trouver l'expression de mon profond respect et de ma sincère gratitude. Sachez que je me réjouis de voir ma thèse être évaluée par vous. J'espère que ce travail répondra à vos attentes,
- monsieur **KOFFI Allali Eugène**, Maître de Conférences en Biochimie-Microbiologie, Enseignant-Chercheur à l'UFR Agroforesterie à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE pour avoir accepté d'être évaluateur puis rapporteur dans ce jury. Merci pour vos remarques et suggestions pertinentes et très constructives ayant contribué à l'amélioration du manuscrit. Vos compétences professionnelles et qualités humaines sont pour moi un exemple. Veuillez accepter l'expression de mon infinie gratitude,
- monsieur **N'DIA Kouadio Frédéric**, Maître de Conférences en Physiologie-Animale, Enseignant-Chercheur à l'Université Nangui ABROGOUA, Abidjan. Merci d'avoir accepté d'apporter votre contribution à l'amélioration de cette thèse en tant qu'examinateur. Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance et notre gratitude,
- madame **EKISSI Alice Christine Epse KOUAME**, Maître de Conférences, en Biochimie-Sciences des aliments, Enseignant-Chercheur à l'UFR Agroforesterie, Université Jean LOROUGNON GUEDE. Merci d'avoir accepté d'apporter votre contribution à l'amélioration de cette thèse en tant qu'examinateur,
- l'ensemble des Enseignants-Chercheurs du (GeRProPhaT), pour les conseils et les relations cordiales que j'ai pu tisser avec vous pendant ces années de recherches au sein de ce groupe très formidable,
- monsieur **GBOGBO Moussa**, Maître de Conférences en Toxicologie-Biochimie, Enseignant-Chercheur au Laboratoire d'Agrovalorisation à l'Université Jean LOROUGNON GUEDE, pour l'assistance dans la réalisation et l'analyse des coupes histologiques. Votre aide m'a été précieuse pour interpréter les coupes histologiques,
- monsieur **TRAORE Aboubakar**, Président de l'ONG de santé « Le Daoutra » et producteur des remèdes à base de plantes dont « DAOUTRA EPIGASTRO » pour avoir accepté de collaborer avec le groupe GeRProPhaT dans le cadre de l'homologation de ce remède,

- monsieur, **GUE Roland**, Technicien au Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole (LANADA) pour l'assistance dans le dosage de métaux lourds et des résidus de pesticides,
- monsieur **OBLE Oblé Jean** technicien au Laboratoire de valorisation des substances naturelles à l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INPHB) pour l'assistance dans le dosage des composés phytochimiques,
- monsieur **KOUADIO Jonn**, animalier à l'Université Félix Houphouët Boigny pour la livraison des rats et souris et l'apprentissage aux techniques d'élevage en expérimentation animale,
- aux doctorantes **ABOLI Tano-Bla Félicité**, **N'DRI Quesnelle Epiphanie** et **TANOH Aya Honorine** pour leurs soutiens, conseils et les relations fraternelles que nous avons développées depuis le jour de notre intégration au GeRProPhaT,
- enfin, à mes amis et toutes les personnes qui de près ou de loin nous ont apporté une assistance dans la réalisation de ce travail et qui n'ont pas été nommément citées. Ce travail est également le fruit de l'environnement paisible que vous avez créé autour de moi.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ABTS :	Acide 2,2'-azino-bis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc :	Adénosine Monophosphate Cyclique
AOAC :	Association of Official Agricultural Chemists
ARN :	Acide Ribonucléique
As :	Arsenic
BPF :	Bonnes Pratiques de Fabrications
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
Cd :	Cadmium
CEDEAO :	Communauté économique des Etats de l'Afrique de l'Ouest
CF :	Coliformes fécaux
CI ₅₀ :	Concentration Inhibitrice à 50 %
CMP :	Concentration Maximale Permise
CNF :	Centre Nationale de Floristique
COX :	Cyclo-Oxygénase
CT :	Coliformes totaux
CTD :	Common Technical Document
DJM :	Dose Journalière Maximale
DL ₅₀ :	Dose Létale 50
DPPH :	2,2-diphényl-1-1-picryl-hydrazyl
EGF :	Epidermal Growth Factor
EGF :	Epidermal Growth Factor
EJA :	Exposition Journalière Admissible
EROs :	Espèces Réactives de l'Oxygène
ETM :	Eléments Traces Métalliques
FGF :	Facteur de Croissance Fibroblastique
FMAT :	Flore Mésophile Aérobie Totale
H ₂ O ₂ :	Peroxyde d'hydrogène
HAS :	Haute Autorité de Santé
HDPE	Polyéthylène de haute densité

HCl :	Acide chlorhydrique
Hg :	Mercure
HPLC :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
ICH :	International Council for Harmonisation
Igf-1 :	Facteur de Croissance Insulinique
LM :	Levures et moisissures
MSHP	Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique
MT :	Médicament Traditionnel
MTA :	Médicament Traditionnel Amélioré
NO :	monoxyde d'azote
NPSH :	Composants Sulfhydriles Non Protéiques
O.N.A.P.M.T.D.S :	Organisation Nationale des Associations des Praticiens de la Médecine Traditionnelle des Districts Sanitaires
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ONG :	Organisation Non Gouvernementale
OOAS :	Organisation Ouest Africaine de la Santé
Pb :	Plomb
pc :	Poids corporel
PDGF :	Facteur de Croissance Dérivé des Plaquettes
PG :	Prostaglandine
PGHT :	Prix Grossiste Hors Taxe
PNPMT :	Programme National de Promotion de Médecine Traditionnelle
ROL :	Radicaux Libres Oxygénés
SNC :	Système Nerveux Central
SNE :	Système Neuroendocrinien
SNP :	Système Nerveux Périphérique
SOD :	Superoxydes Dismutases
TGF :	Transforming Growth Factors
Tnfa :	Facteur de Nécrose Tumorale alpha
TOGD :	Transit Œsogastroduodéal
UEMOA :	Union Economique et Monétaire Ouest Africaine
UFC :	Unités formant colonies

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I : Classification des doses létales orales.....	11
Tableau II : Critères d'acceptabilité des paramètres microbiens dans les médicaments traditionnels	13
Tableau III : Valeurs des EJA orales, parentérales et inhalées selon la directive ICHQ3D.....	14
Tableau IV : Valeurs limites de tolérance (en mg/kg) de quelques pesticides.....	15
Tableau V : Quelques plantes utilisées dans le traitement de l'ulcère gastro-duodénal.	39
Tableau VI : Nom et numero d'herbier des espèces végétales entrant dans la composition du remède	50
Tableau VII : Tests de caractérisations phytochimiques	66
Tableau VIII : Informations sur les plantes entrant dans la composition du remède.....	72
Tableau IX : Effets gênants signalés pendant et après l'utilisation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »	74
Tableau X : Poids relatifs des organes cibles	77
Tableau XI : Valeurs des paramètres hématologiques	79
Tableau XII : Charges microbiologiques des germes d'altération et pathogènes.....	87
Tableau XIII : Conformité du remède en teneur d'éléments traces métalliques selon la directive ICHQ3D.....	89
Tableau XIV : Niveau de contamination du remède en résidus de pesticides.....	90
Tableau XV : Valeurs des indices d'ulcération et pourcentage de protection.....	91
Tableau XVI : Valeurs des indices d'ulcération et pourcentage de cicatrisation.....	94
Tableau XVII : Effet du remède sur les contorsions abdominales induites par l'acide acétique	97
Tableau XVIII : Screening phytochimique de l'extrait aqueux du remède	101
Tableau XIX : Test d'uniformité de masse : Masses des gélules	103

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1 : <i>Cassia sieberiana</i> DC	25
Figure 2 : <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	27
Figure 3 : Fruits et feuilles de <i>Capsicum frutescens</i> L.....	29
Figure 4 : Fruits de <i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich.....	31
Figure 5 : Fruits et feuilles de <i>Nauclea latifolia</i> Smith	33
Figure 6 : Représentation de l'ulcère gastroduodéal	36
Figure 7 : Représentation schématique d'un ulcère perforé et d'un ulcère perforé-bouché	37
Figure 8 : Représentation schématique de la dilatation par ballonnet d'une sténose	37
Figure 9 : Schéma des 4 étapes de la cicatrisation cutanée.....	41
Figure 10 : Balance du stress oxydatif	44
Figure 11 : Conséquences du stress oxydatif	45
Figure 12 : Remède «DAOUTRA EPIGATSRO» en flacon de 500 mL	50
Figure 13 : Répartition selon l'âge des patients	73
Figure 14 : Évolution du poids corporel des rats au cours du test de toxicité aiguë.....	75
Figure 15 : Evolution du poids corporel de rats au cours du test de toxicité subaiguë	76
Figure 16 : Evolution des paramètres biochimiques	78
Figure 17 : Effets de l'administration du remède sur les paramètres lipidiques des rats	80
Figure 18 : Effets de l'administration du remède sur les paramètres ioniques sanguin des rats	81
Figure 19 : Coupes histologiques du cœur de rats exposés au traitement pendant 28 jours	83
Figure 20 : Coupes histologiques du foie de rats exposés au traitement pendant 28 jours	84
Figure 21 : Coupes histologiques de reins de rats exposés au traitement pendant 28 jours	85
Figure 22 : Valeurs des éléments traces métalliques contenus dans le remède	88

Figure 23 :	Aspect de l'intérieur des estomacs isolés des rats traités au cours de l'activité gastroprotectrice	91
Figure 24 :	Aspect de l'intérieur des estomacs des rats traités au 7 ^e jour	93
Figure 25 :	Aspect de l'intérieur des estomacs des rats traités au 14 ^e jours	93
Figure 26 :	Photographies des plaies à différents jours de traitement	95
Figure 27 :	Pourcentages de contraction des plaies au cours du traitement	96
Figure 28 :	Effet du remède sur les réponses nociceptives dans le test d'immersion de la queue.	98
Figure 29 :	Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait et la vitamine C	99
Figure 30 :	Représentation en diagramme des CI ₅₀ de la vitamine C et du remède	99
Figure 31 :	Evolution des pourcentages d'inhibition de l'ABTS par l'extrait et l'acide gallique	100
Figure 32 :	Représentation en diagramme des CI ₅₀ de l'acide gallique et du remède	100
Figure 33 :	Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés	102
Figure 34 :	Gélules de 480 mg de résidu sec du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »	104
Figure 35 :	Pilulier contenant des gélules de « DAOUTRA EPIGASTRO ».	104

LISTE DES ANNEXES

	Pages
Annexe 1 : Quelques matériels techniques utilisés au cours des différentes manipulations	xix
Annexe 2 : Fiche d'entretien avec le praticien	xxi
Annexe 3 : Fiche de suivi des patients	xxiii
Annexe 4 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés	xxv
Annexe 5 : Liste des 31 molécules de pesticides recherchées dans le remède.....	xxvi

INTRODUCTION

Les troubles gastriques ou les gastrites sont l'un des problèmes les plus courants qui surviennent après l'âge de 40 ans (Doffou *et al.*, 2020). Ils se manifestent par des ballonnements de l'estomac, des brûlures d'estomac, des crampes, une digestion difficile, une acidité gastrique ou œsophagienne et des ulcérations. Ils sont dus à des inflammations, à des irritations ou à des érosions de la paroi de l'estomac (Sipponen *et al.*, 2002). Il s'agit d'une affection aiguë qui peut se transformer progressivement en une maladie chronique (Lecoindre, 2001).

Il existe de nombreuses raisons à l'origine des problèmes gastriques graves dont un estomac vide pendant une longue période, une consommation excessive d'aliments malsains ou épicés, une prise répétitive d'anti-inflammatoires non stéroïdiens ou une absorption d'alcool. Le stress, la tension et l'anxiété sont également des causes majeures à l'origine de multiples complications liées à l'estomac (Kouyaté, 2021).

Les formes infectieuses des troubles gastriques sont généralement dues à *Helicobacter pylori* (Arora *et al.*, 2015). La prévalence de cette forme dans les gastrites est de 20 % dans les pays développés comme la France et a été estimée à près de 80 % dans les populations des pays en développement. En Côte d'Ivoire, cette pathologie est en pleine recrudescence avec une prévalence de 57,8 % et un pic chez les personnes dont l'âge est compris entre 38-51 ans (Doffou *et al.*, 2020).

Les complications des troubles gastriques débouchent dans 10 % des cas à des ulcères gastroduodénaux chroniques pouvant engendrer des cancers gastriques avec une incidence mondiale de 60000 à 80000 nouveaux cas par an (Whiting *et al.*, 2002 ; Togola *et al.*, 2014). L'ulcère gastroduodénal représente aujourd'hui un problème de santé publique sur le plan mondial avec un impact significatif sur la qualité de vie de millions de personnes (Arora *et al.*, 2015 ; Havens *et al.*, 2018).

En médecine moderne, le traitement des gastrites consiste à calmer la douleur, à accélérer la cicatrisation des ulcérations, à prévenir les récurrences et les complications. Pour réussir ce traitement, une trithérapie à base de molécules de synthèse comprenant des inhibiteurs des récepteurs H2, des inhibiteurs de la pompe à protons et les antibiotiques est appliquée (Adinortey *et al.*, 2013). Malheureusement, la combinaison de toutes ces molécules synthétiques engendre des effets secondaires néfastes tels que la dysfonction érectile, l'arythmie, l'hyperplasie, la gynécomastie et les changements hématopoïétiques au cours du traitement (Adinortey *et al.*, 2013 ; Qaiser *et al.*, 2018). A ces nombreux effets indésirables, s'ajoutent des cas de récurrences chez certains patients avec des risques de complications au cours du traitement (Mylliluoma *et al.*, 2007).

Face à ces contraintes, de nouvelles alternatives thérapeutiques moins contraignantes pour le patient sont explorées en vue de prendre en charge les manifestations ulcéreuses des troubles gastriques. Parmi celles-ci, figure l'utilisation des remèdes à base de plantes issus de la médecine traditionnelle (Koné *et al.*, 2017). En effet, les plantes restent une option à grande potentialité thérapeutique avec près de 28 000 espèces végétales ayant des vertus médicinales dans le monde. Dans le cas du traitement de l'ulcère gastroduodénal, de nombreuses plantes ont été citées pour avoir des propriétés préventives et/ou curatives des atteintes ulcéreuses du duodénum et de l'estomac (Thaise *et al.*, 2016).

En Asie du Sud-Est, précisément en Indonésie, Ari *et al.* (2017) ont montré que l'extrait aqueux du rhizome de *Zingiber cassumunar* (Zingiberaceae) entraîne une cicatrisation de 35,52 % après deux jours de traitement dans un modèle expérimental d'ulcération induit par l'aspirine chez des rats. En outre, une étude conduite en 2007 par Kakub et Gulfraz avec les extraits aqueux et méthanolique de *Bergenia ciliata* (Saxifragaceae) à des concentrations comprises entre 15 mg/kg et 60 mg/kg de poids corporel (pc) ont montré des effets gastroprotecteurs très prometteurs dans un ulcère expérimental induit par l'alcool et l'indométacine chez des rats.

En Amérique latine et plus précisément au Brésil, une étude similaire à celle précédemment décrite et réalisée avec l'extrait éthanolique de feuilles de *Vernonia condensata* aux doses de 30 mg/kg et 300 mg/kg pc a montré une activité gastroprotectrice en inhibant les lésions gastriques. L'effet curatif de cet extrait à 300 mg/kg pc a été confirmé par l'examen histologique des coupes d'estomac (Thaise *et al.*, 2016). En outre, les travaux réalisés sur *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae) ont montré un effet expressif de cicatrisation des lésions ulcéreuses par l'augmentation de la prolifération cellulaire et l'intensification de l'activité des superoxydes dismutases (SOD) (Flávia *et al.*, 2011).

En Europe, notamment en France et en Allemagne, des études conduites sur *Glycyrrhiza glabra* (réglisse), *Althaea officinalis* L. (guimauve) et *Aloe vera* (Aloes) ont montré une très bonne efficacité dans le traitement des troubles gastriques impliquant des ulcérations gastroduodénales (Krausse, 2004). Des investigations complémentaires menées par Baccam en 2019, ont révélé que grâce à sa richesse en mucilage et en flavonoïde, la racine de guimauve permettrait d'exercer une action mucoprotectrice au niveau de l'estomac. Ce dernier a également expliqué que le gel d'aloès offrirait une protection directe de la muqueuse en la tapissant de gel grâce à un système similaire à la sécrétion de mucus.

En Afrique de l'ouest, au Mali, des études portant sur les extraits de *Cola cordifolia* à la dose de 200 mg/kg pc ont démontré une importante cicatrisation des lésions gastriques chez les rats (Austarheim *et al.*, 2012). En 2014, Togola *et al.* ont montré que les feuilles de *Opilia*

celtidifolia administrées à 200 mg/kg pc engendraient une protection de 81,25 % de la muqueuse gastrique. En outre, dans ce même pays, les tests expérimentaux et les essais cliniques réalisés par l'Institut de Médecine Traditionnelle sur les racines de *Vernonia kotschyana* (Asteraceae) et l'écorce de tronc de *Pteleopsis suberosa* (Combrétacées) ont permis l'élaboration de deux médicaments traditionnels améliorés (MTA), à savoir le Gastrosédal et le Calmogastry recommandés dans la prise en charge des ulcères gastroduodénaux (Mariko, 1989 ; Germano *et al.*, 1996). Ces deux phytomédicaments bénéficient d'une autorisation de mise sur le marché et sont commercialisés dans les officines pharmaceutiques et les herboristeries au Mali.

En Côte d'Ivoire, plusieurs plantes font l'objet d'allégations antiulcéreuses dans la prise en charge des manifestations symptomatiques des troubles gastriques. Parmi ces plantes, sont citées *Garcinia kola* (Clusiaceae), *Ageratum conyzoides* (Asteraceae), *Persea americana* (Lauraceae), *Waltheria indica* (Malvaceae), *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae), *Periploca nigrescens* (Apocynaceae) et *Bidens pilosa* (Asteraceae) (Aké Assi, 1984 ; Ouattara, 2006 ; Zongo, 2014). Malheureusement, peu de données scientifiques expérimentales sont disponibles au sujet des espèces récoltées en Côte d'Ivoire en vue de les exploiter comme étant de véritables produits naturels pour le traitement des gastrites.

Contrairement au Mali, aucun MTA n'a encore été enregistré en Côte d'Ivoire sur la liste des phytomédicaments susceptibles d'être recommandés dans le traitement des troubles gastriques. Cependant, plusieurs remèdes à base de plantes auxquels sont attribués des vertus de traitement des troubles gastriques dont les ulcères, pas encore homologués et ne disposant d'aucune autorisation de mise sur le marché (AMM) continuent d'être vendus à travers le territoire ivoirien. Parmi ces remèdes, figure le remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO ».

Ce remède est une solution liquide produit par l'ONG de santé, "Le Daoutra", enregistré au Programme National de Promotion de Médecine Traditionnelle (PNPMT) et disponible à la boutique paysanne sise au Plateau (Abidjan). Selon les utilisateurs dont les témoignages ont été enregistrés au PNPMT, ce remède contribuerait significativement à l'amélioration de l'état de santé des patients souffrant de troubles gastriques. En outre, les gestionnaires de la boutique paysanne ont rapporté que pour la seule année 2021, mille sept cent quatre (1704) pots de « DAOUTRA EPIGASTRO » ont été vendus à la boutique, soit une vente de 3.408.000 FCFA (2000 Franc CFA/pot). Ces ventes témoignent de l'intérêt des patients pour ce remède, et cela a même valu trois (03) distinctions décernées en 2021 par la boutique paysanne au promoteur du remède dont un prix de la meilleure vente des produits locaux, un diplôme d'excellence et

un diplôme d'honneur. Récemment, en Décembre 2023, le promoteur de « DAOUTRA EPIGASTRO » a reçu le Prix Spécial du meilleur promoteur de la médecine traditionnelle à la nuit des étoiles des entreprises d'Abidjan (NEEA/AFRICAN DISTINCTION AWARDS).

Malheureusement, le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » ne dispose pas de données scientifiques d'efficacité et de sécurité pouvant permettre à ce remède d'être homologué et de bénéficier d'une autorisation de commercialisation (AC).

En vue d'apporter une réponse à cette situation, ce travail a été initié avec pour objectif général de contribuer à la constitution du dossier technique d'homologation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » utilisé dans la prise en charge des troubles gastriques.

Les objectifs spécifiques qui en découlent sont :

- conduire une enquête ethnopharmacologique sur le remède ;
- évaluer l'innocuité et l'efficacité du remède ;
- contrôler la qualité microbiologique et chimique du remède ;
- caractériser les métabolites secondaires du remède ;
- et développer une nouvelle formulation du remède.

Ce manuscrit, qui présente les travaux réalisés et les résultats obtenus, est structuré autour de quatre parties : la première partie, traite de la revue bibliographique sur les médicaments traditionnels à base de plantes et leur processus d'homologation, sur les troubles gastriques, sur la douleur, sur la cicatrisation et sur le stress oxydatif. Ensuite, la deuxième partie est consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail. La troisième partie présente les résultats obtenus, suivie d'une discussion.

Enfin, la quatrième partie est une conclusion générale tout en incluant les perspectives de recherche.

PARTIE 1 : GENERALITES

1.1. MEDECINE TRADITIONNELLE ET MEDICAMENTS TRADITIONNELS

1.1.1. Définitions de quelques concepts

La médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de tous les savoirs, compétences et pratiques fondés sur des théories, croyances et expériences culturellement spécifiques, explicables ou non, utilisées pour maintenir la santé, prévenir, diagnostiquer, traiter ou guérir les maladies physiques ou mentales (OMS, 2013).

Un médicament traditionnel est tout médicament développé par un praticien de médecine traditionnelle ou un scientifique sur la base d'informations issues d'une pharmacopée traditionnelle. Il s'agit également de médicaments finis et étiquetés contenant des substances végétales, minérales ou animales ou leurs préparations, et possédant des propriétés thérapeutiques ou prophylactiques.

Les préparations à base de plantes ou médicaments à base de plantes regroupent les substances végétales broyées, les résidus, les huiles issues de matières grasses et les teintures, dont la fabrication implique des procédés de purification, de fractionnement et de concentration. Elles prennent en compte aussi les produits obtenus par macération ou chauffage des parties végétales dans des breuvages à base d'alcool et/ou du miel, ou dans d'autres solutions (OMS, 2013).

1.1.2. Classification des médicaments traditionnels

Selon l'Organisation Ouest Africaine de la Santé (OOAS), les médicaments traditionnels sont classés en quatre (04) catégories en fonction de la méthode de production, des instructions d'utilisation et le degré d'innovation du remède (CEDEAO, 2013). Il s'agit de :

- **médicament de catégorie 1**

C'est un médicament préparé de façon extemporanée suivant la méthode thérapeutique de fabrication, son innocuité et son efficacité sont garanties par plus d'une génération d'utilisation. Les matières premières fraîches ou sèches sont bien connues des tradipraticiens de santé. Ce type de médicament a une courte durée de préservation.

- **médicament de catégorie 2**

C'est un médicament utilisé habituellement par la population locale. C'est un produit élaboré avec beaucoup plus de précautions. Ses matières premières sont bien connues de la population et sont préparées à l'avance. Il est fabriqué selon des procédures standards qui garantissent sa stabilité et sa conformité. Le médicament de catégorie 2 est produit en milieu semi-industriel. L'évidence ethno-médicale d'une longue expérience d'utilisation ou des essais cliniques ouverts, si cela est jugé nécessaire par l'autorité compétente, garantissent son innocuité et son efficacité.

Ses principes actifs sont des matières brutes ou des principaux groupes chimiques des matières premières connues. Sa durée de conservation est fixée par des essais de stabilité.

- **médicament de catégorie 3**

C'est un médicament provenant des études des instituts de recherche. Il obéit aux critères suivants : préalablement préparé, conditionné, industriellement ou semi-industriellement produit avec un numéro de lots et une date limite de conservation fixée par des tests de stabilité ; les substances actives sont des extraits standards. Ils disposent d'une autorisation de mise sur le marché complète (AMM).

- **médicament de catégorie 4**

Il est identique à la catégorie 3 à la différence que les principes actifs qu'il contient sont des molécules purifiées.

1.1.3. Pratique de la médecine traditionnelle

1.1.3.1. Praticiens de la médecine traditionnelle

Ce vocable regroupe les personnes connaissant et utilisant les vertus des substances végétales, animales et minérales et dont l'aptitude à diagnostiquer ou à dispenser des soins traditionnels est de notoriété publique. Selon le règlement N° 06/2010/CM de l'UEMOA (2010), les praticiens de médecine traditionnelle sont distingués en :

- phytothérapeute : personne qui, sur la base d'expériences familiales, par notification ou sur la base d'informations reçues d'un autre praticien utilise les vertus médicinales des plantes pour traiter les maladies ;
- naturothérapeute : personne qui, sur la base des connaissances n'utilise que des substances naturelles comme moyen pour prévenir ou traiter les maladies ;
- accoucheuse traditionnelle : personne reconnue compétente pour fournir des services de santé à une femme et à son nouveau-né pendant et après l'accouchement, en fonction des concepts de la société dans laquelle elle appartient,
- psychothérapeute : personne qui guérit les troubles psychiques et crée un équilibre mental grâce à des herbes médicinales et des dons divins et occultes,
- herboriste : personne qui, à des fins thérapeutiques traite et commercialise les matières premières végétales sur la base des savoirs acquis en pharmacopée et médecine traditionnelle ;
- médico-droguiste : personne qui acquiert et commercialise des substances brutes animales et/ou minérales à des fins médicinales, sur la base de savoirs traditionnels.

1.1.3.2. Modes d'acquisition des savoirs traditionnels

En médecine alternative (traditionnelle), l'appropriation des connaissances s'effectue de diverses manières :

- en famille : certains praticiens de la médecine traditionnelle ont acquis leurs savoirs par transmission des ascendants aux descendants. Cette connaissance est transmise des parents aux enfants ;
- par achat : certaines personnes achètent auprès d'autres praticiens des recettes jugées efficaces dans le traitement d'une affection donnée ;
- par des pouvoirs innés : certains praticiens de la médecine traditionnelle accordent leurs connaissances à la puissance inhérente de Dieu, des esprits, des rêves ou de la révélation ;
- par recherche personnelle : des praticiens ont acquis leurs connaissances après de nombreuses années de recherche sur un ou plusieurs médicaments pour une ou plusieurs maladies. Ils ont réalisé cette étude soit dans des documentations, soit auprès des communautés (Kroa, 2000).

1.1.3.3. Pratique de la médecine traditionnelle en Côte d'Ivoire

1.1.3.3.1. Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle.

En Côte d'Ivoire, le Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT) fut créé par arrêté n°409/CAB/MSHP du 28 décembre 2001. Il est rattaché au ministère en charge de la santé, de l'hygiène publique et de la couverture maladie universelle.

Ce programme a pour but de valoriser la médecine traditionnelle et la pharmacopée avec des activités favorisant la réglementation, la structuration et la restauration de ce secteur. A cet effet, la loi N° 2015-536 du 20 Juillet 2015 portant exercice et organisation de la pharmacopée et de la médecine traditionnelle a été adoptée le 20 Juillet 2015 par l'assemblée générale.

Actuellement, le règlement sur la déontologie et l'éthique des praticiens de la médecine traditionnelle a été signé le 27 janvier 2016 et permet de réglementer les activités des praticiens de médecine traditionnelle. En outre, sous la supervision du PNPMT, une organisation des acteurs de la médecine traditionnelle dite : Organisation Nationale des Associations des Praticiens de la Médecine Traditionnelle des Districts Sanitaires (ONAPMTDS) a été mise en place. Les activités du PNPMT devraient conduire les praticiens de médecine traditionnelle à valoriser leurs remèdes à base de plantes à travers des essais scientifiques devant aboutir à terme à leur homologation

1.1.3.3.2. Organisation Nationale des Associations des Praticiens de la Médecine Traditionnelle des Districts Sanitaires (ONAPMTDS)

L'ONAPMTDS a été créé le 08 juillet 2021 et exerce sous le numéro de récépissé de dépôt de dossier d'association (n°1851/PA/SG/D2) enregistré sous le N° 2080/PA du 04 novembre 2021. De nombreuses Organisations Non Gouvernementales (ONG) et associations de praticiens de la médecine traditionnelle se sont affiliées à l'O.N.A.P.M.T.D.S. qui organise plusieurs activités en collaboration avec le PNPMT. Depuis sa création jusqu'à ce jour, le Président National de cette organisation est Monsieur OUATTARA Mamadou. Dans les régions du Haut-Sassandra et de la Marahoué, Monsieur TRAORE Aboubakar, Producteur du remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » en est le Président.

1.1.4. Contrôle des remèdes à base de plantes

Le contrôle qualité a pour but de vérifier les normes qualitatives et quantitatives préalablement établies sur la matière première, les produits intermédiaires et le produit fini. La standardisation consiste à uniformiser les procédures de qualité à toutes les étapes de fabrication, depuis la drogue de départ en passant par les extraits jusqu'aux produits finis, afin d'aboutir à des produits de qualité reproductible. En général, tous les médicaments, qu'ils soient synthétiques ou d'origine végétale, doivent satisfaire aux exigences fondamentales d'innocuité et d'efficacité (WHO, 2000).

Pour les produits à base de plantes médicinales, la standardisation doit englober l'ensemble des procédés optimisés, de la culture de la plante médicinale à son application clinique. En effet, selon l'OMS (WHO, 2000), la standardisation et le contrôle de la qualité des plantes médicinales sont le processus d'évaluation physico-chimique des médicaments bruts couvrant des aspects tels que la sélection et la manipulation des matières premières, la sécurité, l'efficacité et la stabilité du produit fini. Elle comprend un contrôle botanique (examen des caractères organoleptiques, examen macroscopique et microscopique), un contrôle de l'innocuité (Toxicités aiguë, subaiguë, chronique ou subchronique), un contrôle chimique (substances étrangères, teneur en cendres totales, teneur en humidité résiduelle, rendements extractives, ...) et de contaminants ou d'impuretés (résidus de pesticides, éléments traces métalliques, mycotoxines, contamination microbienne, radioactivité, méthanol et isopropanol) (Lehmann, 2013).

1.1.4.1. Caractérisation botanique

La caractérisation botanique contribue à préciser le nom du genre, de l'espèce et du chercheur qui a procédé à la description de la plante. Il est nécessaire de décrire brièvement la partie de la plante utilisée dans la préparation du médicament (feuille, fleur, racine, etc.) et de

préciser si la plante est utilisée fraîche, séchée ou après transformation traditionnelle. Des échantillons standards représentant chaque lot de production doivent être certifiés (Ouedraogo *et al.*, 2021).

1.1.4.2. Contrôle de l'innocuité

1.1.4.2.1. Définition de la toxicité

La toxicité se caractérise par l'ensemble des effets nocifs, qui peuvent être des dommages morphologiques et fonctionnels chez un être vivant, provoqués par l'ingestion d'une substance en dose unique relativement importante ou en petites doses répétées sur une longue période de temps (Hodgson, 2004). Les tests de toxicité sont un ensemble de tests pharmacologiques visant à déterminer le degré de dangerosité d'une substance afin de réglementer son utilisation (Etame *et al.*, 2017).

1.1.4.2.2. Types de toxicité

Selon la Décision n° 2850/2000/CE du Parlement européen du Conseil du 20 décembre 2000, l'expression de la toxicité auprès d'un organisme est de trois types :

- **Toxicité aiguë** : c'est l'évaluation qualitative et quantitative des manifestations toxicologiques pouvant survenir après une ingestion à dose unique du ou des principes actifs du médicament. L'expression toxicité orale aiguë est couramment utilisée en relation avec l'évaluation de la Dose Létale 50 (DL₅₀). La DL₅₀ se définit comme la dose statistiquement déterminée qui, dans un test de toxicité aiguë, est capable de provoquer la mort de 50 % des animaux traités dans un délai fixé (OCDE, 2001 ; Koua, 2018) ;

Le Tableau I présente les classes des substances toxiques en rapport avec leur Dose Létale 50.

Tableau I : Classification des doses létales orales (OCDE, 2001)

	DL ₅₀ mg/kg de pc	Classes de toxicité
Catégorie 1	[0 – 5[	Danger
Catégorie 2	[5 – 50[	Danger
Catégorie 3	[50 – 300[	Danger
Catégorie 4	[300 – 2000[	Attention
Catégorie 5	[2000 – 5000[	Faiblement toxique
Catégorie 5	>5000	Non classé

- **Toxicité subaiguë** : elle concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes. La

substance à tester est administrée quotidiennement à différents niveaux de doses à plusieurs groupes d'animaux. De manière générale, au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin doivent être utilisés (OCDE, 2008).

- **Toxicité chronique** : elle permet de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée. La substance d'essai est administrée journalièrement à plusieurs animaux de laboratoire en doses croissantes, généralement pendant 1 an. Cela laisse suffisamment de temps pour que les effets toxiques cumulatifs se produisent (OCDE, 2018).

1.1.4.3. Contrôle qualité microbiologique

1.1.4.3.1. Evaluation de la qualité microbiologique

Les contrôles microbiologiques qui doivent être réalisés sont le dénombrement des germes aérobies viables totaux, des moisissures et levures et la recherche de germes spécifiés (bactéries Gram négatif aux sels biliaires, *Escherichia coli* et salmonelles).

Le nombre et le type de microorganismes présents dans les préparations à base de plantes peuvent être utilisés pour apprécier la qualité et la sécurité microbiologique. La sécurité est déterminée par la présence ou l'absence de microorganismes pathogènes, les mesures envisagées de maîtrise ou de destruction de ces agents (Ph Eu, 2020).

1.1.4.3.2. Critères d'acceptabilité des germes totaux et des germes spécifiques

Les critères d'acceptabilité sur la base du dénombrement des germes totaux et des germes spécifiques pour les préparations à base de plantes exclusivement composées d'une ou plusieurs drogues végétales sont donnés par les dispositions spéciales de la Pharmacopée Européenne (2020). Ces critères sont consignés dans le Tableau II.

Tableau II : Critères d'acceptabilité des paramètres microbiens dans les médicaments traditionnels (Ph Eu, 2020)

Analyse de l'impureté microbienne	Limite de tolérance ou norme (UFC/ g ou mL)
Recherche de germes totaux	
Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)	10 ⁵
Coliformes totaux (CT)	10 ⁴
Coliformes fécaux (CF)	10 ⁴
Levures et moisissures (LM)	Absent (1 g)
Recherche de germes spécifiques	
<i>Salmonelles</i>	Absent (25 g)
<i>Escherichia coli</i>	Absent (1 g)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absent (1 g)

1.1.4.4. Recherche des éléments traces métalliques

Les plantes peuvent absorber et accumuler les métaux lourds ou éléments traces métalliques (ETM) présents dans l'environnement. Les éléments traces métalliques les plus incriminés sont le cadmium (Cd), le plomb (Pb), l'arsenic (As) et le mercure (Hg) (Ouedraogo *et al.*, 2021). Ces métaux sont absorbés par les racines mais certains peuvent passer dans les parties aériennes (tiges, feuilles), notamment si leur concentration augmente dans le sol. Par exemple, le plomb reste dans les racines alors que le cadmium passe plus facilement dans les parties aériennes. Les quantités absorbées varient selon les plantes, la concentration des métaux dans le milieu et les caractéristiques du milieu (Ouedraogo *et al.*, 2021). Le Tableau III récapitule les différentes valeurs d'Exposition Journalière Admissible (EJA) ou (PDE : Permitted Daily Exposure) en (µg/jour) de chaque impureté élémentaire (IE) ou élément trace métallique (ICH, 2014).

Tableau III : Valeurs des EJA orales, parentérales et inhalées selon la directive ICHQ3D (ICH, 2014).

Elément traces métalliques	Classe	EJA Orale (µg/jour)	EJA Parentérale (µg/jour)	EJA Inhalée (µg/jour)
Cd	1	5	2	2
Pb	1	5	5	5
As	1	15	15	2
Hg	1	30	3	1
Co	2A	50	5	3
V	2A	100	10	1
Ni	2A	200	20	5
Ti	2B	8	8	8
Au	2B	100	100	1
Pd	2B	100	10	1
Ir	2B	100	10	1
Os	2B	100	10	1
Rh	2B	100	10	1
Ru	2B	100	10	1
Se	2B	150	80	130
Ag	2B	150	10	7
Pt	2B	100	10	1
Li	3	500	250	25
Sb	3	1200	90	20
Ba	3	1400	700	300
Mo	3	3000	1500	10
Cu	3	3000	300	30
Sn	3	6000	600	60
Cr	3	11000	1100	3

1.1.4.5. Recherche de résidus de pesticides

Les plantes médicinales cultivées remplacent les plantes sauvages récoltées manuellement, ce qui entraîne une augmentation du recours aux pesticides. Un pesticide est considéré comme tout produit ou combinaison de produits employé pour éloigner, éliminer ou réduire les parasites, les végétaux et les bestioles indésirables qui sont néfastes à la production, à la transformation, à la conservation et à la distribution des plantes médicinales. Les plantes médicinales sont capables d'accumuler des résidus phytosanitaires lors des activités agricoles telles que la pulvérisation, la préparation du sol pour la culture et l'application de fumigants pendant le stockage (Sofowora, 2010). L'Union Européenne fixe des limites tolérables pour 34 produits phytosanitaires (Tableau IV).

Tableau IV : Valeurs limites de tolérance (en mg/kg) de quelques pesticides (Ph Eu, 2020)

Substance	Tolérance (mg/kg)
Alachlor	0,02
Aldrine et Dieldrine	0,05
Azinfos-méthyle	1,0
Bromopropylate	3,0
Chlordane	0,05
Chlorfenvinphos	0,5
Chlorpyrifos	0,2
Chlorpyrifos-méthyle	0,1
Cyperméthrine (et isomères)	1,0
Deltaméthrine	0,5
Diazinon	0,5
Dichlorvos	1,0
Dithiocarbamates	2,0
Endosulfan (somme des isomères et du sulfate d'endosulfan)	3,0
Endrine	0,05
Ethion	2,0
Fenitrothion	0,5
Fenvalerate	1,5
Fonofos	0,05
Heptachlor (somme d'heptachlor et d'heptachlorépoxyde)	0,05
Hexachlorobenzène	0,1
Hexachlorocyclohexane-Isomères (autres que γ)	0,3
Lindane (γ -Hexachlorocyclohexane)	0,6
Malathion	1,0
Méthidathion	0,2
Parathion	0,5
Parathion-méthyle	0,2
Perméthrine	1,0
Phosalone	0,1
Pipéronylbutoxyde	3,0
Pirimiphos-méthyle	4,0
Pyréthrine	3,0
Quintozone (somme de quitozone, pentachloroaniline et pentachlorophénylesulfure de méthyle)	1,0

1.1.4.6. Recherche de radioactivité

La survenance d'un accident nucléaire peut entraîner une accumulation de particules radioactives à des seuils très élevés au niveau des plantes. L'OMS, en étroite collaboration avec d'autres structures internationales, a préparé des lignes directrices pour les cas où la contamination par radionucléides est généralisée et causée par des accidents nucléaires majeurs. Certains rapports de recherches révèlent que le risque pour la santé, en général, dû à la contamination radioactive par les radionucléides naturels ne constitue pas un réel problème, mais dans le cas d'accidents nucléaires majeurs comme celui de Tchernobyl en Ukraine en 1986 et de Fukushima au Japon en 2011, les risques peuvent être graves et sont fonction du radionucléide, du niveau de contamination et de la quantité de contaminants consommés. En raison du nombre de plantes médicinales qu'un individu utilise habituellement, il est peu plausible qu'il y ait des risques pour la santé. Par conséquent, aucune limite n'est actuellement proposée pour la contamination radioactive (Ouedraogo *et al.*, 2021).

1.1.4.7. Contrôle chimique

1.1.4.7.1. Analyse chimique qualitative

Il s'agit de la caractérisation des métabolites secondaires de la plante (Tarpaga *et al.*, 2020). L'analyse chimique utilise différentes techniques analytiques pour détecter des constituants actifs. Les méthodes de criblage phytochimique nécessitent souvent une extraction avec des solvants convenables, la purification et la caractérisation des principes actifs d'importance pharmaceutique. Elles passent obligatoirement par des tests complémentaires (Essais en tubes et essais sur plaques de chromatographie...). Les essais en tubes sont des tests d'identification préliminaires et peuvent être validés ou invalidés par la chromatographie sur couche mince (CCM) (Ouédraogo *et al.*, 2019). Les premiers tests de criblage en tubes sont des réactions de détection qui peuvent être utilisées pour caractériser des composés spécifiques ou des familles de composés par le biais de réactions chimiques qui entraînent généralement une précipitation ou une coloration (Bekro *et al.*, 2007). Grâce à différents protocoles standards décrits dans la littérature, il est possible de caractériser les huiles essentielles et matières grasses, les stérols/triterpènes, les caroténoïdes, les coumarines, les tanins et autres polyphénols, les quinones, les polyuronides (les gommes, les mucilages), les saponosides, les composés réducteurs et les alcaloïdes. L'identification phytochimique sur les plaques chromatographiques s'effectuent suivant des méthodes décrites dans la littérature (Bekro *et al.*, 2007). Il s'agit de chercher ces mêmes familles chimiques par la CCM. Des taches colorées sont observées en pulvérisant des réactifs spéciaux sur le chromatogramme, indiquant la présence des composés ou groupes chimiques recherchés (Mamyrbékova-Békro *et al.*, 2008).

1.1.4.7.2. Dosage de groupes chimiques d'intérêt ou substances actives

L'analyse quantitative en chimie permet d'évaluer la teneur des principes actifs. Dans le processus de standardisation, les dosages sont indispensables en raison des fluctuations quantitatives saisonnières ou quotidiennes des principes actifs. De plus, selon la directive 2001/83/CE, le dosage est important lorsque le médicament contient un ingrédient toxique. La pharmacopée autorise une certaine flexibilité dans les normes fixées pour chaque plante médicinale afin de tenir compte des fluctuations biologiques normales, résultant de l'environnement auquel tous les végétaux sont inéluctablement exposés (Kabré *et al.*, 2020). Ainsi, des valeurs limites sont exprimées sous forme de valeurs maximales pour les constituants nocifs (Miningou *et al.*, 2020).

Pour certains médicaments et préparations galéniques, il existe une fourchette prescrite (minimum-maximum) exigée pour les médicaments dont les principes actifs sont bien définis. Le dosage d'une substance active peut être réalisé par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) s'il s'agit d'un constituant volatil. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ou la spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet sont quant à elles utilisées pour les substances fixes (non volatiles).

Pour les médicaments contenant un groupe de substances actives, telles que les polyphénols, qui sont souvent constitués de molécules présentant de légères différences chimiques, il convient de déterminer la dose totale de ces constituants. En effet, les effets pharmacologiques de molécules appartenant à un même groupe sont souvent très similaires, voire équivalents. Dans ce cas, une estimation spectrophotométrique est généralement effectuée et le résultat de la dose totale est exprimé en constituants majoritaires.

Enfin, pour un médicament contenant un totum actif sans qu'aucun principe actif ou groupe de principes actifs ne soit isolément actif, il est nécessaire de sélectionner soigneusement un traceur analytique qui forme l'empreinte chimique du médicament (Ouedraogo *et al.*, 2021).

1.1.4.8. Recherche de contamination par les solvants

Les remèdes à base de plantes sont élaborés à partir d'un nombre déterminé de solvants, notamment l'alcool (éthanol, méthanol...), souvent l'acétate d'éthyle, l'acétone, l'hexane et l'heptane. Les concentrations d'isopropanol et de méthanol doivent normalement être inférieures à 0,05 % (500 ppm). Il existe trois catégories de solvants selon leurs risques potentiels (DPSNSO, 2015) :

- la classe 1 (cancérogènes connus pour l'homme) contient des solvants à ne pas utiliser : tétrachlorure de carbone, benzène, 1,2-Dichloroéthane, 1,1-Dichloroéthène et 1,1,1-Trichloroéthane. S'il n'est pas possible d'éviter l'utilisation de solvants de catégorie 1, la

confirmation de leur acceptabilité doit être obtenue avant de les employer sur la matière première ;

- la classe 2 regroupe les solvants dont l'usage est limité en raison de leur propre toxicité : chloroforme, cyclohexane, éthylène glycol, hexane, méthanol, pyridine, toluène, xylène, etc ;
- enfin, la classe 3 est réservée aux solvants à potentiel toxique faible. La limite autorisée pour cette classe de solvants est inférieure ou égale à 50 mg/jour (équivalent à 5 000 ppm ou 0,5 %). Ces solvants sont : acétone, acide acétique, butanol, éthanol, éther éthylique, méthyléthylcétone, 1-propanol, 2-propanol, etc.

