

UNIVERSITE MARIEN NGOUABI
— FACULTE DES SCIENCES —

Année : 2004

N° d'ordre : _____

THESE

Pour l'obtention du **grade de Doctorat d'Etat**

Domaine : Sciences Naturelles et Agronomie

Spécialité : *Biochimie - Pharmacologie*

Formation Doctorale : *Sciences Naturelles et Agronomie*

Présentée et soutenue publiquement

Par

HONDI-ASSAH Coffi Théophile

Docteur 3^{ème} Cycle

Maître-assistant

le 21 février 2004

TITRE

**ETUDE DES EFFETS DE *LIPPIA MULTIFLORA* MOLDENKE SUR LE FOIE DES RATS :
COMPARAISON AVEC UNE RECETTE DE LA PHARMACOPEE TRADITIONNELLE CONGOLAISE,
LE TETRA®**

DIRECTEUR DE MEMOIRE

ABENA Ange Antoine,

Maître de Conférences à l'Université Marien NGOUABI

JURY

Président :	ITOUA-NGAPORO Assori,	Professeur à l'Université Marien NGOUABI, Brazzaville-Congo
Membres :	GBEASSOR Messanvi,	Professeur à l'Université de Lomé, Lomé-Togo (<i>Rapporteur externe</i>)
	YALA Fidèle,	Professeur à l'Université Marien NGOUABI, Brazzaville-Congo (<i>Rapporteur interne</i>)
	VOUIDIBIO Joseph,	Maître de Conférences à l'Université Marien NGOUABI, Brazzaville-Congo
	ABENA Ange Antoine,	Maître de Conférences à l'Université Marien NGOUABI, Brazzaville-Congo
	DIATEWA Martin,	Maître de Conférences à l'Université Marien NGOUABI, Brazzaville-Congo

PERSONNEL ENSEIGNANT DE RANG « A » DE LA FACULTE DES SCIENCES

ENSEIGNANTS PERMANENTS

Professeurs titulaires

DONGALA BOUNDZEKI Emmanuel ,	Chimie organique
MIALOUNDAMA Fidèle,	Physiologie végétale
SILOU Thomas,	Chimie physique organique

Maîtres de conférences

BELO Maurice,	Immunologie
BOUKA BIONA Clobite,	Physique de l'atmosphère
EKOUYA Alphonse,	Chimie organique
GOMA MANIONGUI Jean,	Physique du solide
LOUEMBE Delphin,	Microbiologie
MAKAMBILA Casimir;	Phytopathologie
MASSENGO André,	Géologie
MOALI Jean	Chimie minérale
MOUAYA Jacques,	Physique nucléaire
NGANGA Dominique,	Physique de l'atmosphère
OKASSA Eugène,	Mathématiques
OUAMBA Jean Maurille,	Chimie organique physique
TCHISSAMBOU Laurent,	Chimie des substances naturelles
TSOMAMBET Anaclet,	Physique moléculaire
VOUIDIBIO Joseph,	Biologie des populations

ENSEIGNANTS ASSOCIES

ABENA Antoine Ange,

Maître de conférences de
Pharmacologie

DIATEWA Martin,

Maître de conférences de Biochimie

YALA Fidèle,

Professeur de Bactériologie et
Virologie

ENSEIGNANTS EN MISSION

CHALCHAT Jean Claude,

Maître de conférences de Chimie
Organique

Université de Clermont (France)

DIALLO D.,

Maître de conférences (Mali)

DOSSOU GBETE Simplicie,

Maître de conférences de
Mathématiques

Université de PAU (France)

DREYSSE Hughes,

Professeur de Physique

Université Louis Pasteur - Strasbourg
(France)

EPRON Daniel,

Professeur d'Ecophysiologie

Université de Nancy I (France)

FARINES M.,

Professeur de chimie (France)

GBEASSOR Messanvi,

Professeur de Physiologie animale et
de pharmacologie (Togo)

GUYOT J.P.,

Directeur de recherche IRD --
Montpellier (France)

HOUNOUGAN J.,

Maître de conférences de
Microbiologie (Bénin)

JALABERT Rodolfo,

Professeur de Physique

Université Louis Pasteur – Strasbourg
(France)

KALENDA DIBUNGI T.,

Professeur de Chimie

Faculté de Pharmacie - Université de
Kinshasa (R.D. Congo)

KAPSEU C.,

Professeur de Génie des procédés
(Cameroun)

KOUDOU Jean,	Maître de conférences de Chimie organique Université de Bangui (Centrafrique)
KWATO NJOCK Moïse,	Professeur de Physique Université de Douala (Cameroun)
MILLET Bernard,	Professeur de Biologie Végétale A l'Université de Franche – Comté Besançon (France)
MOUDACHIROU M.,	Professeur de Chimie (Benin)
MOULOUNGUI Z.,	Directeur de recherches de Lipo-oléo-protéochimie
MPUZA KAPUNDU,	Professeur de Chimie Université de Kinshasa
SALLET G.,	Professeur de Mathématiques (France)
SERÇAT Dominique,	Maître de conférences de Physique Université Paul SABATIER - Toulouse (France)
TRECHE S. .	Directeur de recherches de Nutrition. IRD (France)
VIGNERON Philippe,	Chercheur CIRAD – Forêt Montpellier (France)
<u>ENSEIGNANTS VACATAIRES</u>	
DIAMOU ANGANA Jean,	Maître de recherches d'Écologie (DGRST)
MABANZA Joseph.	Maître de recherches de Physiologie Végétale (DGRST)