C'est pourquoi des tests sont effectués pour rechercher des résidus de solvants. Les solvants employés dans les préparations pharmaceutiques sont définis ici comme des substances chimiques organiques volatiles utilisées dans la fabrication de principes actifs ou d'excipients ou utilisées dans la fabrication de médicaments. La limite autorisée dépend de la catégorie du produit utilisé, du mode d'administration, des doses et du temps de traitement (DPSNSO, 2015).

1.1.4.9. Contrôle de stabilité

D'après la Conférence Internationale sur l'Harmonisation (ICH) (ICH, 2003), la stabilité se définit comme suit : « C'est la capacité d'un médicament à maintenir ses propriétés biopharmaceutiques, microbiologiques, physiques et chimiques dans des limites définies tout au long de son temps de validité. Elle dépend d'une part des paramètres environnementaux (humidité relative, température et lumière), d'autre part de paramètres liés aux médicaments, tels que les propriétés physiques de la substance active et des excipients, le processus de production, la propriété du système récipient-fermeture et des caractéristiques des matériaux de conservation » (Chavass *et al.*, 2001).

Un médicament est estimé comme stable lorsque ses propriétés fondamentales restent inchangées ou ne subissent aucun changement significatif jusqu'à la fin de sa date d'utilisation prévue. Cela nécessite une surveillance de la stabilité des médicaments suivant une procédure convenable et continue pour détecter d'éventuels problèmes (les fluctuations de la quantité d'impuretés, du profil de dissolution) liés à la composition du médicament dans son conditionnement final (WHO, 2007).

La constitution chimique des médicaments peut évoluer dans le temps, malgré les précautions prises lors du stockage. Les végétaux aromatiques, par évaporation perdent de façon naturelle leur huile essentielle au fil du temps, et cela est encore plus rapide s'ils sont finement broyés. Les préparations à base de plantes médicinales ou de médicaments dérivés de celles-ci doivent assurer la stabilité des ingrédients dans le temps. Les médicaments préparés sous forme

de solution (teintures alcooliques, sirop, etc.) ont une durée de conservation plus courte que les poudres et les extraits secs (Ouedraogo *et al.*, 2021).

1.2. PROCESSUS D'HOMOLOGATION D'UN MEDICAMENT A BASE DE PLANTES

1.2.1. Principes de base

Les médicaments de catégorie 1, dans le respect des conditions d'exercice de la médecine traditionnelle ne sont pas concernés par l'homologation.

Les médicaments traditionnels (MT) de catégories 2, 3 et 4 sont considérés comme des Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) et doivent disposer d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) avant leur commercialisation.

Le format du dossier de soumission est le format « Common Technical Document » (CTD) du règlement modifié N° 06/2010/CM/UEMOA en relation avec les processus d'homologation des remèdes traditionnels dans la zone UEMOA avec des exigences spécifiques selon la catégorie de médicament traditionnel (UEMOA, 2010). En Côte d'Ivoire, les dossiers d'homologation des médicaments à base de plantes sont soumis à l'Autorité Ivoirienne de Régulation Pharmaceutique (AIRP).

1.2.2. Procédure d'homologation

L'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est accordée à une personne morale pour chaque présentation, forme et dosage de médicament traditionnel (MT). Le dossier de demande d'AMM doit faire l'objet d'une évaluation administrative préalable par l'autorité de réglementation compétente qui est chargée d'instruire et de suivre les dossiers de demande d'homologation des AMM.

Le dossier de demande doit également faire l'objet d'une évaluation technique. Cette évaluation doit être faite par un comité d'experts constitué par des personnes ressources, provenant des universités, instituts de recherche, centres hospitaliers, centres de santé conformément à l'article 9 du règlement modifié et selon des critères de qualité, de sécurité et d'efficacité cliniques. A cet effet, un guide d'évaluation est proposé.

La Commission Nationale des Médicaments (CNM) au sein de l'autorité de réglementation compétente est chargée dans chaque Etat membre de donner un avis définitif sur les dossiers de demande d'AMM des MTA. L'AMM est accordée par l'autorité de réglementation compétente, sur proposition de la CNM, après satisfaction des conditions prescrites par le présent texte. Chaque Etat membre de l'UEMOA délivre une AMM dont un modèle type du contenu et du libellé est conforme au règlement modifié N° 06/2010/CM/UEMOA (UEMOA, 2010).

1.2.3. Dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché des MTA

1.2.3.1. Composition du dossier d'AMM des MTA de catégorie 2

Le dossier est dit de type allégé, et comporte trois parties également appelées « dossiers » qui sont :

- dossier administratif : il comporte une requête adressée à l'autorité compétente nationale, les informations de l'organisme de production, une copie des documents approuvant les activités de l'entreprise de production, des prototypes du modèle à vendre du produit, un reçu du paiement des montants d'enregistrement avec une suggestion de prix de gros hors taxe ;
- dossier pharmaceutique : il s'adresse aux monographies entières des plantes utilisées comme matières premières (la dénomination scientifique, les dénominations vernaculaires locales, une brève description, les caractères organoleptique, microscopique et macroscopique, la distribution géographique et le lieu de récolte), les conclusions des tests de stabilité et de contrôle qualité (pureté, tests généraux de caractérisation et propriétés physico-chimiques), les procédés de fabrication (formulation, excipients, contrôle de qualité et un rapport sur les bonnes pratiques de fabrications (BPF)). En outre, des données doivent être fournies sur le produit fini (le nom commercial, indications et la constitution du médicament, la dose à administrer, le mode d'emploi, le type de médicament, la date de péremption, le numéro d'identification du lot, les informations auxiliaires (« mettre hors à la portée des enfants » ; « les conditions de conservation », « la voie d'administration », etc.)), sur les tests du contrôle qualité et de stabilité.
- dossier toxico-clinique : il comprend un rapport d'expertise attestant une longue expérience d'utilisation du médicament, les risques toxicologiques connus ou signalés au cours de son utilisation par des instituts ou pharmaciens et la bibliographie sur des tests d'innocuité déjà réalisés sur les plantes employées ou sur les spécimens incombant à la famille.

1.2.3.2. Composition du dossier d'AMM des MTA de la catégorie 3

Ces médicaments traditionnels améliorés (MTA) sont issus des institutions de recherche et des établissements sanitaires. Le dossier est sensiblement le même que celui de la catégorie 2, enrichi des résultats de recherche des instituts de recherche dont est issu le médicament, concernant ses propriétés thérapeutiques. Il comprend les résultats d'essai préclinique (efficacité, sécurité) par expérimentation animale, revue de la littérature, un rapport d'expertise sur les essais réalisés, un rapport d'étude observatoire (si possible)) et d'essai clinique

(autorisation des essais cliniques, un protocole d'essai clinique (Phase I et II) et un rapport d'expertise sur les essais réalisés).

1.2.3.3. Composition du dossier d'AMM des MTA de la catégorie 4

Le dossier pour l'octroi d'une AMM des MTA de la catégorie 4 est similaire à celui de la catégorie 3 enrichi de certains détails en ce qui concerne les dossiers précliniques et cliniques. Le dossier préclinique incluant la génotoxicité et l'immunotoxicité traite des expérimentations toxicologiques destinées à justifier la stabilité et l'innocuité du médicament. Le dossier clinique doit inclure les rapports d'études de bio-pharmaceutiques, rapports d'études relatives à la pharmacocinétique et des rapports des études pharmacodynamiques. Cette catégorie concerne des médicaments à base de plantes qui proviennent d'autres pays. Le dossier est identique à celui des spécialités pharmaceutiques et est régi par les dispositions du décret n°669 du 21 Décembre 1994 sur l'enregistrement des médicaments en Côte d'Ivoire.

1.2.3.4. Procédure d'évaluation d'un dossier de demande d'octroi d'une AMM des MTA

L'octroi d'une AMM des MTA par l'autorité nationale compétente doit bénéficier de toutes les garanties relatives à la qualité, à l'innocuité et à l'efficacité thérapeutique du médicament. La procédure d'évaluation d'un dossier de demande d'AMM doit suivre les étapes suivantes :

- la réception et le traitement administratif du dossier par l'autorité de réglementation pharmaceutique. Une attestation de dépôt est délivrée au demandeur. Dès réception du dossier, une analyse et une évaluation administrative sont effectuées afin d'apprécier la conformité du dossier. Le dossier complet est ensuite transmis au comité d'experts ;
- l'évaluation se fait via le comité des experts nommés par l'autorité nationale compétente. Il examine le dossier et compare le produit avec les dossiers similaires déjà enregistrés ;
- la décision de validation du dossier est prise par la commission. Cet avis porte sur l'intérêt et l'efficacité thérapeutique, l'innocuité, la qualité et le prix grossiste hors taxe.

L'autorisation de commercialisation est accordée ou refusée par l'autorité compétente en accord avec la recommandation du comité d'experts. La décision peut être favorable, favorable sous condition, ajournée (document à compléter) ou refusée.

Le refus doit être justifié et notifié au demandeur par écrit. En cas de refus, le demandeur a droit à un recours.

L'autorisation de commercialisation est accordée par l'autorité compétente pour une durée de dix (10) ans. Le renouvellement est conditionné par le dépôt d'un dossier comprenant une demande adressée à l'autorité compétente, une attestation indiquant qu'aucune modification n'est intervenue dans les éléments produits à l'appui de la demande d'homologation, une copie

de l'avis d'homologation du pays d'origine, pour attester que le médicament n'a pas été supprimé. En cas de suppression volontaire, une décision au cas par cas peut être prise.

1.3. METABOLITES SECONDAIRES ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES PLANTES MEDICINALES

Les plantes produisent une grande diversité de métabolites secondaires pour leur défense et leur survie dans l'écosystème. Ces métabolites secondaires sont recherchés pour leurs activités biologiques sur la santé de l'homme. Cette valeur pharmacologique est en plein essor en raison de la tendance vers les produits naturels. De plus, des découvertes continuent sur leur rôle potentiel en soins de santé et comme précurseurs chimiques pour le développement de nouveaux médicaments (Ben, 2008).

Par ailleurs, les métabolites secondaires sont synthétisés dans des cellules spécialisées des plantes à des stades de développements distincts. Ils présentent des structures très complexes qui rendent leurs extractions difficiles. Néanmoins, les substances identifiées dépassent actuellement 100.000 et appartiennent à trois classes principales de groupes chimiques (Ben, 2008) :

- les alcaloïdes qui sont des dérivés d'acides aminés ;
- les composés phénoliques ;
- les composés terpéniques qui sont des corps gras.

1.3.1. Alcaloïdes

Ce sont des substances chimiques organiques azotées à caractère alcalin. On les trouve dans plusieurs familles de plantes et sont très nombreux. La morphine, la caféine, la quinine, le curare (effet toxique), la strychnine, la colchicine, l'atropine et la nicotine en sont quelques exemples (Sahabi, 2009). Les alcaloïdes agissent directement sur le système nerveux entraînant des effets sur la conscience et la motricité. Ces actions peuvent être anesthésiques, analgésiques, narcotiques, antispasmodiques et mydriatiques.

D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers et certains sont utilisés comme apéritifs. Par ailleurs, ils trouvent plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme : antitumoral, antalgiques, spasmolytiques, vasodilatateurs, émétiques, antitussifs, antiarythmiques, antipaludiques et agents de traitement de la maladie d'Alzheimer (Stöckigt *et al.*, 2002).

1.3.2. Composés phénoliques

1.3.2.1. Phénols simples et acides phénoliques

Ce sont des dérivés hydroxylés du benzène et des hydrocarbures aromatiques. On peut en citer quelques uns comme : l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide ferrulique, l'acide

caféique et le phloroglucinol (Chira *et al.*, 2008). Ils sont utilisés comme désinfectant (antiseptique) et possèdent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cardiovasculaires. Ils sont aussi utilisés comme additifs agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Sarni-Manchado & Cheynier, 2006).

1.3.2.2. Polyphénols

La famille des polyphénols regroupe les flavonoïdes, les tanins, les coumarines et les quinones.

Les flavonoïdes sont des éléments essentiels qui entrent dans la composition de nombreux pigments. En exemple, on peut énumérer quelques sous familles (les flavones, les flavonols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines) (Pinheiro & Justino, 2012). Les plantes contenant les flavonoïdes ont souvent des activités antiplasmodiques (Portet *et al.*, 2007), anti-cancérigènes (Hirata *et al.*, 2009), antiulcéreuses (Gurbuz *et al.*, 2009), anti-inflammatoires (Vafeiadou *et al.*, 2009), analgésiques (Sutradhar *et al.*, 2008), antiparasitaires (Ganapaty *et al.*, 2008), vasodilatateurs (Padilla *et al.*, 2005) et antivirales (Choi *et al.*, 2009).

Les tanins sont des phénols associés à des sucres et se distinguent en tanins hydrolysables et tanins condensés (Grasel *et al.*, 2016). Ils sont connus pour être des anti-poisons et des antidiarrhéiques à cause de leurs effets de piégeage et astringent. Ce sont des antihémorragiques et antiseptiques. Les plantes riches en tanins sont impliquées dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse et tonifient la peau (Jepson & Craig, 2007).

Les coumarines sont susceptibles d'inhiber la peroxydation lipidique membranaire et de piéger les radicaux hydroxyles et peroxydes (Igor, 2002). Ils sont aussi connus pour leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives et sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées. Ce sont des toniques veineux aux propriétés anticoagulantes (au niveau du cœur) (Lucienne, 2010). Comme exemples de coumarines, l'on peut citer le peucedanol, le prenyletine, le syphonine et le mensuol (Sakagami *et al.*, 2005).

Les quinones constituent une classe de composés dicarbonylés α , β insaturés qui possèdent des propriétés originales par rapport aux composés carbonylés ordinaires. Les plus simples sont, l'hydroquinone, le 1,4-naphthaquinone et le 1,4-benzoquinone (Compain-Batissou, 2007). Ils possèdent également des activités antitumorales, antimicrobiennes et cardiovasculaires (Liu, 2011).

1.3.3. Terpènes et stérols

Ce sont des corps gras que l'on retrouve dans les végétaux supérieurs mais aussi dans les organismes tels que les animaux marins, les micro-organismes et chez certains champignons tels que les bolets. Certains de ces terpènes sont caractéristiques des odeurs végétales parce qu'ils forment une grande partie des essences et des résines. Actuellement, plus de 30000 terpènes sont isolés des sources végétales. La palette des activités biologiques des terpènes est large (Mostafa *et al.*, 2005). Ils ont une activité antimicrobienne, antioxydante, antimycotique, antivirale, anti-inflammatoire, anti-tumorale, anti-carie, antiulcéreuse, antiallergique, hépatoprotectrice et tonifiante (Djoukeng, 2005).

Par ailleurs, les composés stéroïdiens ayant la même structure de base que les triterpénoïdes ont des effets contraceptifs. Ils sont également utilisés dans les traitements des infections cutanées, des arthrites rhumatoïdes, des asthmes, des allergies, de diverses pathologies oculaires, des cas d'insuffisance rénale et des maladies du cortex surrénal. Le squalène, le cholestérol, le lanostérol, le cortisol et l'ergostérol sont quelques exemples de terpénoïdes et de stéroïdes (Keszei *et al.*, 2008).

1.3.4. Autres familles de métabolites secondaires

1.3.4.1. Saponosides

Les saponosides constituent un groupe très varié de molécules détergentes et émulsifiantes naturellement produites par des plantes. Structuralement, les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine. Ainsi distingue-t-on les saponosides à génine stéroïdique et les saponosides à génine triterpénique. Ils modifient la tension superficielle de l'eau et sont employés dans la fabrication d'émulsions où une substance insoluble est mise en dispersion. Les saponines sont employées comme expectorantes grâce à leur action moussante sur les muqueuses des bronches. Ils manifestent également des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides, anti-inflammatoires et antalgiques (Speroni *et al.*, 2005 ; Vincken *et al.*, 2007). L'acide glycyrrhizique, le sénéciol et le ruscoside constituent quelques exemples de saponosides.

1.3.4.2. Mucilages

Les mucilages sont de grosses molécules qui se constituent en protecteur sur les tissus (protection des muqueuses de l'organisme). Ce sont des adoucissants, des calmants de l'inflammation du tube digestif et des voies respiratoires. Ils sont également utilisés sur la peau, sur les muqueuses et freinent l'absorption des produits. Ils sont antagonistes des saponines (Aleixo *et al.*, 2020). On peut citer : l'orabinoxylane et le rhamnogalacturonane (Rabab *et al.*, 2020).

1.4. PLANTES ENTRANT DANS LA COMPOSITION DU REMEDE « DAOUTRA EPIGASTRO »

1.4.1. *Cassia sieberiana* DC.

1.4.1.1. Description botanique

Cassia sieberiana est un arbuste atteignant 15 à 20 m de hauteur. Il a une écorce grise à brune fendue avec des rayures noirâtres. Les feuilles sont composées paripennées avec 5 à 14 paires de folioles disposées en spirale. Les fleurs sont une inflorescence (grappe pendulaire axillaire) atteignant 35 à 45 cm de long. Les pétales sont oblongs à presque circulaires, jaune vif, d'environ 3 cm de long. Le fruit est noir cylindrique avec une gousse de 40 à 60 cm de longueur et 2 cm de diamètre (Figure 1) (Burkill, 1985 ; Schmelzer *et al.*, 2008).



Figure 1 : *Cassia sieberiana* DC (APG IV, 2016)

1.4.1.2. Classification phylogénétique (APG IV, 2016)

Clade	: Angiospermae
Ordre	: Fabales
Famille	: Amaryllidacées
Sous-famille	: Caesalpinioideae
Genre	: <i>Cassia</i>
Espèce	: <i>Cassia sieberiana</i>

1.4.1.3. Utilisations ethno-médicales

Les parties entières de cette plante sont utilisées au Sénégal, comme purgatif et diurétique. La poudre des feuilles de cette plante est utilisée pour soigner les maux de dents, pour traiter les maladies de la peau, pour traiter les gonorrhées (Sam *et al.*, 2011). Une infusion de feuilles sucrées au miel est prise contre les maux d'estomac, les ulcères et la diarrhée. Un bain de vapeur de brindilles feuillues est prescrit pour traiter le paludisme et la fièvre. Les feuilles fraîches bouillies et pressées sont appliquées en cataplasme sur les brûlures. Une décoction de racines est utilisée pour traiter les hémorroïdes, la schistosomiase, la lèpre, l'hydropisie et la dysenterie sanguine (Sam *et al.*, 2011).

En Côte d'Ivoire, la décoction de racines est utilisée pour traiter les vers intestinaux, y compris les ténias. Une petite quantité de décoction de racines séchées est absorbée à la fin de chaque repas en prévision du paludisme. Des racines écrasées sont frottées sur les tempes pour traiter les maux de tête. Une infusion d'écorces de racines est utilisée contre les maladies vénériennes, la stérilité et la dysménorrhée (Mshana *et al.*, 2000).

Au Burkina Faso, les capsules à base d'écorces de racines sont prescrites contre le sida. La pulpe jaune autour des graines et une infusion des gousses sont prises comme laxatifs (Schmelzer *et al.*, 2008).

1.4.1.4. Activités biologiques et pharmacologiques

La plante a été explorée pour une large gamme d'activités pharmacologiques. Des extraits de racines, de tiges et de feuilles se sont révélés actifs contre *Staphylococcus lutea*, *Mycobacterium phlei*, *Bacillus subtilis* et *Proteus sp.* Les extraits ont également montré une activité antivirale contre le virus "Herpes simplex" de type 1 (Schmelzer *et al.*, 2008). Les activités laxatives des racines et de l'écorce de la tige ont été démontrées chez des rats albinos mâles. L'action purgative de la plante a été attribuée à ses anthraquinones (Schmelzer *et al.*, 2008).

D'après Nartey *et al.* (2012), l'extrait d'écorce de racines a montré une activité antioxydante et des propriétés cytoprotectrices gastriques par augmentation des prostaglandines (PG). Des études ont montré que l'extrait d'écorces de racines augmentait en fonction de la dose, les taux de prostaglandines (PG) de type E2 et I2 dans la muqueuse gastrique. Des extraits aqueux de racines et de feuilles ont démontré des activités antinociceptives et anti-inflammatoires *in vivo* (Dowiejua *et al.*, 2007). Dans une autre étude, l'extrait éthanolique des écorces de racines et de tiges a montré une activité antiplasmodique contre la souche de *Plasmodium berghei* NK65 sensible à la chloroquine chez la souris (Abdulrazak *et al.*, 2015).

1.4.1.5. Constituants chimiques

C. sieberiana renferme plusieurs métabolites secondaires dont : les anthraquinones (physcion, rhéine, chrysophanol) et les phénoliques (quercitrine, isoquercitrine, épicatechol, leucopélargonidol et épiafzéléchine) (Sam *et al.*, 2011).

1.4.1.6. Toxicité

L'étude de la toxicité aiguë par voie orale a montré que la DL_{50} de l'extrait aqueux de la pulpe des gousses de *C. sieberiana* est de 1950 mg/kg, ce qui indique que l'extrait est faiblement toxique (Toma *et al.*, 2009). Les études effectuées par Obidah *et al.* (2009) et par Samira & Abdullahi (2020) sur l'écorce de racine de *C. sieberiana* ont montré une élévation significative des ASAT et ALAT à partir de 20 mg/kg. Une augmentation significative des concentrations sériques d'urée et de créatinine a également été observée.

1.4.2. *Zingiber officinale* Roscoe

1.4.2.1. Description botanique

Zingiber officinale est une plante vivace avec des tiges dressées de 1 à 1,5 m de hauteur avec des feuilles lancéolées, alternes et lisses. L'une est de couleur pâle-verdâtre (les tiges stériles) et, l'autre d'environ 20 cm ou moins de hauteur (les tiges fertiles portent des bractées de rechange) avec des fleurs courtes, stables et vert-jaunâtre. Le fruit est une capsule de petites graines argilites. Le rhizome tubérisé et ramifié se propage et se multiplie dans le sous-sol (Figure 2) (Gill, 1992).

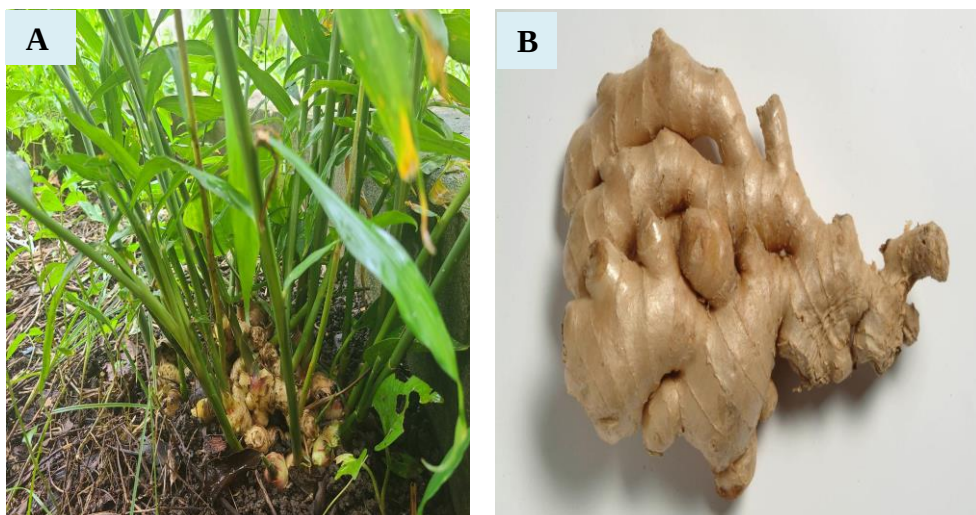


Figure 2 : *Zingiber officinale* Roscoe : A) Plante entière ; B) Rhizomes (APG IV, 2016)

1.4.2.2. Classification phylogénétique (APG IV, 2016)

Clade	: Tracheophyta
Ordre	: Zingiberales
Famille	: Zingiberaceae
Sous-famille	: Zingiberoideae
Genre	: <i>Zingiber</i>
Espèce	: <i>Zingiber officinale</i>

1.4.2.3. Utilisations ethno-médicales

Zingiber officinale est communément appelée gingembre. Elle est utilisée dans le traitement d'un grand nombre de maladies, y compris le prolapsus rectal, les maux de dents, la raucité de la voix, la toux, le rhume, la grippe, les nausées et les vomissements liés à la grossesse, l'asthme, la fièvre, les coliques, la dysménorrhée, la diarrhée, l'arthrite, l'hépatite, la dyspepsie (Samy, 2005)

1.4.2.4. Activités biologiques et pharmacologiques

Z. officinale a des actions stimulantes sur le système nerveux central, la circulation sanguine et la transition gastro-intestinale. Il augmente le péristaltisme et favorise la sécrétion de la bile. Des études *in vitro* ont prouvé que de nombreux constituants du gingembre ont des propriétés anti-inflammatoires (Grzanna *et al.*, 2005). Les extraits de gingembre possèdent des effets inhibiteurs *in vitro* d'agrégation plaquettaire et de synthèse de thromboxane (Kiuchi *et al.*, 1992).

La simple dose orale de 33 mg/kg pc d'huile de gingembre a supprimé de manière significative, l'auxiliaire chronique de l'arthrite grave chez les rats (Sharma *et al.*, 1994). L'extrait aqueux seul et en combinaison avec la vitamine E ont partiellement amélioré la néphrotoxicité causée par la cisplatine (Ajith *et al.*, 2007). L'extrait éthanolique de la plante a également montré une activité antihyperlipidémique *in vitro* (Bhandari *et al.*, 1998), alors que l'huile volatile a influencé à la fois la médiation cellulaire et la réponse immunitaire non spécifique de la prolifération des lymphocytes T (Zhou *et al.*, 2006). Le gingembre s'est également avéré avoir des propriétés anticancéreuses *in vitro et in vivo* sur des lignées cellulaires du cancer de sein chez l'humain (Bode *et al.*, 2001).

1.4.2.5. Constituants chimiques

Z. officinale contient des monoterpènes, des sesquiterpènes, de la vitamine C, des sucres réducteurs et des mucilages (Kofi, 2007). L'huile volatile du gingembre est riche en monoterpènes, sesquiterpènes, vitamine du groupe B, vitamine C, sucres réducteurs, acide phosphatidique, lécithine, acide folique et mucilages (Kofi, 2007).

1.4.2.6. Toxicité

Benny *et al.* (2021) ont montré que *Z. officinale* administré par voie orale a une DL₅₀ supérieure à 2000 mg/kg pc., ayant ainsi un indice de toxicité équivalent à 5. De même, La DL₅₀ de l'extrait aqueux du rhizome (*p.o*) a été jugée > 3000 mg/kg chez des rats. Dans les études de toxicités subaiguës (administration répétée de 300 à 3000 mg/kg pendant 14 jours), aucun signe clinique de toxicité n'a été observé et aucun changement notable dans le poids corporel n'a été observé, mais une diminution relative du poids du foie, du rein, des poumons et du cœur s'est produite à l'application de 3000 mg/kg. Le sang et ses éléments cellulaires ne sont pas affectés par le traitement et il n'y a eu aucun signe de dommages des systèmes hépatiques ou rénaux (OOAS, 2020).

1.4.3. *Capsicum frutescens* L.

1.4.3.1. Description botanique

Capsicum frutescens est une plante annuelle, parfois vivace, sous ligneuse, atteignant 1,25 m de haut et très branchue. Les tiges sont anguleuses et glabrescentes. Les feuilles glabrescentes sont ovales, acuminées au sommet et cunéiformes à la base. Les fleurs sont jaune verdâtres. Le fruit de saveur piquante est de très petite taille et mesurant environ 10 à 20 mm de long et 3 à 7 mm de diamètre. Le fruit pousse avec une couleur vert foncé et rouge vif à maturité, mais il peut aussi avoir d'autres couleurs (Figure 3) (MSHP, 2018).



Figure 3 : Fruits et feuilles de *Capsicum frutescens* L. (MSHP, 2018)

1.4.3.2. Classification phylogénétique (APG IV, 2016)

Clade	: Angiospermes
Ordre	: Solanales
Famille	: Solanaceae
Sous-famille	: Solanoideae
Genre	: <i>Capsicum</i>
Espèce	: <i>Capsicum frutescens</i>

1.4.3.3. Utilisations ethno-médicales

Le fruit de *Capsicum frutescens* est utilisé dans le traitement de la dysménorrhée et des parasitoses intestinales. Il est aussi utilisé comme ingrédient de plusieurs recettes. Les personnes souffrant de grippe sont soulagées lorsqu'elles en consomment. Une consommation régulière de *C. frutescens* serait bénéfique pour l'état vasculaire, contre les hémorroïdes, les varices, l'anorexie et la congestion du foie. Une infusion de fruits mûrs de *C. frutescens* arrêterait le vomissement et est utilisée pour traiter la dysenterie, la fièvre et le pian (MSHP, 2018).

Des propriétés antibiotiques lui sont souvent attribuées. *C. frutescens* est recommandé aux personnes souffrant d'infections amibiennes et de vers intestinaux. Il est souvent appliqué en usage externe à l'état frais ou transformé comme rubéfiant et analgésique pour les douleurs dorsales, le rhumatisme, les douleurs articulaires et musculaires et pour les pieds enflés. Il sert également d'antidote en cas d'empoisonnement. Les feuilles sont utilisées comme pansement des blessures et des plaies (MSHP, 2018). Les feuilles sont préparées en potion pour soigner la toux et les douleurs cardiaques (Poulos, 1993).

1.4.3.4. Activités biologiques et pharmacologiques

Les extraits des fruits de *C. frutescens* possèdent des propriétés antioxydantes et des propriétés antimicrobiennes (Glenn *et al.*, 2013). Des extraits des fruits de cette plante ont montré un effet hypoglycémiant chez les canidés et chez les souris (Chaiyasit *et al.*, 2009).

1.4.3.5. Constituants chimiques

C. frutescens contient des anthraquinones, des alcaloïdes, des terpenoïdes, des saponosides, des stérols, des terpènes, des polyterpènes, des coumarines et des flavonoïdes (El-Kamali & Elshik, 2015.).

1.4.3.6. Toxicité

La dose létale 50 (DL₅₀) des extraits aqueux de *C. frutescens* est de 1243 mg/kg pc. Les extraits éthanoliques de *C. frutescens* ont une DL₅₀ de 5492 mg/kg (Lagu & Kayanja, 2013).

Une alimentation à 10 % d'extrait de *C. frutescens* sur quatre semaines provoque chez les souris B6C3F1 de légères perturbations de la fonction hépatique. Les autres organes vitaux ne sont pas affectés (Jang *et al.*, 1992).

1.4.4. *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich.

1.4.4.1. Description botanique

Xylopia aethiopica de la famille des Annonacées est un arbre haut de 8 à 15 m, à feuilles entières alternes. Le limbe elliptique est long de 10 à 15 cm, large de 4 à 6 cm. Les fruits sont des carpelles, nombreux, en forme de gousses linéaires rouge vif à maturité et qui deviennent noirs en séchant (Figure 4) (Burkill, 1985).



Figure 4 : Fruits de *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich. (APG IV, 2016)

1.4.4.2. Classification phylogénétique (APG IV, 2016)

Clade	: Angiospermae
Ordre	: Magnoliales
Famille	: Annonaceae
Sous-famille	: Annonoideae
Genre	: <i>Xylopia</i>
Espèce	: <i>Xylopia aethiopica</i>

1.4.4.3. Utilisations ethno-médicales

Les méricarpes séchés de *Xylopi aethiopica* sont utilisés en médecine traditionnelle africaine en tant qu'adjuvant et vermifuge (MSHP, 2018). Les écorces interviennent dans le traitement des affections broncho-pneumopathies et des courbatures fébriles (Bouquet & Debray, 1974). Par ailleurs, c'est un remède stimulant et tonique. Il est conseillé aux nouvelles accouchées comme revitalisant (MSHP, 2018).

1.4.4.4. Activités biologiques et pharmacologiques

L'extrait éthanolique des fruits de *X. aethiopica* a une activité antiproliférative *in vitro* contre un panel de cellules cancéreuses (Choumessi *et al.*, 2012). Cet extrait possède également des pouvoirs analgésiques, anti-inflammatoires, antiarthritiques et anti-androgéniques chez le rat (Abarikwu *et al.*, 2017). Une fraction acetonique des fruits a montré un potentiel antioxydant puissant et a permis d'améliorer les effets nocifs liés au stress oxydatif dans un diabète de type 2 chez le rat (Mohammed & Islam, 2017).

Les travaux de Yéhouénou *et al.* (2008) ont mis en évidence une activité antimicrobienne intéressante de l'huile essentielle contre les germes pathogènes des denrées alimentaires notamment les bactéries à Gram-négatifs (*Salmonella*).

1.4.4.5. Constituants chimiques

X. aethiopica contient des stérols, des terpènes, des coumarines, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des terpenoïdes, des saponosides et des carbohydrates (Etsè *et al.*, 2012).

De cette plante, quelques molécules ont été isolées. Il s'agit de : l'acide xylopique, le kauranol, le kaurandiol, l'acide kaurenoïque et l'acide 15-oxo-kaurenoïque (Ekong & Ogan, 1968). L'huile essentielle extraite des fruits a pour constituants majoritaires le β -pinène (38,9 %), le vélérianol (7,7 %), le myrténal (7,4 %) et l'élémol (5,1 %) (Nguemtchouin, 2012).

1.4.4.6. Toxicité

X. aethiopica avec une DL_{50} supérieure à 5000 mg/kg, peut être classée comme non toxique selon le Système Global Harmonisé de Classification (SGH) (Mindédé *et al.*, 2022). Les travaux de Etsè *et al.* (2012) ont montré que l'huile essentielle de *X. aethiopica* n'a pas d'activité cytotoxique ($CI_{50} > 3000$ pg/mL) sur les cellules de l'épiderme humain.

1.4.5. *Nauclea latifolia* Smith

1.4.5.1. Description botanique

Nauclea latifolia est un arbuste à feuilles persistantes, très ramifié, pouvant atteindre 12 mètres de haut. Les fleurs, petites, blanchâtres, sont groupées en inflorescences de type cyme formant une tête sphérique. Le fruit, charnu, comestible, est en fait une infrutescence formant un syncarpe (Figure 5) (Pousset, 2004).



Figure 5 : Fruits et feuilles de *Nauclea latifolia* Smith (APG IV, 2016)

1.4.5.2. Classification phylogénétique (APG IV, 2016)

Clade	: Angiospermae
Ordre	: Gentianales
Famille	: Rubiaceae
Sous-famille	: Cinchonoideae
Genre	: <i>Nauclea</i>
Espèce	: <i>Nauclea latifolia</i>

1.4.5.3. Utilisations ethno-médicales

L'espèce végétale *Nauclea latifolia* est utilisée par les populations africaines pour soigner les troubles digestifs (Eto, 2013). Plusieurs indications thérapeutiques sont décrites tout au long de l'Afrique centrale, de la Sierra Leone à l'Ouganda. *N. latifolia* est signalé comme agent pour les soins dentaires, buccaux et comme cure dent (Ndenecho, 2009). Diverses parties de la plante (tige, écorce, racine, feuilles, sève et fruits) sont prescrites par les guérisseurs traditionnels pour traiter les problèmes d'estomac (Ndenecho, 2009). En outre, *N. latifolia* est signalé comme émétique et laxatif (Olowokudejo *et al.*, 2008). *N. latifolia* est aussi utilisé pour

d'autres indications du système digestif, à savoir l'hernie et les hémorroïdes (Ngbolua *et al.*, 2016).

Toutes les parties de *N. latifolia* sont décrites dans différents États, du Nigéria en particulier chez les peuples du nord du Nigeria (« Tiv ») qui la considèrent comme la principale plante antipyrétique et surtout lors du paludisme (Olowokudejo *et al.*, 2008).

Cette plante est également utilisée dans la prise en charge du diabète et de l'hypertension (Lagnika *et al.*, 2016). L'écorce est décrite comme anti-anémique (Yetein *et al.*, 2013).

1.4.5.4. Activités biologiques et pharmacologiques

Les activités digestives de *N. latifolia* ont été signalées par des évaluations antidiarrhéiques et antiulcéreuses. L'extrait hydro-alcoolique des écorces des racines de *N. latifolia* a exercé une activité antidiarrhéique sur la diarrhée induite par l'huile de ricin (Owolabi *et al.*, 2010). En 2013, Balogun *et al.* ont publié plusieurs études sur la protection gastrique des extraits de *N. latifolia* en utilisant le modèle d'ulcère induit par l'indométhacine chez le rat. Une augmentation significative de la protection contre les ulcères, de 67 % à 170 mg/kg pc et de 91 % à 510 mg/kg a été rapportée pour l'extrait aqueux de feuilles, tandis que la cimétidine utilisée comme contrôle à 100 mg/kg a présenté une protection de 76 %.

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles de cette plante sur la sécrétion d'acide gastrique ont montré une diminution significative et dose-dépendante de la teneur totale en acide gastrique (Balogun *et al.* 2015).

L'activité antiulcéreuse de l'extrait hydro-méthanolique de l'écorce de la tige a également été étudiée dans les plusieurs cas. Dans des modèles d'ulcères induits par l'histamine et l'aspirine chez le rat, cet extrait a significativement augmenté le taux de tolérance à l'ulcère par rapport aux témoins à 50 mg/kg mais s'est révélé inefficace à 100 mg/kg. Le même extrait s'est avéré efficace sur *Helicobacter pylori* avec une CMI de 25 mg/mL contre une CMI = 3,1 mg/mL pour amoxicilline (Alaribe *et al.*, 2014).

Les études portant sur des extraits de cette plante en expérimentation animale ont montré ses activités analgésiques (Abbah *et al.*, 2010), anticonvulsivantes, anxiolytiques, sédatives, antidépressives et myorelaxantes (Taïwe *et al.*, 2011 ; 2014).

1.4.5.5. Constituants chimiques

L'analyse chimique de *N. latifolia* a révélée la présence de stéroïdes/terpènes, de saponines, d'alcaloïdes et de polyphénols (Kuete *et al.*, 2015). En outre, de cette plante, quelques composés ont été isolés. A savoir : le 10-hydroxystrictosamide, le naucleamide C, les latifoliamides B et C, le nauclefolinine et quatre composés carbonylés (Ngnokam *et al.*, 2003 ; Agomuoh *et al.*, 2013).

1.4.5.6. Toxicité

L'extrait aqueux de l'écorce de la tige de *N. latifolia* administré en toxicité aiguë par voie orale jusqu'à 18000 mg/kg n'a entraîné aucun décès. La DL₅₀ était donc supérieure à 18000 mg/kg de poids corporel (James *et al.*, 2014).

En toxicité subaiguë, plusieurs études montrent que l'extrait de tige de *N. latifolia* provoque une altération des fonctions sécrétoires et excrétoires du rein. Cette plante peut également provoquer une destruction du tissu hépatique lors d'une administration prolongée de manière dose-dépendante (James *et al.*, 2014).

1.5. GASTRITES ET LEUR TRAITEMENT

1.5.1. Définition et étiologie

Les gastrites sont des atteintes inflammatoires, aiguës ou chroniques, de la muqueuse de l'estomac. La gastrite aiguë survient pendant une courte période et met très peu de temps. Une fois diagnostiquée, elle peut être guérie avec un traitement simple. La gastrite chronique est un état inflammatoire chronique de la muqueuse gastrique associé à des altérations épithéliales pouvant évoluer vers l'atrophie (Turner & Genta, 2017).

La gastrite peut être provoquée par divers facteurs tels qu'un traitement pharmaceutique à base de corticoïdes (aspirine et Antiinflammatoires Non Stéroïdiens), une période de vie stressante, une consommation excessive et répétée d'alcool, une pathologie sous-jacente qui affecte notamment le foie ou le sang, le tabagisme, le reflux gastrique et l'infection à *Helicobacter pylori*. Cette liste n'est pas exhaustive. D'autres pathologies ou habitudes de vie peuvent aussi être à l'origine d'une gastrite (Cadiot, 2020).

1.5.2. Classification des gastrites chroniques

Dans les gastrites dites chroniques, la muqueuse de l'estomac peut s'atrophier, c'est-à-dire que dans certains cas, les cellules glandulaires qui synthétisent le suc gastrique deviennent rares puis disparaissent, ce qui conduit au développement d'une gastrite chronique, dite atrophique. Il existe d'autres types de gastrite chronique comme la gastrite lymphocytaire, la gastrite à éosinophile et la gastrite collagène ou la gastrite granulomateuse, mais celles-ci sont exceptionnelles (Cadiot, 2020).

1.5.3. Symptômes d'une gastrite chronique

Les patients souffrant de gastrite chronique signalent une douleur sourde qui se manifeste par une pression dans l'abdomen. Parfois, cette douleur peut être accompagnée de nausées et de vomissements. Les signes cliniques internes comprennent les saignements des lésions, les ulcérations des parois gastriques et le rétrécissement du pylore (Sténose). Cependant, la symptomatologie n'est pas corrélée à l'étendue des lésions puisqu'il est possible

de ressentir des douleurs très intenses devant des lésions minimales, ou au contraire des lésions étendues qui sont asymptomatiques (C.U.H-G, 2009).

1.5.4. Complications de la gastrite chronique

En cas d'absence de soins et dans les cas les plus graves, la gastrite chronique peut entraîner une hémorragie digestive, un ulcère gastroduodénal, une perforation de l'estomac, une sténose et dans des cas rares, évoluer vers un cancer de l'estomac (Tschanz & Genta, 2003).

1.5.4.1. Hémorragies digestives

Il s'agit de la complication la plus fréquente. L'hémorragie peut être due à une rupture d'une artère ou d'une artériole au fond des lésions, à un saignement muqueux. Certains facteurs tels que la prise d'aspirine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les traitements anticoagulants peuvent favoriser la survenue d'une hémorragie digestive chez un malade souffrant de complications des gastrites (Sokic *et al.*, 2007).

1.5.4.2. Ulcère gastroduodénal

L'ulcère gastroduodénal ou peptique est une lésion de la paroi digestive amputant, plus ou moins, le plan musculaire et limité au fond par une réaction inflammatoire, touchant essentiellement l'estomac et la partie initiale de l'intestin grêle (le duodénum) (Calop *et al.*, 2008). La Figure 6 présente des ulcérations au niveau du duodénum et de l'estomac.

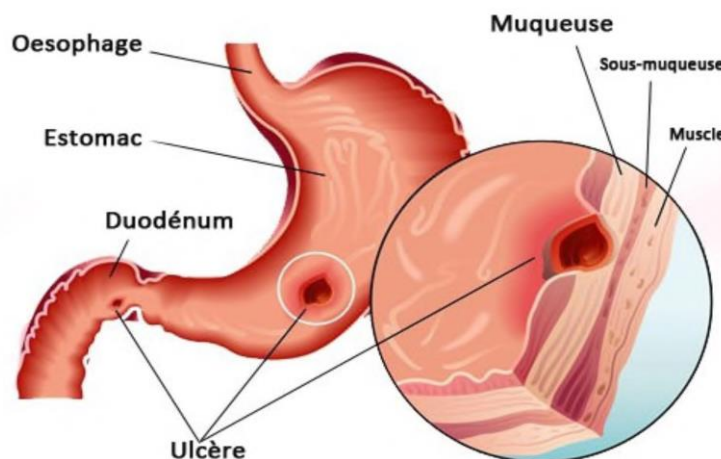


Figure 6 : Représentation de l'ulcère gastroduodénal (Lacour et Belon, 2015)

1.5.4.3. Perforations aiguës

La perforation abdominale se caractérise par une douleur soudaine et intense, d'abord épigastrique puis se propageant dans tout l'abdomen. La progression peut se faire vers une guérison ou la formation d'un abcès sous-phrénique nécessitant une intervention chirurgicale. Elle s'accompagne de nausées, parfois de vomissements et de signes de choc. Elle est favorisée par l'utilisation des AINS. Il peut arriver que la perforation se fasse à l'endroit où un autre organe est accolé, notamment le pancréas, on parle alors « d'ulcère perforé-bouché » (Sledzianowski *et al.*, 2007). Ces cas de complications sont illustrés par la Figure 7.

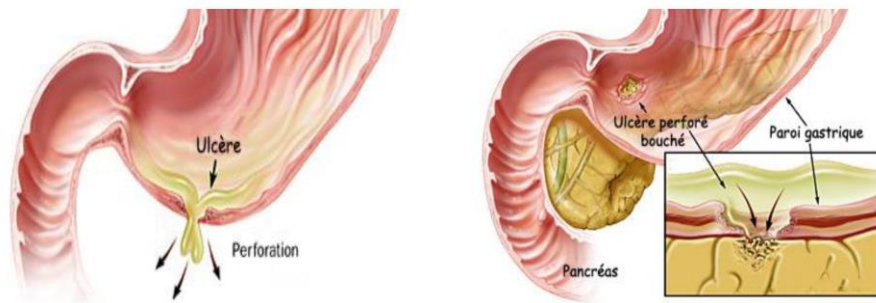


Figure 7 : Représentation schématique d'un ulcère perforé et d'un ulcère perforé-bouché (Davion, 2017).

1.5.4.4. Sténoses pyloro-bulbaires

La sténose complique plutôt les gastrites chroniques. Le signe clinique important de la sténose est une régurgitation postprandiale retardée, souvent précédée d'une épigastralgie et soulagée par une vidange gastrique. Ces vomissements deviennent de plus en plus espacés et volumineux (Silvain *et al.*, 2004). Le traitement consistera en une dilatation par ballonnet, comme illustré dans la figure ci-dessous (Figure 8).

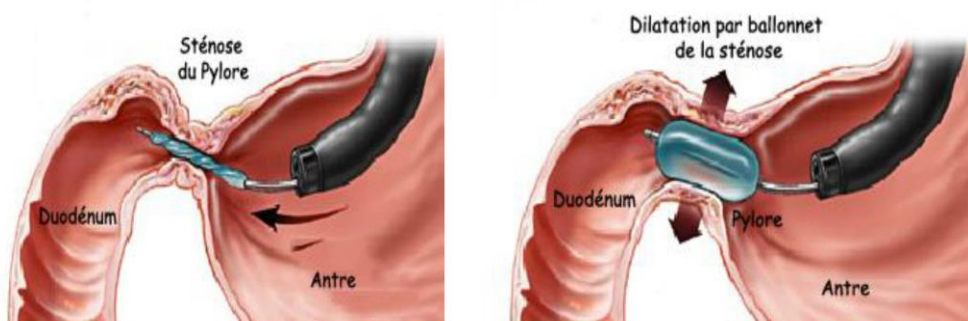


Figure 8 : Représentation schématique de la dilatation par ballonnet d'une sténose ulcéreuse (Davion, 2017).

1.5.4.5. Cancérisation

Cette complication des gastrites chroniques concerne uniquement l'ulcère gastrique (Fischbach *et al.*, 2005). Aucun symptôme ne peut le prédire, ce qui nécessite une constante surveillance histologique et endoscopique de tous les ulcères gastriques.

Grâce à des biopsies systématiques réalisées aux abords de la lésion, il est désormais possible de diagnostiquer un cancer avant une intervention chirurgicale. Le diagnostic est évoqué principalement dans le cancer gastrique ulcéreux (Bretagne, 2003). L'aspect classique est une tumeur ulcéreuse naissante, généralement volumineuse, avec des bordures surélevées (Delchier *et al.*, 2014).

1.5.5. Traitement des gastrites chroniques

1.5.5.1. Traitement en médecine moderne.

Le traitement médical a pour but de renforcer les défenses naturelles de la muqueuse gastroduodénale, de réduire l'agression due à l'acide chlorhydrique en le neutralisant avec des médicaments antiacides, ou en diminuant son volume par des antisécrétoires. A cela s'ajoute l'éradication de *Helicobacter pylori* (Bouyssou, 2014).

Le traitement de la gastrite chronique nécessite l'utilisation de plusieurs médicaments en association. Il s'agit d'une part, des antibiotiques dont les plus couramment utilisés sont : l'amoxicilline, la clarithromycine, la roxithromycine, le métronidazole, les tétracyclines et le rifabutine (Bouyssou, 2014), et d'autre part, les anti-acides (le bicarbonate de soude ; le carbonate basique de magnésium ; la magnésie calcinée) et les antisécrétoires. Les antisécrétoires regroupent les anti-histaminiques (la Cimétidine, la Ranitidine, la Famotidine) et les inhibiteurs de la pompe à protons (l'oméprazole, lansoprazole) (Bouyssou, 2014).

La thérapie de la sténose comprend la remédiation des déséquilibres hydriques et électrolytiques, l'évacuation gastrique et le traitement de l'ulcère gastroduodénal (Silvain *et al.*, 2004).

1.5.5.2. Contribution de la phytothérapie

Pour traiter les gastrites chroniques compliquées, on a généralement recours au traitement phytothérapeutique mais qui n'est pas dénué d'effets indésirables. La phytothérapie a considérablement évolué ces dernières années, et attire de plus en plus de personnes.

En médecine traditionnelle, plusieurs plantes sont utilisées dans le traitement des gastrites chroniques. Quelques unes sont énumérées dans le Tableau V.

Au Mali, le Département de Médecine Traditionnelle a élaboré deux Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) contre les troubles gastrites dont l'ulcère gastroduodénal. Il s'agit de « Gastrosédal » à base de racines de *Vernonia kotschyana* (Asteraceae) et le

« Calmogastry » élaboré à partir d'écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* (Combrétacées) (Germano *et al.*, 1996).

Tableau V : Quelques plantes utilisées dans le traitement de gastrites chroniques (Keita, 2004).

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Références
<i>Vernonia kotschyana</i> Sch. Bip.	Asteraceae	Racines	Germano <i>et al.</i> , 1996
<i>Trichilia emetica</i> Vahl	Méliaceae	Ecorces de tige	Diallo, 2000
<i>Nauclea latifolia</i> Sm	Rubiaceae	Ecorces du tronc	Adjanooun <i>et al.</i> , 1973
<i>Acorus calamus</i> L.	Arecaceae	Rhizomes	Rafatullah <i>et al.</i> , 1994
<i>Tamarindus indica</i> L.	Césalpiniaceae	Ecorces tige	Aké <i>et al.</i> , 1978
<i>Bergenia ciliata</i> Sternb.	Saxifragaceae	Rhizome	Kakub & Gulfraz, 2007
<i>Opilia celtidifolia</i> (Guill. & Perr.) Endl	Opiliaceae	Feuilles	Togola <i>et al.</i> , 2014
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae	Rhizome	Ari <i>et al.</i> , 2017
<i>Tristemma mauritianum</i> J. F. Gmel	Melastomaceae	Feuilles	Razafindramanana <i>et al.</i> , 2020
<i>Macaranga Barteri</i> Müll. Agr.	Euphorbiaceae	Feuilles	Ehile <i>et al.</i> , 2021

1.6. DOULEUR

1.6.1. Définition

La douleur se définit comme un phénomène complexe, subjectif et multidimensionnel, dont l'objectif principal est de prévenir l'organisme d'un danger potentiel. Elle agit ainsi en véritable système d'alarme et appelle à la vigilance de l'individu (Béthoux & Calmels, 2012).

1.6.2. Voies de transmission

L'information nerveuse prend naissance au niveau des récepteurs de la douleur qui sont localisés au niveau cutané, musculaire, articulaire et des viscères. Cette information arrive à la moelle épinière par l'intermédiaire des neurones sensitifs pour être acheminée vers le cerveau (Bernard & Villanueva, 2009).

1.6.3. Classifications

De nombreuses classifications ont été proposées au fil du temps. Deux ont retenu notre attention du fait de leur reconnaissance officielle par les experts dans le domaine musculo-squelettique et de leur facilité de compréhension.

Les douleurs dites aiguës ou normales comprennent les douleurs nociceptives, les douleurs neuropathiques (système somatosensoriel) et les douleurs dysfonctionnelles (Système nerveux central) (Smart *et al.*, 2011). Il s'agit de sensations d'inconfort en réponse à des lésions tissulaires, dont elle suit le développement. Elle est de manifestation nouvelle, transitoire, mais peut se poursuivre au cours du développement naturel de l'atteinte tissulaire. En général, la douleur aiguë, contrairement à la douleur chronique, persiste au plus 30 jours après le temps normal de guérison.

Les douleurs dites chroniques sont des douleurs qui persistent ou récidivent pendant plus de 3 mois, qui persistent plus d'un mois après guérison d'une lésion tissulaire aiguë ou qui sont associées à une lésion qui ne guérit pas. Elles peuvent être due à des troubles chroniques (cancer, arthrite, diabète), à des traumatismes (hernie discale, ligament déchiré), et à de nombreux syndromes douloureux primaires (douleur neuropathique, fibromyalgie, céphalée chronique) (Béthoux & Calmels, 2012).

1.6.4. Traitement

Le traitement des douleurs nécessite l'utilisation des antalgiques ou analgésiques qui sont des substances ou des médicaments qui bloquent la perception des sensations douloureuses. En fonction de l'intensité de la douleur, l'OMS distingue les antalgiques non opioïdes, les antalgiques opioïdes faibles et les antalgiques opioïdes forts pour calmer les douleurs (Moisset *et al.*, 2016).

1.7. CICATRISATION

1.7.1. Définition

Le processus de cicatrisation est un phénomène complexe de régénération grâce auquel sont réparées les lésions des tissus et des organes. Il se déroule en 4 phases suite à une lésion cutanée, qui sont exposées dans la Figure 9. Le processus comporte tout d'abord une phase vasculaire, suivi d'une phase inflammatoire. On observe ensuite, une période de réparation tissulaire et enfin, une période de maturation de l'épithélium cutané. Ces 4 temps sont imbriqués les uns dans les autres et se mêlent au cours du temps. Il est nécessaire aussi bien sur une plaie aiguë à la suite d'un traumatisme, que sur une plaie chronique où l'on voit apparaître un retard de cicatrisation (Bédane & CEDEF, 2015).

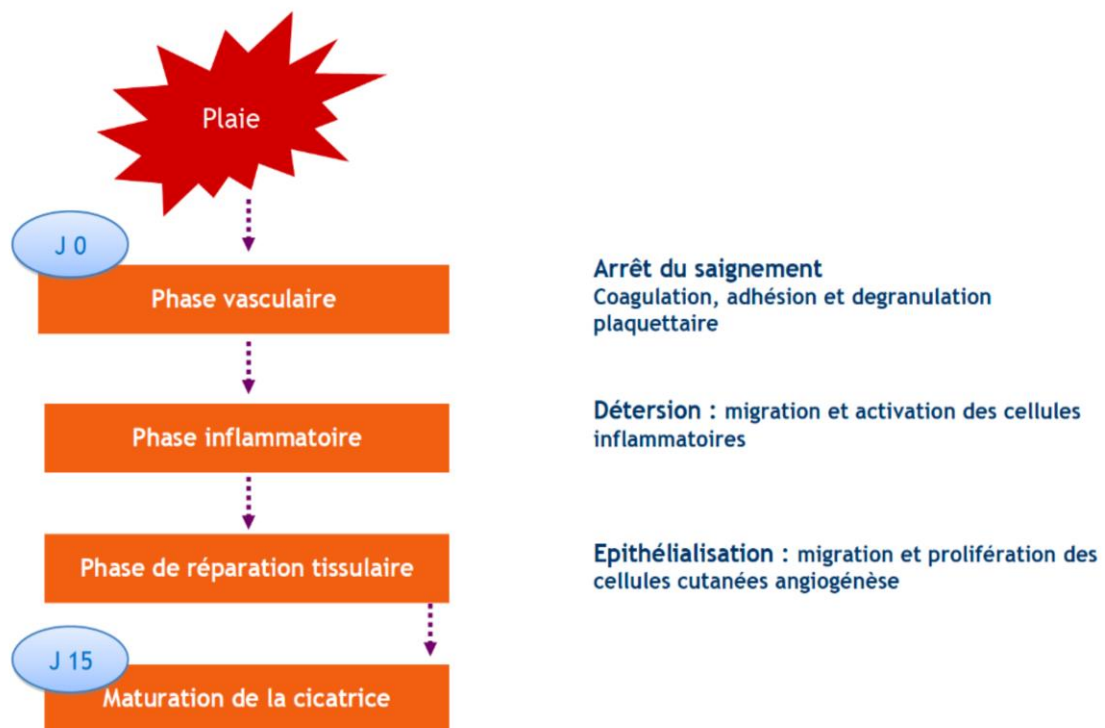


Figure 9 : Schéma des 4 étapes de la cicatrisation cutanée (Florent, 2021)

1.7.2. Physiologie de la cicatrisation

1.7.2.1. La phase vasculaire

Elle représente le tout premier élément clinique du processus de cicatrisation. Elle correspond au saignement associé au traumatisme et à la mise en place des capacités de coagulation de l'organisme. Un phénomène de vasoconstriction y est tout d'abord présent dans le but de préserver l'hémostase immédiate. La lésion du sous-endothélium vasculaire provoque une adhérence plaquettaire au niveau de la lésion médiée par le facteur de Willebrand. Ce dernier permet d'activer les plaquettes afin de former un thrombus plaquettaire bouchant la

brèche et de libérer le contenu de leurs granules de sécrétion : libération de thrombospondine, fibronectine, facteur plaquettaire (Patricia *et al.*, 2000). Des protéines apportées par le sang sont également sécrétées, à savoir le fibrinogène, la fibronectine, la thrombospondine, la thrombine et le facteur de Willebrand qui sont à l'origine de la formation d'un thrombus (Patricia *et al.*, 2000 ; Bédane & CEDEF, 2015).

1.7.2.2. Phase inflammatoire

Elle permet une détersion de la plaie. Elle est constituée, tout d'abord d'une vasodilatation médiée par l'histamine, les anaphylatoxines (C3a et C5a) et les prostaglandines (PG). Cela permet donc de faire confluer l'ensemble des cellules circulantes vers le site de la plaie. Le recrutement de ces cellules est médié par différents éléments que sont les facteurs plaquettaires, les facteurs du complément, les produits d'altération de la fibrine ainsi que les peptides provenant des bactéries.

Les polynucléaires neutrophiles représentent la première population cellulaire recrutée au moment de cette phase inflammatoire. Ils permettent la libération d'enzymes protéolytiques à savoir, les élastases et les collagénases. Leur but étant de favoriser la confluence cellulaire au niveau de la plaie, de permettre la détersion des lésions ainsi que de limiter l'infection locale.

La seconde population cellulaire recrutée est constituée par les monocytes. Ces derniers se différencient en macrophages et adhèrent à la matrice néoformée. La différenciation des monocytes en macrophages permet d'avoir une détersion de la lésion afin d'éviter tout risque infectieux. Ils jouent également un rôle dans le remodelage de la matrice extracellulaire. Une sécrétion de différentes cytokines est également associée à la population monocyttaire pour favoriser le remodelage.

Le procès inflammatoire varie au cours du temps. Tout d'abord, une augmentation de la réponse inflammatoire est associée à la présence des macrophages puisqu'ils sont prédominants après 2 à 3 jours. Puis, cette inflammation laisse place à la prolifération fibroblastique qui devient majoritaire après 5 à 7 jours avec une accélération de la production de collagène et le développement de tissu de granulation (Patricia *et al.*, 2000 ; Bédane & CEDEF, 2015).

1.7.2.3. Phase de réparation tissulaire

C'est une période importante dans le processus de cicatrisation. Elle est divisée en 2 niveaux : à savoir la formation d'un tissu de granulation au niveau du derme et la migration des kératinocytes sur le tissu de granulation au niveau de l'épiderme.

En ce qui concerne le tissu de granulation dermique, sa constitution complexe nécessite différentes étapes dont la durée totale de reconstitution varie entre 10 et 15 jours. On observe tout d'abord une phase de prolifération fibroblastique. La migration des fibroblastes intervient

rapidement afin qu'ils arrivent au niveau de la plaie environ 48 heures après le traumatisme. Elle se fait par l'expression de récepteurs de surface de la famille des intégrines qui codent pour la fibronectine, la vitronectine et le collagène de type I. Les fibroblastes peuvent proliférer sous la dépendance de différentes cytokines. Il s'agit des cytokines de type $TNF\alpha$, $TGF\beta$, IGF-1, PDGF-BB et EGF (Epidermal growth factor).

Du fait de la prolifération fibroblastique, la matrice extracellulaire du derme doit se remodeler afin de faciliter la migration cellulaire. Cela conduit à la sécrétion d'enzymes protéolytiques telles que la métalloprotéinase qui est une collagénase et la métalloprotéinase 2 qui constitue une gélatinase (Bédane & CEDEF, 2015). Une fois cette première étape réalisée, les fibroblastes induisent la synthèse d'une nouvelle matrice extracellulaire. Elle est constituée de collagène de type III puis de type I, de fibronectine et de protéoglycanes, à savoir de l'acide hyaluronique, de la chondroïtine sulfate, du dermatan et des héparan sulfates. S'en suit après une étape d'angiogenèse afin de vasculariser le néo-tissu en formation et de lui fournir ses apports nécessaires. Elle se fait par la migration de cellules endothéliales issues de vaisseaux sanguins sains à proximité. Le phénomène cellulaire de migration est lié à l'hypoxie tissulaire locale au niveau de la plaie et à la dégradation de la matrice extracellulaire par les protéases.

Enfin, au moment de la fin de cette période de réparation tissulaire, certains fibroblastes se transforment en myofibroblastes. Ils possèdent ainsi une capacité de contraction qui va permettre de rapprocher les berges de la plaie et refermer cette dernière. L'ultime étape de cette phase est constituée par l'épithélialisation de la plaie. Les composants de la matrice : fibronectine, collagène de type I et IV et thrombospondine vont exprimer leurs récepteurs afin de permettre la migration des kératinocytes. Ils vont ensuite se multiplier et se différencier afin de reconstituer une nouvelle peau saine (Patricia *et al.*, 2000 ; Bédane & CEDEF, 2015).

1.7.2.4-Phase de maturation

Il s'agit de la phase terminale du processus de cicatrisation cutanée. Elle dure plusieurs mois après la fermeture de la plaie et permet à la matrice extracellulaire de se remodeler complètement. De ce fait, cette période mêle à la fois un processus inflammatoire et une phase de prolifération.

Le collagène, les fibres élastiques ainsi que les protéoglycanes prennent petit à petit la place de l'acide hyaluronique et de la fibronectine ; le nombre de fibroblastes diminue et le réseau vasculaire devient fonctionnel. On retrouve néanmoins une forte proportion de polynucléaires, de macrophages et de protéases. La cicatrice voit sa résistance augmentée progressivement par les fibres de collagène. Mais cette résistance varie en fonction de différents facteurs tels que l'âge, les forces de tension, la pression qui influencent la synthèse et

l'orientation des fibres de collagène. Néanmoins, la résistance de la peau au niveau de la cicatrice n'atteint jamais celle de la peau normale, sans lésion. Cette phase dure environ 2 années (Patricia *et al.*, 2000 ; Bédane & CEDEF, 2015).

1.8. STRESS OXYDATIF

1.8.1. Définition et origine

Le stress oxydant est un état anormal que les tissus ou les cellules subissent parfois lorsqu'ils sont exposés à une production endogène ou exogène de pro-oxydants qui dépasse leur capacité antioxydante (Favier, 2003). Habituellement, la production des pro-oxydants est persistante mais faible (sous l'aspect d'intermédiaires tissulaires ou de résidus des transformations énergétiques ou des réactions de défense). Cette production physiologique est idéalement régulée par des systèmes de défense qui s'adaptent à la quantité de radicaux libres présents. Dans ces conditions normales, la balance antioxydant/prooxydant est dite équilibrée. Lorsque cela ne se produit pas, soit par manque d'antioxydants, soit par surproduction massive de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydatif » (Figure 10). Le stress oxydant peut résulter d'une défaillance des systèmes antioxydants protégeant notre organisme des effets néfastes des radicaux libres (Favier, 2006).

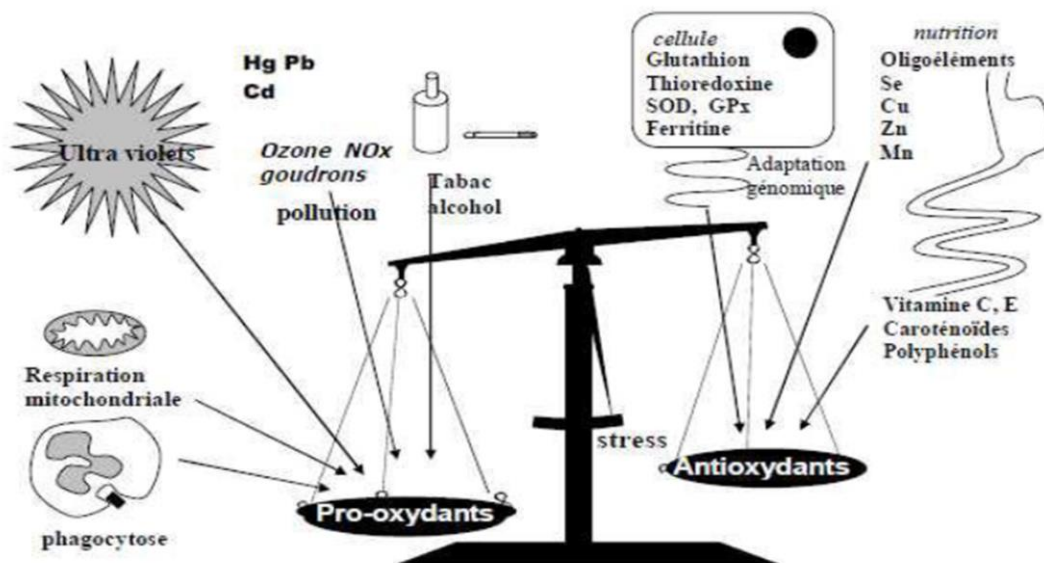


Figure 10 : Balance du stress oxydatif (Favier, 2006)

1.8.2. Physiologie des radicaux libres

Lorsque les radicaux libres sont maintenus à des concentrations faibles ou modérées, ils jouent plusieurs rôles bénéfiques pour l'organisme. Par exemple, ils sont nécessaires pour synthétiser certaines structures cellulaires et peuvent être utilisés par le système de défense de l'hôte pour lutter contre les agents pathogènes. En effet, les phagocytes synthétisent et stockent les radicaux libres afin de pouvoir les libérer lorsque des microbes pathogènes envahissants doivent être détruits. Les radicaux libres sont également impliqués dans un certain nombre de voies de signalisations cellulaires (Halliwell, 2007).

En résumé, lorsque les radicaux libres, sont maintenus à des niveaux faibles ou modérés, ils sont d'une importance cruciale pour la santé humaine.

1.8.3. Conséquences

Les effets du stress oxydatif varient considérablement en fonction de la dose et du genre cellulaire (Figure 11). Un stress léger augmente la prolifération cellulaire et l'expression des protéines d'adhésion ; un stress modéré favorise l'apoptose, tandis que des stress sévères induisent une nécrose et des stress violents perturbent la membrane, conduisant à une lyse instantanée (Dalle-Donne *et al.*, 2003).

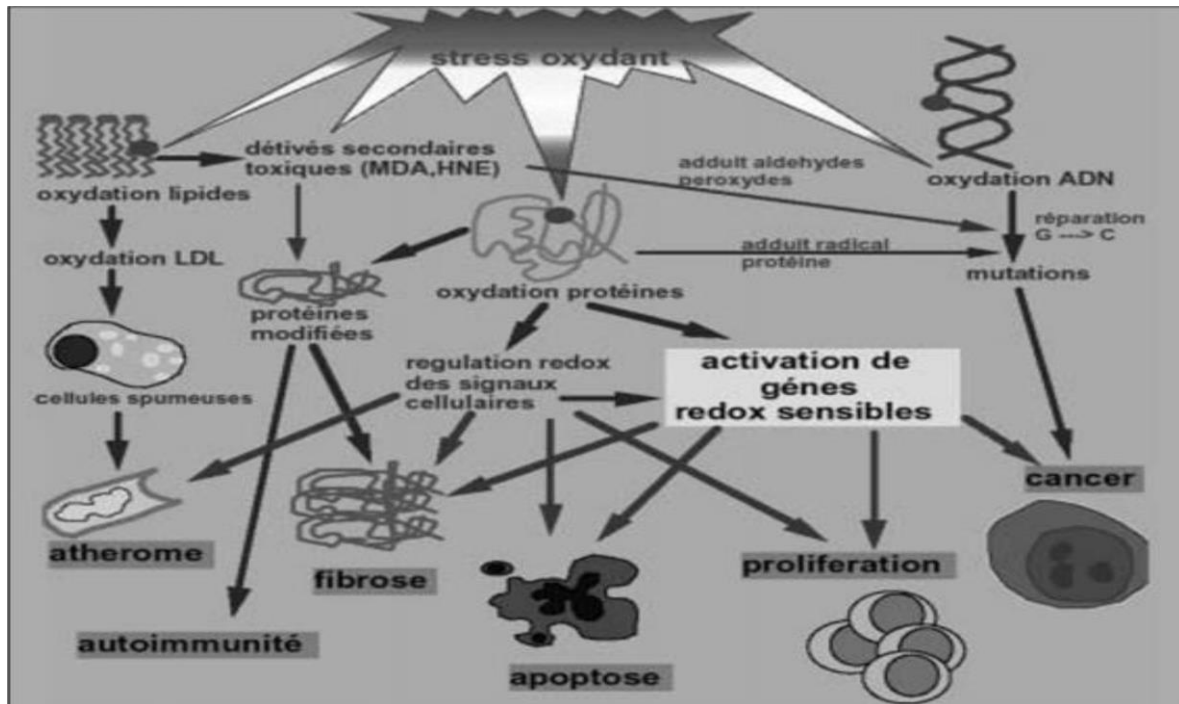


Figure 11 : Conséquences du stress oxydant (Favier, 2006)

1.8.4. Cibles biologiques

Les entités oxydantes étant très réactives, elles réagissent avec les premières molécules qu'elles rencontrent. Elles ont comme cibles les lipides, les acides nucléiques, les protéines et les sucres (Kohen & Nyska, 2002).

- Sur les lipides : les espèces réactives de l'oxygène (EROs) sont à l'origine de la peroxydation des lipides qui se traduit par rancissement. Le mécanisme radicalaire comporte trois étapes que sont l'initiation, la propagation et la terminaison (Daum-Badouard, 2006).
- Sur les acides nucléiques : les EROs induisent une oxydation des bases, une formation des sites abasiques, la formation d'adduits intracaténaux, des cassures des brins et des pontages d'ADN-protéines. Ces modifications peuvent conduire à des anomalies génétiques (Kong & Lin, 2010).
- Sur les protéines : les EROs oxydent les protéines avec rupture des liaisons peptidiques (Pisoschi & Pop, 2015). Il s'en suit plusieurs types de modifications : fragmentation de la protéine, oxydation des chaînes latérales des acides aminés et formation des liaisons croisées entre deux protéines (Bonnetfont-Rousselot *et al.*, 2001).
- Sur les sucres : en présence de métaux, les EROs oxydent le glucose avec libération des céto-aldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des anions superoxydes. Ils peuvent entraîner la coupure de protéines et leur glycation par attachement du céto-aldéhyde formant un dérivé de produit de glycation avancé (AGEs : Advanced Glycation End product) (Wolff *et al.*, 1989).
- Sur l'ADN : les EROs entraînent des dommages à l'ADN et conduisent à la mort cellulaire et au vieillissement (Saito *et al.*, 2015). Une abstraction d'hydrogène de l'ADN par le radical $OH^\bullet$ conduit à l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques. Ces actions représentent les modifications de l'ADN nucléaire et mitochondrial les plus courantes sous l'attaque des EROs (Kardeh *et al.*, 2014). L'une des dommages les plus courantes de l'ADN est l'oxydation de la guanine par le groupement radicalaire hydroxyle, qui forme la 8-hydroxyguanine. Ce dernier produit est considéré comme un marqueur de lésions nucléiques et de carcinogénèse (Pisoschi & Pop, 2015).

1.8.5. Pathologies occasionnées

Le stress oxydant est un phénomène impliqué dans maintes maladies. La variété des conséquences médicales ne doit pas surprendre, car ce stress sera, selon les cas, localisé à un tissu et à un type cellulaire particulier, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et s'associera avec d'autres facteurs pathogènes ou des anomalies génétiques spécifiques et

individuelles. Une production importante d'EROs joue un rôle dans la pathogénèse de nombreuses maladies. Les EROs sont impliqués dans la formation de lésions vasculaires, de l'athérosclérose, des maladies neurodégénératives, de la dystrophie musculaire, du vieillissement, mais aussi des cancers, de l'infarctus, du diabète et de l'hypertension (Pisoschi & Pop, 2015).

1.8.6. Antioxydants

Les antioxydants constituent un groupe de molécules qui peuvent directement empêcher la production, inhiber la reproduction ou anéantir les radicaux libres de l'oxygène. Ces antioxydants sont de natures diverses et agissent en synergie, soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène. Certains antioxydants piègeurs proviennent de l'alimentation comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), les caroténoïdes ou les polyphénols (Gobert *et al.*, 2009).

Il existe aussi des piègeurs endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle : le plus important d'entre eux est le « glutathion réduit » qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le monoxyde d'azote (NO) (Lyn, 2006).

D'autres composés endogènes jouent un rôle sans doute important mais encore mal évalué. Parmi ces composés, l'on peut citer les acides aminés (méthionine, taurine, glutamine, N-acetylcystéine) et l'acide alfa-lipoïque (Lyn, 2006 ; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). A ceux-là s'ajoutent les protéines comme la ferritine, l'albumine, la bilirubine qui ont aussi démontré une activité antioxydante (Duarte & Jones, 2007).

PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. MATERIEL

2.1.1. Cadre d'étude

Cette étude s'est déroulée d'avril 2021 à août 2023 sur différents sites :

- à Daloa (Côte d'Ivoire) :
 - au sein des locaux du Groupe d'Excellence de Recherche sur les Produits de la Pharmacopée Traditionnelle (GeRProPhaT) de l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG) pour la réalisation du profil pharmaco-toxicologique (activité antiulcéreuse, cicatrisante, activité antioxydante, effet analgésique et toxicité), la caractérisation phytochimique, la qualité microbiologique et la reformulation du remède en gélules.
 - au cabinet de l'ONG « le Daoutra » producteur du remède pour l'enquête ethnopharmacologique.
- à Abidjan, au Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole (LANADA) précisément :
 - le LCHAI (Laboratoire Central pour l'Hygiène Alimentaire et l'Agro-Industrie) pour la recherche des éléments traces métalliques (ETM).
 - le LCAE (Laboratoire Central d'Agrochimie et d'Eco-toxicologie) pour la recherche de résidus de pesticides.

2.1.2. Matériel végétal

Il est constitué du remède connu sous le nom commercial « DAOUTRA EPIGASTRO », produit par « ONG le Daoutra » (enregistré sous le N°0083/PA du 16 janvier 2020). Il est conditionné dans des bouteilles en plastique « 500 mL » du lot 0241 fabriqué le 19 /03/ 2021 (Figure 12). Ce remède traditionnel connu au Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle (PNPMT) est une solution aqueuse d'un mélange de cinq (5) espèces médicinales de la pharmacopée ivoirienne. Ces différentes espèces végétales ont fait l'objet d'une authentification par le Centre Nationale de Floristique (CNF) de l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB). Le nom de chaque espèce végétale et son numero d'herbier attribué au CNF sont récapitulés dans le Tableau VI.



Figure 12 : Remède « DAOUTRA EPIGASTRO » en flacon de 500 ml
(Photo Choho, 2022)

Tableau VI : Nom et numero d’herbier des espèces végétales entrant dans la composition du remède

Espèce végétale		
Nom scientifique	Famille	N° d’herbier
<i>Nauclea latifolia</i> Smith	Rubiaceae	UCJ001285
<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich	Annonaceae	UCJ001462
<i>Capsicum frutescens</i> L	Solanaceae	UCJ011000
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae	UCJ019001
<i>Cassia sieberiana</i> (DC.)	Fabaceae	UCJ016811

2.1.3. Matériel animal

Le matériel animal était constitué de :

- trente (30) souris *Mus musculus* de la famille des Muridés. Leur masse variaient de 20 à 30 g.
- et de cent cinquante-six (156) rats *Rattus norvegicus* de la souche Wistar de masse comprise entre 122 et 154,5 g. Tous les animaux (souris et rats) étaient âgés de 8 à 10 semaines. Ils ont été fournis par l'Unité d'Expérimentation Animale (UEA) de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire). Ces animaux ont été logés dans des cages en plastique et acclimatés dans les locaux du GerProPhaT

pendant une semaine dans les conditions standards d'expérimentation animale (température ambiante ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), humidité relative ($70\text{ } \% \pm 5\text{ } \%$), cycle lumière-obscurité de 12 h) et nourris avec des granulés fournis par IVOGRAIN (Filiale de la Société Ivoirienne de Productions Animales (SIPRA), spécialisée dans la nutrition animale en Côte d'Ivoire).

2.1.4. Matériel chimique

Plusieurs produits chimiques et réactifs ont été utilisés pour réaliser les expériences. Ce sont :

- des réactifs de dosage des paramètres hématologiques et biochimiques, une solution d'hématoxyline-éosine et du formol à 10 % pour l'étude de la toxicité et la réalisation des coupes histologiques.
- l'éthanol 90 % (VWR CHEMICALS, France), le NaCl à 0,9 % (solution physiologique), l'omeprazole et la cimétidine dans le cadre de l'étude de l'activité antiulcéreuse.
- l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS), le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH), l'acide ascorbique et l'acide gallique utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante ont été fournis par Sigma Aldrich, Allemagne.
- l'acide acétique a été utilisé pour déclencher la douleur ; le L-mesitran, La morphine, l'aspirine et la kétamine/diazépam ont été utilisés pour les tests d'activités analgésique et cicatrisante.
- des milieux de culture : de l'eau peptonée tamponnée (EPT), les milieux PCA, VRBL, Sabouraud + Chloramphénicol, Rappaport Vassiliadis (RV), les géloses Mac Conkey + Céfotaxime Bile-Esculine Azide et Hektoen pour le contrôle qualité microbiologique.
- et des réactifs de caractérisation qualitative et quantitative des métabolites secondaires fournis par Sigma Aldrich (Allemagne).

2.1.5. Matériel technique

Pour la réalisation de cette étude, les équipements, ci-après, ont été utilisés.

- Une étuve (BUCHI[®], Allemagne), une balance de précision (Denver instrument SI-602[®], Allemagne), un agitateur magnétique (Agimatic-N[®], Espagne) dans le cadre de la préparation des extraits secs du remède.
- Une centrifugeuse JOUAN[®] BR4i (JOUAN GmbH, Allemagne) et deux automates (Cabas[®] U411, Suisse ; CYANHemato-Socimed[®], Belgique) ont servi aux dosages des paramètres biochimiques et hématologiques au cours de l'étude de la toxicité.
- Une sonde de gavage pour l'administration des différentes doses aux rats et aux souris.

- Une manche et des lames de bistouri, une paire de ciseaux, des écarteurs, une sonde cannelée, des pinces, une plaque de contention pour le prélèvement du sang et des organes chez les rats.
- Un autoclave (SOC-AUTO18L[®], France), un bain marie et un incubateur (REVCO[®] MIDI4 ; Belgique) ont été utilisés au cours des tests de contrôle qualité microbiologique
- Une chaîne HPLC (Shimadzu[®], Japon), un spectrophotomètre UV visible (JENWAY 7315[®], Royaume-Uni), un four à micro onde et un spectrophotomètre d'absorption atomique de type spectr AA 20[®] (Varian Techtron, Springvale, Australie) ont servi aux contrôles qualités chimiques.
- Et enfin, la verrerie usuelle de laboratoire a été utilisée dans les différentes manipulations.

2.2. METHODES

2.2.1. Préparation du résidu sec du remède

2.2.1.1. Obtention du résidu sec du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »

La solution aqueuse du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » a été répartie dans des assiettes en porcelaine stérilisées puis séchée à l'étuve pendant 72 heures à 55 °C. L'extrait sec obtenu a été récupéré dans des flacons puis stocké pour des utilisations ultérieures (Fatto, 2017).

2.2.1.2. Détermination de la concentration en matière sèche du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » dans un verre de thé

Selon la prescription du producteur du remède « DAOUTRA EPIGASTRO », un verre de thé du remède correspondant à 62,5 mL a été introduit dans un bécher préalablement pesé puis séché à sec à l'étuve. Après séchage, le bécher contenant l'extrait sec est pesé et la masse du résidu sec est calculée en faisant la différence entre les masses du bécher après séchage et du bécher à vide.

La concentration est déterminée selon la formule ci-dessous (Fatto, 2017) ;

$$C = \frac{\text{Masse résidu sec}}{\text{Volume séché}}$$

C = concentration en matière sèche du remède

Masse bécher vide = 111,720 g

Masse bécher plus le résidu sec après séchage = 112,063 g

Masse résidu sec = 112,063 - 111,720 = 0,343 g

Masse résidu sec = 0,343 g

C = 0,343 g/62,5 mL

C = 0,005488 g/mL soit 5,488 mg/mL ou 5,488 g/L

2.2.1.3. Détermination de la Dose Journalière Maximale (DJM) fixée par le thérapeute

La posologie prescrite par le producteur du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » est de 01 verre à thé deux fois par jour pour un adulte.

Cette posologie correspond ainsi pour un adulte de 70 kg à une dose maximale de deux (2) verres à thé, soit 125 mL par jour. Sachant que le remède a une concentration C = 5,488 mg/mL, la quantité de matière consommée par un adulte est calculée selon la formule :

$$P = 125 \times C$$

P = 125 x 5,488

P = 686 mg

La Dose Journalière Maximale (DJM) est alors de 686 mg/jour ou 0,686 g/jour de résidu sec. Cette dose rapportée à un adulte de 70 kg correspond à 9,8 mg/kg $\approx$ 10 mg/kg de poids corporel (pc).

2.2.2. Enquête Ethnopharmacologique

Cette enquête a été réalisée selon la méthode d'observation participante sur une période de 30 jours telle que décrite par Doa en 2016. Elle a consisté d'une part, à un entretien individuel semi-directif avec M. TRAORE Aboubakar, concepteur du remède « DAOUTRA EPIGASTRO », et d'autre part, avec les patients dans le cadre du suivi de leur traitement.

Avec le concepteur du médicament, les préoccupations relatives à l'aspect socioprofessionnel, aux données ethnobotanique et ethnopharmacologique ont été abordées et consignées dans la fiche d'enquête (Annexe 2).

Avec les patients (n = 30), l'enquête s'est intéressée aux données sociodémographiques, à la description des troubles et aux effets pendant et après le traitement. Dans cette étude, il a été pris en compte que les patients souffrant de troubles gastriques non polymédiqués.

2.2.3. Tests d'évaluation de l'innocuité

2.2.3.1. Test de toxicité aiguë

2.2.3.1.1. Conditionnement des animaux

L'expérimentation a été conduite suivant la ligne directrice de l'OCDE 423 (OCDE, 2001).

Des rats femelles de souche Wistar, âgés de 8 à 10 semaines et de poids compris entre 122 et 154,5 g ont été repartis en 6 rates par cage, et acclimatées dans les locaux du GerProPhaT pendant une semaine dans des conditions standards d'expérimentation animale.

2.2.3.1.2. Préparation et administration des doses aux animaux

Au total, 12 rats femelles nullipares et non gravides, ont été pesés avant l'expérience et divisés en 4 lots homogènes en poids moyen (n = 3 rates). Chaque lot a reçu un traitement spécifique de "DAOUTRA EPIGASTRO" sous la forme d'une dose orale unique de 500 mg/kg pc (lot A), 1000 mg/kg pc (lot B) et 3000 mg/kg pc (lot C) en raison de 1 mL/100 g pc et le dernier lot (lot D) ayant reçu de l'eau distillée (1 mL/100 g pc) a servi de contrôle.

Les animaux traités ont ensuite été observés à 10 min, 30 min, 60 min et 120 min, puis à 4 heures et 6 heures au cours de la première journée. Puis, l'observation s'est poursuivie quotidiennement pendant 14 jours tout en hydratant et alimentant les rats.

Au cours de l'expérimentation, les signes cliniques d'intoxication incluant des effets sur la locomotion (agitation, diminution de l'activité et somnolence), la respiration, la salivation, le

larmoiement, la diarrhée, le refus de s'alimenter, le coma et la mort ont été observés. Pendant la durée d'observation, le poids des rats a été relevé au 1^{er} jour (j₀), au septième jour (j₇) et au quatorzième jour (j₁₄). Les quantités d'eau consommée et de nourriture ont été aussi relevées.

2.2.3.2. Test de toxicité subaiguë

2.2.3.2.1. Préparation et administration des doses aux animaux

L'étude a été conduite suivant la ligne directrice 407 de l'OCDE (OCDE, 2008).

Au total, 24 rats albinos de souche Wistar préalablement pesés, ont été répartis en 4 lots homogènes constitués de 3 mâles et 3 femelles. Les lots expérimentaux 1, 2 et 3 ont reçu une dose orale quotidienne unique de 300 mg/kg pc, 500 mg/kg pc et 1000 mg/kg pc respectivement, tandis que le témoin (lot 4) a reçu quotidiennement 1 mL/100 g pc d'eau distillée pendant 28 jours. Pendant toute l'expérimentation, les rats ont eu un libre accès à la nourriture et à l'eau distillée. Les rats traités ont été observés quotidiennement et leur poids a été enregistré tous les 7 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation (28 jours).

2.2.3.2.2. Prélèvement du sang et des organes

À la fin de la période de traitement, les rats ont été anesthésiés par inhalation d'éther Cooper. Des échantillons de sang ont ensuite été prélevés après avoir sacrifié les rats.

Le sang a été prélevé dans deux tubes avec ou sans pro-coagulant (facilitant la formation du sérum) pour les analyses hématologiques et biochimiques. Les tubes contenant le pro-coagulant ont été centrifugés à 4000 rpm pendant 5 min et le sérum obtenu a été conservé à 20 °C pour les analyses biochimiques (Manda *et al.*, 2017). Les paramètres ont été mesurés à l'aide de systèmes automatisés (Cabas[®] U411 et CYANHemato-Socimed[®]) d'analyse biochimique et hématologique respectivement.

En outre, à l'issue d'une autopsie de tous les rats, les cœurs, les foies et les reins ont été isolés, pesés puis conservés dans du formol à 10 % pour une analyse histologique. Le poids relatif de chaque organe a été calculé à l'aide de la formule ci-dessous (Etame *et al.*, 2017) :

$$P_r = \frac{P_o}{P_a} \times 100$$

Pr : Poids relatif de l'organe (g/100 g)

Po : Poids de l'organe (g)

Pa : Poids corporel du rat (g)

2.2.3.2.3. Détermination des paramètres biochimiques et hématologiques

Les concentrations de créatinine, d'urée, d'alanine aminotransférase (ALAT), d'aspartate aminotransférase (ASAT), les paramètres lipidiques et ioniques ont été déterminés à l'aide d'un automate biochimique. Les paramètres hématologiques tels que les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), l'hématocrite (HCT), l'hémoglobine (HGB), les plaquettes (PLT), le volume globulaire moyen (VGM), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) ont été déterminés à l'aide d'un automate hématologique.

2.2.3.2.4. Analyse des coupes histologiques

Après déshydratation des organes sélectionnés, ceux-ci ont été inclus dans la cire de paraffine pour être sectionnés à 5 μm d'épaisseur, et colorés pour l'évaluation histologique en utilisant les colorants " Eosine "et " hématoxyline ". L'observation histologique dans cette étude a été réalisée à l'aide d'un microscope optique muni d'une caméra (Ouahchia *et al.*, 2017) et des photos ont été prises. Un anatomopathologiste expérimenté qui ne connaissait pas les groupes expérimentaux auxquels la section appartenait a effectué l'analyse.

2.2.4. Evaluation de la qualité du remède

2.2.4.1. Contrôle qualité microbiologique du remède

Le contrôle qualité microbiologique du remède a été effectuée sur ses formes solution aqueuse et résidu sec.

2.2.4.1.1. Dénombrement des germes d'intérêt

Ce contrôle a consisté à dénombrer les germes dont la quantité élevée pour certains ou la seule présence pour d'autres rendrait le remède impropre à la consommation. La recherche s'est faite sur les milieux spécifiques des germes recherchés (Ph Eu, 2020).

- **Préparation de la solution mère (SM) et des dilutions décimales**

Vingt-cinq (25) mL de la solution aqueuse ou une masse de 25 g du résidu sec du remède à analyser ont été prélevées aseptiquement et ajoutées à 225 mL d'eau peptonée tamponnée (EPT) stérile et homogénéisé pendant 2 min afin d'obtenir la solution mère (SM).

Une série de dilutions décimales ont été effectuées : en effet, 1 mL de la SM a été prélevé et ajouté à 9 mL d'eau peptonée tamponnée (EPT) afin d'avoir une dilution de 10^{-1} ; puis des dilutions successives décimales ont permis d'avoir des dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} .