DEDICACES

♥ *A la mémoire de*

- *Mon père, **HONDI-ASSAH Etienne**, qui a été arraché très tôt à mon affection : ton souvenir reste et demeure à jamais gravé en moi. Trouve ici le témoignage de la promesse faite, dans les derniers instants de ta vie parmi nous.*
- *Mon oncle, **HONDI-ASSAH Tossa**, également arraché très tôt de mon affection. Trouve ici le témoignage de ma profonde affection toujours vivace et éternelle.*

♥ *A ma mère, **BOSSOU KINTOHOU Christine**. Ton courage n'a pas d'égale et je ne sais comment te remercier et te témoigner une fois encore mon affection. Je t'aime maman. Que ce travail soit le fruit de tous tes sacrifices, pour nous avoir donné la vie.*

♥ *A ma femme, **HOFOLA Léonie Michèle**
En témoignage de notre amour et des sacrifices consentis*

♥ *A mes enfants :*

- ***HONDI-ASSAH Steve Wilfrid**,*
- ***HONDI-ASSAH Viviane Akouavi**,*
- ***HONDI-ASSAH Judicaël Maxime**,*
- ***HONDI-ASSAH James Rey**,*
- ***HONDI-ASSAH Eva Christy***

Que ce travail soit pour vous tous un concept de vie, où la conscience et la persévérance sont de règle pour attendre l'idéal d'une vie. C'est l'héritage que je vous laisse, tâchez d'en être digne.

♥ *A mes frères et sœurs,
Que ce travail puisse être le témoignage de l'affection que feu notre père nous entourait jour et nuit, même dans ses derniers instants de vie.*

♥ *A tous mes autres parents et amis*

REMERCIEMENTS

- *A Monsieur le Professeur **Ange Antoine ABENA**,
Maître de conférences à l'Université Marien NGOUABI.*

Je vous remercie d'avoir bien voulu m'accorder votre confiance en me donnant le soin d'achever ces travaux, que vous avez vous-même déjà engagé sur la voie de la réussite.

Je vous témoigne toute ma gratitude pour m'avoir donné le goût d'une recherche combien passionnante avec cet esprit qui vous est cher de constituer une équipe unie, enthousiaste et dynamique, à laquelle je suis fier d'appartenir.

- *A Monsieur le Professeur **Martin DIATEWA**,
Maître de conférences à l'Université Marien NGOUABI.*

L'humilité dont vous êtes maître, fait de vous l'homme de science d'une grande valeur. Tout au long de notre travail, vous avez été à l'écoute et dans la réalisation. Trouvez ici l'expression de notre sincère et vive reconnaissance.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements

- *A Monsieur le Professeur **ITOUA-NGAPORO Assori***

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude et de notre respect.

- *A Monsieur le Professeur **GBEASSOR Messanvi**.*

- *A Monsieur le Professeur **YALA Fidèle**,*

- *A Monsieur le Professeur **VOUIDIBIO Joseph***

Qui nous font l'honneur de siéger à notre jury de thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de nos vifs remerciements.

- *A Messieurs les Docteurs **KOKOLO Joseph, PEKO Félix**, maîtres assistants d'anatomie pathologique à l'Université Marien NGIQUABI, dont la collaboration a été précieuse dans l'étude du pouvoir hépatoprotecteur des extraits de L.m et du Tétrac. Qu'ils trouvent ici nos remerciements les plus sincères.*

- *A Madame le Docteur **BADILA Céline** et à toutes les secrétaires de la Faculté des Sciences de la Santé, et aux techniciens des Laboratoires, pour la sympathie dont j'ai été l'objet au cours de ce travail.*

- *A Monsieur **MBOUMBA Valère Jean** et à Madame **NDINGA Delphine**, respectivement Secrétaire Principal et Gestionnaire à la Faculté des Sciences de la Santé. Qu'ils trouvent ici mes très sincères remerciements pour leurs encouragements constants.*

- *A Monsieur **NGOMA Fidèle** et à tout son personnel de la Bibliothèque de la Faculté des Sciences de la Santé, pour leur dévouement dans l'accomplissement de leurs tâches.*

- *A Messieurs les Docteurs **MOKONDJIMBE Etienne** et **PARRA Henri Joseph** pour votre sympathie et vos encouragements. Toute ma gratitude.*

- *A Monsieur **MIGUEL Landry Martial** à qui nous tenons à remercier très sincèrement pour s'être acquitté du travail de saisie avec diligence et compétence.*