- **Dénombrement de la flore mésophiles aérobies totale**

Un volume de 1 mL de chacune des dilutions a été prélevé puis déposé dans des boîtes de pétri stériles. Ensuite, 15 mL de gélose Plate Count Agar (PCA) en surfusion (45 °C) ont été coulés dans les boîtes de pétri dans des conditions aseptiques. Des mouvements rotatifs des

boîtes de pétri ont été réalisés pour avoir une répartition homogène de l'échantillon. Après refroidissement et solidification, une seconde couche de gélose (10 mL) à été coulée. Les boîtes de pétri ont été retournées et incubées à 30 °C pendant 72 h.

- **Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux**

Un volume de 1 mL des dilutions précédentes a été déposé aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles. Puis, il y a été coulé 15 mL de la gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) en surfusion à 45 °C. Après refroidissement et solidification de la gélose, une deuxième couche de 4 mL environ du même milieu a été coulée. L'incubation a été faite après solidification de la deuxième couche, pendant 24 heures à 30 °C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux ou thermotolérants.

- **Dénombrement des levures et moisissures**

Un volume de 1 mL des dilutions précédentes a été déposé aseptiquement dans des boîtes de pétri stériles. Puis, 15 mL de gélose Sabouraud-chloramphénicol en surfusion à 45 °C y a été coulé. Ensuite, des mouvements rotatifs de la boîte de pétri ont été réalisés afin d'avoir une répartition homogène de l'échantillon. Les boîtes ont été par la suite fermées puis laissées sur une surface parfaitement horizontale jusqu'à solidification complète. Elles ont été ultérieurement incubées à 30 °C pendant 72 ou 120 heures.

- **Recherche de *Staphylococcus aureus***

Un volume de 0,1 mL de chaque dilution (10^{-2} , 10^{-3}) a été transféré aseptiquement dans les boîtes de pétri stériles contenant le milieu Baird Parker. Ensuite, à l'aide d'un râteau stérile, un étalement uniforme à la surface de la boîte de pétri a été réalisé. Par la suite, les boîtes de pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

- **Recherche des salmonelles**

Un pré-enrichissement consistant à favoriser la multiplication des germes a été effectué en incubant à 37 °C la solution mère pendant 24 heures. Puis, 0,1 mL de la solution mère a été introduit aseptiquement dans un tube contenant 10 mL de milieu Rappaport Vassiliadis (RV) contenu dans un tube et incubé à 37 °C pendant 24 heures (étape d'enrichissement). Ensuite, à l'aide d'une anse de platine stérile, une quantité de la solution enrichie est prélevée et ensemencée (étalement par stries) dans une boîte de pétri préalablement coulée à la gélose Hektoen. Les boîtes ont été par la suite incubées à 37 °C puis observés après 24 h (lecture).

- **Recherche de *Escherichia coli* :**

La solution mère a été pré-enrichie par incubation à 37 °C pendant 22 h. La culture pré-enrichie de la veille a été homogénéisée avec soins. Puis, 1 mL de l'homogénéisat est

ensemencé dans 100 mL sur gélosée au MacConkey + Céfotaxime. Des subcultures ont été également effectuées sur gélosé de MacConkey+ Céfotaxime. Par la suite, les différentes boîtes de pétri ont été incubées à 44 °C pendant 48 h. L'apparition de colonies rouges indique la présence possible de *E. Coli*. L'identification a été faite par les méthodes biochimiques classiques (ajout de quelques gouttes d'eau oxygénée (H₂O₂), si présence de bulles de gaz : catalase positive).

2.2.4.1.2. Expression des résultats

Selon la norme AFNOR (2001), ont été retenues, les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 30 et 300. Le nombre de microorganismes présents dans un échantillon de produit donné s'obtient par la formule suivante selon la norme NF ISO 7954, AFNOR (2001).

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{V \times d_1 \times (n_1 + 0,1n_2)} \quad (\text{germes/mL ou g})$$

- germes/mL pour la solution aqueuse
- germes/g pour le résidu sec

N : Nombre d'unités formant colonie (UFC) par gramme ou par millilitre de produit initial

Σ colonies : Somme des colonies au niveau des deux dilutions successives considérées

d_1 : Facteur de la première dilution considérée

V : Volume de l'inoculum

n_1 : Nombre de boîtes considéré à la première dilution

n_2 : Nombre de boîtes considéré à la deuxième dilution.

Par la suite, le nombre de germes par millilitre ou par gramme d'échantillon a été calculé pour chaque germe recherché. Puis, la valeur obtenue a été comparée à la référence normative des critères microbiologiques des médicaments à base de plantes de la pharmacopée européenne (Ph Eu, 2020).

2.2.4.2. Recherche des éléments traces métalliques

2.2.4.2.1. Minéralisation et dosage des éléments traces métalliques

La méthode AOAC 999.10 (AOAC, 2003) a été employée pour la recherche et la quantification des éléments traces métalliques (ETM) dans le remède.

La minéralisation a été réalisée à partir 0,5 g de résidu sec du remède, auquel a été ajouté 5 mL d'acide nitrique (65 % V/V) et 2 mL d'eau oxygénée 30 %. Le mélange a été porté au four à micro-onde à 200 °C pendant 45 minutes. Le minéralisat obtenu a été rincé avec 10 mL d'eau distillée, puis filtré pour éliminer les particules en suspension. Le rinçage a été poursuivi à l'eau distillée qui a été récupérée à chaque fois jusqu'au trait de jauge d'une fiole de 25 mL (Mathias *et al.*, 2014).

Le dosage des ETM a été réalisé par la technique de la spectrométrie d'absorption atomique (S.A.A). Il a consisté à régler préalablement l'appareil suivant la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de chaque élément à analyser. Par la suite, 10 mL du filtrat ont été pulvérisés à l'intérieur de l'appareil dans une flamme produite par un mélange gazeux, et les concentrations ont été affichées à l'écran de l'équipement (AOAC, 2003 ; Mathias *et al.*, 2014).

2.2.4.2.2. Calcul des concentrations maximales permises (CMP)

L'Exposition Journalière Admissible (EJA) exprimée en $\mu\text{g}/\text{jour}$ est la quantité maximale d'un ETM qui peut être absorbée par un individu de 50 kg sans que cela ne provoque des effets indésirables ou toxiques. C'est à partir de cette EJA que vont être déterminées les spécifications seuils qui permettront de savoir si le produit analysé contient une teneur conforme ou non en un ETM donné.

Ainsi, la Concentration Maximale Permise (CMP) d'un ETM est la quantité maximale de cet élément pouvant être présente (exprimée en $\mu\text{g}/\text{g}$) dans le produit fini (médicament) sans que cela n'entraîne de risque sanitaire chez le patient qui en consomme (ICH, 2014). Cette CMP est calculée selon la relation ci-dessous.

$$\text{CMP} = \frac{\text{EJA}}{\text{DJM du médicament}}$$

CMP : Concentration Maximale Permise ($\mu\text{g}/\text{g}$)

EJA : Exposition Journalière Admissible ($\mu\text{g}/\text{j}$)

DJM : Dose Journalière Maximale du médicament ($\mu\text{g}/\text{jour}$)

2.2.4.2.3. Evaluation du niveau de risque

Cette étape a consisté à comparer les données analytiques issues de l'étape précédente (concentrations déterminées) avec les CMP calculées.

Selon la directive ICHQ3D, cette comparaison a été faite en fonction de deux (2) spécifications seuils dont l'une est à 30 % et l'autre à 100 % de la CMP. Ainsi, le seuil à 30 % (seuil de contrôle) correspond à $0,3 \times \text{CMP}$ et le seuil à 100 % à $1 \times \text{CMP}$.

Un médicament est jugé conforme selon la directive ICHQ3D si sa teneur en chacun des éléments traces métalliques recherchés est inférieure au seuil à 30 % (ICH, 2014).

2.2.4.3. Recherche des résidus de pesticides

2.2.4.3.1. Extraction et purification des résidus de pesticides

L'extraction des résidus de pesticides dans le résidu sec du remède a été réalisée à l'aide de la méthode d'extraction QuEChERS, acronyme anglais de « quick, easy, cheap, effective, rugged & safe » (Wilkowska *et al.*, 2011).

Une quantité de 25 g de résidu sec du remède a été introduit dans un tube à centrifuger de 50 mL dans lequel 12 mL d'acétonitrile contenant à 1 % d'acide acétique ont été ajoutés. Le tube a été agité au vortex à 3500 tr/min pendant une minute. Ensuite, un mélange de sulfate de magnésium (MgSO₄) et de chlorure de sodium (NaCl) est ajouté pour permettre une bonne séparation des phases aqueuses et organiques. Puis, le tube est à nouveau agité pendant une minute au vortex (à 3500 tr/min pendant une minute). Enfin, 600 µL du surnageant ont été transférés dans un flacon de 2 ML, puis complétés avec 600 µL de tampon formiate, et le tout a été homogénéisé au vortex comme précédemment.

2.2.4.3.2. Séparation et dosage

La séparation et le dosage des différentes molécules ont été réalisés par injection de 2 µL du mélange dans un système chromatographique en phase liquide à haute performance (HPLC), utilisant une colonne apolaire de type Ultra Aqueous C18 (RESTEK®) (100 mm de longueur et 2,1 mm de diamètre). Le HPLC a été réglé selon les paramètres suivants : volume d'injection (10 µL), débit gaz vecteur (Dihydrogène) (1 mL/min), température de l'injecteur (220 °C), température du four (isotherme à 100 °C), longueur d'onde (205 nm), temps final d'analyse (89 min) (Yiwei *et al.*, 2013).

2.2.5. Evaluation de l'efficacité du remède

2.2.5.1. Evaluation de l'activité antiulcéreuse du remède

2.2.5.1.1. Etude de l'activité gastroprotectrice du remède

2.2.5.1.1.1. Préparation des animaux et administration des solutions

La méthode utilisée est celle de Togola *et al.* (2014) ; elle consiste à gaver les animaux avec de l'éthanol à 90 % (solution ulcérogène) à raison de 0,5 mL/100 g pc une (01) heure après leur avoir administré le remède et les antiulcéreux de référence (cimétidine et l'omeprazole). Les animaux ont été soumis à une diète hydrique de 24 heures avant le début de l'expérience.

Huit (8) lots de 6 rats (mâles et femelles) homogènes en poids chacun ont été constitués. Le lot I ayant servi de témoin n'a reçu que l'éthanol 90 %. Les lots II, III, IV, V et VI ont reçu les extraits secs du remède aux doses de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg respectivement. Par contre, le lot VII a reçu la cimétidine et le lot VIII a reçu l'omeprazole aux

doses de 50 mg/kg pc. Toutes les substances ont été administrées par voie orale à raison de 1 mL/100 g.

2.2.5.1.1.2. Prélèvement des estomacs et cotation des ulcérations

Une heure après l'administration de l'éthanol, les animaux des différents lots ont été sacrifiés. Puis, les estomacs ont été prélevés et ouverts suivant la grande courbure, lavés et rincés sous un jet d'eau avant d'être étalés dans une boîte de pétri. Par la suite, la muqueuse gastrique de chaque estomac a été examinée à l'aide d'une loupe pour apprécier les ulcérations. La longueur de chaque ulcère a été mesurée à l'aide d'une règle graduée en mm.

Le nombre et la gravité des ulcères ont été déterminés selon une échelle de points de 0 à 6 :

0 = pas de lésion ; 1 = 1 à 3 petites lésions ≤ 10 mm ; 2 = 1 à 3 larges lésions ≥ 10 mm ; 3 = 1 à 3 lésions épaisses ; 4 = plus de 3 petites lésions ; 5 = plus de 3 larges lésions ; 6 = plus de 3 lésions épaisses.

L'indice d'ulcère (IU) de chaque estomac a été exprimé comme la somme des points ; le pourcentage de protection (PP) a été calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante (Togola *et al.*, 2014) :

$$PP \text{ (traité)} = \frac{IU \text{ témoin} - UI \text{ traité}}{IU \text{ témoin}} \times 100$$

IU témoin : Indice d'Ulcère du témoin

IU traité : Indice d'Ulcère du lot traité

PP : Pourcentage de Protection

2.2.5.1.2. Etude de l'activité curative du remède sur les ulcérations gastriques

2.2.5.1.2.1. Induction de l'ulcère et traitement des animaux

Cette expérimentation a été conduite selon la méthode décrite par Razafindramanana *et al.* (2020). Elle a consisté à induire des ulcérations gastriques chez les rats Wistar par administration per os d'éthanol à 90 %, et à les traiter par la suite à l'aide du remède ou d'antiulcéreux de référence.

Ainsi, huit (08) lots de 6 rats (mâles et femelles) homogènes en poids ont été constitués. Le lot I constituant le témoin a reçu de l'eau distillée. Les lots II, III, IV, V et VI ont reçu le remède aux doses de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg respectivement. Par contre, les lots VII et VIII ont été traités avec la cimétidine et l'omeprazole aux doses de 50 mg/kg respectivement.

Toutes les substances ont été administrées quotidiennement par voie orale à raison de 1 mL/100 g pendant quatorze (14) jours. Au septième jour de l'administration, trois (03) rats de chacun des lots ont été sacrifiés. Puis, les rats restants ont été sacrifiés au 14^{ème} jour de l'expérimentation.

2.2.5.1.2.2. Prélèvement des estomacs et évaluation des lésions gastriques

Au 7^e puis au 14^e jour, les estomacs des animaux sacrifiés ont été prélevés, rincés et étalés sur une surface plane. Ensuite, l'indice d'ulcère (IU) de chaque estomac a été exprimé comme précédemment.

Le pourcentage de cicatrisation (PC) des ulcérations gastriques a été calculé par rapport au groupe témoin selon la formule suivante (Ari *et al.*, 2017) :

$$PC \text{ (traité)} = \frac{IU \text{ témoin} - UI \text{ traité}}{IU \text{ témoin}} \times 100$$

PC (traité) : % de cicatrisation

IU témoin : Indice d'ulcération du témoin

IU traité : Indice d'ulcération du lot traité

En vue de fournir des données complémentaires sur les potentialités cicatrisantes du remède, une extension de cette étude a été réalisée sur des excisions externes.

2.2.5.2. Evaluation de l'activité cicatrisante

L'effet cicatrisant du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » sur des plaies expérimentales a été déterminé selon la méthode décrite par Azame *et al.* (2020). De ce fait, quatre groupes homogènes en poids de 6 rats chacun ont été constitués. Tous les groupes de rats ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale de 0,25 mL du mélange Kétamine/Diazépam (50 mg/mL) / (5 mg/mL) (Epa *et al.*, 2015). Une fois les rats anesthésiés, ils ont été placés en décubitus ventral sur la paillasse. Ils y étaient maintenus à l'aide du scotch transparent à l'extrémité des membres supérieurs et inférieurs. Les poils de leurs régions cervicales ont été rasés tout en prenant soin d'éviter les lésions cutanées. La peau a été ensuite désinfectée à l'aide de l'alcool chirurgical de 70°. Des excisions d'environ 4 cm² de peau ont été pratiquées au niveau du cou des rats. Un morceau de peau carré de 2 cm de côté a été découpé à l'aide de pinces et de ciseaux, jusqu'au *fascia superficialis*. Après la réalisation des plaies, celles-ci ont été traitées selon le groupe (6 rats/groupe). Puis, les animaux ont été placés dans une cage individuelle, dans un endroit calme et chaud afin de laisser passer l'effet de

l'anesthésie. Les plaies n'ont pas été protégées par un pansement. Les plaies des rats ont été traitées une fois par jour tel que suit :

- Groupe 1 (contrôle négatif) : rats traités à l'eau distillée,
- Groupe 2 (contrôle positif) : rats traités avec 0,4 g de L-mesitran (pommade cicatrisante de référence),
- Groupe 3 : rats traités avec 150 mg/kg pc du remède,
- Groupe 4 : rats traités avec 300 mg/kg pc du remède.

Les mesures des diamètres des plaies ont été faites le premier jour puis tous les 04 jours jusqu'à la guérison complète d'un lot. L'aspect, la couleur et l'odeur des plaies ont été surveillés pendant toute la durée du traitement. Le pourcentage de diminution ou de rétrécissement des plaies est calculé selon la formule suivante (Azame *et al.*, 2020) :

$$\% \text{ de diminution} = \frac{\text{Surface de la plaie } M J_1 - \text{Surface de la plaie } M J_n}{\text{Surface de la plaie } M J_1} \times 100$$

$M J_1$: Mesure au premier jour

$M J_n$: Mesure au nième jour

2.2.5.3. Etude de l'activité analgésique

2.2.5.3.1. Activité analgésique périphérique : Writhing-test

Cette étude a été réalisée selon la méthode décrite par Soro *et al.* (2009). Elle a consisté à induire des contorsions abdominales douloureuses par l'application de l'acide acétique 0,6 % à des souris par voie intrapéritonéale (ip). Cette injection induit une sensation de douleur qui se manifeste chez les animaux par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, appelés crampes abdominales (Kang *et al.*, 2008).

Cinq (05) lots homogènes en poids de 6 souris chacun ont été constitués. Les lots 1 et 2 ont reçu de l'eau distillée et de l'aspirine (analgésique de référence) à 100 mg/kg pc respectivement, dix minutes avant l'injection de l'acide acétique. Quant aux lots 3, 4 et 5, ils ont été traités avec le remède aux doses respectives de 20 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg pc, trente minutes avant l'injection de l'acide acétique.

L'effet analgésique a été évalué selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{M_C - M_t}{M_C} \times 100$$

Mc : Moyenne du nombre de contorsions des souris du lot contrôle non traité.

Mt : Moyenne du nombre de contorsion des souris du lot traité.

2.2.5.3.2. Activité analgésique centrale : Tail-flick test

La méthode utilisée est celle décrite par Koua (2020). Elle consiste à tremper la queue de la souris dans l'eau chaude à 55 °C et à étudier le réflexe de retraitement de la queue de l'animal, avant et après l'administration des extraits. Le temps normal de reflexe de la queue de la souris étant établi à 2 secondes.

Une présélection des souris a été faite. Les souris retenues, au nombre de 30 dont les poids étaient compris entre 23 et 31 grammes ont été réparties en cinq (05) lots de six (06) souris et ont reçu, en prétraitement par voie orale, les substances suivantes :

- solution physiologique (NaCl 0,9 %) sous un volume de 1 mL/100 g pc pour le lot 1 ayant servi de contrôle négatif ou témoin blanc ;
- la morphine à une dose de 10 mg/kg pc pour le lot 2 ayant servi de contrôle positif ou témoin de référence ;
- l'extrait aqueux du remède aux doses de 20 mg/kg ; 50 mg/kg et 100 mg/kg pc respectivement pour les lots 3, 4 et 5.

Au début de chaque test, la souris a été placée dans une boîte de contention. Le test a été effectué dans un bain d'eau chaude réglé à une température de 55 °C. Deux (02) cm de l'extrémité caudale de la souris a été immergée dans l'eau à 55 °C. Puis, le temps entre l'immersion de la queue et la déviation de la queue a été enregistré à 30 min, 60 min, 90 min et 120 min après le traitement par la morphine et les trois doses du remède à l'aide d'un chronomètre numérique. Le temps d'immersion a été limitée à 15 secondes maximum afin d'éviter des dommages sur les tissus de la queue chez les souris.

2.2.5.4. Activité antioxydante

Cette étude a été réalisée selon deux (2) tests chimiques à savoir : Le test de DPPH (2,2-diphényl-1-1-picryl-hydrazyl) et le test de l'ABTS « acide 2,2-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ».

2.2.5.4.1. Test de DPPH

La solution mère a été préparée en mélangeant 24 mg de DPPH et 100 mL de méthanol. Le mélange obtenu a une absorbance qui avoisinait 0,98 à 517 nm en utilisant le

spectrophotomètre. Un volume de 1,68 mL de la solution de DPPH a été mélangé avec 1600 µL d'extrait aqueux du remède à diverses concentrations comprises entre 100 µg/mL et 3,125 µg/mL réalisées par double dilution. Le mélange réactionnel a été bien agité et incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Par la suite, l'absorbance des différents mélanges a été déterminée à 517 nm. La préparation du contrôle a été effectuée comme précédemment mais sans aucun échantillon. L'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence, a été testé aux mêmes concentrations que le remède (Tepe *et al.*, 2005).

Chaque test a été effectué en *triplicata* et les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais. Le pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon la relation ci-dessous (Torres *et al.*, 2006) :

$$PI = \frac{Ab_{\text{témoin}} - Ab_{\text{échantillon}}}{Ab_{\text{témoin}}} \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH

$Ab_{\text{témoin}}$: Absorbance du témoin (solution éthanolique de DPPH)

$Ab_{\text{échantillon}}$: Absorbance de l'échantillon testé

La CI_{50} ou concentration inhibitrice à 50 % (aussi appelée EC_{50} pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon jugée nécessaire pour annihiler 50 % de radical DPPH[•]. Les CI_{50} sont déterminées graphiquement par les régressions linéaires des courbes obtenues à partir des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations.

2.2.5.4.2. Test de l'ABTS

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par Shui & Leong en 2002. Une masse de 38,40 mg d'ABTS a été d'abord dissoute dans 10 mL d'eau distillée. La solution obtenue a été par la suite mélangée à 6,75 mg de persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été conservé à l'obscurité et à 25 °C pendant 12 h avant son utilisation. Ensuite, la mélange a été progressivement diluée avec de l'éthanol à 70° jusqu'à l'obtention d'une absorbance de l'ordre de 0,7 à 734 nm.

L'activité antioxydante a été mesurée en ajoutant 2 mL d'une solution éthanolique de l'extrait sec du remède à 2 mL de la solution d'ABTS^{•+}. La gamme de concentrations du remède évaluée était comprise entre 250 µg/mL et 7,81 µg/mL obtenues par une serie de dilutions de raison 2. L'acide gallique, utilisé comme antioxydant de référence, a été testé aux mêmes concentrations.

La lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre à 734 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Chaque test a été effectué en *triplicata* et les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais.

Les résultats (pourcentages d'inhibitions et CI_{50}) ont été déterminés de la même façon que dans le cas du test de DPPH.

2.2.6. Caractérisation phytochimique

2.2.6.1. Etude qualitative des métabolites secondaires

Cette caractérisation qualitative s'est fait à partir des tests de coloration et de précipitation utilisant des réactifs spécifiques afin de mettre en évidence les alcaloïdes, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les quinones, les tanins, les saponosides, les mucilages, les polyterpènes et leucoanthocyanes tels que décrits dans le tableau VII (Trease et Evans, 2002 ; Koffi *et al.*, 2009).

Tableau VII : Tests de caractérisation phytochimique

Familles chimiques recherchées	Réactifs	Réactions caractéristiques
Alcaloïdes	Dragendorff	Précipité rouge orangé
	Valser-Mayer	Blanc-laiteux
Polyphénols totaux	Solution alcoolique	Coloration bleu-noirâtre
Flavonoïdes	$FeCl_3$ à 2 %.	
	Réaction à la cyanidine	Coloration rose-orangée ou violacée
Quinones	Réaction de Bornträger	Coloration rouge cerise
Tanins catéchiques	Stiasny	Précipitation en gros flocons blancs
Tanins galliques	$FeCl_3$ à 2 %	Coloration bleu-noirâtre
Saponosides	Indice de mousse	Mousse persistante d'une hauteur de 1 Cm
Stérols/polyterpènes	Réaction de Lieberman-Buchard	Anneau rouge violacée
Mucilages	Ethanol absolu.	Précipité floconneux
Leucoanthocyanes	Réaction à la cyanidine sans ajout de copeaux de magnésium	Coloration rouge cerise ou violacée

2.2.6.2. Etude quantitative des métabolites secondaires

2.2.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Un volume de 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu a été ajouté au mélange formé de 0,5 mL de l'extrait aqueux du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » et de 10 mL d'une solution de carbonate de sodium (2 %). L'absorbance a été mesurée à 760 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante (25 °C). Une gamme d'étalonnage d'acide gallique de 0 à 0,2 mg/mL a été réalisée pour effectuer ce dosage. Les concentrations des échantillons ont été exprimées en milligrammes équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/g) (Wood *et al.*, 2002).

2.2.6.2.2. Dosage des flavonoïdes

Deux (02) mL d'extrait sec du remède ont été mélangés avec 02 mL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) dans du méthanol (2 %). La formation d'un complexe flavonoside (Al³⁺ ; 3Cl⁻) de coloration jaune stable permet d'évaluer par spectrophotométrie UV à 510 nm la teneur en flavonoïdes de l'échantillon par rapport à une solution de référence de quercétine. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine (mg EQ/g) d'extrait (Marinova *et al.*, 2005). La concentration en flavonoïdes totaux en Equivalent Quercétine (mg EQ)/g d'extrait a été estimée selon la formule décrite par Miliauskas *et al.* (2004) :

$$C = \frac{C_1 V}{m}$$

C : mg équivalent quercétine dans 1 g d'extrait sec de remède,

C₁ : concentration de l'échantillon lue sur la courbe d'étalonnage (mg/L),

V : volume d'extrait utilisé pour le dosage,

M : masse de l'échantillon (g).

2.2.6.2.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode utilisant le réactif à la vanilline en milieu acide maintenu à 30 °C (Ba *et al.*, 2010). Un volume de 200 µL du remède à analyser a été ajouté à 1000 µL de réactif de vanilline ; le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 500 nm au spectrophotomètre UV contre un blanc réalisé à partir de volumes égaux de méthanol à 37 % et de HCl à 8 %.

La droite d'étalonnage de la catéchine a été tracée à partir des concentrations comprises entre 0 mg/mL et 0,3 mg/mL. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de catéchine (EC) par gramme de matière sèche (mgEC/gMS) en utilisant la formule de Miliauskas *et al.* (2004).

2.2.7. Reformulation du remède en gélules

2.2.7.1. Formulation des gélules

La poudre sèche du remède est passée sur un tamis n°125 afin de remplir les gélules. Ensuite, le remplissage des capsules de taille n°1 (20 mm de hauteur) a été effectué par la méthode d'arasage sur une géluleuse manuelle. Le volume total de poudre utilisée a été déterminé à l'aide de la table de remplissage des gélules (Guérin, 2014).

2.2.7.2. Examen macroscopique

Les caractéristiques macroscopiques des gélules ont été décrites. Il s'agit de l'aspect, de la coloration et du scellage des gélules (Ph Eu, 2020).

2.2.7.3. Test d'uniformité de masse

Vingt (20) gélules ont été prélevées au hasard et pesées individuellement à l'aide d'une balance de précision. Puis, elles ont été vidées et les capsules correspondant à chaque gélule, ont également été pesées. La différence des 2 masses, correspond à la masse de la poudre contenue dans chaque gélule. La masse moyenne (Mm) du contenu des gélules a été déterminée et l'intervalle de confiance à 10 % a été calculé selon la formule suivante (Pharmacopée Européenne, 2020) :

$$I = \left[Mm - \frac{\text{Ecart limite} \times Mm}{100} ; Mm + \frac{\text{Ecart limite} \times Mm}{100} \right]$$

Mm : Masse moyenne du contenu des gélules

Ecart limite = 10

Si les masses de plus de 5 gélules n'appartiennent pas à l'intervalle de confiance alors les gélules sont jugées non conformes (Ph Eu, 2020). L'essai a été réalisé en *triplicata*.

2.2.8. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyennes plus ou moins écart type au risque $\alpha = 0,05$. L'analyse statistique des résultats a été effectuée en employant l'analyse des variances (ANOVA ONE WAY). Le test de comparaison multiple de Dunnett a servi à la détermination des différences entre les moyennes :

- $p \leq 0,001$: différence très hautement significative (***) ;
- $p \leq 0,01$: différence très significative (**) ;
- $p \leq 0,05$: différence significative (*)
- et $p > 0,05$: différence non significative.

2.2.9. Considération éthique

Les procédures et protocoles expérimentaux utilisés dans cette étude étaient conformes aux lignes directrices de la législation du Conseil européen 87/607/CEE pour la protection des animaux de laboratoire. Tous les efforts ont été faits pour minimiser la souffrance des animaux et réduire le nombre d'animaux utilisés.

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. RESULTATS

3.1.1. Données ethnopharmacologiques

3. 1.1.1. Pratique quotidienne du praticien dans son cabinet

Monsieur TROARE Aboubakar dit « Daoutra » est le producteur du remède « DAOUTRA EPIGASTRO ». Son cabinet est situé au quartier Labia (Daloa / Haut- Sassandra) aux coordonnées GPS google Maps (latitude : 6,87519° nord ; longitude : -6,44486° Ouest). Le cabinet est constitué de deux (02) pièces dont l'une sert de salle de réception, d'attente et d'exposition des différents remèdes et l'autre est utilisée comme bureau de consultation. Dans la salle de réception, les patients sont reçus puis, les informations les concernant (noms, âge, sexe, lieu d'habitation, numéro de téléphone) sont notées dans un registre. Par la suite, les patients sont reçus par le praticien pour la consultation. Ce dernier les interroge sur les manifestations symptomatiques de leurs troubles puis, sur la base des informations collectées, il leur prescrit un traitement. Ensuite, le praticien complète le registre de santé en mentionnant le diagnostic, le traitement proposé et fixe un rendez-vous pour le suivi du patient. Un carnet de santé contenant ces mêmes informations est remis au patient.

3.1.1.2. Profil socio-anthropologique

Monsieur TROARE Aboubakar âgé de 53 ans d'ethnie Malinké est père de 10 enfants. Il y a une trentaine d'années qu'il s'est établi à Daloa. Il est praticien de médecine traditionnelle depuis plus de quinze (15) ans et est enregistré au Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle au numéro d'enregistrement 02080. Son savoir faire a été acquis auprès d'un autre praticien de médecine traditionnelle par transmission orale au cours d'un séjour en Gambie. Il commercialise sans autorisation de mise sur le marché (AMM) le remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » depuis dix (10) ans dans la prise en charge des troubles gastriques (douleurs aiguës au niveau de l'estomac).

3.1.1.3. Aspect ethnobotanique et préparation du remède

Les espèces végétales entrant dans la composition du remède ont été antérieurement identifiées, les données relatives aux noms vernaculaires, aux noms communs, aux organes utilisés et aux lieux d'approvisionnement sont consignées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Informations sur les plantes entrant dans la composition du remède

Espèces végétales	Noms communs	Noms vernaculaires	Organes utilisés	Lieux d'approvisionnement
<i>Nauclea latifolia</i>	Pêche Africain	Malinké : Bari Baoulé : Tolè	Ecorces du tronc	Les différents marchés de la commune de Daloa
<i>Xylopia aethiopica</i>	Poivre de Guinée	Malinké : Kani Baoulé : Sin n'dian	Fruits	Idem
<i>Capsicum frutescens</i>	Piment de Cayenne	Malinké: Fôroto Baoulé : Mankou	Fruits	Idem
<i>Zingiber officinale</i>	Gingembre	Malinké : Gnamacou Baoulé : Assiê n'sah	Rhizomes	Idem
<i>Cassia sieberiana</i>	Casse du Sénégal	Malinké : Sissenouvo Baoulé : Diongobaka	Ecorces du tronc	Idem

La préparation du remède se fait à partir des organes séchés des espèces végétales au sein d'une unité de production située au quartier Orly 2 (Daloa). Pour des besoins de protection de propriété intellectuelle et de protection du savoir traditionnel du praticien, les détails de la préparation du remède n'ont pas été donnés par le praticien. Cependant, il a assuré respecter les normes de bonnes pratiques de fabrication (BPF) des remèdes à base de plantes. A la fin, le remède est conditionné dans des bouteilles en plastiques HDPE (polyéthylène de haute densité) de couleurs blanche de 500 mL. Selon le producteur, le remède se conserve à la température ambiante et a une durée de conservation de deux (2) ans.

3.1.1.4. Mode d'emploi du remède

Selon le praticien, « DAOUTRA EPIGASTRO » est recommandé préférentiellement dans la prise en charge des troubles gastriques. La posologie indiquée est d'un (01) verre à thé (62,5 mL) deux (2) fois par jour à prendre après les repas. La durée du traitement étant de trois (03) semaines et trois (03) jours. Le praticien a mentionné que le remède a un goût légèrement amer et aucune contre-indication ne lui est associée.

3.1.1.5. Données sur le suivi des patients

3.1.1.5.1. Profils sociodémographiques des patients

La phase observationnelle a concerné une cohorte de 30 personnes dont 13 femmes (43,33 %) et 17 hommes (56,67 %). Tous ces patients se plaignaient de troubles gastriques. Parmi ceux-ci se trouvaient des scolarisés (63,33 %) et des non scolarisés (36,67 %). En tenant compte de l'âge de tous les patients, cette étude a révélé que les catégories d'âges les plus représentées sont celles des patients âgés de 31 à 40 ans, soit 33 %, et de 41 à 50, soit 30,17 %. Tandis que la classe d'âge la moins représentée est celle des patients âgés de 61 à 70 ans soit 7,88 % (Figure 13).

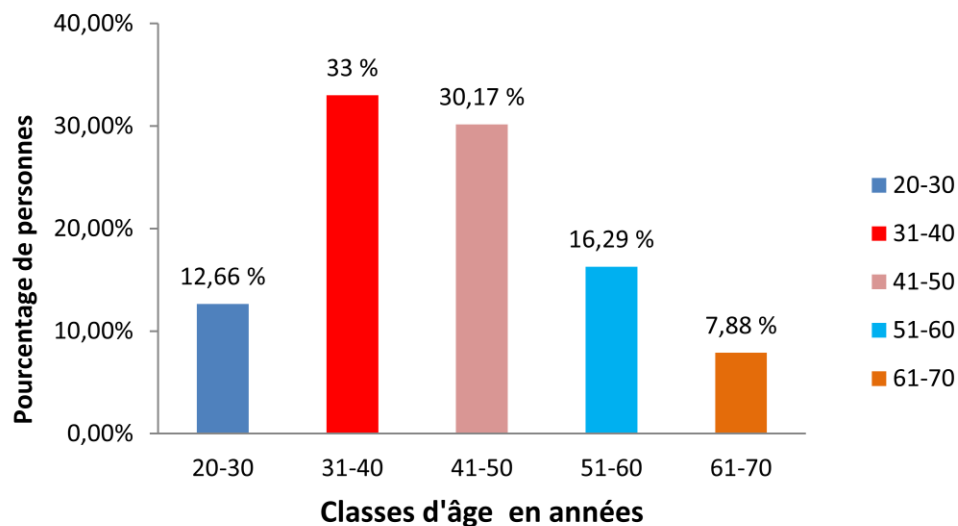


Figure 13 : Répartition selon l'âge des patients

3.1.1.5.2. Effets gênants et avis de satisfaction dans l'utilisation du remède

3.1.1.5.2.1. Effets gênants dans l'utilisation du remède

Les patients ayant utilisé le remède ont décrit qu'il est plus ou moins amère et ont signalé certaines sensations pendant et après son utilisation (Taleau IX).

Pendant le traitement, 90 % des patients ont signalé une forte appétence pour la nourriture. Cependant, quatre (04) semaines après le traitement, 73,33 % décrivaient encore cette appétence.

Tableau IX : Effets gênants signalés pendant et après l'utilisation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »

Effets gênants	Patients ayant présenté des sensations/effets (%)		
	Pendant le traitement	Après le traitement	
	(8 jours)	1 ^e à 2 ^e semaine	3 ^e à 4 ^e semaine
Diarrhée	0	0	0
Vomissement	0	0	0
Fatigue	0	0	0
Constipation	0	0	0
Douleurs abdominales	0	0	0
Vertiges	0	0	0
Céphalées	0	0	0
Flatulence	3,33	0	0
Somnolence	0	0	0
Polyurie	0	0	0
Appétence	90	93,33	73,33
Perte pondérale	0	0	0
Etourdissement	0	0	0
Atteinte hépatique	0	0	0
Aucune sensation/Effet	6,67	6,67	26,67

3.1.1.5.2.2. Avis de satisfaction dans l'utilisation du remède

Un groupe de patients (76,67 %) ont rapporté avoir observé une atténuation des douleurs gastriques au bout de 4 jours d'utilisation du remède. Par contre 23,33 % des patients ont observé cette atténuation des douleurs après 8 jours de traitement. De façon générale, tous les patients enquêtés ont été satisfaits de l'utilisation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » dans la prise en charge de leurs troubles gastriques et se disposent à le conseiller à des patients souffrant de troubles gastriques.

3.1.2. Innocuité du remède

3.1.2.1. Toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë par voie orale sur les rats, n'a révélé aucune mortalité ni aucun signe clinique d'intoxication après l'administration des différentes doses de 500 mg/kg, 1000 mg/kg et 3000 mg/kg pc du remède. À la fin de l'expérience, la quantité d'eau consommée n'a pas changé.

Cependant, la consommation de nourriture des animaux testés a augmenté par rapport aux témoins. Le poids du lot C (3000 mg/kg pc) a augmenté de manière significative par rapport aux témoins entre le 7^e et le 14^e jour (Figure 14).

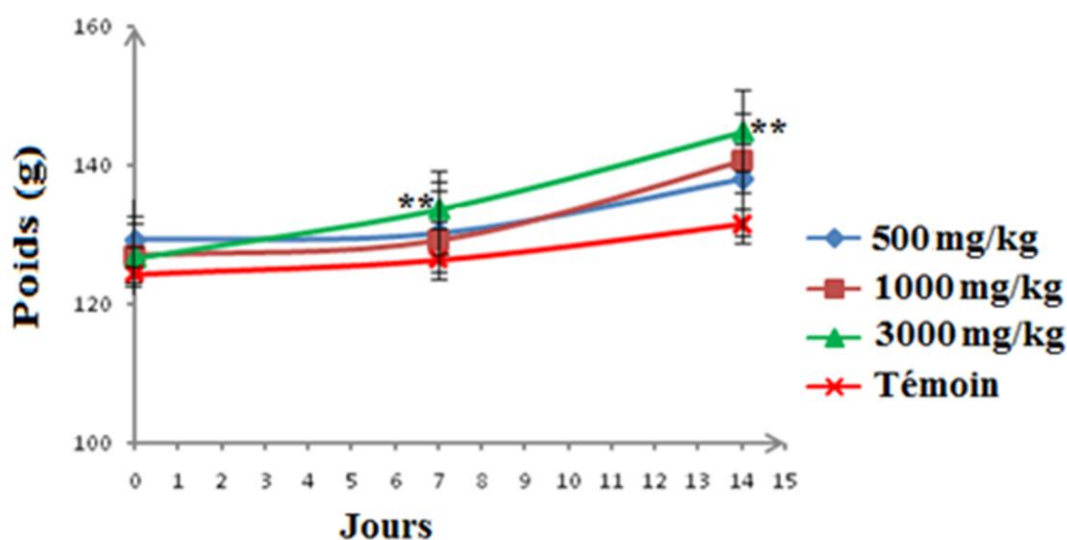


Figure 14 : Évolution du poids corporel des rats au cours du test de toxicité aiguë

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5\%$. $N=3$ rats par dose. Les données sont analysées par une analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,01$: différence très significative (**).

3.1.2.2. Toxicité subaiguë

Cette étude a été réalisée en évaluant les poids corporels, les poids relatifs des organes, les paramètres biochimiques et hématologiques, et en analysant les coupes histologiques de certains organes.

3.1.2.2.1. Evaluation des paramètres comportementaux et de la croissance pondérale

L'observation du comportement tout au long de la période d'étude a permis de constater que, quelle que soit la dose administrée, aucun changement comportemental n'a été observé pendant 28 jours.

Le poids des rats traités a augmenté de manière significative par rapport aux témoins à partir du 7^e jour pour les doses de 500 et 1000 mg/kg pc et pour toutes les doses, du 21^e au 28^e jour de traitement (figure 15).

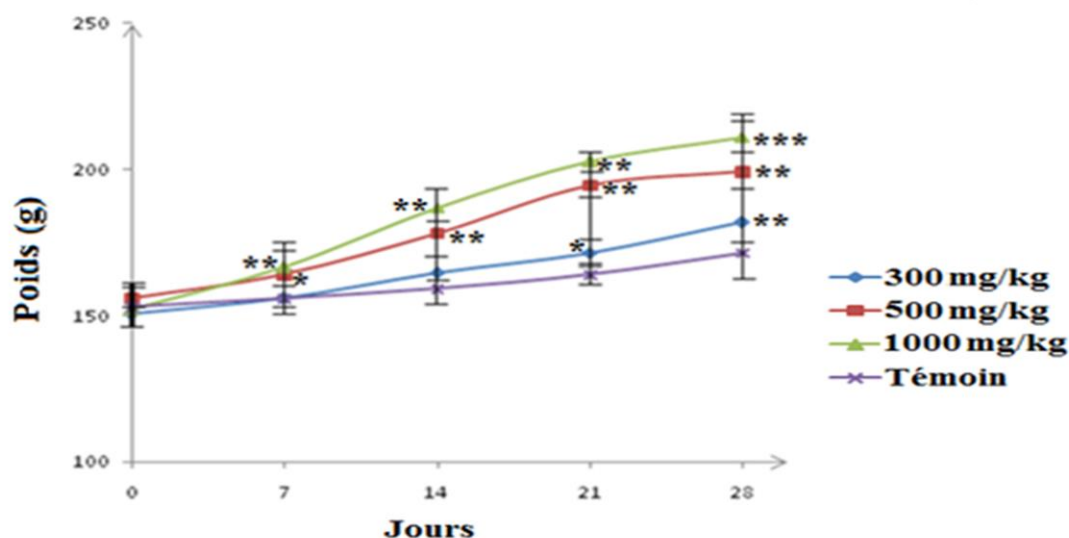


Figure 15 : Evolution du poids corporel des rats au cours du test de toxicité subaiguë

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5\%$. $N=6$ rats par dose. Les données sont analysées par une analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,01$: différence très significative (**); $p < 0,05$: différence significative (*).

3.1.2.2.2. Effets du remède sur le poids relatif des organes des rats.

L'analyse des effets du remède sur le poids relatif des organes des rats a révélé une diminution significative du poids relatif du foie seul à toutes les doses comparativement aux témoins (Tableau X).

Tableau X : Effets du remède sur les poids relatifs des organes cibles.

		Poids relatifs des organes		
		PRF	PRR	PRC
Lots	Poids corporel	Moyenne $\pm$ écart type		
Lot 1 (Témoin)	182,66 $\pm$ 18,44	4,40 $\pm$ 0,41	0,72 $\pm$ 0,15	0,37 $\pm$ 0,026
Lot 2 (300 mg/kg)	202,00 $\pm$ 20,66	3,63 $\pm$ 0,20 *	0,70 $\pm$ 0,055	0,34 $\pm$ 0,00
Lot 3 (500 mg/kg)	203,33 $\pm$ 20,23	3,56 $\pm$ 0,25 *	0,67 $\pm$ 0,035	0,35 $\pm$ 0,00
Lot 4 (1000 mg/kg)	221,00 $\pm$ 17,43	3,52 $\pm$ 0,16 *	0,76 $\pm$ 0,035	0,33 $\pm$ 0,028

PRF : Poids relatif du foie ; PRR : Poids relatif des reins ; PRC : Poids relatif du cœur.

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5\%$. $N = 6$ par dose. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,05$: différence significative (*).

3.1.2.2.3. Evaluation des paramètres biochimiques et hématologiques

Les niveaux de quatre marqueurs biochimiques (urée, créatinine, ASAT et ALAT) des rats traités à 300 mg/kg, 500 mg/kg et 1000 mg/kg de remède, comparés à ceux des rats du groupe témoin sont représentés sur la Figure 16. En ce qui concerne l'urée et la créatinine, il n'y avait pas de différence significative entre les rats traités et le groupe témoin. Cependant, à 1000 mg/kg pc, une augmentation significative a été observée pour l'ASAT et l'ALAT entre les rats traités et le groupe de contrôle.

Quant à l'évaluation des paramètres hématologiques [globules rouges (GR), globules blancs (GB), hématocrite (HCT), hémoglobine (HGB), plaquettes (PLT), volume corpusculaire moyen (VCM), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH)], le remède n'a induit aucun changement significatif ($P > 0,05$) dans les groupes de rats traités aux différentes doses administrées par rapport au groupe témoin (Tableau XI).

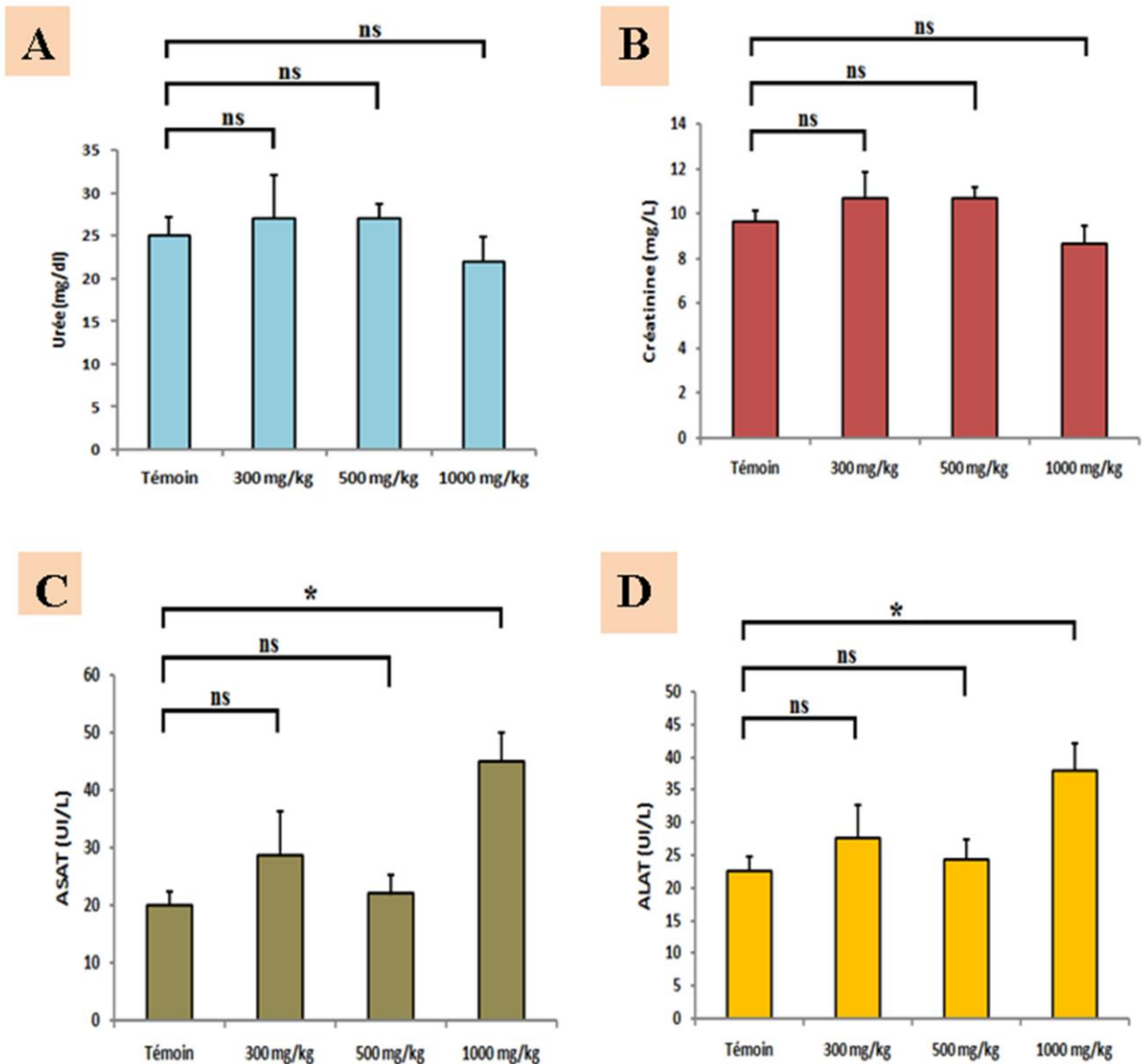


Figure 16 : Evolution des paramètres biochimiques (A : Effets du remède sur l'urée ; B : Effets du remède sur la créatinine ; C : Effets du remède sur ASAT ; D : Effets du remède sur ALAT).

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5\%$. $N = 6$ par dose. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,05$: différence significative (*); ns : différence non significative.

Tableau XI : Valeurs des paramètres hématologiques

Paramètres	Doses			
	Lot 1 Témoin	Lot 2 (300 mg/kg)	Lot 3 500 mg /kg	Lot 4 1000 mg /kg
Globules blancs (10 ³ / μ L)	5,56 $\pm$ 1,96	11,63 $\pm$ 3,65	6,79 $\pm$ 3,20	7,63 $\pm$ 4,80
Globules rouges (10 ⁶ / μ L)	5,96 $\pm$ 0,99	6,73 $\pm$ 1,10	6,13 $\pm$ 1,60	6,31 $\pm$ 1,32
Hémoglobine (g /dL)	10,96 $\pm$ 1,65	12,33 $\pm$ 2,37	11,5 $\pm$ 3,11	12,10 $\pm$ 2,08
Hématocrite (%)	32,16 $\pm$ 5,34	35,5 $\pm$ 5,57	32,29 $\pm$ 8,40	35,4 $\pm$ 5,72
VGM (ftl)	54,06 $\pm$ 0,35	52,9 $\pm$ 0,52	53,8 $\pm$ 0,62	56,63 $\pm$ 4,35
TCMH (Pg/cellule)	18,36 $\pm$ 0,32	18,20 $\pm$ 0,62	18,66 $\pm$ 0,26	19,26 $\pm$ 1,55
CCMH (g/dL)	34,10 $\pm$ 0,7	34,5 $\pm$ 1,55	34,8 $\pm$ 0,75	34,10 $\pm$ 0,5
Plaquettes (10 ³ μ L)	674 $\pm$ 37	665 $\pm$ 21	687,33 $\pm$ 28,3	651,66 $\pm$ 30,71

VGM : volume globulaire moyen, TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine et CCMH : concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine.

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5$ %. N = 6 par dose. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett.

3.1.2.2.4. Evaluation des paramètres lipidiques et ioniques sanguins

Les rats traités avec les différentes doses du remède n'ont présenté aucun changement significatif ($p > 0,05$) des taux de Triglycéride, de cholestérol total, de HDL et de LDL par rapport aux rats témoins (Figure 17).

L'ionogramme sanguin a mis en exergue qu'il n'existe aucune différence significative entre les concentrations des ions sodium (Na^+), potassium (K^+), chlore (Cl^-) et calcium (Ca^{++}) dosées chez les animaux traités avec le remède comparativement au lot témoin (Figure 18).

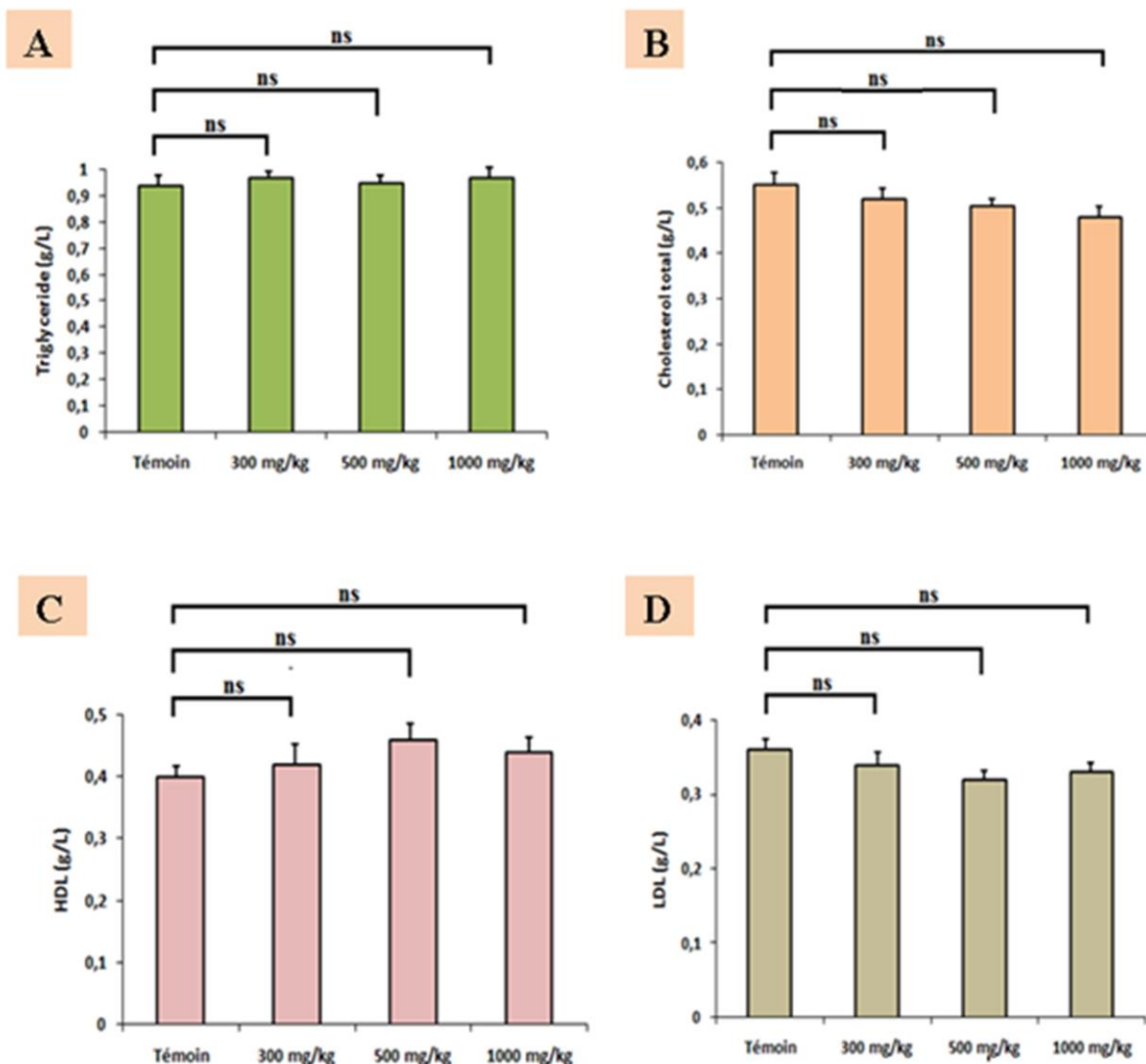


Figure 17 : Effets de l'administration du remède sur les paramètres lipidiques des rats (A : Effets du remède sur le taux de triglycéride ; B : Effets du remède sur le cholestérol total ; C : Effets du remède sur le HDL ; D : Effets du remède sur le LDL).

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5\%$. $N = 6$ par dose. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. ns : différence non significative.

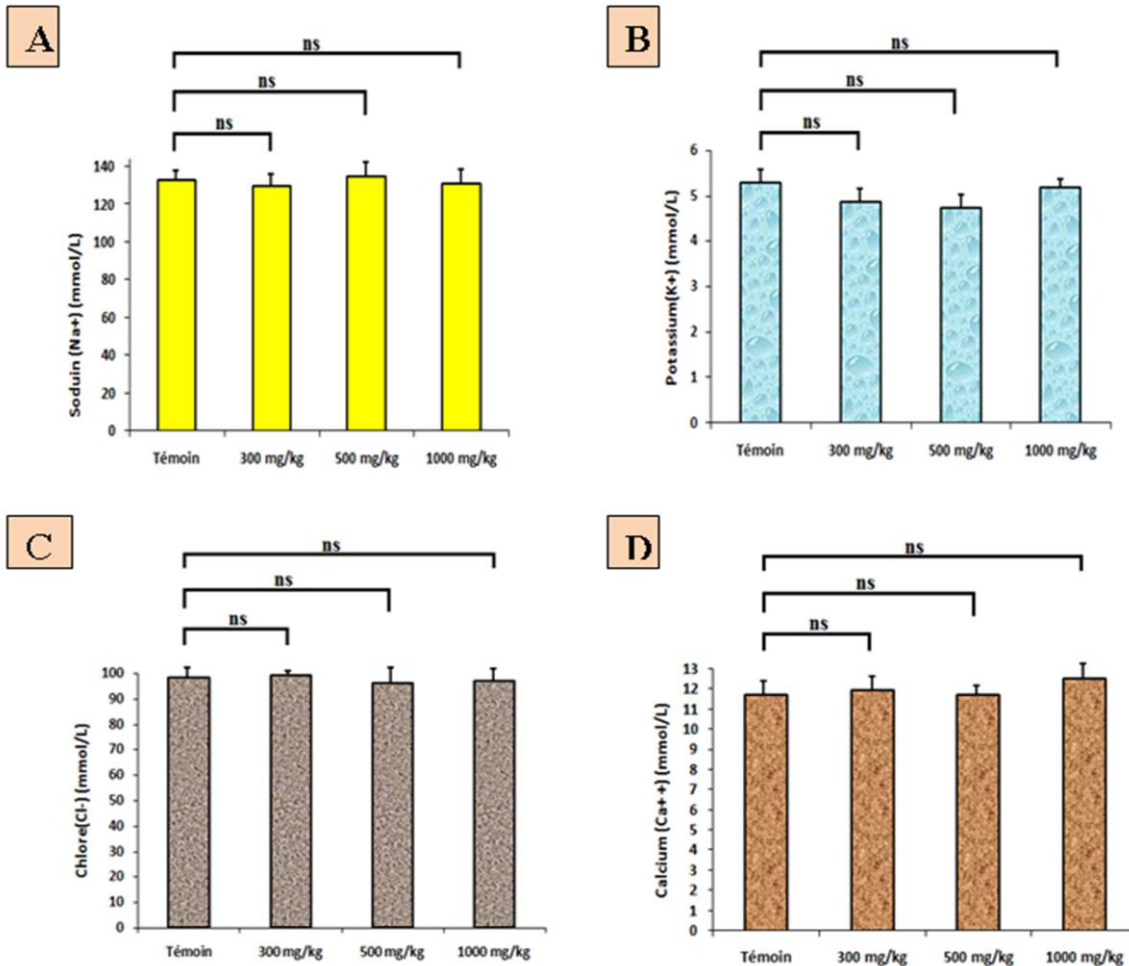


Figure 18 : Effets de l'administration du remède sur les paramètres ioniques sanguin des rats (A : Effets du remède sur le sodium (Na^+) ; B : Effets du remède sur le potassium (K^+) ; C : Effets du remède sur chlore (Cl^-) ; D : Effets du remède sur le calcium (Ca^{++})).

Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type au risque $\alpha = 5 \%$. $N = 6$ par dose. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. ns : différence non significative.

3.1.2.2.5. Analyses histologiques

Les microphotographies de coupes histologiques du cœur, du foie et des reins sont illustrées par les Figures 19, 20 et 21 respectivement. Ces images montrent une structure normale et ne révèlent aucune anomalie morphologique qui pourrait être due à l'administration du remède.

Chez les rats témoins comme chez les rats traités, les coupes de cœur montrent des cardiomyocytes normaux sans altération ni région hémorragique dans l'espace extracellulaire.

La section du foie des rats traités a montré des cellules binuclées sans aucune distorsion comme dans le groupe témoin. Les hépatocytes étaient clairement visibles et morphologiquement identiques sur chaque image. Aucune lyse, nécrose ou région hémorragique n'a été observée.

Les sections de reins n'ont pas présenté de modifications morphologiques pour les groupes traités. Les cellules néphroniques avec les nucléotides étaient clairement visibles sans dégradation. L'architecture des glomérules était normale et identique à celle du groupe témoin.

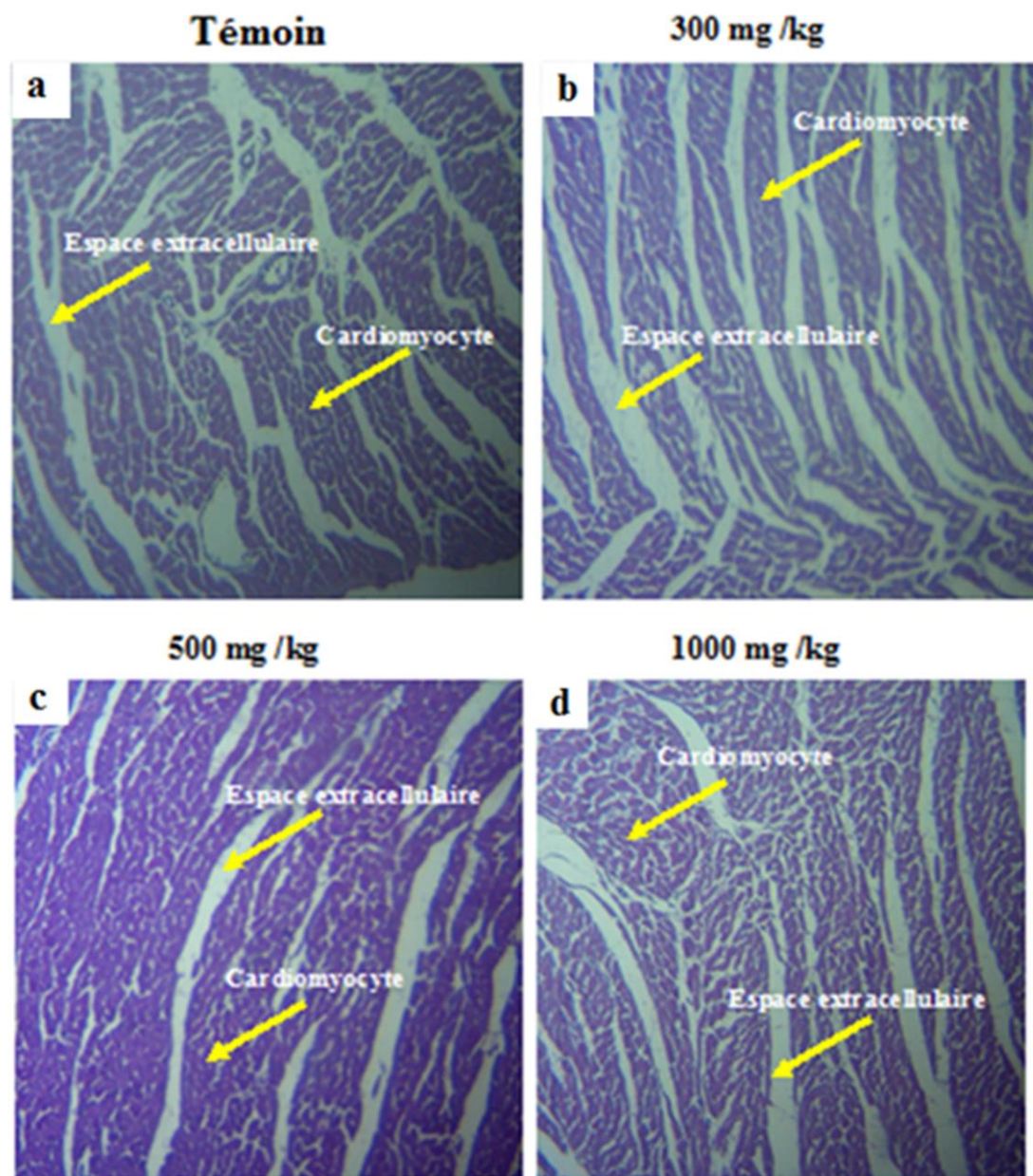


Figure 19 : Coupes histologiques du cœur de rats exposés au traitement pendant 28 jours (coloration H&E, X100) a) Contrôle normal b) 300 mg/kg pc de remède ; c) 500 mg/kg pc de remède et d) 1000 mg/kg pc de remède

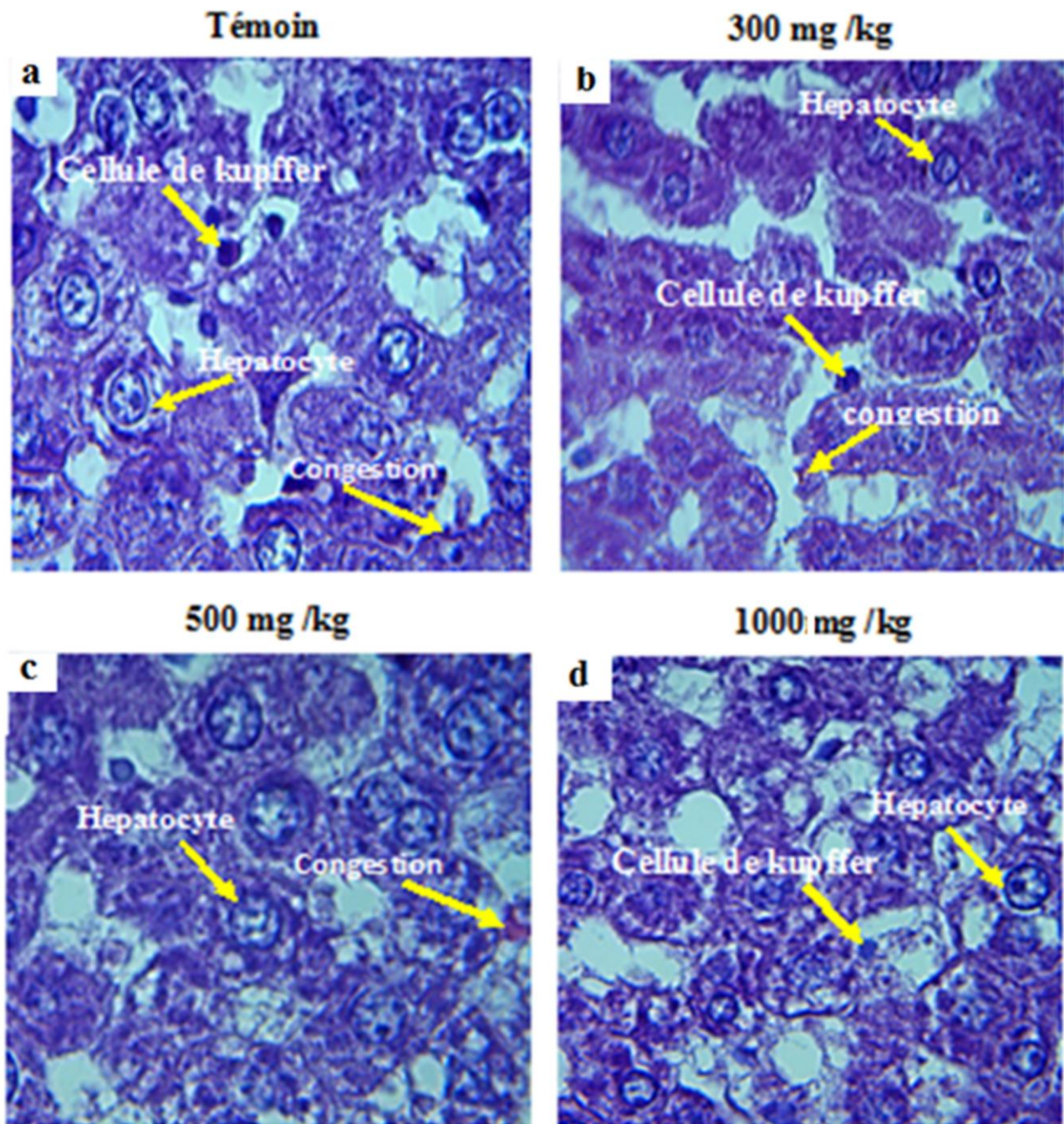


Figure 20 : Coupes histologiques du foie de rats exposés au traitement pendant 28 jours (coloration H&E, X 200) a) Contrôle normal ; b) 300 mg/kg pc de remède ; c) 500 mg/kg pc de remède et d) 1000 mg/kg pc de remède

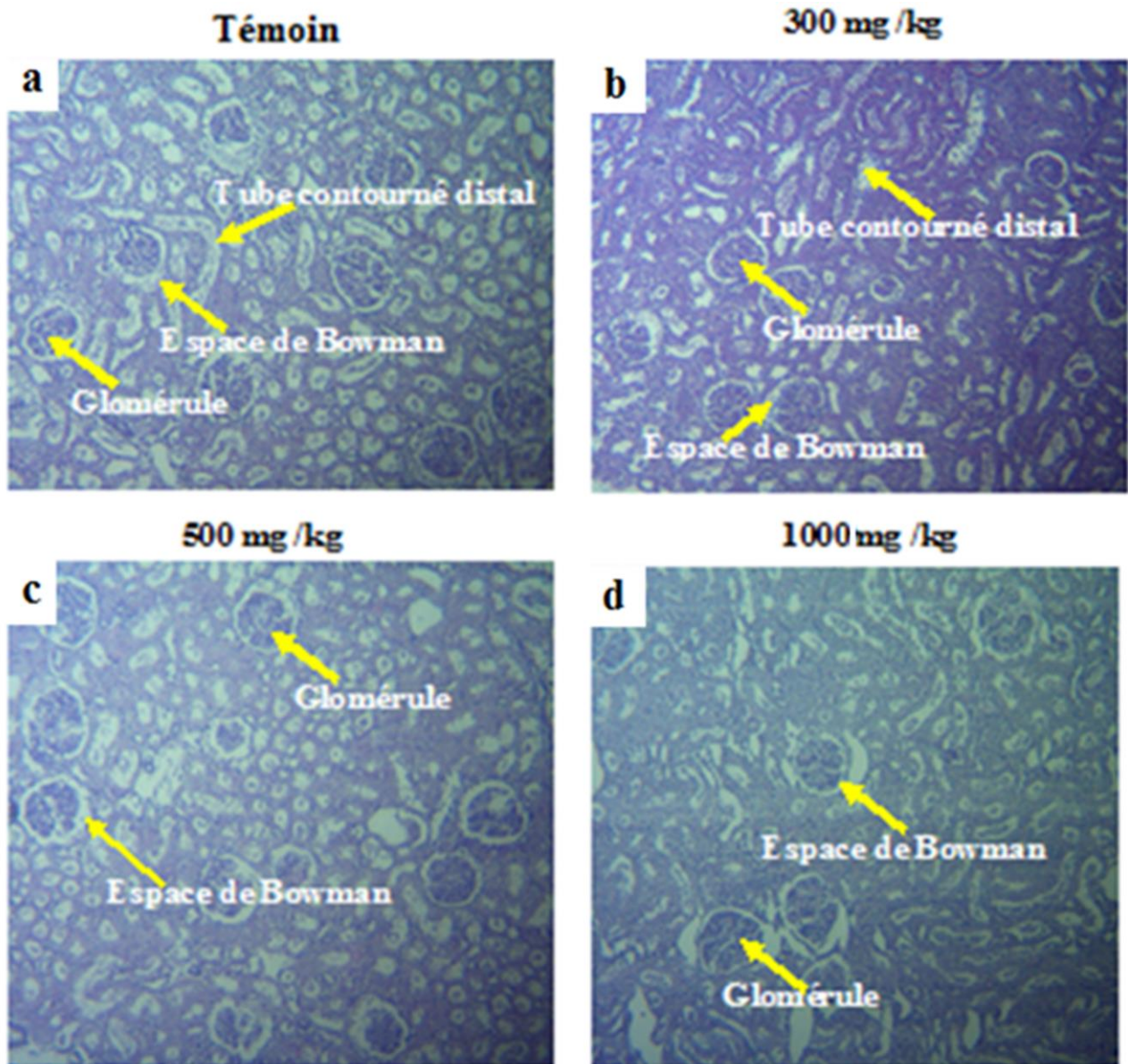


Figure 21 : Coupes histologiques de reins de rats exposés au traitement pendant 28 jours (coloration H&E, X100) a) Contrôle normal ; b) 300 mg/kg pc de remède ; c) 500 mg/kg pc de remède et d) 1000 mg/kg pc de remède

3.1.3. Evaluation de la qualité du remède

3.1.3.1. Qualité microbiologique

Le contrôle microbiologique du remède a été mené sur ses formes solution aqueuse et résidu sec. Après deux (2) mois de conservation du résidu sec, aucune contamination provenant de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), de Coliformes totaux (CT) et fécaux (CF) n'a été observée. Une absence de Salmonelles, *Staphylococcus aureus* et de *Escherichia coli* a également été notée. Cependant, une présence de levures et moisissures (LM) à un taux inférieur à 10 UFC/g a été décelée après deux (02) mois de conservation du résidu sec.

Le contrôle effectué à partir de la solution aqueuse du remède a montré une contamination de 10^2 UFC/mL par la flore aérobie mésophile totale au 1^{er} jour et à la 2^e semaine du contrôle. Cette valeur a évolué pour atteindre 10^3 et 10^4 UFC/mL respectivement au 1^{er} mois et 2^e mois de conservation du remède.

Aussi, une présence de levures et moisissures (LM) a-t-elle été observée avec un taux croissant de 10 à 10^2 UFC/mL (respectivement pour le 1^{er} jour et de la 2^e semaine au 1^{er} mois de conservation) et 10^3 UFC/mL au 2^e mois de conservation. Les autres microorganismes recherchés étaient absents de cette forme du remède (Tableau XII).

Tableau XII : Charges microbiologiques des germes d'altérations et pathogènes

Germes	Remède « DAOUTRA EPIGASTRO » sous sa forme commerciale (solution en bouteille)				Résidu sec de « DAOUTRA EPIGASTRO »				NORMES
	1 ^e jour	2 semaines	1 mois	2 mois	1 ^e jour	2 semaines	1 mois	2 mois	
FAMT	10 ²	10 ²	10 ³	10 ⁴	0	0	0	0	10 ⁵
CT	0	0	0	0	0	0	0	0	10 ⁴
CF	0	0	0	0	0	0	0	0	10 ⁴
LM	10	10 ²	10 ²	10 ³	0	0	0	< 10	10 ⁴
<i>S. aureus</i>	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent (1 g)
<i>E. coli</i>	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent (1 g)
<i>Salmonelles</i>	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent (25 g)

FAMT : Flore aérobies mésophiles totale ; *CT* : Coliformes totaux ; *CF* : Coliforme fécaux ; *S. aureus* : *Staphylococcus aureus* ; *E. coli* : *Escherichia coli*

3.1.3.2. Teneurs en éléments traces métalliques

Les résultats du dosage du plomb, de l'arsenic, du cadmium et du mercure dans l'extrait aqueux du remède sont représentés sur la Figure 22. Les teneurs les plus élevées sont celles du cadmium et du mercure (0,28 µg/g), suivies de celle de l'arsenic (0,25 µg/g), et enfin, celle du plomb (0,022 µg/g).

L'évaluation de la conformité du remède en éléments traces métalliques selon la directive ICHQ3D a montré que les teneurs en éléments traces métalliques contenus dans le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » sont largement en deçà des valeurs autorisées appelées seuils de contrôle (Tableau XIII).

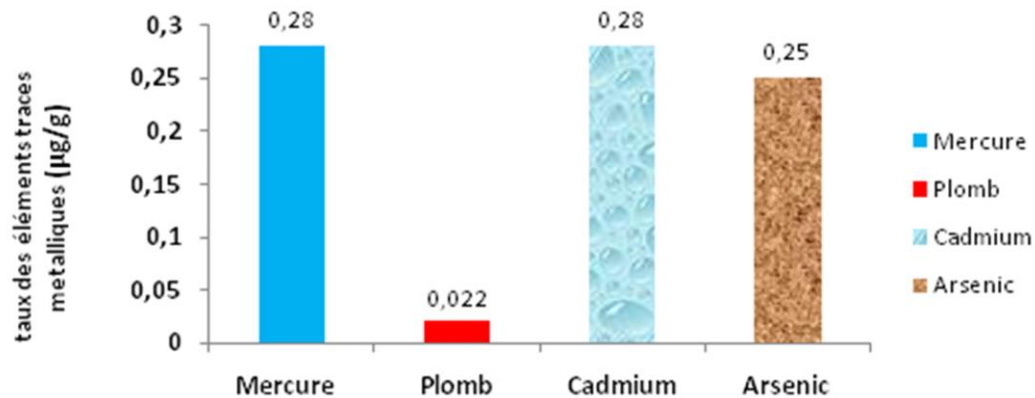


Figure 22 : Valeurs des éléments traces métalliques contenus dans le remède

Tableau XIII : Conformité du remède en teneur d'éléments traces métalliques selon la directive ICHQ3D

Eléments traces Métalliques (ETM)	Valeur en µg/g			
	Concentration maximale Permise (CMP)	Seuil à 30% (seuil de contrôle)	Seuil à 100%	Conclusion de conformité ICHQ3D
Mercure (Hg)	43,73	13,12	43,73	Conforme
Plomb (Pb)	7,29	2,18	7,29	Conforme
Cadmium (Cd)	7,29	2,18	7,29	Conforme
Arsenic (As)	21,86	6,56	21,86	Conforme

3.1.3.3. Teneurs en résidus de pesticides

Dans les limites de détection de l'appareil (HPLC), aucun résidu de pesticide n'a été détecté parmi les 31 molécules regroupées en 7 grandes familles de pesticides qui ont été recherchées dans le remède (Tableau XIV).

Tableau XIV : Niveau de contamination du remède en résidus de pesticides

Familles	Concentrations (mg/L)	L Q (mg/L)
Triazine	ND	0,018
Triazinone	ND	0,025
Dérivés de l'urée	ND	0,018
Chloroacétamide	ND	0,010
Carbamates	ND	0,009
Organophosphoré	ND	0,009
Dicarboximides	ND	0,009

ND : Non Détecté ; LQ : Limite de Détection

3.1.4. Efficacité du remède

3.1.4.1. Activité antiulcéreuse du remède

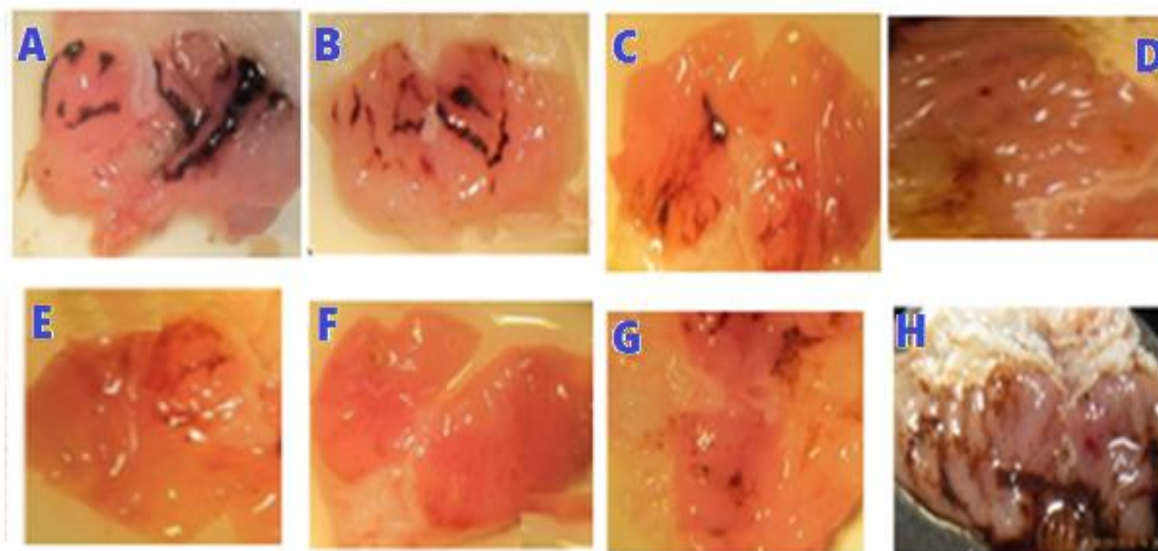
3.1.4.1.1. Activité gastroprotectrice du remède

Le Tableau XV récapitule les données de l'étude de l'effet gastroprotecteur du remède et des antiulcéreux de référence vis-à-vis de l'activité ulcérogène de l'éthanol à 90 %. En outre, les zones d'ulcérations sont indiquées par les taches noires sur la Figure 23 qui présente l'aspect de l'intérieur de l'estomac des rats traités. Par rapport au lot témoin dont l'indice d'ulcération est de $(4,28 \pm 1,35)$, une diminution est observée chez les animaux ayant été traités préalablement par le remède et les substances de référence (la cimétidine et l'omeprazole). Ces résultats montrent qu'aux doses supérieures à 5 mg/kg pc, le remède a fourni une protection gastrique significative variant de 41,72 % à 83,33 %. De même, les antiulcéreux de référence aux doses de 50 mg/kg pc ont induit des protections significatives de 78,96 % et 64,25 % respectivement pour la cimétidine et l'oméprazole.

Tableau XV : Valeurs des indices d'ulcération et pourcentage de protection

Substances administrées	Doses (mg/kg pc.)	Indice d'Ulçère (IU $\pm$ écart type)	Protection (%)
Eau distillée		4,28 $\pm$ 1,35	-
Remède	5	3,68 $\pm$ 1,07	14
	10	2,49 $\pm$ 0,63*	41,72
	20	2,00 $\pm$ 0,38 *	53,24
	50	1,01 $\pm$ 0,42 **	76,33
	100	0,71 $\pm$ 0,25**	83,33
Cimétidine	50	0,90 $\pm$ 0,21**	78,96
Oméprazole	50	1,67 $\pm$ 0,78**	64,25

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type, $n = 3$ pour chaque lot. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,001$: différence très hautement significative (**); $p < 0,05$: différence significative (*).

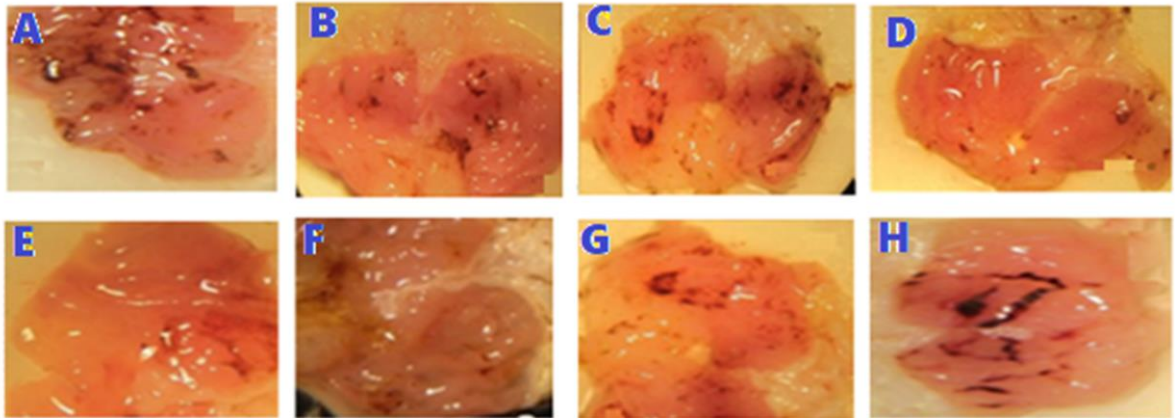

Figure 23 : Aspect intérieur des estomacs isolés des rats traités

A : 5 mg/kg pc. du remède ; B : 10 mg/kg pc. du remède ; C : 20 mg/kg pc. du remède ; D : 50 mg/kg pc. du remède ; E : 100 mg/kg pc. du remède ; F : 50 mg/kg pc. de cimétidine ; G : 50 mg/kg pc. d'oméprazole et H : eau distillée

3.1.4.1.2. Activité curative du remède sur les ulcérations gastriques

Au 7^e jour de traitement, la Figure 24 présente l'aspect de l'intérieur des estomacs isolés des rats traités. A l'exception du lot II (5 mg/kg), des taux de cicatrisation variant de 39 % à 68,75 % ont été observés chez les rats ayant reçu le remède aux autres doses. Cependant, le taux de cicatrisation était de 47 % et 63,25 % chez les rats traités aux substances de référence, en occurrence la cimétidine et l'oméprazole respectivement (Tableau XVI).

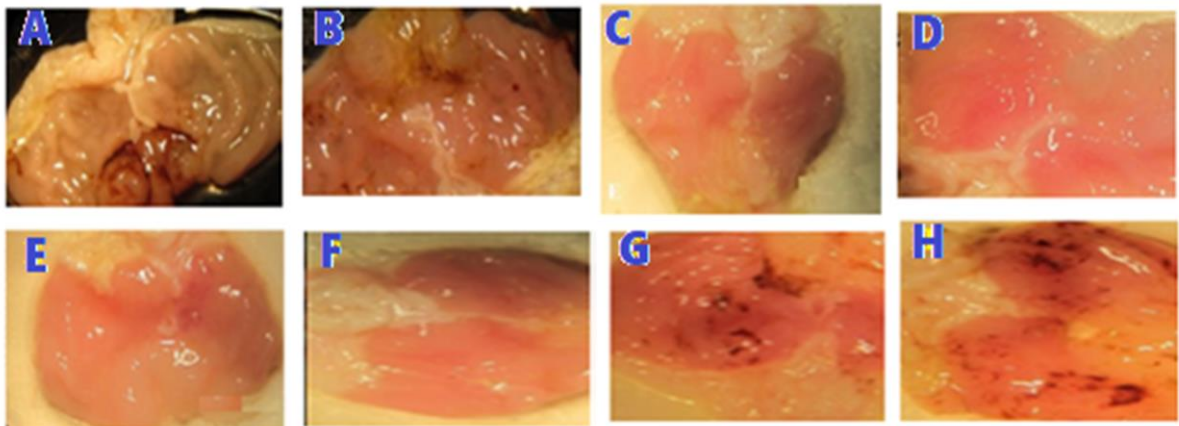
Après 14 jours de traitement les rats ayant reçu le remède aux doses de 20, 50 et 100 mg/kg pc et celui traité à la cimétidine ont présenté une cicatrisation complète (Figure 25). Les autres doses du remède ont donné des taux de cicatrisation variant de 27 % à 67 %. La molécule de référence (l'oméprazole) quant à elle a présenté un taux de cicatrisation de 84,12 % (Tableau XVI).



7 jours après l'administration du remède

Figure 24 : Aspect de l'intérieur des estomacs des rats traités au 7^e jour

A : 5 mg/kg pc du remède ; B : 10 mg/kg pc du remède ; C : 20 mg/kg pc du remède ; D : 50 mg/kg pc du remède ; E : 100 mg/kg pc du remède ; F : 50 mg/kg pc de cimétidine ; G : 50 mg/kg pc d'oméprazole et H : eau distillée.



14 jours après l'administration du remède

Figure 25 : Aspect de l'intérieur des estomacs des rats traités au 14^e jours

A : 5 mg/kg pc du remède ; B : 10 mg/kg pc du remède ; C : 20 mg/kg pc du remède ; D : 50 mg/kg pc du remède ; E : 100 mg/kg pc du remède ; F : 50 mg/kg pc de cimétidine ; G : 50 mg/kg pc d'oméprazole et H : eau distillée.

Tableau XVI : Valeurs des indices d'ulcérations et pourcentage de cicatrisation

Produits	Doses (mg/kg pc)	7 ^e jour		14 ^e jour	
		Indice d'Ulcère (IU $\pm$ écart type)	Cicatrisation (%)	Indice d'Ulcère (IU $\pm$ écart type)	Cicatrisation (%)
Eau distillée		2,25 $\pm$ 1,03	-	1,45 $\pm$ 0,44	-
	5	1,83 $\pm$ 0,97	18,25	1,05 $\pm$ 0,19	27,25
	10	1,37 $\pm$ 0,54*	39,00	0,47 $\pm$ 0,36*	67,20
Remède	20	0,87 $\pm$ 0,21**	61,15	0***	100
	50	0,79 $\pm$ 0,34**	65,00	0***	100
	100	0,70 $\pm$ 0,17**	68,75	0***	100
Cimétidine	50	0,83 $\pm$ 0,13**	63,25	0***	100
Oméprazole	50	1,19 $\pm$ 0,37*	47,00	0,20 $\pm$ 0,09**	86,12

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type, n=3 pour chaque lot au jour d'isolement des estomacs. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,001$: différence très hautement significative (***); $p < 0,01$: différence très significative (**); $p < 0,05$: différence significative(*).

3.1.4.2. Activité cicatrisante du remède

La cicatrisation progressive des plaies au cours du traitement est illustrée par dans les photographies de la Figure 26. Au 16^e jour de traitement, le remède à la dose de 300 mg/kg pc. a induit une cicatrisation totale de la plaie comparativement aux autres lots. Les pourcentages de cicatrifications sont représentés par la Figure 27 ; avec un pourcentage plus élevé pour la dose 300 mg/kg pc quelque soit la période d'observation.

Au 16^{ème} Jour, une cicatrisation à 100 % a été obtenue avec l'extrait à 300 mg/kg et à 97,93 % pour 150 mg/kg. A ce même temps, le taux de cicatrisation avec la substance de référence (L-mesitran) était de 96,37 %.



Figure 26 : Photographies des plaies à différents jours de traitement

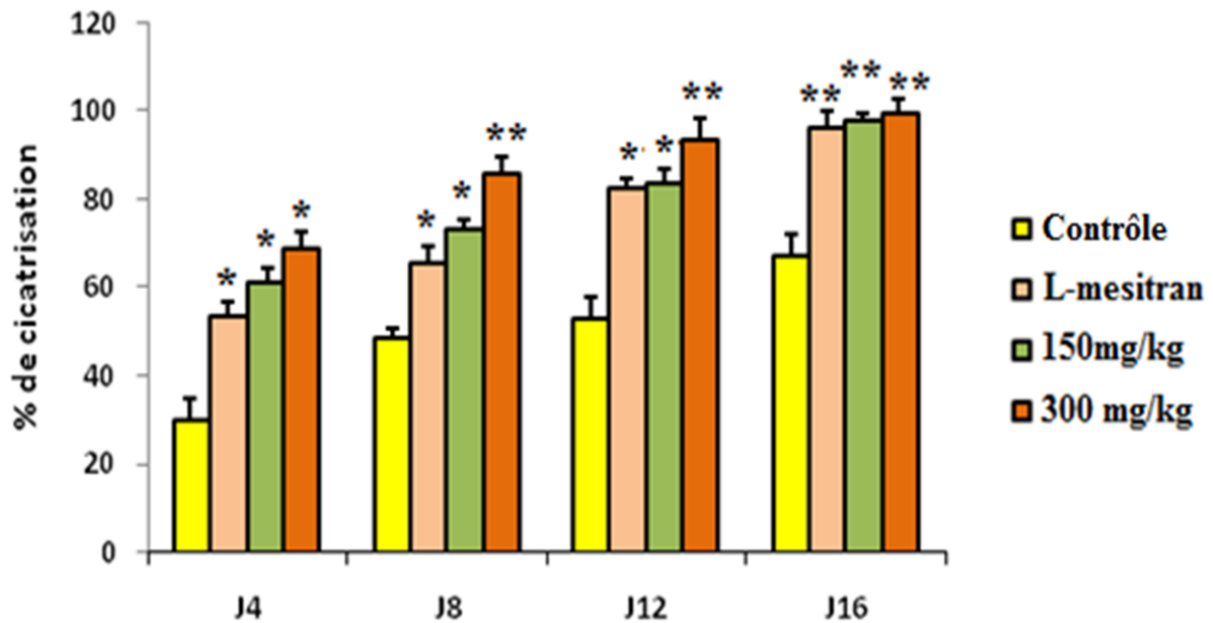


Figure 27 : Pourcentages de cicatrisation des plaies au cours du traitement

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type, $n=6$ rats pour chaque lot. Les données sont analysées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,01$: différence très significative (**); $p < 0,05$: différence significative (*).

3.1.4.3. Activité analgésique

3.1.4.3.1. Activité analgésique périphérique

Les résultats de l'effet du remède et de l'acide acétylsalicylique (médicament de référence) sur les contorsions liées à l'administration intra péritonéale de l'acide acétique sont consignés dans le Tableau XVII. Chez les souris traitées avec le remède à toutes les doses et à l'aspirine, les nombres de contorsions enregistrés ont présenté une diminution significative par rapport au témoin.

A dose égale à 100 mg/kg, le pourcentage d'inhibition des contorsions par le remède était de (84,13 %), tandis que celui de l'aspirine était de (78,57 %).

Tableau XVII : Effet du remède sur les contorsions abdominales induites par l'acide acétique

Substances administrées	Doses	Nombres de contorsions	Inhibition (%)
NaCl	(1 mL/100g)	26 ± 3,17	00
Aspirine	100 mg/kg	5,57 ± 2,25**	78,57
Remède	20 mg/kg	9,55 ± 2,05*	63,25
	50 mg/kg	7,98 ± 3,36**	69,28
	100 mg/kg	4,12 ± 2,25**	84,13

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart type, n=6 souris pour chaque lot. Les données sont traitées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,01$: différence très significative (**); $p < 0,05$: différence significative (*).

3.1.4.3.2. Activité analgésique centrale

Le temps de retrait de la queue chez le lot de souris ayant reçu la morphine à T=30 min est d'environ 12,5 s et décroît pour atteindre la valeur de 7,75 s à T 120 min. Contrairement, les lots ayant reçu les extraits aux différentes doses ont un retrait de la queue qui se situait autour de 4 s aux différents temps de mesure.

Les lots traités au remède, n'ont présenté aucune différence significative comparativement au lot témoin. Toutes ces données sont représentées sur la Figure 28.

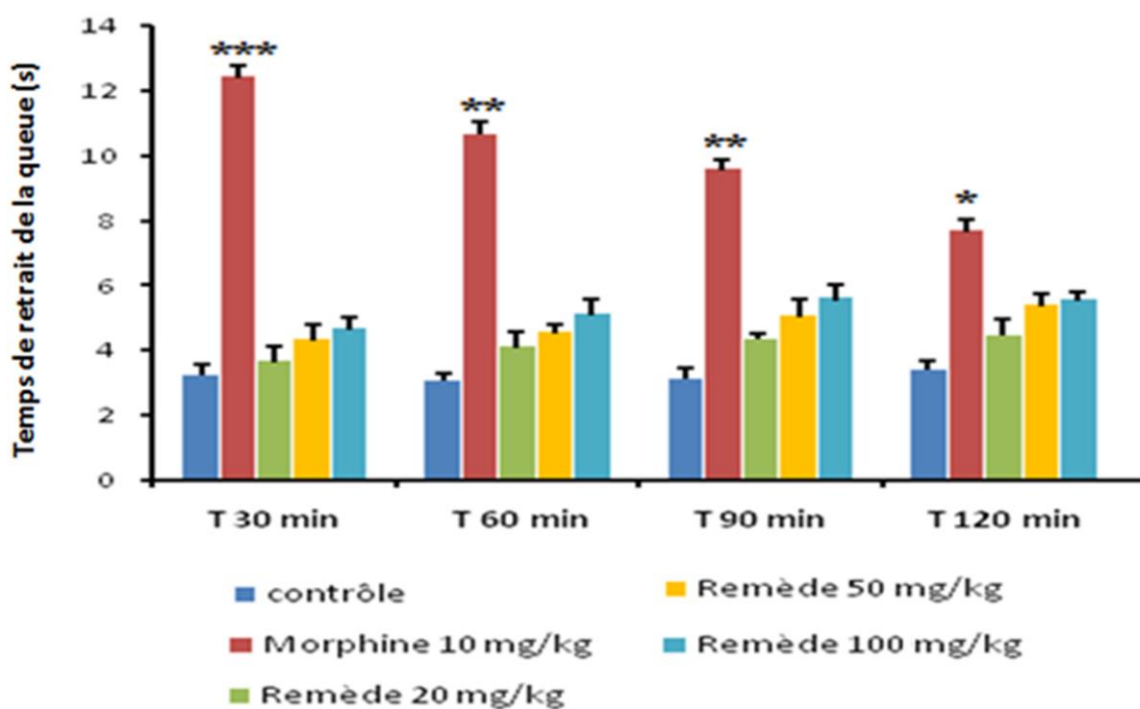


Figure 28 : Effet du remède sur les réponses nociceptives dans le test d'immersion de la queue

Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ écart type, $n=6$ pour chaque lot. Les données sont traitées par analyse de variance à sens unique (ANOVA) suivie du test de Dunnett. $p < 0,001$: différence très hautement (***) ; $p < 0,01$: différence très significative (**) ; $p < 0,05$: différence significative (*).

3.1.4.4. Activité antioxydante

3.1.4.4.1. Test de DPPH

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par la vitamine C et le remède augmentent avec l'augmentation des concentrations. Toutefois, une inhibition d'environ 100 % a été obtenue par la vitamine C à des concentrations comprises entre 25 $\mu\text{g/mL}$ et 100 $\mu\text{g/mL}$, alors que l'inhibition maximale obtenue par l'extrait est de 60 % à 100 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 29).

Sur la Figure 30, les valeurs de CI_{50} de la vitamine C et du remède étaient de $7,98 \pm 0,08$ $\mu\text{g/mL}$ et de $82,26 \pm 0,52$ $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

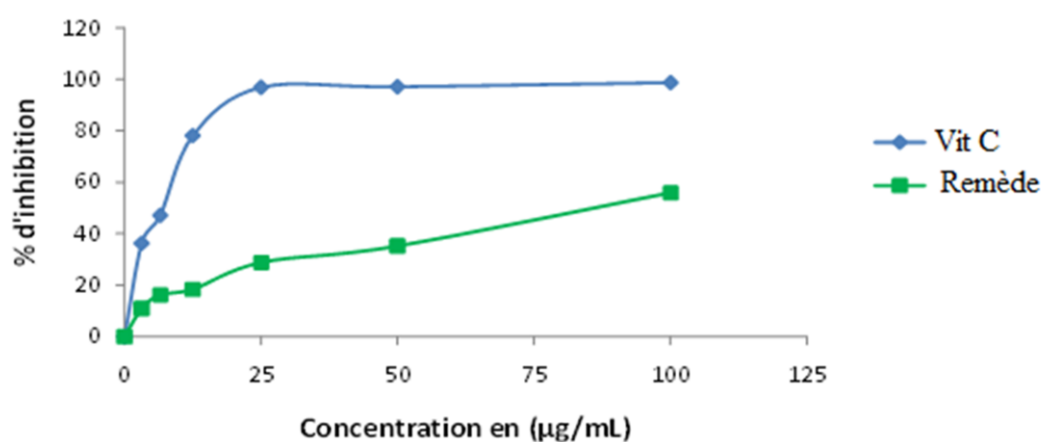


Figure 29 : Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH par le remède et vitamine C

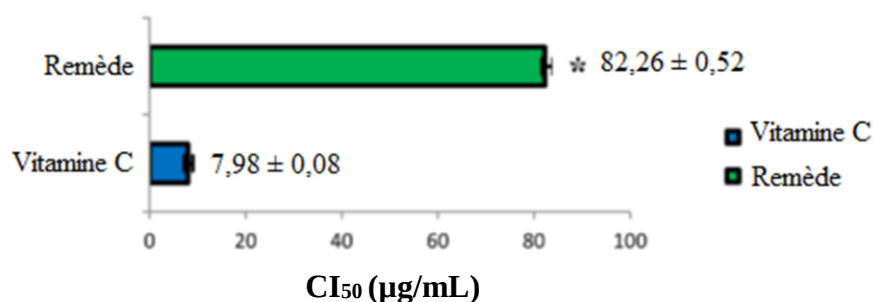


Figure 30 : Représentation en diagramme des CI_{50} de la vitamine C et du remède

*: valeur significative ($p < 0.05$)

3.4.4.2. Test de l'ABTS

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'acide gallique et le remède augmentent avec l'augmentation des concentrations. Toutefois, une inhibition d'environ 100 % a été obtenue par l'acide gallique à des concentrations comprises entre 125 $\mu\text{g/mL}$ et 250 $\mu\text{g/mL}$, alors que l'inhibition maximale obtenue par l'extrait est de 60 % à 250 $\mu\text{g/mL}$. Toutes ces observations sont illustrées par la Figure 31.

Les valeurs de CI_{50} de l'acide gallique et du remède étaient de $30,09 \pm 0,34 \mu\text{g/mL}$ et de $172,97 \pm 1,08 \mu\text{g/mL}$ respectivement comme illustrées par la Figure 32.

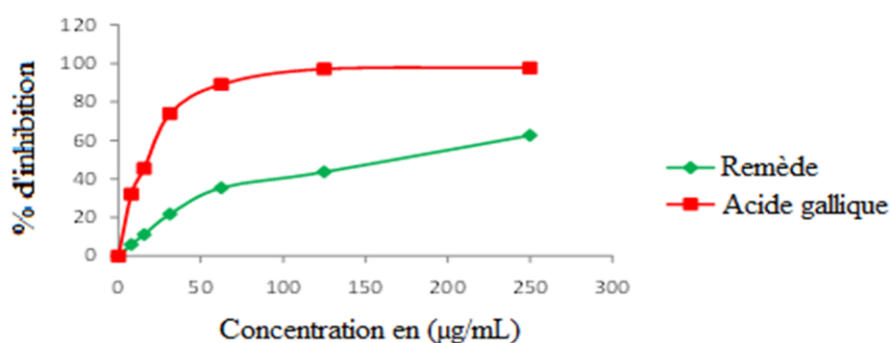


Figure 31 : Evolution des pourcentages d'inhibition de l'ABTS par le remède et l'acide gallique

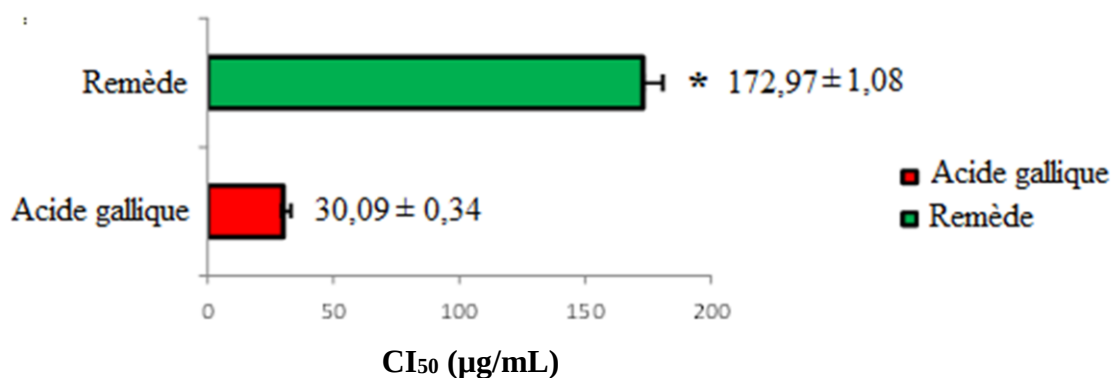


Figure 32 : Représentation en diagramme des CI_{50} de l'acide gallique et du remède

*: valeur significative ($p < 0.05$)

3.1.5. Caractérisation phytochimique

3.1.5.1. Composés phytochimiques

Le screening phytochimique de l'extrait sec du remède a permis de mettre en évidence qualitativement les familles de métabolites secondaires telles que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins catéchiques, les mucilages, les leucoanthocyanes et les stérols/polyterpènes. Cependant, une absence d'alcaloïdes, de tanins galliques et de quinones a été notée dans le remède (Tableaux XVIII).

Tableau XVIII : Screening phytochimique de l'extrait aqueux du remède

Familles de métabolites secondaires	Extrait sec du remède
	Résultats
Alcaloïdes (Réactif Valser-mayer)	-
Alcaloïdes (Réactif de Dragendorff)	-
Polyphénols totaux	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	-
Flavonoïdes	+
Quinones	-
Saponosides	+
Stérols et Polyterpènes	+
Mucilages	+
leucoanthocyanes	+

(+) : présence ; (-) : Absence

3.1.5.2. Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés

La mise en évidence quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés a permis de révéler les teneurs respectives de ces métabolites secondaires dans l'extrait aqueux du remède ; ce sont : $28,2 \pm 1,13$ mg EAG/g, $16,09 \pm 0,47$ mg EQ/g et $6,57 \pm 0,25$ mg EC/g (Figure 33).

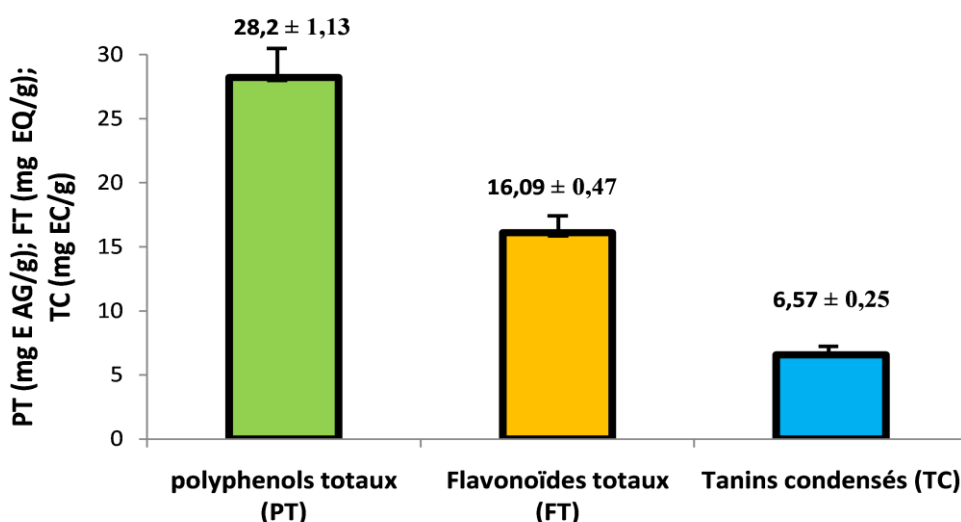


Figure 33 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés du remède

3.1.6. Caractéristiques macroscopiques et uniformité de masse

Sur la base des résultats *in vivo* obtenu avec le remède au cours du traitement des ulcérations gastriques, la dose efficace a été déterminée à 20 mg/kg pc. sur une utilisation de deux (02) semaines. Ce qui correspond à une consommation journalière de 1400 mg de résidus secs pour un adulte de 70 kg. Les gélules (Figure 34) ont donc été formulées à 480 mg de résidu sec du remède par gélule.

Les gélules obtenues sont lisses, brillantes, propres et non déformées. Le Tableau XIX montre les masses individuelles des 20 gélules prélevées au hasard pour le contrôle de l'uniformité de masse. La moyenne des 20 masses est de 0,4802 g. L'écart limite acceptable de 10 % est de 0,04802 g et l'intervalle de confiance à 10 % est donc de $I = [0,4322 \text{ g} ; 0,52822 \text{ g}]$. Aucune gélule de l'échantillon prélevé n'a une masse qui sort des limites de l'intervalle de confiance à 10 % tolérable par la Pharmacopée Européenne (2020).

Les gélules ont été conditionnées par 42 dans des piluliers opaques blancs en HDPE. Une étiquette portant le nom, l'indication et le mode d'emploi a été apposée sur chaque pilulier (Figure 35).

Tableau XIX : Test d'uniformité de masse : Masses des gélules

Numéro de la gélule	Masse des gélules remplies (g)	Masse des gélules à vide (g)	Masse du contenu (g)
1	0,5831	0,1025	0,4806
2	0,5874	0,0984	0,4890
3	0,5763	0,1028	0,4737
4	0,5766	0,1051	0,4715
5	0,5933	0,1076	0,4857
6	0,5848	0,1038	0,4810
7	0,5837	0,1040	0,4797
8	0,5786	0,0998	0,4788
9	0,5798	0,0989	0,4809
10	0,5810	0,1014	0,4796
11	0,5786	0,0981	0,4805
12	0,5908	0,1068	0,4840
13	0,5783	0,0956	0,4827
14	0,5817	0,1036	0,4781
15	0,5926	0,1067	0,4859
16	0,5886	0,1095	0,4791
17	0,5768	0,1042	0,4726
18	0,5848	0,1037	0,4811
19	0,5904	0,1097	0,4807
20	0,5872	0,1086	0,4786
Masse moyenne du contenu (g)			0,4802 ± 0,00429



Figure 34 : Gélules de 480 mg de résidu sec du remède « DAOUTRA EPIGASTRO »



Figure 35 : Piluliers contenant des gélules de « DAOUTRA EPIGASTRO ».

3.2. DISCUSSION

L'objectif général de cette étude était de contribuer à la constitution du dossier technique d'homologation du remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » utilisé dans le traitement des troubles gastriques.

Le praticien TRAORE Aboubakar est un homme adulte du groupe malinké dont le savoir faire a été acquis auprès d'un autre praticien de la médecine traditionnelle en Gambie. Les auteurs François *et al.* (2014) ont montré qu'en Afrique, la majorité des praticiens de la médecine traditionnelle sont des hommes. Par ailleurs, la transmission du savoir se faisait oralement de génération en génération par révélation ou par apprentissage auprès d'un autre praticien (Kroa, 2000 ; Doa, 2001). En outre, la loi 2015-536 du 20 juillet 2015 reconnaît l'acquisition du savoir faire en médecine traditionnelle par apprentissage.

Une étude conduite chez le peuple Malinké de Côte d'Ivoire en 2000 a démontré que les Malinkés sont des détenteurs de savoirs traditionnels en matière de médecine traditionnelle (Ambé & Malaisse, 2000). L'âge adulte du praticien pourrait témoigner de sa responsabilité dans les soins de santé qu'il administre aux patients dans le cadre de l'exercice de la médecine traditionnelle.

En outre, ce praticien figure dans le registre national des praticiens de la médecine traditionnelle de Côte d'Ivoire et assume diverses responsabilités au sein de l'Organisation Nationale des Praticiens de Médecine Traditionnelle des Districts Sanitaires de Côte d'Ivoire (O.N.A.P.M.T.D.S-CI). Tous ces éléments contribueraient à démontrer l'implication du praticien dans le domaine de la Médecine Traditionnelle. Le lieu de consultation « ONG le Daoutra » est organisé en trois pièces tels que recommandé par la loi en ce qui concerne les centres de soins et de consultations en médecine traditionnelle. La démarche de consultation adoptée par le praticien au sein de son cabinet est celle conventionnellement adoptée par tout praticien de santé ; et comprenant l'accueil avec enregistrement du patient, ensuite la consultation du patient par écoute attentive de celui-ci, puis la prescription. La disponibilité d'un registre de santé au sein du cabinet permettrait aux agents du ministère de la santé de disposer des données sur les utilisateurs de la médecine traditionnelle et de contrôler les activités du praticien.

L'une des prescriptions sur laquelle l'attention a été portée est celle afférente au remède « DAOUTRA EPIGASTRO ». Il s'agit d'une solution liquide composée de cinq (05) espèces végétales. Elle est utilisée dans le traitement des troubles gastriques. Le praticien entendait par trouble gastrique, toute affection touchant l'estomac (partie supérieure de l'abdomen) dont les manifestations seraient des douleurs aiguës, des vomissements, des brûlures et des ulcères. Sa

compréhension de la notion de troubles « gastriques ou gastrites » est celle définie par le lexique médicale et adoptée par tous (Marroun *et al.*, 2017).

Les espèces végétales (*Nauclea latifolia*, *Xylopia aethiopica*, *Capsicum frutescens*, *Zingiber officinale* et *Cassia sieberiana*) entrant dans la composition du remède sont largement connues en médecine traditionnelle Ivoirienne dans le traitement de diverses pathologies. En effet, l'espèce *Nauclea latifolia* a été décrite par Eto (2013) pour ses utilisations dans le traitement des troubles gastriques ; *Xylopia aethiopica* est recommandée en ethno-médecine pour traiter les affections broncho-pneumopathiques et les courbatures fébriles (Bouquet & Debray, 1974). *Capsicum frutescens* est une plante alimentaire largement utilisée en Afrique comme épice et pour ses propriétés antibiotiques et cicatrisantes des plaies (Poulos, 1993). *Zingiber officinale* communément appelée gingembre est utilisée comme boisson désaltérante et possède les vertus antitussive, décongestionnante nasale, antipyrétique, antigrippale, anti-nauséuse et anti-vomitif (Samy, 2005). Enfin, *Cassia sieberiana* est une espèce végétale dont les utilisations ethno-médicales sont : les maux d'estomac, les ulcères, la diarrhée, les brûlures et la maladie du sommeil (Schmelzer *et al.*, 2008).

L'association de plusieurs plantes dans un remède traditionnel est une pratique courante en médecine traditionnelle ; cela pourrait expliquer les diverses vertus thérapeutiques attribuées aux médicaments (Doa, 2016). « DAOUTRA EPIGASTRO » est un remède dit multi-spécifique à cause de la présence de plusieurs espèces végétales.

Le choix des pots HDPE par le praticien pour le conditionnement du remède pourrait s'expliquer par l'accessibilité de ces contenants, leur résistance aux chocs, aux fortes températures et aux rayons UV et leur durabilité. Les atouts de ces pots permettent de limiter la dégradation de la qualité du remède durant la période de conservation (Benchendikh & Bouguerba, 2022).

Dans la pratique, le praticien conseille aux patients de consommer deux (02) verres à thé du remède par jour. La mention du mode d'emploi du remède serait la preuve que le praticien est informé que toute substance consommée, qu'elle soit d'origine naturelle ou non pourrait engendrer des effets nocifs si elle n'est pas prise selon les doses recommandées. Cette précaution du praticien confirme l'affirmation de Paracelse selon laquelle : « Tout est poison, rien n'est poison, c'est la dose qui fait le poison ». L'usage de « DAOUTRA EPIGASTRO » devrait alors se faire *stricto sensu* conformément aux recommandations du praticien.

Une enquête de type observation participante a été menée pour déceler d'éventuels effets gênants chez les patients. Cette méthode a été employée par plusieurs auteurs dans l'évaluation des effets des remèdes traditionnels (Doa, 2016). De cette étude observationnelle,

il est ressorti que la majorité des patients enquêtés étaient alphabétisés, ce qui sous-entend qu'ils utilisent le remède en toute responsabilité. En outre, ce remède est utilisé par les hommes comme les femmes. Cela démontre que les troubles gastriques affectent les deux sexes à partir d'un âge moyen de 30 ans et plus. Ces résultats s'accordent avec ceux des auteurs Doffou *et al.* (2020) qui ont montré que cette affection touche les deux sexes selon un sex-ratio et un âge médian de 0,79 et de 34,5 ans respectivement.

En dehors de l'effet curatif, les utilisateurs de « DAOUTRA EPIGASTRO » ont décrit un autre effet majoritaire associé à l'utilisation de ce remède qui est l'appétence. La stimulation de l'appétit pourrait s'expliquer par l'effet du remède dans la production des orexigènes, substances impliquées dans le déclenchement de la faim (Alili & Boukeloua, 2020). Cette envie de nourriture du patient pourrait disposer son estomac à ne pas être creux et limiterait les effets des sécrétions acides sur la paroi gastrique, et donc des brûlures et douleurs aiguës associées aux troubles gastriques. Cela expliquerait la sensation de guérison exprimée par les utilisateurs du remède entre le 4^e et le 8^e jour d'utilisation.

Des études antérieures portant sur d'autres remèdes traditionnels à bases de plantes ont également décrit l'absence d'effets gênants aux doses conseillées par les praticiens. C'est le cas des remèdes tels que « NOE », « SARANTA » et « NATURE », qui ont été étudiés par Doa (2016), Fatto (2017) et Manda *et al.* (2017) respectivement. La satisfaction des patients après utilisation du remède serait liée à la disparition des signes symptomatiques associés aux troubles gastriques.

Sur le plan de l'innocuité, le test de toxicité aiguë a montré que le remède administré par voie orale à la dose maximale de 3000 mg/kg pc n'a entraîné ni la mort, ni des changements comportementaux chez les rats traités. La DL₅₀ a donc été estimée à plus de 3000 mg/kg pc. Selon le Système général harmonisé de classification (SGH) et l'échelle de toxicité, le médicament à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » a un indice de toxicité équivalent à 5 (Koua, 2020). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Manda *et al.* (2017) qui ont montré que " Nature ", un remède traditionnel utilisé dans le traitement du paludisme, avait une DL₅₀ supérieure à 5000 mg/kg pc. Cette faible toxicité aiguë du remède pourrait être liée à l'absence de toxicité individuelle des plantes qui composent le remède « DAOUTRA EPIGASTRO ». En effet, les plantes telles que *Zingiber officinale*, *Xylopia aethiopica*, et *capsicum fretencens* ont des DL₅₀ supérieures à 2000 mg/kg (Lagu & Kayanja, 2013 ; Benny *et al.*, 2021 ; Mindédé *et al.*, 2022). En sus, l'association des différentes plantes pourrait induire une interaction toxicologique avec comme effet l'inhibition des potentielles effets toxiques individuelles des plantes (Zeggwagh *et al.*, 2013).

La prise de poids observé chez certains rats traités à partir du 7^e jour serait dû à l'augmentation de l'appétence suite à la consommation de « DAOUTRA EPIGASTRO », telle que décrite par les utilisateurs du remède.

En administration humaine, le praticien conseille aux patients un (1) verre à thé de « DAOUTRA EPIGASTRO » deux fois par jour ; ce qui correspond pour un patient de 70 kg, à une dose journalière d'environ 10 mg/kg pc. Cette dose est largement inférieure à la dose de 3000 mg/kg pc testée chez les rats ; et cela pourrait expliquer pourquoi ce remède n'induit pas de troubles significatifs chez les utilisateurs. Ces premiers résultats d'innocuité de type observationnelle ont conduit à évaluer le remède en toxicité subaiguë afin de déterminer d'éventuelles modification des paramètres biochimiques et hématologiques, couplés à l'observation de coupes histologiques de certains organes vitaux.

Cette évaluation a confirmé la prise de poids précédemment observé chez les rats traités avec le remède « DAOUTRA EPIGASTRO ». Cela pourrait se justifier par la stimulation de l'appétence telle que décrite par James *et al.* (2014) lors de l'administration d'un extrait de *Nauclea latifolia* à des rats. Cette plante est également contenue dans le remède du praticien de la médecine traditionnelle et pourrait alors être à l'origine de l'effet observé.

Le pouvoir des plantes à favoriser l'appétit a également été mis en évidence par d'autres auteurs tels que Etame *et al.* (2010) et Mikolo *et al.* (2020) dans des études similaires. En effet, ces auteurs ont montré respectivement que l'administration orale des graines de *Carica papaya* et des feuilles de *Tetracera potatoria* entraînait une augmentation pondérale chez les rats.

Les poids relatifs des organes vitaux (Foie, Cœur, Rein) ont montré une différence significative qu'au niveau du foie à toutes les doses testées. Cela pourrait constituer un effet bénéfique du remède sur cet organe. En effet, la littérature scientifique décrit qu'une diminution du poids relatif du foie pourrait être consécutive à une élimination des graisses (effets de délipidation) dans cet organe par le remède (Ozturk *et al.*, 2009 ; Etame *et al.*, 2017). Par ailleurs, Imo *et al.* (2021) ont montré que la plante *Xylopi aethiopica* entrant dans l'élaboration du remède pourrait être associée à la biosynthèse et à la synthèse de protéines et d'hémoglobines respectivement, propices au bon fonctionnement des cellules hépatiques. Si aucune modification significative n'a été observée au niveau des paramètres hématologiques, lipidiques et ioniques chez les rats traités, il n'en est pas de même au niveau de certains paramètres biochimiques pour lesquels les valeurs de ASAT et de ALAT ont été significativement différentes de celles du groupe témoin à 1000 mg/kg. Ces différences pourraient s'expliquer par la libération à partir des cellules endommagées de ces marqueurs sériques qui sont présentes dans le foie, les muscles, les reins, le pancréas et d'autres tissus (Peirs, 2005). Les taux de ces

enzymes augmentent également en cas de myopathie, de rhabdomyolyse ou d'infarctus du myocarde (Goddard & Warnes, 1992).

L'étude histologique n'a révélé aucun signe de cytolysé hépatique ou de dégradation des cardiomyocytes inhérentes à une éventuelle toxicité du remède à toutes les doses par rapport au témoin. Cependant, les niveaux élevés de ASAT et de ALAT chez les animaux traités à 1000 mg/kg indiqueraient un dysfonctionnement au niveau de certains organes résultant de l'administration prolongée du remède à des doses élevées. Les modifications de ces deux paramètres biochimiques pourraient être liées à la présence dans ce remède des espèces végétales de *N. latifolia* et *C. sieberiana*, toutes deux déjà décrites pour avoir induit des modifications significatives de ASAT et ALAT dans des travaux antérieurs (Arise *et al.*, 2012 ; James *et al.*, 2014). A la différence des résultats des travaux de Samira & Abdullahi (2020), dans lesquels ils décrivaient une augmentation des concentrations sériques en urée et créatinine suite à l'administration de *C. sieberiana*, aucune modification n'a été observée sur les teneurs de ces paramètres avec le remède « DAOUTRA EPIGASTRO ». Cela pourrait s'expliquer par la présence de plusieurs plantes dans le remède dont les interactions toxicologiques réduiraient les effets de *C. sieberiana* (Zeggwagh *et al.*, 2013). L'urée et la créatinine sériques sont connues pour être les principaux marqueurs de la néphrotoxicité, bien que l'urée sérique est considérée comme un marqueur plus fiable de la fonction rénale que la créatinine (Palani *et al.*, 2009). L'absence de modifications de ces paramètres contribuerait à soutenir que le remède ne perturberait pas les fonctions rénales.

En outre, l'étude histologique n'a montré aucune altération de la structure rénale des rats traités par rapport aux témoins. Ces résultats corroborent ceux de Manda *et al.* (2017) sur le remède « Nature », en ce sens que certaines préparations à base de plantes peuvent être sans effets nocifs sur les fonctions rénales.

L'absence de modifications des concentrations des ions sodium (Na^+), potassium (K^+), chlore (Cl^-) et calcium (Ca^{++}), de Triglycéride, de cholestérol total, de HDL et de LDL chez les animaux traités comparativement au lot témoin s'expliquerait par la non perturbation du fonctionnement des reins, des systèmes digestifs, respiratoires et du cœur pendant l'administration du remède. L'administration du remède contribuerait à maintenir les équilibres acido-basiques et hydro-électrolytiques de l'organisme (Bourgeois *et al.*, 2002). Les résultats sont en harmonie avec ceux de Bekhaled *et al.* (2020) et Kplé *et al.* (2022) qui ont administré à des rats des extraits de *Taraxacum officinale* et un remède à base de plantes (*Zanthoxylum leprieurii*, *Xylopi aethiopica* et *Harungara madagascariensis*).

Le contrôle de la qualité microbiologique s'est fondé sur la recherche de flore mésophile aérobie totale (FMAT), coliformes totaux (CT), coliformes fécaux (CF), levures et moisissures (LM), salmonelles, *Staphylocoques aureus*, et *Echerichia coli* dans le remède sous sa forme commerciale (solution aqueuse) et sa forme résidu sec.

Après deux mois de conservation du résidu sec, le dénombrement des germes dans celui-ci n'a montré aucune valeur au-dessus des valeurs limites définies par la pharmacopée européenne. Ce qui traduirait que le résidu sec n'était pas contaminé et se conserverait mieux.

Par contre, dans la solution commerciale, le nombre de germes contaminants (FMAT et LM) augmentait avec la durée de conservation. Les levures et moisissures observées proviendraient des matières premières ou du milieu ambiant (Tayou, 2007). Cela traduirait que la solution commerciale liquide était plus sensible à la contamination. Toutefois, le seuil de contamination était en deçà des valeurs limites au bout de deux mois de conservation. Cette solution ne devrait donc pas être utilisée au-delà de deux mois après sa production. La croissance des germes dans la solution liquide pourrait être due en grande partie à l'activité de l'eau dans le remède à base de plantes (Meste *et al.*, 2002).

Aussi, aucune contamination fécale n'a été observée sur les deux formes du produit, ce qui traduirait que les règles d'hygiène et de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) ont été respectées par le praticien tout le long du processus de production (Dione, 2000 ; Njassap, 2001).

Le contrôle chimique par la recherche des éléments traces métalliques (ETM) à savoir l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le mercure (Hg) et le plomb (Pb) a montré que ces éléments étaient à des seuils conformes à ceux prescrits par ICH (2014). Leur présence à l'état de traces dans les préparations médicamenteuses serait liée principalement à l'utilisation de plantes récoltées dans des zones d'extraction minière ou de fortes activités industrielles (Juillerat *et al.*, 2012). En plus, cette contamination des plantes par les ETM pourrait être d'origine naturelle, provenant de l'altération des roches et les incendies de forêts (Mudipalli, 2007). Des études antérieures sur d'autres remèdes notamment « NOE » confortent l'idée selon laquelle les ETM qui sont détectés dans le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » sont à des seuils acceptables (Doa, 2016). Il est très indispensable de rechercher les ETM dans les remèdes à base de plantes afin de garantir leur innocuité car la présence de ces éléments pourrait occasionner plusieurs troubles neurocomportementaux, digestifs, rénaux et cardiaques (ICH, 2014).

L'extension de la recherche des contaminants chimiques aux résidus de pesticides a montré que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » ne contenait aucun résidu de pesticides parmi les 31 molécules recherchées.

L'absence de ces contaminants chimiques dans le remède pourrait s'expliquer par le fait que les différentes plantes entrant dans la composition du remède seraient récoltées dans des zones se situant loin des plantations. En effet, selon, Attygale *et al.* (1989), la présence de pesticides dans les préparations est consécutive à l'usage des produits phytosanitaires dans le traitement des plantations.

La recherche de résidus de pesticides dans les remèdes à base de plantes est une exigence de sécurité alimentaire car ces composés sont connus pour induire des troubles neurologiques, des effets cancérigènes et des perturbation endocriniennes (Multigner *et al.*, 2007 ; Feldman *et al.*, 2011).

Le choix de l'éthanol pour l'induction de l'ulcère est lié à son effet nécrosant bien connu, à cause de sa pénétration rapide dans la muqueuse gastrique (Siegmund, 2003). Il favorise l'apparition des lésions gastriques par l'exposition de ce dernier aux actions hydrolytiques et protéolytiques de l'acide chlorhydrique et de la pepsine respectivement. (Thabrew et Arawwawala, 2016).

Le remède, administré par voie intra-gastrique a induit une protection significative de la muqueuse gastrique contre les lésions provoquées par la solution ulcérogène (éthanol à 90 %) chez les rats à partir de 10 mg/kg pc. La muqueuse gastrique a été mieux protégée à la dose de 100 mg/kg. La protection de la muqueuse gastrique par le remède est donc dose-dépendante.

En comparant ces résultats à ceux obtenus à partir d'autres plantes, il ressort que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » a des effets gastro-protecteurs plus intéressants que ceux des extraits de *Abelmoschus esculentus* et *Opilia celtidifolia* dont les pourcentages de protection étaient 81 % à 500 mg/kg et 75 % à la dose de 100 mg/kg respectivement (Togola *et al.*, 2014 ; Deniz *et al.*, 2018). Le remède pourrait être utilisé à titre préventif des crises d'ulcères.

Au bout de 14 jours de traitement, le remède a entraîné une cicatrisation des ulcères à 100 % aux concentrations de 20 ; 50 ; et 100 mg/kg pc, par contre cela a été observé avec la cimétidine à 50 mg/kg pc. L'omoprazole à 50 mg/kg pc quant à elle n'a induit cette cicatrisation qu'à 86,12 %. Avec une dose minimale thérapeutique de 20 mg/kg pc, l'activité antiulcéreuse du remède était identique à celle de la cimétidine (antiulcéreux de référence) et meilleure que celle de l'omoprazole à 50 mg/kg pc.

En mettant en parallèle nos résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs lors d'études antérieures similaires, il ressort que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » posséderait un pouvoir cicatrisant des lésions gastriques plus intéressant que ceux de *Croton lobatus* et *Leptadenia hastata*. En effet, les feuilles de *croton lobatus* à 200 mg/kg ont assuré une guérison des lésions gastriques à hauteur de 70 % en 21 jours de traitement chez les rats (Ezugwi *et al.*,

2018). De même, selon les travaux de Carine (2007) le décocté de *Leptadenia hastata* à 2 000 mg/kg a pu induire qu'un taux de cicatrisation des ulcérations gastriques à 80 % en 14 jours de traitement chez des rats.

Cette bonne activité gastroprotectrice et curative des ulcérations gastriques pourrait provenir de l'action individuelle ou conjointe des plantes entrant dans la composition du remède. En effet, Okwari *et al.* (2013) ont montré qu'à 200 mg/kg *Xylopiya aethiopica* induisait une protection de 63,59 % de la muqueuse gastrique. En outre, Siddaraju *et al.* (2009) ont mis en évidence que l'extrait aqueux issu du rhizome de gingembre à 200 mg/kg pc offrait une protection de 77 % et 86 % des ulcérations induites par éthanol et le stress, avec un effet similaire à celui du lansoprazole (antiulcéreux de référence). Selon ces mêmes auteurs, l'administration du gingembre a pour effet de réduire les sécrétions d'acide gastriques, d'accroître l'épaisseur du mucus et de recouvrir les dommages du mucus gastrique occasionnés par les ulcérations. Les études effectuées par Balogoum *et al.* (2013) sur *Nauclea latifolia*, une autre plante constituant le remède, ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de cette plante engendrait une protection de 90,57 % des ulcérations induites par l'indométacine (substance ulcérogène) à 510 mg/kg pc chez les rats. La très bonne activité obtenue avec le remède pourrait être liée à l'activité synergique des plantes le composant et déjà connues pour être des antiulcéreuses.

En dehors de la protection interne observée en induction expérimentale d'ulcère, une étude complémentaire avec le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » a été conduite sur une plaie externe par excision de la peau des rats en évaluant le diamètre de la contraction de la plaie.

Du 4^e au 12^e jour, le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » à toutes les doses testées a montré une guérison accélérée de la plaie par rapport à la L-MESITRAN (Cicatrisant de référence). Cet effet de guérison s'est fait selon un processus incluant la phase de disparition de l'inflammation avec des plaies devenant rouges (J2 à J4), la phase de prolifération marquée par la présence des croûtes noires sur les plaies (J4 à J12), et la phase de remodelage ou maturation au cours de laquelle la cicatrice est devenue plane, pâle et lisse (J12 à J16) (Kada, 2018). Au cours de ces différentes phases, le processus est régulé par les facteurs de croissance (PDGF, TGF et FGF) sécrétés par les macrophages, les cellules endothéliales, les fibroblastes et les plaquettes (Suntar *et al.*, 2011 ; Ghashghaii *et al.*, 2017).

Priya *et al.* (2002) ont décrit que la guérison d'une plaie aiguë issue d'une écorchure ou d'une abrasion se faisait au bout de 4 semaines sans traitement. Cependant, avec l'extrait sec du remède, cette guérison pourrait être obtenue au bout de 3 semaines. L'activité cicatrisante du remède est dose-dépendante car le pourcentage de cicatrisation est fonction de la concentration

du remède appliquée. Des études antérieures portant sur des extraits végétaux de *Opilia celtidifolia* (Karabinta, 2020), *Elaeis guineensis* (Sene *et al.*, 2020) et *Areca catechu* (Masuram *et al.*, 2014) ont démontré leur effet cicatrisant.

De surcroît, de nombreuses plantes sont utilisées dans l'élaboration de plusieurs médicaments utilisés dans le traitement de la cicatrisation des plaies. En effet, le Cicatrol® (Pommade utilisée dans le traitement des plaies), qui favorise la cicatrisation, la régénération de l'épiderme et empêche l'infection des plaies grâce à son pouvoir antibactérien, est une association de plusieurs plantes (*Shorea robusta*, *Ficus infectoria*, *Azadiachta indica*, *Pongamia pinnata* et *Cassia tora*) Kada (2018). Le pouvoir cicatrisant du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » pourrait être attribué à la présence de phytoconstitués notamment les flavonoïdes et les tanins qui ont la capacité d'accélérer le processus de régénération tissulaire par stimulation de la production de collagène et de fibronectine (Priya *et al.*, 2002 ; Suriyamoorthy *et al.*, 2014 ; Sene *et al.*, 2023). Cet effet peut de même être associé aux mucilages, considérés comme des constituants cellulaires normaux très recherchés pour leurs propriétés cicatrisantes (Azame *et al.*, 2020). L'accélération de la cicatrisation serait également liée à une action synergique des plantes entrant dans la composition du remède.

Les douleurs sont généralement associées aux troubles gastriques. Ainsi, une étude a été conduite sur le potentiel analgésique du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » selon deux modèles. Les contorsions abdominales induites par l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique et le modèle d'immersion de la queue de souris (Muhammad *et al.*, 2012).

La douleur causée par l'injection de l'acide acétique est consécutive à la libération des médiateurs chimiques tels que l'histamine, la sérotonine, les prostaglandines et la bradykinine (Diatta *et al.*, 2014). Les récepteurs issus de la région péritonéale seraient probablement la source des douleurs abdominales (Krishnaraju *et al.*, 2009).

Il a été observé dans cette étude que le remède a inhibé les contorsions abdominales de manière dose-dépendante. A dose égale à 100 mg/kg, le remède a présenté un excellent pouvoir analgésique que la molécule de référence (acide acétylsalicylique).

L'effet analgésique périphérique est généralement corrigé par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissant par inhibition de la cyclo-oxygénase et/ou de la lipo-oxygénase ou encore par annihilation du signal douloureux induit par les nocicepteurs périphériques tels que les prostaglandines (Maione *et al.*, 2017). Ainsi, l'activité analgésique du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » pourrait s'expliquer par l'inhibition de la libération de la prostaglandine.

En effet, les composés chimiques, supports de l'inhibition de la libération de la prostaglandine dans leur généralité sont communément des phytoconstitués tels que les flavonoïdes, les saponines et les stéroïdes reconnus être des inhibiteurs des prostaglandines et des phénomènes inflammatoires (Hossain *et al.* 2013 ; Etou *et al.*, 2023).

Cette bonne activité analgésique de type périphérique du remède pourrait provenir de l'action individuelle ou synergique des plantes entrant dans sa composition. En effet, *Nauclea latifolia* contient du tramadol, un analgésique de niveau 2, dérivée de la morphine découverte en 2013 par Michel et son équipe (Boumendjel *et al.*, 2013). Les travaux menés par Mamadou (2011) ont montré que les extraits alcaloïdes de *Nauclea latifolia* Sm. agissent contre la douleur. Ils inhibent en effet de manière significative la douleur après injection de l'acide acétique à 0,6 % chez la souris.

En outre, Selon Hossain *et al.* (2013), *Xylopiya aethiopica*, possède une bonne activité analgésique. Cette propriété de la plante serait liée à sa richesse en stéroïdes qui sont des métabolites secondaires connus pour leurs propriétés antalgiques. *Capsicum frutescens* est utilisé pour soulager la douleur, et constitue le traitement topique le plus recommandé pour l'arthrite (Bosland & Votava, 2001). La capsaïcine, substance active de *Capsicum frutescens*, est de nos jours utilisée dans les crèmes, gels et onguents topiques pour atténuer la douleur. La capsaïcine sature les nerfs et provoque une inhibition de la transmission du signal douloureux pendant une période prolongée (Jonathan & Joel, 2009). De même, *Zingiber officinale* (50-800 mg/kg i.p.) a produit des effets analgésiques significatifs dose-dépendant, contre la douleur nociceptive induite thermiquement et chimiquement chez les souris lors des travaux de Ojewole (2006).

En comparant ces résultats obtenus à ceux provenant d'études analogues, il ressort que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » présente à dose égale (100 mg/kg) une activité analgésique plus importante (84,13 %) que celle de l'extrait aqueux des tourteaux de *Anacardium occidentale*. En effet, en 2021 les travaux effectués par Dosso *et al.* ont montré qu'à 100 mg/kg l'extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou inhibait les contorsions à hauteur de 61 %.

Les résultats du test d'immersion de la queue de souris n'ont pas montré de différence significative entre le lot témoin et les lots essais. Dans la présente étude, seule la morphine, a induit un effet inhibiteur sur la réponse nociceptive. Cela suggère que l'extrait n'aurait pas d'activité analgésique de type morphinique.

Le test de piégeage des radicaux libres par le DPPH a révélé que le remède ($CI_{50} = 82,26 \mu\text{g/mL}$) possédait un potentiel antiradicalaire qui est largement inférieur à celui de la vitamine C ($CI_{50} = 7,18 \mu\text{g/mL}$).

La comparaison de la valeur de la CI_{50} du remède avec celle d'autres extraits a révélé que le potentiel antioxydant du remède est meilleur que celui de *Crinum scillifolium* A. Chev. (Amaryllidaceae). En effet, pour cette plante, Koua (2020) a obtenu par le même test de piégeage des radicaux libres par le DPPH, des CI_{50} de $940 \mu\text{g/mL}$ (Extrait hydro éthanolique) et $2740 \mu\text{g/mL}$ (extrait aqueux). Par contre, la valeur de la CI_{50} du remède ($82,26 \mu\text{g/mL}$) a été supérieure à celle de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata* (L.) Lam. (Caryophyllaceae) avec une CI_{50} de $1,4 \mu\text{g/mL}$ (Dris *et al.*, 2022).

Les résultats du test basé sur l'aptitude de piégeage du proton par le radical $ABTS^{\circ+}$ viennent confirmer ceux déjà effectués avec la DPPH sur le pouvoir antioxydant de « DAOUTRA EPIGASTRO ». En effet en examinant les concentrations inhibitrices à 50 % (CI_{50}) obtenues, il ressort que le remède inhibe également le radical cationique $ABTS^+$.

Les différentes activités pharmacologiques et biologiques attribuées au remède « DAOUTRA EPIGASTRO » pourraient être liées à la nature des composés phytochimiques qui le composent.

Ainsi, le test de caractérisation qualitative conduit sur ce remède a permis de mettre en évidence plusieurs phytocomposés d'intérêt thérapeutique tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins catéchiques, les mucilages, les leucoanthocyanes et les stérols/polyterpènes. D'autre part, le dosage des composés phénoliques dans le remède a montré une prédominance des flavonoïdes par rapport aux tanins.

La teneur en polyphénols totaux du remède ($28,2 \pm 1,13 \text{ mg EAG/g}$) est largement supérieure à celle de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* qui est de $0,23 \text{ mg EAG/g}$ (Kouamé *et al.*, 2021). Par ailleurs, cette teneur en polyphénols du remède est semblable à celle de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata* ($24,18 \pm 0,227 \text{ mg EAG/g}$) obtenue par Dris *et al.* (2022).

Concernant la teneur en flavonoïdes, les résultats obtenus ($16,09 \pm 0,47 \text{ mg EQ/g}$) corroborent ceux de Kouamé *et al.* (2021). En effet, ces auteurs ont montré que l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* contenait $16,67 \text{ mg EQ/g}$ d'extrait sec. En outre, le remède a donné une teneur en flavonoïdes supérieure à celle de l'extrait aqueux de *Paronychia capitata* avec une valeur de $5,01 \pm 0,074 \text{ mg EQ/g}$ (Dris *et al.*, 2022).

La teneur en tanins condensés du remède ($6,57 \pm 0,25$ mg EC/g) est supérieure à celle de l'extrait aqueux de *Aubepine monogyne* ($0,3 \pm 0,1$ mg EC/g) obtenu par Bouzid *et al.* en 2011.

Le remède a montré des quantités significatives de composés phénoliques, sources de diverses activités biologiques. Les composés phénoliques représentent la principale famille de composés phytochimique qui participent à l'activité biologique et antioxydante des végétaux, et des produits dérivés des plantes (Rubió *et al.*, 2013). En effet, ces composés phénoliques sont connus pour avoir une activité antioxydante par le piégeage des radicaux libres et une bonne capacité à se complexer avec d'autres molécules telles que les polysaccharides et les protéines (Borelli & Izzo, 2000). Ils peuvent ainsi prévenir la formation de l'ulcère via un effet vasoconstricteur ou par leur aptitude à précipiter les protéines au niveau du site de lésion. Cela favoriserait la formation d'une couche imperméable recouvrant la muqueuse gastrique. Ce qui la rendrait moins sensible aux attaques chimiques, aux dommages mécaniques ou aux irritations. Parmi ces composés, les tanins sont connus pour être de véritables gastroprotecteurs (Mekkiou *et al.*, 2012).

Les mucilages sont très prisés pour leurs propriétés cicatrisantes et protectrices de la muqueuse gastrique (Yansambou, 2002). En effet, les mucilages contenus dans *Abelmoschus esculentus* ont montré une bonne activité protectrice de la muqueuse gastrique avec une efficacité synergique. Ils agissent comme pansement interne capable de sauvegarder l'intégrité des muqueuses des voies digestives en induisant la sécrétion de mucus comme agent protecteur des muqueuses.

Les saponosides sont cités pour leurs propriétés antimicrobienne, anti-inflammatoire et antalgique. Leurs effets permettraient de réduire les situations d'inconfort liées à des troubles gastriques (Bruneton, 1999).

Des études ont montré que les flavonoïdes sont dotés de propriétés anti-ulcérogènes, ils diminuent la sécrétion d'histamine par les mastocytes en inhibant l'histidine décarboxylase et améliorent la sécrétion de mucus et de prostaglandines qui sont impliquées dans la régulation du mucus (Borrelli & Izzo, 2000 ; Nwagba *et al.*, 2013). Ces composants provoquent l'enrobage des plaies gastriques, forment des complexes avec les protéines de la paroi cellulaire de la plaie gastrique. Ils chélatent les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène, stimulent la contraction de la plaie et augmentent la formation de nouvelles cellules (Vijay & Rajesh, 2012). Les flavonoïdes tels que les anthocyanines augmentent le taux de Glutathion Réduit (GSH) et l'activité des enzymes antioxydants comme la glutathion peroxydase (GPX), la

superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) au niveau gastrique, de plus les anthocyanines sont aussi capables de diminuer la sécrétion de l'histamine grâce à leur effet inhibant de l'histidine décarboxylase (Alvarez-Suarez *et al.*, 2011). Les extraits de plantes riches en flavonoïdes sont donc couramment utilisés pour traiter les ulcères d'estomac (Lakshmi-Srinivas *et al.*, 2013).

Les polyphénols, les saponines et les stéroïdes que contiennent les plantes sont des inhibiteurs des prostaglandines et des phénomènes inflammatoires (Hossain *et al.* 2013).

La richesse du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » en phytoconstitués (polyphénols, flavonoïdes, saponosides, tanins, mucilages, leucoanthocyanes et stérols/polyterpènes) couplé à sa bonne capacité antioxydante pourrait expliquer ses activités pharmacologiques intéressantes (gastroprotectrice, curative des ulcérations gastriques, cicatrisante des plaies et analgésique). Ces propriétés pourraient justifier son utilisation dans la prise en charge des troubles gastriques.

Une reformulation du remède en gélules a été proposée afin de limiter le risque de contamination par certains microorganismes et masquer le goût amer du remède. Les gélules formulées ont été uniformes en masse et cela se justifie par un bon remplissage. Ces résultats sont semblables à ceux de Chougouo-Nkuitchou *et al.* (2020). En effet, ces auteurs ont formulé des gélules à base de feuilles et de tiges d'*Artemisia Annua* ayant des masses uniformes.

La formulation de « DAOUTRA EPIGASTRO » sous la forme gélule, présente de nombreux avantages aussi bien pour les patients que pour le produit lui-même. En effet, l'administration des gélules, non seulement masque l'amertume et l'odeur du remède ce qui facilite sa prise par les personnes très sensibles aux goûts amers et âcres. Par conséquent, cette nouvelle forme pourrait contribuer à améliorer l'observance thérapeutique (Barakh *et al.*, 2019). D'ailleurs, les gélules sont moins encombrantes que la solution et peuvent facilement être emportées, et cette facilité permet donc de les prendre partout (au travail, au restaurant, en vacances). Il est également admis que la durée de conservation des remèdes sous la forme solution aqueuse est brève. Par contre, la poudre, présente une meilleure stabilité chimique (Chougouo-Nkuitchou *et al.*, 2020).

Les gélules sont conservées dans des flacons portant des étiquettes avec toutes les mentions indispensables pour l'utilisation du médicament. La durée relativement courte du traitement (14 jours) est de nature à motiver le malade pour une bonne observance du traitement.

CONCLUSION

L'objectif général de cette étude était de contribuer à la constitution du dossier technique d'homologation du remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » utilisé dans le traitement des troubles gastriques à travers la réalisation d'une enquête ethnopharmacologique, l'évaluation de son innocuité et efficacité, le contrôle de sa qualité et la détermination de sa composition phytochimique.

Pendant l'enquête ethnopharmacologique, le praticien a indiqué que le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » était une solution aqueuse de cinq (05) plantes médicinales à savoir : *Nauclea latifolia* Smith (Rubiaceae), *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae), *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae), *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) et *Cassia sieberiana* (DC.) (Fabaceae). En outre, il a indiqué que la durée d'un traitement avec ce remède chez un patient souffrant de troubles gastriques était de 24 jours. Les patients utilisant ce remède ont quant à eux effectivement confirmé qu'à partir du 4^{ème} jour de traitement les signes associés aux troubles gastriques disparaissaient. Ils ont également signalé que ce remède augmentait leur appétit durant le traitement. Ils ont été à 100 % satisfaits de l'utilisation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » et ne se sont plaints d'aucun effet secondaire associé à l'utilisation du remède pendant et un (01) mois après le traitement.

Du point de vue de l'innocuité, le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » n'a présenté aucun signe de toxicité aiguë par administration *per os* aux doses administrées (500 mg/kg, 1000 mg/kg et 3000 mg/kg). La DL₅₀ est estimée supérieure à 3000 mg/kg pc.

Par ailleurs, administré en toxicité subaiguë, les paramètres hématologiques et biochimiques, confirmés par l'étude histologique des organes (foies, reins, cœurs) ont prouvé qu'à partir de 1000 mg/kg pc, le remède entraîne une modification significative de l'ASAT et de l'ALAT. Par contre, à des doses inférieures ou égales à 500 mg/kg pc, le remède n'induit aucun risque toxicologique chez les rats.

Les résultats des essais microbiologiques, de la recherche en éléments traces métalliques et de résidus de pesticides témoignent de la bonne qualité du remède. Cependant, le remède sous la forme de résidus sec est microbiologiquement plus stable que la solution aqueuse.

L'étude chimique qualitative et quantitative du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » a permis de montrer que le remède contient des Stéroïls/terpènes, des flavonoïdes, des polyphénols, des tanins catéchiques, des mucilages, des leucoanthocyanes et des saponines. En outre, parmi les composés polyphénoliques dosés, les flavonoïdes sont majoritaires par rapport aux tanins condensés.

L'efficacité du remède a été évaluée pour ses propriétés antiulcéreuses, analgésiques, cicatrisantes et antioxydantes. L'étude de l'activité antiulcéreuse a montré une protection de la

muqueuse gastrique de 41,72 % à partir de 10 mg/kg pc. Le traitement des ulcérations gastriques à des doses comprises entre 5 mg/kg pc et 100 mg/kg pc a révélé qu'à partir de 20 mg/kg, le remède entraîne une cicatrisation à 100 % des lésions gastriques au bout de 14 jours de traitement au même titre que la cimétidine un antiulcéreux de référence administrée à 50 mg/kg pc.

De l'évaluation du potentiel analgésique du remède « DAOUTRA EPIGASTRO », il ressort que le remède inhibe les douleurs induites par l'acide acétique à hauteur de 84,14 % avec un effet supérieur à celui de l'aspirine. Le remède possède une activité analgésique de type non morphinique.

Par ailleurs, le remède « DAOUTRA EPIGASTRO » appliqué aux doses de 150 mg/kg et 300 mg/kg pc, a montré une activité cicatrisante, meilleure que celle de la L-MESITRAN utilisée comme cicatrisant standard. Le potentiel antioxydant du remède a été déterminé à des valeurs de CI_{50} de $82,26 \pm 0,52 \mu\text{g/mL}$ et $172,97 \pm 1,08 \mu\text{g/mL}$ par les tests de DPPH et de l'ABTS respectivement. Ce potentiel est largement inférieur à celui de la vitamine C ($CI_{50} = 7,98 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$).

Les gélules formulées à 480 mg étaient toutes homogènes en masse conformément à la Pharmacopée Européenne. Cette nouvelle forme du remède présente l'avantage d'être plus adaptée pour le déplacement du patient et de limiter l'exposition aux contaminants microbiens.

Toutes les données issues de cette étude permettront de renseigner le dossier pharmacotoxicologique au sujet du remède à base de plantes « DAOUTRA EPIGASTRO » dans le cadre d'une démarche d'obtention d'une autorisation de commercialisation en tant que Médicament Traditionnel Amélioré (MTA) de la catégorie 2, pouvant être recommandé dans la prise en charge des troubles gastriques.

Ces résultats très prometteurs ouvrent des perspectives de recherches plus affinées sur ce remède à partir de sa nouvelle formulation. Il s'agira plus précisément :

- de rechercher la contamination par les mycotoxines ;
- d'évaluer l'activité antibactérienne du remède sur *Helicobacter pylori* impliqué dans les ulcères infectieux ;
- de réaliser des tests de stabilité sur les gélules formulées ;
- et d'effectuer avec l'accord du comité national d'éthique des essais cliniques.

REFERENCES

- Abarikwu S. O., Ogunlaja A., Otuechere C. A. & Gideon O. (2017). Effect of Ethanolic Extract from Seeds or Pods of *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae) on the testicular function of adult male Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 32(4) : 420-428.
- Abbah J., Amos S., Chindo B., Ngazal I., Vongtau H. O., Adzu B., Farida T., Odutola A. A. Wambebe C. & Gamaniel K. S. (2010). Pharmacological evidence favouring the use of *Nauclea latifolia* in malaria ethnopharmacy : effects against nociception, inflammation, and pyrexia in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1) : 856-90.
- Abdulrazak N., Asiya U. I., Usman N. S. & Unata I. M. (2015). Anti-plasmodial activity of ethanolic extract of root and stem bark of *Cassia sieberiana* DC on mice. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 4(2) : 96-101.
- Adinortey M. B., Ansah C., Galyuon I. & Nyarko A. (2013). *In Vivo* models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer Agents. *Ulcers*, 1(1): 1-12.
- Adjanohoun E. J., Ake Assi L., Floret J. J., Guindo S., Koumaré M., Ahyi A. M. R. & Raynal J. (1973). Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali, Edition ACCT. (Agence de coopération culturelle et technique), Paris (France), 291 p.
- AFNOR. (2001). Microbiologie alimentaire. Règles générales pour les examens microbiologiques, NF ISO 7954, Paris, AFNOR, 12 p.
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé : AFSSAPS. (2005). Prise en charge thérapeutique de l'éradication de *Helicobacter pylori* chez l'adulte et l'enfant. *Journal de pédiatrie*, 18 : 424-426.
- Agomuoh A. A., Ata A., Udenigwe C. C., Aluko R. E. & Irenus I. (2013). Novel indole alkaloids from *Nauclea latifolia* and their renin-inhibitory activities. *Chemistry and Biodiversity*, 10(3) : 401-410.
- Ajith T. A., Nivitha V. & Usha S. (2007). *Zingiber officinale* Roscoe alone and in combination with α -tocopherol protect the kidney against cisplatin-induced acute renal failure. *Food and Chemical Toxicology*, 45(6) : 921-927.
- Ake A. L. (1984). Flore de la Côte d'Ivoire : Etude descriptive et biogéographique, avec quelques notes ethnobotaniques. Thèse de Doctorat ès-Sciences, Faculté des Sciences, Université d'Abidjan (Côte-d'Ivoire), 6 fascicules, 1206 p.
- Aké A. L., Abeye J., Guinko S., Giguët R. & Bangavou Y. (1978). Contribution à l'identification et au recensement des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée en Empire Centrafricain, Edition ACCT, Paris (France), 139 p.

- Alaribe C. S., Adesegun S., Idowu A. O., Egere O., Ihemedu C., Coker H. A. B. & Smith S. (2014). Healing, cytoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of stem bark extracts and butanol fraction of *Nauclea latifolia*. *West African Journal of Pharmacy*, 29(1): 110-120.
- Aleixo M., Sass C., Leal R., Dantas T., Pagani M. & Pimentel T. (2020). Using Twitter® as source of information for dietary market research : A study on veganism and plant-based diets. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(1) : 61-68.
- Alili N. E. H. & Boukeloua Z. (2020). Les stimulants de l'appétit à base de plantes. Mémoire de Master, Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université des Frères Mentouri (Constantine, Algérie), 89 p.
- Alvarez-Suarez J. M., Dekanski D., Ristic´ S., Radonjic´ N. V. & Petronijevic´ N. D. (2011). Strawberry Polyphenols Attenuate Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats by Activation of Antioxidant Enzymes and Attenuation of MDA Increase. *PLoS ONE*, 6(10) : 1-11.
- Ambé G. A. & Malaisse F. (2000). Les plantes utilisées dans la médecine et la Pharmacopée traditionnelle d'une population malinké en Côte d'Ivoire. *Revue de Médecine traditionnelle et Pharmacopée Africaine*, 14 : 121-130.
- Angiosperm P. G., Chase M. W., Christenhusz M. J. M., Fay M. F., Byng J. W., Judd W. S., Soltis D. E., Mabberley D. J., Sennikov A. N., Soltis P. S., Stevens P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181 (1) : 1-20.
- AOAC (2003). Official Methods of Analysis, Metals and Others, Method 999.10, Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron *In* Foods Atomic absorption Spectrophotometry After Microwave Digestion, chapitre 9, 46 p.
- Ari Y., Elis S., Toni A. R., Finna S. & Dadang J. (2017). Gastric Ulcer Healing Effect of Bangle (*Zingiber cassumunar* (Roxb.)) Rhizome Extract in Aspirin-induced Rats Model. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1) : 29-34.
- Arise R. O., Akintola A. A., Olarinoye I. B. & Balogun E. A. (2012). Effects of aqueous extract of *Nauclea latifolia* stem on lipid profile and some enzymes of rat liver and kidney. *International Journal of Pharmacology*, 8(5) : 389-395.
- Arora R., Midha G., Parveen S. (2015). Study different experiment models used in pepticulcer. *International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research*, 5(2) : 31-37.
- Attygalle A. B., Siegel B. B., Vostrowsky O., Bestman H. J. & Maschwitz U. (1989). Chemical composition and function of metapleural gland secretion of the ant, *Crematogaster*

- deformis* smith (hymenoptera: Myrmicinae). *Journal of Chemical Ecology*, 15(1) : 317-328.
- Austarheim I., Mahamane H., Sanogo R., Togola A., Khaledabadi M., Vestrheim A. C., Inngjerdingen K. T., Michaelsen T. E., Diallo D. & Paulsen B. S. (2012). Anti-ulcer polysaccharides from *Cola cordifolia* bark and leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 14(1) : 221-227.
- Azame T. L., Tembe F. E., Njinkio N. B. & Fokunang C. N. (2020). Screening phytochimique, activité cicatrisante et toxicité aiguë de la Sève des racines de *Musanga Cecropioides* et de l'extrait aqueux de la plante entière de *Acmella Caulirhiza* sur des Rats de la Souche Wistar. *Health sciences and diseases*, 21(1) : 1-10.
- Ba K., Tine E., Destain J., Cissé N. & Thonart P. (2010). Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 14(1) : 131-139.
- Baccam A. (2019). Les propriétés de l'aloès, de la guimauve et de la réglisse dans la prise en charge du reflux gastro-œsophagien. Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Marseille (France), 136 p.
- Balogun M. E., Jeje S. O., Salami S. A., Onwe P. E. & Folawiyo M. A. (2015). Anti-ulcerogenic and gastric anti-secretory effects of *Nauclea latifolia* extract in male albino rats. *European Journal Experimental Biology*, 5(2) : 74-80.
- Balogun M. E., Oji J. O., Besong E. E., Ajah A. A. & Michael E. M. (2013). Anti-ulcer activity of aqueous leaf extract of *Nauclea latifolia* (rubiaceae) on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *African Journal of Biotechnology*, 12(32) : 5080-5086.
- Bédane C. & CEDEF (2015). Revêtement cutané - enseignement intégré ; Collège des enseignants de dermatologie en France. Elsevier, Masson, Paris (France), 192 p.
- Bekhaled I., Benalia A., Mehida H., Meziani S., Tarfaoui L., Djjebar A. A., Mai A. H., Bensaid I. & Demmouche A. (2020). Evaluation of the Acute Toxicity of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Roots. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3) : 159-163.
- Bekro Y. A., Mamyrbekova J., Boua B. B., Bi F. T. & Ehilé E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, 4 : 217-225.
- Ben A. B. (2008). Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : Texturation par détente instantanée

- contrôlée (DIC). Thèse de doctorat, UFR des Sciences, Université de La Rochelle (France), 207 p.
- Benchendikh S. E. O. & Bouguerba H. (2022). Modélisation par éléments finis des polymères HDPE. Mémoire de Master en Génie Mécanique, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Mostaganem (Algérie), 40 p.
- Benny M., Shylaja M. R., Benny A., Nishant K. G., Reshma M., Anjali A. & Sherina J. (2021). Acute and sub-acute toxicity studies with ginger extract in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(5) : 2799-2809.
- Bernard J. F. & Villanueva L. (2009). Architecture fonctionnelle des systèmes nociceptifs. Douleurs : physiologie, physiopathologie et pharmacologie. Arnette, Paris (France) : 1-27.
- Béthoux F. & Calmels P. (2012). Guide des outils de mesure et d'évaluation en médecine physique et de réadaptation. 2^{ème} édition. Editions Frison-Roche, Paris (France), 416 p.
- Bhandari U., Sharma J. N. & Zafar R. (1998). The protective action of ethanolic ginger (*Zingiber officinale*) extract in cholesterol fed rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 61(2) : 167-171.
- Bode A. M., Ma W. Y., Surh Y. J. & Dong Z. (2001). Inhibition of epidermal growth factor-induced cell transformation and activator protein 1 activation by [6]-gingerol. *Cancer Research*, 61 : 850-853.
- Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Beaudeux J. L., Peynet J., Legrand A. & Delattre J. (2001). Aging and oxidative stress. Which potential markers? *Annales de Biologie Clinique*, 59(4) : 453-459.
- Borelli F. & Izzi A. A. (2000). The plant kingdom as a source of antiulcer remedies. *Phytotherapy Research*, 14(8): 581-591
- Bosland P. W. & Votava E. J. (2001). Peppers: Vegetable and spice *capsicums*. *Journal of Agricultural Science*, 136(4) : 471-475.
- Boumendjel A., Taïwe G. S., Elisabeth N. B., Tanguy C., Chantal B., Sinniger V., Haudecoeur R., Marcourt L., Challal S., Emerson F. Q., Florence S., Le Borgne M., Lomberget T., Depaulis A., Lavaud C., Robins R., Wolfender J-L., Bonaz B. & Michel W. (2013). Occurrence of the Synthetic Analgesic Tramadol in an African Medicinal Plant. *Angewandte Chemie International Edition*, 62(52) : 11780-11784.
- Bouquet A. et Debray M. (1974). Plantes médicinales de Côte-d'Ivoire, Imprimerie Louis Jean, Paris (France), 232 p.

- Bourgeois S., Massé S., Paillard M. & Houillier P. (2002). Basolateral membrane Cl (-), Na (+), and K (+) coupled base transport mechanisms in rat MTALH. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 282(4) : 655-668.
- Bouyssou C. (2014). Évolution des stratégies thérapeutiques pour *Helicobacter pylori*. Dossier Nouvelles stratégies thérapeutiques contre *Helicobacter pylori*. *Actualités pharmaceutiques*, 53 : 25-30.
- Bouزيد W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M. C. & Ayachi A. (2011). Evaluation de l'activité Antioxydante et antimicrobienne des Extraits de l'aubepine monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1) : 59-69.
- Bretagne J. F. (2003). « Faut-il éradiquer *Helicobacter pylori* pour prévenir le cancer gastrique ? ». *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 27 : 440-452.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (3^{ème} edn). Edition Technique et Documentation, Lavoisier, Paris (France) : 101-120.
- Burkill H. M. (1985). The useful plants of West tropical Africa, 2nd edition, Royal Botanic Gardens, Kew (United Kingdom), 3 : 857 p.
- Burkill H. M. (1985). The Useful plants of West Tropical Africa, 2nd edition, Families A-D- Royal Botanic Garden, Kew, Richmond (United Kingdom), 1 : 960 p.
- Cadiot G. (2020). Gastrite chronique non liée à *Helicobacter pylori* du diagnostic au traitement. *POST'U*, 1 : 127-131.
- C.U.H-G : Collégiale des universitaires en hépato-gastroentérologie. (2009). Ulcère gastrique et duodéal. Gastrite, Chapitre 30, item 290. In : hépato-gastro-entérologie. Elsevier, Masson, Paris, Fance : 294-307.
- Calop J., Limats S. & Fernandez C. (2008). Pharmacie clinique et thérapeutique. 3e Ed., Masson, Paris (France), 1308 p.
- Carine N. (2007). Contribution a l'étude de l'activité antiulcéreuse de *Leptadenia hastata* (pers.) Decne (*asclepiadaceae*), Thèse de Doctorat en médecine vétérinaire, Faculté de Médecine, Pharmacie et d'Odonto-stomatologie, Université de Dakar (Sénégal), 79 p.
- CEDEAO (2013). Pratique de la médecine Traditionnelle et valorisation des médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle dans les états membre, 78p.
- Chavass D., Kolwicz C. & Smith B. (2001). Médicaments Essentiels : le Point N°. 030. *Bibliothèque des Systèmes de Santé de l'OMS*, 27 : 1-27.
- Chaiyasit K., Khovidhunkit W. & Wittayalertrpanya S. (2009). Pharmacokinetic and the effect of capsaicin in *Capsicum frutescens* on decreasing plasma glucose level. *Journal of Medical Association of Thailand*, 92(1) : 108-113.

- Chira K., Suh J. H., Saucier C. & Teissède P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2) : 75-82.
- Choi H. J., Kim J. H., Lee C. H., Ahn Y. J., Song J. H., Baek S. H. & Kwon D. H. (2009). Antiviral activity of quercetin 7-rhamnoside against porcine epidemic diarrhea virus. *Antiviral Research*, 81(1) : 77-81.
- Chougouo-Nkuitchou R. D. K., N'Guessan A., Nkamenjo C., Djoko E., Kouamouo J., Tane P., Koffi A. A. & Wouessidjewe D. (2020). Formulation de gélules à base de feuilles et de tiges d'*Artemisia Annua*. *Health Sciences and Diseases*, 21(4) : 1-8.
- Choumessi T A., Danel M., Chassaing S., Truchet I., Penlap B. V., Pieme A. C., Asonganyi T., Ducommun B. & Valette A. (2012). Characterization of the antiproliferative activity of *Xylopi aethiopica*. *Cell Division*, 7(1) : 1-8.
- Compain-Batissou M. (2007). Synthèse de nouvelles quinones heterocycliques par application des réactions de cycloadditions de diels-alder et 1,3-dipolaire. Evaluation *in vitro* de leur activité sur toxoplasma gondii. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de Pharmacie, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Claude Bernard - Lyon I, (France), 237p.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A. & Colombo R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329(1-2): 23-38.
- Daum-Badouard C. (2006). Les lésions d'acides nucléiques : détection par HPLC-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat, Faculté de Biotechnologie, Santé et Management, Université Joseph-Fourier (Grenoble, France), 229 p.
- Davion J. (2017). Prise en charge à l'officine de l'ulcère gastroduodéal à *Helicobacter pylori* : Quelles stratégies thérapeutiques ? Tèse de Doctorat en pharmacie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Lille 2 (France), 110 p.
- Delchier J. C., De Korwin J. D., Mégraud F., Bessède E., Lehours P. & Lamarque D. (2014). Infection à *H. pylori* et cancers gastriques. *La Revue du Praticien*, 64(2) : 187-214.
- Deniz O., Mustafa C., Turan K., Mehmet E. B., Zafer Ö. O., Ayşe T. K. & Sadık G. (2018). *In vivo* anti-ulcerogenic effect of okra (*Abelmoschus esculentus*) on ethanol-induced acute gastric mucosal lesions. *Pharmaceutical Biology*, 56(1) : 165-175.
- Diallo D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros abyssinica*

- (Ebenaceae), *Entada africana* (Mimosaceae), *Trichilia emetica* (Meliaceae). Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Lausanne, Suisse, 221 p.
- Diatta W., Sy G. Y., Manga C. I., Diatta K., Dior A. & Bassene E. (2014). Recherche des activités anti-inflammatoire et analgésique des extraits de feuilles de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam) zepernick et timler (*Rutaceae*). *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, 8(1) : 128-133.
- Dione, A. (2000). Contribution à l'étude de la qualité bactériologique de quelques denrées alimentaires d'origine animale commercialisées sur le marché dakarois : Thèse de Doctorat. Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Dakar 03 (Sénégal), 212 p.
- Djoukeng J. D., Abou-Mansour E., Tabacchi R., Tapondjou A. L., Bouda H. & Lontsi D. (2005). Antibacterial triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3) : 283-286.
- Doa J-M. S. (2016). Ethnopharmacologie, qualité et innocuité d'un remède traditionnel de santé à base de plantes « NOE » indiqué dans le traitement des troubles urinaires liés à l'hypertrophie bénigne de la prostate. Thèse de doctorat en pharmacie, UFR sciences pharmaceutique et biologique, Université Félix-Houphouët Boigny (Abidjan, Côte D'ivoire), 174 p.
- Doffou A. S., Kouamé G. D., Bangoura A. D., Yaogo A., Méité M., Kissi H., Alassan M. K., Yao-Bathaix F.M. & Attia K. A. (2020). Prévalence des ulcères gastroduodénaux et des lésions précancéreuses gastriques au cours de la gastrite chronique à *Helicobacter Pylori* selon le Système de Sydney : À Propos de 52 Cas. *Health Sciences and Disease*, 21(3) : 16-20.
- Dosso M., Koffi A. E., Soro D., Traore A. & Diarrassouba N. (2021). Activités analgésique, anti-inflammatoire et antipyrétique d'un extrait aqueux des tourteaux de la pomme de cajou (*Anacardium occidentale* L.). *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, 15(5) : 1842-1852.
- DPSNSO (2015). Guide de référence sur la qualité des produits de santé naturels. DPSNSO, Canada. Version (3,1), 89 p.
- Dris C., Difallah O. K. & Baafou Z. (2022). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antilittiasique d'extrait aqueux de la partie aérienne du plante *Paronychia capitata* L. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Ahmed Draïa (Adrar : Algérie), 104 p.
- Duarte T. L. & Jones G. D. (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(8) : 1165-1175.

- Duwiejua M., Anto B. P., Weremfo A. & Woode (2007). Antinociceptive activity of the ethanolic extract of the root bark of *Cassia sieberiana* (Fam. Caesalpinaceae). *Journal Pharmacy and Bioresources*, 4(2) : 49-58.
- Ehile E. H., Kouakou K. L., Goze N. B., Yapo A. P. & Ehile E. E. (2021). Curative effect of the aqueous extract of *Macaranga barteri* Müll. Arg (Euphorbiaceae) on acetic acid induced chronic ulcers in rats. *African Journal of biomedical Research*, 24(3) : 471-477.
- Ekong D. & Ogan A. (1968). Chemistry of the constituents of *Xylopia aethiopica* : the structure of xylopic acid, a new diterpene acid. *Journal of Chemical Society C: Organic*, 69: 311-312.
- El-Kamali H. H. & Elshik A. A. (2015). Preliminary Phytochemical Screening of 27 Plants Species use in ethnoveterinary in Khartoum State, Sudan. *Advances in Life Sciences*, 5(2) : 48-52.
- Epa C., Elion I., Etou O., Attibayéba, Ongoka P. R. & Abena A. A. (2015). Effets anti-inflammatoire et cicatrisant des extraits aqueux et éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea* Engl. (Capparidaceae). *Journal of Applied Biosciences*, 94 : 8858-8868.
- Etame L. G., Yinyang J., Okalla E. C., Makondo B. V., Ngaba G. P., Mpondo M. E. & Dibong S. D. (2017). Étude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *Journal of Applied Biosciences*, 120 : 12077-12085.
- Eto B. (2013). Research in clinical phytopharmacology to develop health care in developing Countries: State of the art and perspectives. *Phytopharmacology*, 4(2) : 149-205.
- Etou O. G. J., Etou O. A. W., Mpika J., Wossolo L. B. S. & Attiba Y. (2023). Activité analgésique et phytochimie des extraits aqueux du fruit de *Dacryodes edulis* (G. Don) H. J. Lam. (Burseraceae) chez la souris. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(4) : 1384-1391.
- Etsè K. S., Nébié R. H. C., Eloh K., Agbodan K. A., Dotse K. & Koumaglo H. K. (2012). Composition chimique et activité insecticide de l'huile essentielle des fruits de *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae) sur *Callosobruchus maculatus*. *Jouurnal de la Societé Ouest-Africaine de Chimie*, 34 : 71-77.
- Ezugwu H. C., Anosike A. C., Berinyuy E. B., Dasofunjo K., Ezugwu M. U. & Achu H. O. (2018). Effect of ethanol leaf extract of *croton lobatus* on indomethacin-induced gastric ulceration in albino rats. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 8(2) : 1-13

- Fatto D. N. M. (2017). Activités analgésique morphinique, antioxydante, anti-inflammatoire et qualité de «SARENTA» : un remède traditionnel a base de plantes. Thèse de Doctorat en pharmacie, UFR sciences pharmaceutique et biologique, Université Félix-Houphouët Boigny (Abidjan, Côte D'ivoire), 142 p.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, numéro spécial « La chimie dans les sciences médicales ». L'Actualité Chimique, Paris (France) : 108-115.
- Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6) : 390-396.
- Feldman A. L., Johansson A. L., Nise G., Gatz M., Pedersen N. L. & Wirdefeldt K. (2011). Occupational exposure in parkinsonian disorders: a 43-year prospective cohort study in men. *Parkinsonism and Related Disorders*, 17(9) : 677-682.
- Fischbach W., On-On C. A. & Chun-Yu W. B. (2005). *Helicobacter pylori* and gastric malignancy. *Helicobacter*, 10 : 34-39.
- Fisher-Wellman K. & Bloomer R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: A 30 year history. *Dynamic Medecine*, 8 : 1-25.
- Flávia B., Thiago M. M., Hélio K., Marcelo A. S., Ariane L. R., Cláudia H. P., Tais M. B., Lucia R. M. R., Wagner V. & Clélia A. (2011). Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 138(1) : 47-52.
- Florent L. (2021). Prise en charge des brûlures à l'officine : focus sur l'intérêt des dispositifs médicaux de type pansements. Thèse de Doctorat, U.F.R. Santé, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université de Caen Normandie, France, 177 p.
- François A. A., Elisée B. K., Christian T. A., Armel K. H., Any G., Tchwa A. M. & Constance Y. A. (2014). Tradipraticiens et épilepsies en Côte d'Ivoire. *Revue neurologique*, 170 (8-9) : 508-511.
- Ganapaty S., Pannakal S. T., Srilakshmi G. V. K., Lakshmi P., Waterman P. G. & Brun R. (2008). Pumilanol, an antiprotozoal isoflavanol from *Tephrosia pumila*. *Phytochemistry Letters*, 1(4) : 175-178.
- Germano M. P., De Pasquale R., Iauk L., Galati E. M., Keita A. & Sanogo R. (1996). Antiulcer activity of *Vernoniakotschyana* Sch. Bip. *Phytomedicine*, 2(3) : 229-233.
- Ghashghaii A., Hashemnia M., Nikousefat Z., Zangeneh M. M. & Zangeneh A. (2017). Wound Healing Potential of Methanolic Extract of *Scrophularia striata* in Rats. *Pharmaceutical Sciences*, 23(4) : 256-263.

- Gill L. S. (1992). *Ethnomedical Uses of Plants in Nigeria*. 1st Edition, Uniben Press, Benin City, Nigeria. 276 p.
- Giordano O., Guerreiro E., Pestchanker M., Guzmán J., Pastor D. & Guardia T. (1990). The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. *Journal of Natural Products*, 53(4) : 803-809.
- Glenn L. S. S., Peter D. M. D., Luigi A. U. T., Maria L. L. S. S., Mary A. C. S., Elena M. R. et Mary A. C. S., Erna C. A., Teressita D. G. (2013). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capsicum frutescens* Linn. Crude fruit extract on selected microorganisms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedicine Sciences*, 37(37) : 1922-1926.
- Gobert M., Martin B., Ferlay A., Chilliard Y., Graulet B., Pradel P. & Durand D (2009). Plant polyphenols associated with vitamin E can reduce plasma lipoperoxidation in dairy cows given n-3 polyunsaturated fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 92(12) : 6095-6104.
- Goddard C. & Warnes T. (1992). Raised liver enzymes in asymptomatic patients: investigation and outcome. *Digestive Diseases*, 10(4) : 218-226.
- Grasel F., Dos S., Ferrão M. F. & Wolf C. R. (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153 : 94-101.
- Grzanna R., Lindmark L., Frondoza C. G. (2005). Ginger a herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *Journal of Medicinal Food*, 8(2):125-132.
- Guérin C. (2014). Validation d'une méthode de fabrication de gélule. Thèse de Doctorat, Institut des Sciences Pharmaceutique et Biologique, Université Claude Bernard-Lyon 1 (France), 118 p.
- Gurbuz I., Yesilada E. & Ito S. (2009). An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 121 : 360-365.
- Halliwell B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35 : 1147-1150.
- Havens J. M., Castillo-Angeles M., Nitzschke S. L. & Salim A. (2018). Disparities in Peptic Ulcer Disease : A Nationwide Study. *American Journal of Surgery*, 216(6) : 1127-1128.
- Hirata T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M. & Hongo D. (2009). Identification and physiological evaluation of the components from *Citrus* fruits as

- potential drugs for anti-obesity and anticancer. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(1) : 25-28.
- Hodgson E. (2004). A textbook of modern toxicology. 3th edition, Wiley Interscience, Carolina, (USA), 204 p.
- Hossain H., Jahan I. A., Howlader S. I., Dey S. K., Hira A. & Ahmed A. (2013). Phytochemical Screening and Anti-nociceptive Properties of the Ethanolic Leaf Extract of *Trema Cannabina* Lour. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1) : 103-108.
- ICH (2003). Ligne directrice : Essais de stabilité de nouveaux produits et substances médicamenteuses. ICH thème Q1A(R2). ICH, Direction Générale des Produits de Santé et des Aliments, 35 p.
- ICH : International Conference of Harmonization. (2014). L'adoption pour l'International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (l'ICH) ligne directrice : Q3D : Directive concernant les impuretés élémentaires, 111 p.
- Igor P. L. B. (2002). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). Thèse de Doctorat, Faculté de Pharmacie, Université de Bamako, Mali, 133 p.
- Imo C., Arowora K. A., Ezeonu C. S., Ikwebe J., Yakubu O. E., Imo N. G. & Danlami G. C. (2021). Biochemical and histological effects of ethanolic extracts of fruits of *Xylopia aethiopica* and seeds and leaves of *Piper guineense* on liver and kidney function in male albino rats. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1) : 1-12.
- James H. K., Mathieu N. B., Mama K. & Sébastien D. D. (2014). Acute and Sub-Acute Toxicity of Aqueous Extract of *Nauclea Latifolia* in Swiss Mice and in OFA Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical and Research*, 13(1): 109-115.
- Jang J. J., Kim, S. H., Yun T. K., (1992). A 4-week feeding study of ground red chilli (*Capsicum annuum*) in male B6C3F1 mice. *Food Chemical Toxicology*, 30(9) : 783-787.
- Jepson R. G. & Craig J. C. (2007). A systematic review of the evidence for cranberries and blueberries in UTI prevention. *Molecular Nutrition Food Research*, 51(6) : 738-745.
- Jonathan M. & Joel E. M. (2009). The power of *capsaicin*. *Journal of Continuing Education*, 11(1) : 8-12
- Juillerat J. I., Ross D. S & Bank M. S. (2012). Mercury in litterfall and upper soil horizons in forested ecosystems in Vermont USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 : 1720-1729.
- Kabré E., Bandé M., Karfo R., Bazié R., Soulama D., Nikiéma F. & Sakandé J. (2020). Quantitative determination of chemical and biochemical parameters during «sombala»

- manufacturing process in two communities of Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(9) : 3001-3017.
- Kada S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques, Thèse de Doctorat en Biochimie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1 (Algérie), 172 p.
- Kakub G. & Gulfraz M. (2007). Cytoprotective Effects of *Bergenia Ciliata* Sternb, Extract on Gastric Ulcer in Rats. *Phytotherapy Research*, 21(12) : 1217-1220.
- Kang J., Khan M., Park N., Cho J., Fujii H. & Hong Y. (2008). Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of the seaweed *Sargassum fulvellum* and *Sargassum thunbergii* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1) : 187-190 .
- Karabinta K. D. A. (2010). Propriété cicatrisante des feuilles de *Opilia celtidifolia* (Guill. et Perr.) Endl. ex Walp. (Opiliaceae). Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako (Mali), 109 p.
- Kardeh S., Ashkani-Esfahani S. & Alizadeh A. M. (2014). Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *European Journal of Pharmacology*, 735 : 150-168.
- Keita A. (2004). Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastroduodénal dans le District de Bamako : *Borassus aethiopum* Mart (Palmeae), *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. (Anacardiaceae) et *Ximenia americana* L. (Olacaceae). Thèse de Doctorat en pharmacie, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Université de Bamako (Mali), 198 p.
- Keszei A., Brubaker C. L. & William J. F. (2008). A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. *Australian Journal of Botany*, 56(3) : 197-213.
- Kiuchi F., Iwakami S., Shibuya M. & Sankawa U. (1992). Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40(2) : 387-391.
- Kofi B. (2007). Ghana Herbal Pharmacopoeia. Edition revised. Science and Technology Policy Research Institute, Council for Scientific and Industrial Research, Acra (Ghana), 295 p.
- Koffi N., Beugré K., Guédé N., Zirihi D. & Laurent A. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1) : 1-15.
- Kohen R. & Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6) : 620-650.

- Koné M., N'Cho R. P., Gbogbo M., N'Dia K. F., Yao K. E., Kouakou K. L. & Yapo A. P. (2017). Effect of butanolic extract of leaves of *Blighia unijugata* Bak. (Sapindaceae) on liver and kidney cells of wistar rat. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 7(1) : 190-198.
- Kong Q. & Lin C. L. G. (2010). Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(11) : 1817-1829.
- Koua K. B. D. (2020). Evaluation des activités anticonvulsive, sédative, analgésique, anti-inflammatoire et antioxydante des extraits de *Crinum scillifolium* A. Chev. (Amaryllidaceae). Thèse de Doctorat, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire), 187 p.
- Kouamé T. K., Siaka S., Kassi A. B. B. & Soro Y. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpiniaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(1) : 97-105.
- Kouyaté A. (2021). Gastrites chroniques à *helicobacter pylori* et anémies en milieu hospitalier dans le district de Bamako. Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie, Université Des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (Mali), 105 p.
- Kplé T. K. M., Akakpo-Akue J., Dhjy B. N., Kouassi K. A. M., Ouattara S., Konan G. K. A., Koulai D., Kouadio A. L., Yapo-Crezoit C. C. A., Kra A. K. M. & Djaman A. J. (2022). Effets d'un remède à base de plantes de *Zanthoxylum leprieurii*, *Xylopia aethiopica* et *Harungara madagascariensis* sur les paramètres biochimiques et hématologiques des rats Wistar. *Revue RAMReS – Série Pharmacopée et Médecine. Traditionnelle Africaine*, 21(2) : 54-66.
- Krausse R., Bielenberg J., Blaschek W. & Ullmann U. (2004). *In vitro* anti-Helicobacter pylori activity of Extractum liquiritiae, glycyrrhizin and its metabolites. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 54(1) : 243-246.
- Krishnaraju A. V., Rao C. B. M., Sundararaju D., Sengupta K. & Trimurtulu G. (2009). Anti-inflammatory activity of *Vitex leucoxydon* l. Bark extracts against freund's complete adjuvant induced arthritis in sprague dawley rat. *American Journal of Infectious Diseases*, 5 : 68-73.
- Kroa E. (2000). Evaluation de l'efficacité du traitement traditionnel de l'accès simple du paludisme à *Plasmodium falciparum* à Agnanfoutou, département d'Agnibilékrou.

- Thèse de Doctorat, UFR des sciences médicales, Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Cote d'Ivoire), 105 p.
- Kuete V., Sandjo L. P., Mbaveng A. T., Seukep J. A., Ngadjui B. T., Efferth T. (2015). Cytotoxicity of selected Cameroonian medicinal plants and *Nauclea pobeguinii* towards multi-factorial drug-resistant cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15 : 1-9.
- Lacour B. & Belon J. P. (2015). Physiologie. Edition Elsevier, Masson, Paris (France), 512 p.
- Lagnika L., Anago E. & Sanni A. (2011). Screening for antibacterial, antioxidant activity and toxicity of some medicinal plants used in Benin folkloric medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(5) : 773-777.
- Lagnika L., Adjileye R. A. A., Yedomonhan H., Amadou B. S. K., Sanni A. (2016). Ethnobotanical survey on antihypertensive medicinal plants in municipality of Ouémé, Southern Benin. *Advanced Herbal Medicine*, 2(3) : 20-32.
- Lagu C. & Kayanja F. I. B. (2013). Acute Toxicity Profiles of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Capsicum annum* Seeds from South Western Uganda. *IntechOpen Journals*, 11 : 257-268.
- Lakshmi S. T., Mohana L. S., Neelufar S. S., Koteswara R. G. & Prasanna K. R. (2013). Medicinal Plants as Anti-ulcer Agents. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4) : 91-97.
- Lecoindre P. (2001). Les maladies de l'estomac. 2^{ème} partie : Gastrites aiguës, gastrites chroniques. *Pratique Medicale de la Chirurgie Animale et Complementaire*, 36 : 351-360.
- Lehmann H. (2013). Le médicament à base de plantes en Europe: statut, enregistrement, contrôles. Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université de Strasbourg, France, 342 p.
- Liu H. W. (2011). Extraction and isolation of compounds from herbal medicines. In : Willow J. Liu (Eds.), *Traditional Herbal Medicine Research Methods*. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey (USA) : 81-138.
- Lucienne A. D. (2010). Les plantes médicinales d'Algérie, 2^{ème} Edition, Berti, Alger (Algérie), 122 p.
- Lyn P. N. D. (2006). Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medicine Revue*, 11(2) : 114-127.

- Maione F., Cantone V., Simona P., Chini M.G., Bisio A., Romussi G., Pieretti S., Werz O., Koeberle A., Mascolo N. & Bifulco G. (2017). Anti-inflammatory and analgesic activity of carnosol and carnosic acid *in vivo*, *in vitro* and *in silico* analysis of their target interactions. *British Journal of Pharmacology*, 174(11) : 1497-1508.
- Mamadou B. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat en chimie organique, Ecole doctorale des sciences fondamentales, Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand II, France, 184 p.
- Mamyrbékova-Békro J. A., Konan K. M., Békro Y. A., Gobin M., Bi D., Bi T., Mambo V. & Boua B. B. (2008). Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer Chromatography. *European Journal of Scientific Research*, 24(2) : 219-228.
- Manda P., Manda O. M, Manda V., Kroa E. & Dano S. D. (2017). Etude des toxicités aiguë et subaiguë du remède " Nature " utilisé dans le traitement du paludisme. *Revue Ivoirienne des Science et Technologies*, 29 : 145-158.
- Mariko M. D. (1989). Etude de l'activité de " TERENIFOU" écorce de tronc de *Pteleopsis suberosa* engl. et diels (Combretaceae) dans le traitement des ulcères gastro-duodénaux. Thèse de Doctorat, Faculté de médecine, Université de Bamako (Mali), 51 p.
- Marinova D., Ribarova F. & Atanassova M. (2005). Total phenolics in bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3) : 255-260.
- Marroun I., Sené T., Quevauvilliers J. & Fingerhut A. (2017). Le nouveau dictionnaire Médical. 7^{ème} édition, Elsevier, Masson, Paris (France), 1504 p.
- Masuram B., Deepak K. V., Venkatesh S., Ravind R., Deepak N. & Arul A. (2014). Ethanolic Extract of Oral *Areca catechu* Promotes Burn Wound Healing in Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 25(2) : 145-148.
- Mathias K. K., Yolande A. A., Justin S. S. & Henri M. G. (2014). Evaluation de l'exposition de la population aux métaux traces (cadmium, mercure, plomb) à travers la consommation des viandes et abats de bœuf et de porc importés. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4) : 1594-1603.
- Mekkiou R., Seghiri R., Boumaza O., Sarri D., Chebbah K., Benayache S. & Benayache F. (2012). Secondary métabolites from *Genista ferox*. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(4) : 710-711.

- Meste L. M., Lorient D. & Simatos D. (2002). L'eau dans les aliments. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris (France), 674 p.
- Mikolo B., Etou O. A. W., Miamb L. R., Abena A. A. (2020). Evaluation des toxicités aiguë et subaiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Tetracera potatoria* Ex. G. Don chez les rongeurs de laboratoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 45(3) : 7980-7991.
- Miliauskas G., Venskutonis P. R. & Beek V. T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2) : 231-237.
- Mindédé A., Badjabaïssi E., Bescond J., Mouzou A., Pakoussi T., Sanvee S. C. J., Yerima M., Diallo A., Dossou-Yovo K. M., Kaboua K., Patrick B. & Potchoo Y. (2022). Toxicological Studies of Hydroethanolic Leaf Extract of *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) on Wistar Rats. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 12(1-s) : 8-13.
- Miningou A, Golane V, Traore A. S, Kambire H. (2020). Determination of the optimal dose and date of application of mineral manure on sesame (*Sesamum indicum* L.) in Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(9) : 2992-3000.
- Mohammed A. & Islam M. S. (2017). Antioxidant potential of *Xylopia aethiopica* fruit acetone fraction in a type 2 diabetes model of rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96 : 30-36.
- Moisset X., Trouvin A. P., Tran V. T., Authier N., Vergne-Salle P., Piano, V., & Martinez V. (2016). Utilisation des opioïdes forts dans la douleur chronique non cancéreuse chez l'adulte. Recommandations françaises de bonne pratique clinique par consensus formalisé (SFETD). *La Presse Médicale*, 45(4) : 447-462.
- Mostafa K. M., Sherief I. K., Alaa E-G. & Kamilia A. T. (2005). HPLC determination of certain flavonoids and terpene lactones in selected *Ginkgo biloba* L. phytopharmaceuticals. *II Farmaco*, 60(6-7) : 583-590.
- Mshana N. R., Abbiw D. K., Addae-Mensah I. & Adjanouhoun E. (2000). Traditional Medicine and Pharmacopoeia, Contribution to the revision of ethnobotanical and Floristic Studies in Ghana. OAU/STRC Technical Report, 67 p.
- MSHP (2018). Pharmacopée Ivoirienne 1ère édition (coordination : Dr KROA Ehoulé), République de Côte d'Ivoire – Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique, Ed : Centre National de Documentation Juridique, Abidjan (Côte d'Ivoire), 131 p.
- Mudipalli A. (2007). Lead hepatotoxicity & potential health effects. *Indian Journal of Medical Research*, 126(6) : 518-527.

- Muhammad N., Saeed M. & Khan H. (2012). Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activity of *Viola betonicifolia* whole plant. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 : 1-8.
- Multigner L. (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risque et Santé*, 4 : 187-194.
- Myllyluoma E., Ahlroos T. & Veijola L. (2007). Effects of anti- *Helicobacter pylori* treatment and probiotic supplementation on intestinal microbiota. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(1) : 66-72.
- Nartey E.T., Ofosuhen M., Kudzi W. & Agbale C. M. (2012). Antioxidant and gastric cytoprotective prostaglandins properties of *Cassia sieberiana* roots bark extract as an anti-ulcerogenic agent. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 : 1-12.
- Ndenecho E. N. (2009). Herbalism and resources for the development of ethnopharmacology in Mount Cameroon region. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(3) : 78-86.
- Ngbolua K. N., Mihigo S., Inkoto L. C., Ashande M. C., Tshibangu D. S. T., Zoawe B. G., Baholy R., Ruphin F. P. & Mpiana P. T. (2016). Ethno-botanical survey of plant species used in traditional medicine in Kinshasa city (Democratic Republic of the Congo). *Tropical Plant Research*, 3(2) : 413-427.
- Ngnokam D., Ayafor J. F., Connolly J. D. & Nuzillard J. M. (2003). Nauclefolinine: a new alkaloid from the roots of *Nauclea latifolia*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 17(2) : 173-176.
- Nguemtchouin M. G. (2012). Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *Xylopi aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. Thèse de doctorat, ENSC de Montpellier, France, 293 p.
- Njassap N. H. V. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des produits fermentés « Kossam », commercialisé dans les rues de Yaoundé (Cameroun). Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Dakar, Sénégal, 230 p.
- Nwagba C. A., Ezugwu C. O., Eze C. C., Anowi F. C., Ezea S. C. & Nwakile C. D. (2013). Antiulcer activity of *Bombax Buonopozense* P. Beauvaqueous leaf extract (Bombacaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(2) : 139-142.
- Obidah W., Sa'ad U. A. & Wurochekke A. U. (2009). Toxic effects of aqueous stem bark extract of *Cassia sieberiana* on some biochemical parameters in rats. *African Journal of Biochemical Research*, 3 : 229-231.

- OCDE (2001). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Toxicité orale aiguë. Méthode par classe de toxicité aiguë, N° 423, 14 p.
- OCDE (2008). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Etude de Toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur des rongeurs, N° 407, 14 p.
- OCDE (2018). Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : Etude de toxicité chronique, N° 452, 18 p.
- Ojewole J. A. O. (2006). Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic effects of ethanol extract of *Zingiber officinale* (roscoe) rhizomes (Zingiberaceae) in mice and rats. *Phytotherapy Research*, 20(9) : 764-772.
- Okwari O. O., Nneli R. R. O., Osim E. E. & Dasofunjo K. (2013). Preliminary studies on aqueous fruit extract of *Xylopi aethiopica* obtained in Calabar Nigeria. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(9): 67-71.
- Oliveira G. A. C, Costa T. F, Arojo A. Z. & Piexoto A. R. A. (2016). Wound healing: A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91(5): 614-620.
- Olowokudejo J. D., Kadiri A. B. & Travih V. A. (2008). An ethnobotanical survey of herbal markets and medicinal plants in Lagos State of Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, 12 : 851-865.
- OMS (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Organisation mondiale de la Santé, Suisse, 76 p.
- OOAS (2020). Pharmacopée d'Afrique de l'Ouest. 2^{ème} édition, (OOAS : Organisation Ouest Africaine de la Santé), Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) 321 p.
- Ouahchia C., Cherif H., Hamaidi-cheroui F., Marzen L., Deradji S., Hemma R., Nouar N. & Saidi F. (2017). Toxicité aiguë et subaiguë des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L. (*Dittrichia viscosa* L.). *Revue Agrobiologia*, 7(2) : 562-573.
- Ouattara D. (2006). Contribution à l'inventaire des plantes médicinales significatives utilisées dans la région de Divo (sud forestier de la Côte- d'Ivoire) et à la diagnose du poivrier de Guinée : *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae). Thèse de Doctorat, UFR Biosciences, Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire), 184 p.
- Ouedraogo S., Yoda Y, Traore K. T., Nitiema M., Sombie B. C., Hermine Z., Diawara H. Z., Yameogo J. B. G., Djande A., Belemnaba L., Kini F. B., Ouedraogo S. & Semde R. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2) : 750-772.

- Owolabi O. J., Nworgu Z. A. M. & Odushu K. (2010). Antidiarrheal evaluation of the ethanol extract of *Nauclea latifolia* root bark. *Methods Finding in Experimental and Clinical Pharmacology*, 32(8) : 551-555.
- Ozturk N., Lee J., Gaddameedhi S. & Sancar A. (2009). Loss of cryptochrome reduces cancer risk in p 53 mutant mice. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(8) : 2841-2846.
- Padilla E., Ruiz E., Redondo S., Gordillo-Moscoso A., Slowing K. & Tejerina T. (2005). Relationship between vasodilation capacity and phenolic content of Spanish wines. *European Journal of Pharmacology*, 517(1-2) : 84-91.
- Palani S., Raja R., Kumar P. & Jayakumar S. (2009). Therapeutic efficacy of *Pimpinella tirupatiensis* (Apiaceae) on acetaminophen induced nephrotoxicity and oxidative stress in male albino rats. *International Journal PharmTech Research*, 3(1) : 925-934.
- Patricia S., Sylvie M. & Louis D. (2000). Cicatrisation normale et pathologique. Physiopathologie et anatomopathologie. *Annales de Dermatologie et Vénéréologie*, 127(1) : 174-179.
- Peirs C. (2005). Contribution à l'étude phytochimique de *Galega officinalis* L. (Fabaceae). Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 277 p.
- Pharmacopée européenne. (2020). Pharmacopée Européenne 10th Edition, supplément 10.4, Conseil d'Europe, Strasbourg, 4995 p.
- Pinheiro P. F. & Justino G. C. (2012). Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds - A Review of Spectroscopic Applications. In: *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. TechOpen, London (Angland) : 33-56.
- Pisoschi A. M. & Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97 : 55-74.
- Portet B., Fabre N., Roumy V., Gornitzka H., Bourdy G., Chevalley S., Sauvain M., Valentin A. & Moulis C. (2007). Activity-guided isolation of antiplasmodial dihydrochalcones and flavanones from *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. *Phytochemistry*, 68(9) : 1312-1320.
- Pousset J-L. (2004). Plantes médicinales d'Afrique : comment les reconnaître et les utiliser : Comment les reconnaître et les utiliser. Edisud, Saint-Rémy-de-Provence (France), 288 p.

- Poulos J. M. (1993). *Capsicum* L. In : Siemonsma, J. S. & Kasem Piluek (Editors). Plant Resources of South-East Asia. Vegetables. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, Netherlands (Angland), 409 p.
- Priya K. S., Gnanamani A., Radhakrishman N. & Babu M. (2002). Healing potential of *Datura alba* on burn wounds in albino rats. *Ethnopharmacology*, 83(3) : 193-199.
- Qaiser J., Sidra A. & Fayyaz A. (2018). Chemically-induced peptic ulcer : Gastroprotective effects of peach Fruit. *Current Trends in Gastroenterology and Hepatology*, 1(2) : 22-30.
- Rabab K., Sherif M., Iman A. A., Nermeen A. E. & Mohamed A. F. (2020). Arabinoxylan and rhamnogalacturonan mucilage: Outgoing and potential trends of pharmaceutical, environmental and medicinal merits. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165(pt B) : 2550-2564.
- Rafatullah S., Tariq M., Mossa J. S., Al-yahya M. A., Al-said M. S. & Ageel A. M. (1994). Anti-secretagogue, anti-ulcer and cytoprotective properties of *Acorus calamus* in rats. *Fitoterapia*, 65 : 19-23.
- Razafindramanana J. F., Temaso Y., Mirina L., Razafinirina E. I. & Djoudi R. (2020). Evaluation de l'activité cicatrisante gastrique de l'extrait de *Tristemma mauritianum* (Melastomaceae) chez le rat. *Revue des sciences, de technologies et de l'environnement*, 2 : 106-112.
- Rubió L., Motilva M. J. & Romero M. P. (2013). Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(9) : 943-953.
- Sahabi B. (2009). Etudes phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'indigofera (Fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. Thèse de Doctorat, UFR Sciences de la Vie et de la Terre, Université de Ouagadougou, Burkina, 154 p.
- Saito S., Lin Y. C., Tsai M. H., Lin C. S., Murayama Y., Sato R. & Yokoyama K. K. (2015). Emerging roles of hypoxia-inducible factors and reactive oxygen species in cancer and pluripotent stem cells. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 31(6) : 279-286.
- Sakagami H., Hashimoto K., Suzuki F., Ogiwara T., Satoh K., Ito H., Hatano T., Takashi Y & Fujisawa S. (2005). Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*, 66 : 2108-2120.

- Sam G. H., Mensah M. L. K. & Nyakoa-Ofori N. (2011). Pharmacognostic Studies and Standardization of *Cassia sieberiana* Roots. *Pharmacognosy Journal*, 3(21) : 12-17.
- Samira A. & Abdullahi. (2020). Nephrocurative Effect of Aqueous Stem Bark Extract of *Cassia Sieberiana* on Rats Induced Kidney Damage. *Asian Journal of Applied Science and Technology*, 4(4) : 82-91.
- Samy R. P. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants from India. *Fitoterapia*, 76(7-8) : 697-699.
- Sarni-Manchado P. & Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, 1^è édition, Éditions Tec & Doc, Lavoisier, Paris (France), 398 p.
- Schmelzer G. H., Gurib-Fakim A., Arroo R. & Bosch C. H. (2008). Plant Resources of Tropical Africa 11(1) – Medicinal Plants 1. Backhuys Publishers, Wageningen, Netherlands, 790 p.
- Sene M., Barboza F. S., Top B., Ndiaye M., Sarr A., Fall A. D. & Guata Y. G. (2020). Activité cicatrisante de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq. (Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(3): 674-684.
- Sene M., Diaw O., Ndiaye M., Sarr A., Barboza F. S., Ndiaye-Sy A. & Sy G. Y. (2023). Activité cicatrisante in-vivo d'une pommade à base de vaseline et d'une fraction méthanolique de feuilles d'*Elaeis guineensis* sur un modèle de brûlure du second degré profond chez le rat. *Journal Africain de Technologie Pharmaceutique et Biopharmacie*, 2(3) : 11-19.
- Sharma J. N., Srivastava K. C. & Gan E. K. (1994). Suppressive effects of eugenol and ginger oil on arthritis rats. *Pharmacology*, 49(5) : 314-318.
- Shui G. & Leong L. P. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76 : 69-75.
- Siddaraju M. N., Harish N. M. A., & Shylaja M. D. (2009). Gastroprotective Effect of Ginger Rhizome (*Zingiber officinale*) Extract : Role of Gallic Acid and Cinnamic Acid in H⁺, K⁺ ATPase/H. pylori Inhibition and Anti-Oxidative Mechanism. *Hindawi Publishing Corporation*, 51(3) : 324-332.
- Siegmund E., Heike W., Michael K. & Ludwig J. (2003). Role of PGE₂ in the development of pancreatic injury induced by chronic alcohol feeding in rats. *Pancreatology*, 3(1) : 26-35.
- Silvain C., Chagneau C. & Beauchant M. (2004). Ulcères gastroduodénaux : lésions aiguës du tube digestif. *EMC : Gastro-éthérologie*, 1 : 1-6.
- Sipponen P. & Maaros H-I. (2015). Chronic gastritis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 50(6) : 657-667.

- Sledzianowski J. f., Fourtanier G. & Suc B. (2007). Traitement chirurgical des ulcères gastro-duodénaux non compliqués. *Acta Chirurgica Iugoslavica*, 54(1) : 51-62.
- Smart K. M., Blake C., Staines A. & Doody C. (2011). The Discriminative validity of “nociceptive”, “peripheral neuropathic” and “central sensitization” as mechanisms-based classifications of musculoskeletal pain. *The Clinical Journal of Pain*, 27(8) : 655-663.
- Sofowora A. (2010). Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique : Editions Karthala, Paris (France), 318 p.
- Sokic M. A., Krstis M., Popovic A., Mijalkovic N., Djuranovic S. & Culafic D. J. (2007). Role of *Helicobacter pylori* infection and use of NSAIDS in the ethiopathogenesis of upper gastrointestinal bleeding. *Acta Chirurgical Iugoslavica*, 54(1) : 51-62.
- Soro T. Y., Traore F. & Sakande J. (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies*, 332(4) : 371-377.
- Speroni F., Puppo M. C., Chalpeau N., De Lamballerie M., Castellani O., Anon M. C. & Anson M. (2005). High-pressure induced physicochemical and functional modification of low-density lipoproteins from hen egg yolk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14) : 5719-5725.
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. & Stöckigt D. (2002). Highperformance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary Electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography*, 967(1) : 85-113.
- Suntar I., Baldemir A., Coskun N., Keles H. & AKkol E. K. (2011). Wound healing acceleration effect of endemic Ononis species growing in Turkey. *Ethnopharmacology*, 135(1) : 63-70.
- Suriyamoorthy S., Subramaniam K., Raj-Durai S. J., wahaab F. & Chitraselvi R.P.E. (2014). Evaluation of wound healing activity of *Acacia caesia* in rats. *Wound Medicine*, 7 : 1-7.
- Sutradhar R. K., Rahman A. K. M. M., Ahmad M. U. & Bachar S. C. (2008). Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. *Phytochemistry Letters*, 1(4) : 179-182.
- Taiwe G. S., Ngo B. E., Talla E., Dimo T., Dawe A., Sinniger V., Bonaz, B., Boumendjel A. & De Waard M. (2014). *Nauclea latifolia* Smith (Rubiaceae) exerts antinociceptive effects in neuropathic pain induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1) : 445-451.

- Taïwe G. S., Ngo B. E., Talla E., Dimo T., Weiss N., Sidiki N., Dawe A., Moto F. C. O., Dzeufiet P. D. & De Waard M. (2011). Antipyretic and antinociceptive effects of *Nauclea latifolia* root decoction and possible mechanisms of action. *Pharmaceutical Biology*, 49(1) : 15-25.
- Tarpaga W. V., Bourgou L., Guira M. & Rouamba A. (2020). Agro morphological characterization of cashew trees (*Anacardium occidentale* L.), in improvement for the high yield and high quality of raw nuts in Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(9) : 3188-3199.
- Tayou F. M. C. (2007). Etude de l'hygiène dans la restauration collective commerciale moderne à Dakar (Sénégal). Thèse de Doctorat, Ecole Inter-Etat des sciences et médecine vétérinaire, (Dakar, Sénégal), 113 p.
- Tepe B., Daferera D, Sokmen A., Sokmen M. & Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333-340.
- Thabrew M. I. & Arawwawala L. D. A. M. (2018). An Overview of *In Vivo* and *In Vitro* Models that can be used for Evaluating Anti-Gastric Ulcer Potential of Medicinal Plants. *Austin Biology*, 1(2) : 1-9.
- Thaise B., Luisa M. S., Ana P. M. C. & Sérgio F. A. (2016). Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 184(26) : 196-207.
- Togola A., Karabinta K., Denou A., Haidara M., Sanogo R. & Diallo D. (2014). Effet protecteur des feuilles de *Opilia celtidifolia* contre l'ulcère induit par l'éthanol chez le rat. *Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6) : 2416-2423.
- Toma I, Karumi Y. & Geidam M. A. (2009). Phytochemical screening and toxicity studies of the aqueous extract of the pods pulp of *Cassia sieberiana* DC. (*Cassia kotchiana* Oliv.). *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3(2) : 26-30.
- Torres R., Francesca F., Brenda M., Francisco U., Cecilia L. & Juan G. (2006). Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*, 67(10) : 984-987.
- Trease G. & Evans S. M. (2002). Pharmacognosy. 15th Edition. Ed. English Language Book Society, Bailliere Tindall, London (England), 600 p.
- Tschanz E. R. & Genta R. M. (2003). La gastrite : pathogénèse, évolution et avenir. *Medecine et Hygiène*, 61(2460) : 2318-2322.

- Turner K. & Genta R. M. (2017). The nonneoplastic stomach. In : Fenoglio-Preiser's gastrointestinal pathology. 4th edition. Amy Noffsinger ed. Wolters Kluwer, Philadelphia (USA) : 136-223.
- UEMOA (2010). Règlement N° 06/2010/ CM/ UEMOA : Les annexes au règlement relatif aux procédures d'homologation des produits pharmaceutiques à usage humain dans les Etats membres de l'UEMOA, 70 p.
- Vafeiadou K., Vauzour D., Lee H. Y., Rodriguez-Mateos A., Williams R. J. & Spencer J. P. E. (2009). The citrus flavanone naringenin inhibits inflammatory signalling in glial cells 3 and protects against neuro-inflammatory injury. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 484(1) : 100-109.
- Vijay K. B. & Rajesh K. G. (2012). Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: role of polyphenolic constituents, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(7) : 523-528.
- Vincken J-P., Lynn. H., Aede de G. & Harry G. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68 : 275-297.
- Whiting J. L., Sigurdsson A., Rowlands D. C., Hallissey M. T. & Fielding J. W. (2002). The long term results of endoscopic surveillance of premalignant gastric lesions. *Gut*, 50(3) : 378-381.
- WHO. (2000). General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. World Health Organization, Genève, Suisse, 80 p.
- WHO. (2007). WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines With Reference to Contaminants and Residues. World Health Organization, Geneva, 105 p.
- Wilkowska A. & Biziuk M. (2011). Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, 125(3) : 803-812.
- Wolff S. P., Bascal Z. A. & Hunt J. V. (1989). Autoxidative glycosylation: free radicals and glycation theory. *Progress in Clinical and Biological Research*, 304 : 259-275.
- Wood J. E., Senthilmohan S. T. & Peskin A. V. (2002). Antioxidant activity of procyanidin containing plant extracts at different pH. *Food Chemistry*, 77(2) : 155-161.
- Yansambou H. (2002). Etude des constituants des feuilles de *Zizyphus mauritiana* Lam. (Rhamnacées) utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. Thèse de Doctorat, Faculté de Pharmacie, Université de Bamako, Mali, 89 p.
- Yehouenou B., Wotto V., Bankolé H., Sessou P., Noudogbessi J. P. & Sohounhloue D. (2010). Chemical Study and Antimicrobial Activities of Volatile Extracts from Fresh Leaves of *Crassocephalum rubens* (Juss & Jack) S. Moore against Food-Borne Pathogens.

- Scientific Study & Research, Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 11 : 343-351.
- Yetein M. H., Houessou L. G., Loughégnon T. O., Teka O. & Tente B. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants used for the treatment of malaria in plateau of Allada, Benin (West Africa). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1) : 154-163.
- Yiwei T., Guozhen F., Shuo W., Jingwei S. & Kun Q. (2013). Rapid determination of metolcarb residues in foods using a biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay employing a novel molecularly imprinted polymer film as artificial antibody. *Journal of AOAC International*, 96(2) : 453-458.
- Zeggwagh A. A., Lahlou Y. & Bousliman Y. (2013). Enquête sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc. *Pan African Medical Journal*, 14(1) : 1-13.
- Zhou H., Deng Y. M. & Xie Q. M. (2006). The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response *in vitro* and *in vivo* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1-2) : 301-305.
- Zongo F., Ribuo C., Boumendjel A. & Guissou I. (2014). Bioguidage search of active compounds from *Waltheria indica* L. (Malvaceae) used for asthma and inflammation treatment in Burkina Faso. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 28(3) : 323-330.

ANNEXES

Annexe 1 : Quelques matériels techniques utilisés au cours des différentes manipulations



Etuve à sécher



Centrifugeuse JOUAN® BR4i



Automate de biochimie Cabas® U411



Automate d'hématologie CYANhemato-Socimed



Chaine HPLC



Spectrophotomètre à absorption atomique



Incubateur bactériologique



Bain-marie



Géluleuse semi-automatique



Autoclave

Annexe 2 : Fiche d'enquête : entretien avec le producteur du remède

Questionnaire :

- Aspect socioprofessionnel
- Aspect ethnobotanique
- Aspect pharmacologique

1. Aspect socioprofessionnel.

❖ Profil socioprofessionnel du détenteur du remède.

- Nom et prénom(s) : TRAORE Aboubakar
- Sexe : Masculin
- Age : 53 ans
- Religion : Musulmane
- Ethnie : Malinké
- Profession/fonction (naturothérapeute, herboriste, tradi-praticien ou autre) : Tradi-praticien
- Situation matrimoniale (monogame, polygame, nombre d'enfants) : Polygame avec 10 enfants
- Lieu de résidence (pays, commune, quartier) : Côte d'Ivoire (Daloa) ; Quartier Orly 2
- Lieu d'exercice de la profession (pays, région, département, commune, quartier, village, coordonnées GPS) : Côte d'Ivoire ; Région du Haut-Sassandra (Daloa) ; Quartier Labia (GPS: 6,87519° nord ; -6,44486° ouest)
- Nombre d'année d'exercice de la profession : 15 années et plus
- Acquisition des connaissances en médecine traditionnelle : Transmission orale
- Symptômes de la maladie : Douleurs abdominales aiguës, remontés acides, brûlures au niveau de l'estomac

2. Aspect ethnobotanique

- Nature des composants du remède : Plantes : *Moucléa latifolia*, *Xylopia petiopica*, *Capricum frutescens*, *Zingiber officinale* et *Cassia sieberiana*
- Nombre de plantes utilisée : 5 plantes
- Lieu de la récolte ou d'approvisionnement : Les différents marchés de la commune de Daloa.

- Lieu de production : Daba (orly 2)
- Parties de la plante utilisée : Ecorces, fruits, rhizomes
- Préparation du remède : Non dévalée
- Forme galénique : Solution aqueuse
- Mode de conditionnement/conservation : Bouteille en plastique
- Lieu de conservation : Salle spéciale de l'unité de production
- Température de conservation : Ambiante (25°C)
- Durée de conservation : 6 mois

3. Aspect pharmacologique :

- Voie d'administration : Orale
- Posologie : Un (01) verre à thé 2 fois par jour
- Durée du traitement : 3 semaines et 3 jours
- Horaires favorables d'administration : matin et soir
- Précautions d'utilisation : Aucune
-
-
- Effets indésirables : Aucun
- Contre-indications : Aucun
- Goût : Aigre

**Annexe 3 : Fiche de suivi des patients pendant et après l'utilisation du remède
« DAOUTRAEPIGASTRO »**

Bonjour, dans le cadre de ma thèse en Pharmacologie, je réalise une enquête sur des patients ulcéreux utilisant le remède « Daoutra Epigastro » afin d'évaluer les effets gênants liés à l'utilisation de ce remède.

1-Informations sur le patient	
Nom et Prénoms	
Age	
Niveau d'étude	
Contact	

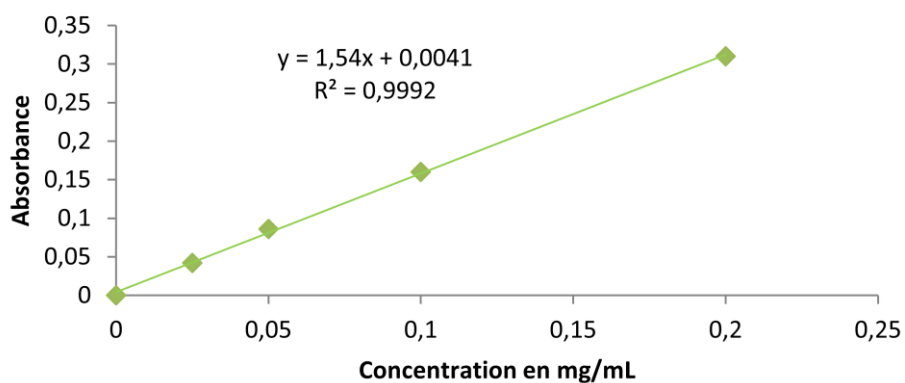
2-Quels sont les effets gênants qu'avez-vous ressenti pendant l'utilisation du remède“ EPIGASTRO“ ?				
Symptômes		Réponse		Commentaire si possible
		Non	Oui	
a	Diarrhée			
b	vomissement			
c	Tachycardie			
d	Goût désagréable			
e	sialorrhée			
f	Vertiges,			
g	Douleurs abdominales			
h	Fatigue			
i	Polyurie,			
j	Polyphagie			
k	Perte pondérale.			
l	constipation			
n	autres			

3. Combien de temps avez vous utiliser le remède pour obtenir la guérison ?			
4 jours ☐	12 jours ☐	20 jours ☐	
8 jours ☐	16 jours ☐	Au de là de 20 jours ☐	

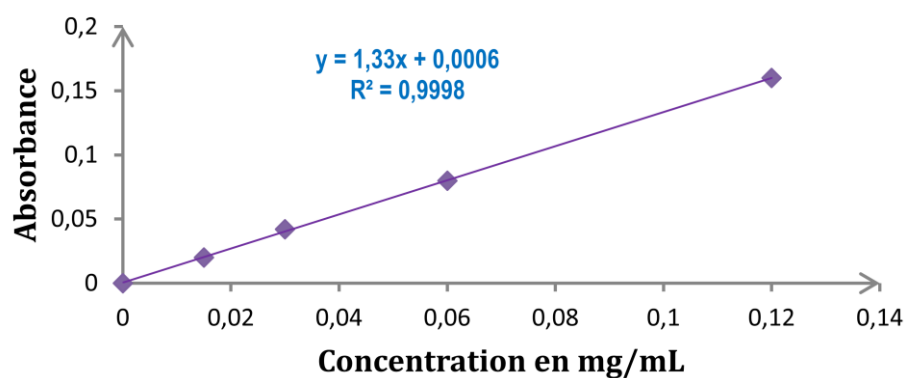
4. Quels sont les effets gênants qu'avez-vous ressenti après l'utilisation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » ?					
Symptômes		Durant la 1 ^{ère} et 2 ^e semaine après le traitement		Durant la 3 ^{ère} et 4 ^e semaine après le traitement	
		Non	Oui	Non	Oui
a	Diarrhée				
b	vomissement				
c	Tachycardie				
d	Goût désagréable				
e	sialorrhée				
f	Vertiges,				
g	Douleurs abdominales				
h	Fatigue				
i	Polyurie,				
j	Polyphagie				
k	Perte pondérale.				
l	constipation				

5. ce remède a t'il été efficace pour traiter votre ulcère ?	
Suffisamment efficace ☐	Peu efficace ☐ Pas efficace ☐
6. Avez-vous ressenti le besoin de prendre d'autres médicaments contre l'ulcère pendant la prise de « DAOUTRA EPIGASTRO » ?	
☐ Oui	☐ Non
7. Conseilleriez- vous ce médicament traditionnel à une autre personne ?	
☐ Oui	☐ Non

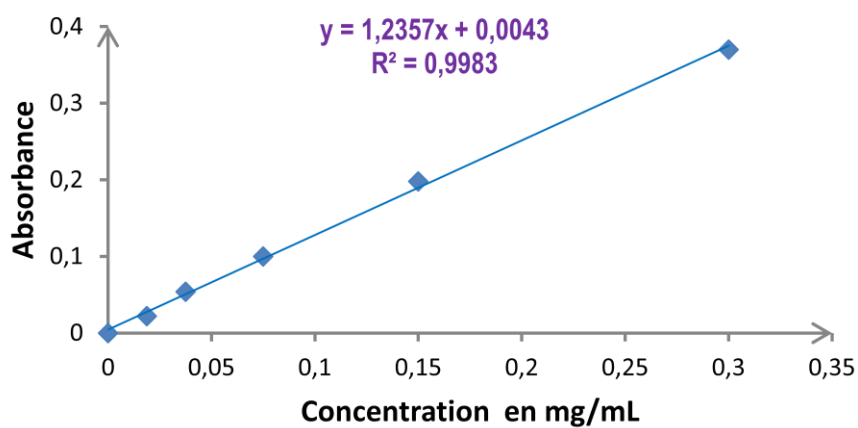
Annexe 4 : Teneurs en polyphénols totaux en flavonoïdes et en tanins condensés



- Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



- Courbe d'étalonnage de la quercétine



- Courbe d'étalonnage de la catéchine

Annexe 5 : Liste des 31 molécules de pesticides recherchées dans le remède

Famille	molécules	Concentration (mg/L)	L Q (mg/L)
Triazine	desisopropylatrazine	-	0,018
	déséthylatrazine	-	
	Simazine	-	
	Cyanazine	-	
	Atrazine	-	
	Propazine	-	
	terbuthylazine	-	
	Prometyn	-	
	terbutryn	-	
Triazinone	métamitron	-	0,025
	hexazinone	-	
	metribuzin	-	
Dérivés de l'urée	fénuron	-	0,018
	métoxuron	-	
	monuron	-	
	méthabenzthiazuron	-	
	chlortoluron	-	
	monolinuron	-	
	isoproturon	-	
	Diuron	-	
	Métobromuron	-	
	buturon	-	
	linuron	-	
Chloroacétamide	métazachlor	-	0,010
	métolachlor	-	
Carbamate	Aldicarb	-	0,009
	chlorpropham	-	
Organophosphoré	Parathion-méthyl	-	0,009
	chlorfenvinphos	-	
	Parathion-éthyl	-	
dicarboximides	vinclozolin	-	0,009

PUBLICATIONS

ARTICLE 1 :

Choho, M. F., Kporou, K. E., Ouattara S., Gbogbo M., Kroa E., Kouakou G. S., & Djaman A. J. (2022). Caractérisation phytochimique et activité antioxydante d'un médicament à base de plantes « Daoutra Epigastro » utilisé en tradithérapie des gastrites en Côte d'Ivoire, *Revue RAMReS – Série Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 21(1) : 40-49.

ARTICLE 2 :

Choho M. F., Kporou K. E., Ouattara S., Kroa E., N'guessan J. D., Djaman A. J. (2023). Hematological, Biochemical and Histological Analysis on Wistar Rats Treated by an Herbal Medicinal Product "DAOUTRA EPIGASTRO" Marketed in Daloa City (Côte d'Ivoire). *Scholars Academic Journal Pharmacy*, 12(4) : 86-95.

RESUME

« DAOUTRA EPIGASTRO » est un remède traditionnel utilisé dans le traitement des troubles gastriques en Côte d'Ivoire. Ce remède est enregistré au Programme National de Promotion de la Médecine Traditionnelle. Malheureusement, il ne bénéficie d'aucune autorisation de mise sur le marché par faute de disponibilité de données scientifiques sur son innocuité, sa qualité et son efficacité. L'objectif général de cette étude était de contribuer à la constitution du dossier technique d'homologation du remède « DAOUTRA EPIGASTRO ».

Pour ce faire, une enquête ethnopharmacologique de type observation participante a été menée sur une cohorte de 30 patients. L'innocuité du remède a été évaluée en toxicités aiguë et subaiguë conformément aux directives de l'OCDE 423 et 407. Les contrôles microbiologiques ont été effectués selon les normes de la pharmacopée Européenne. La recherche des éléments traces métalliques et des résidus de pesticides a été réalisée par une méthodologie couplant la SAA/HPLC. L'analyse des composés phytochimiques a été conduite par des tests de coloration/précipitation et par évaluation de la densité optique pour le potentiel antioxydant du remède. Enfin, des expérimentations animales ont permis d'évaluer le pouvoir antiulcéreux, cicatrisant et analgésique du remède.

De l'enquête ethnopharmacologique, il ressort que le remède est élaboré à partir des espèces *Nauclea latifolia* Smith, *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich, *Capsicum frutescens* L., *Zingiber officinale* Roscoe et *Cassia sieberiana* (DC.). Les utilisateurs ont confirmé la disparition des symptômes associés aux troubles gastriques au 4^{ème} jour de traitement et étaient satisfaits à 100 % du traitement. L'étude de l'innocuité a révélé que la DL₅₀ était supérieure à 3000 mg/kg pc et qu'aucune modification des paramètres hématologiques et biochimiques n'a été observée à des doses inférieures ou égales à 500 mg/kg pc. Le remède ne présentait aucune contamination en éléments traces métalliques et résidus de pesticides. Par contre, la qualité microbiologique du remède était moins stable sous sa forme liquide que sous sa forme séchée. L'efficacité antiulcéreuse du remède a été déterminée à 20 mg/kg pc avec une cicatrisation de 100 % des lésions induites par l'éthanol. L'inhibition des douleurs induites par l'acide acétique par le remède a été obtenue à 84,14 % avec la dose de 100 mg/kg pc. Le remède possède un potentiel antioxydant lié à la présence de composés phénoliques totaux quantifiés à $28,2 \pm 1,13$ mg EAG/g. Enfin, la nouvelle formulation proposée a permis d'obtenir des gélules homogènes en masse.

Ces données permettront de renseigner le dossier pharmaco-toxicologique du remède « DAOUTRA EPIGASTRO » dans le cadre d'une démarche d'obtention d'une Autorisation de Commercialisation en tant que Médicament Traditionnel Amélioré de la catégorie 2, pouvant être recommandé dans la prise en charge des troubles gastriques.

Mots clés : « DAOUTRA EPIGASTRO », DL₅₀, ethnopharmacologique, antiulcéreuse, analgésique, antioxydant.

ABSTRACT

"DAOUTRA EPIGASTRO" is a traditional remedy used in Côte d'Ivoire to treat gastric disorders. This remedy is registered with the National Program for the Promotion of Traditional Medicine. Unfortunately, it does not benefit from any marketing authorization due to the lack of scientific data on its safety, quality and efficacy. The overall objective of this study was to contribute to the preparation of a technical dossier for the registration of "DAOUTRA EPIGASTRO".

To this end, a participatory ethnopharmacological survey was conducted on a cohort of 30 patients. The safety of the remedy was evaluated in terms of acute and subacute toxicity according to OECD guidelines 423 and 407. Microbiological controls were performed according to the standards of European Pharmacopoeia. Trace metals and pesticide residues were detected by a combined SAA/HPLC method. Phytochemical compounds were analyzed by staining/precipitation tests and optical density evaluation for antioxidant potential of the herbal product. Finally, animal studies were conducted to evaluate the anti-ulcer, healing and analgesic properties of the remedy.

The ethnopharmacological survey revealed that the remedy is made from the species *Nauclea latifolia* Smith, *Xylopia aethiopica* (Dunal) A. Rich, *Capsicum frutescens* L., *Zingiber officinale* Roscoe and *Cassia sieberiana* (DC.). Users confirmed the disappearance of symptoms associated with gastric disorders on the 4th day of treatment, and were 100% satisfied with the treatment. The safety study showed that the LD₅₀ was greater than 3000 mg/kg bw and that no changes in hematological and biochemical parameters were observed at doses lower than 500 mg/kg bw. On the other hand, the microbiological quality of the preparation was less stable in its liquid form than in its dried form. The anti-ulcer efficacy of the remedy was determined at 20 mg/kg bw, with 100 % healing of ethanol-induced lesions. Inhibition of acetic acid-induced pain by the preparation was 84.14 % at 100 mg/kg. The antioxidant potential is related to the presence of total phenolic compounds quantified at 28.2 ± 1.13 mg EAG/g. Finally, the proposed new formulation allowed us to obtain capsules homogeneous in terms of mass.

These data will be used to compile the pharmaco-toxicological file of the remedy "DAOUTRA EPIGASTRO" as part of the process of obtaining marketing authorization as an improved traditional medicine of category 2, which can be recommended for the treatment of gastric disorders.

Keywords : "DAOUTRA EPIGASTRO", LD₅₀, ethnopharmacology, antiulcer, analgesic, antioxidant