*A Mademoiselle **OKEMY-ANDISSA Nadège** pour son assistance.*

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	XIII
Liste des tableaux	XIV
Liste des figures	XV
INTRODUCTION GENERALE	1
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1. Présentation du Tétrax [®]	5
1.1. Composition et Présentation.....	5
1.2. Posologie	5
1.3. Indications Thérapeutiques.....	5
1.4. Contre indications.....	6
2. Présentation du <i>Lippia multiflora</i>	8
2.1. Données botaniques.....	8
2.2. Noms vernaculaires.....	8
2.3. Usages en médecine traditionnelle congolaise.....	8
2.4. Données pharmacologiques.....	8
3. Hépatotoxicité médicamenteuse.....	12
3.1. La stéatose	14
3.2. Hépatites	14
3.3. La nécrose.....	15
3.4. Le syndrome de cytolyse.....	16
3.5. Les hépatopathies vasculaires.....	17
3.6. Les insuffisances hépatocellulaires.....	17
4. Médicaments hépatoprotecteurs.....	18
4.1. Molécules utilisées en thérapeutiques.....	18
4.2. Méthodes d'étude des médicaments hépatoprotecteurs	27
4.2.1. Les tests in vivo.....	27
a) Les substances hépatotoxiques.....	27
b) Les marqueurs de l'intoxication hépatique.....	29
4.2.2. Les tests in vitro.....	30
II. MATERIEL ET METHODES	31
1. Matériel	32
1.1 Matériel animal	32
1.2 Matériel végétal	32
1.2.1. Le <i>Lippia multiflora</i>	32
1.2.2. Le Tétrax [®]	32
2. Méthodes	32
2.1. Préparation de l'extrait brut de <i>Lippia multiflora</i>	32
2.2. Préparation de la solution de Tétrax [®] en vue de la détermination des grands groupes chimiques.....	32

2.3. Méthodes chimiques d'identification des principaux phytoconstituants.....	32
2.3.1. Recherche des saponines	32
a) Test de production de la mousse.....	33
b) Test d'induction de l'hémolyse.....	33
2.3.2. Recherche des alcaloïdes.....	33
2.3.3. Recherche des glucides	33
2.3.4. Recherche des composés animés autres que les alcaloïdes	34
2.3.5. Recherche des polyphénols.....	34
a) Recherche des flavonoïdes	35
b) Recherche des tanins.....	35
c) Recherche des anthocyanes	35
d) Recherche des quinones liées.....	35
e) Recherche des quinones libres.....	36
2.3.6. Recherche des composés réducteurs	36
2.3.7. Recherche des phlobatanins.....	36
2.3.8. Recherche des glycosides cardiotoniques	36
a) Test de Lieberman	36
b) Test de Keller-Kiliani.....	37
2.3.9. Recherche des Terpénoïdes et stéroïdes.....	37
a) Recherche des stéroïdes	37
c) Recherche des terpénoïdes	37
2.4. Détermination du pH des extraits.....	37
2.5. Etudes d'une éventuelle toxicité hépatique induite par le Tétrac [®] et le <i>Lippia multiflora</i>	38
2.5.1. Toxicité aiguë	38
2.5.2. Toxicité subaiguë.....	38
2.5.3. Toxicité subchronique	38
2.6. Détermination des paramètres biochimiques sanguins.....	39
2.6.1. La bilirubinémie totale	39
a) Principe	39
b) Composition des réactifs	39
c) Mode opératoire	39
2.6.2. Les activités de l'alanine et de l'aspartate aminotransférases	39
a) Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase	40
a ₁) Principe.....	40
a ₂) Composition des réactifs.....	40
a ₃) Mode opératoire.....	40
b) Détermination de l'activité de l'aspartate aminotransférase	41
b ₁) Principe.....	41

b ₂) Composition des réactifs.....	41
b ₃) Mode opératoire	42
2.6.3. Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline.....	42
a) Principe.....	42
b) Composition des réactifs	42
c) Mode opératoire.....	43
2.7. Méthode histopathologique.....	43
2.7.1. Principe	43
2.7.2. Mode opératoire	43
a) La déshydratation	43
b) L'inclusion à la paraffine	43
c) Les coupes.....	43
d) L'étalement.....	44
d) Le déparaffinage	44
f) Le montage des lames.....	44
g) La lecture histologique.....	44
2.8. Méthode d'étude de l'hépatoprotection.....	44
2.8.1. Hépatotoxicité induite par le paracétamol	44
2.8.2. Hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone.....	45
2.8.3. Test de potentialisation du sommeil barbiturique.....	45
2.9. Analyse statistique	46
III. RESULTATS ET DISCUSSION	47
1. Analyse chimique du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel®	48
1.1. Résultats.....	48
1.2. Discussion- conclusion.....	53
2. Étude d'une éventuelle toxicité hépatique du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel®	55
2.1. Toxicité aiguë du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel®	55
2.1.1. Effets sur les paramètres biochimiques.....	55
2.1.2. Effets sur les paramètres histologiques.....	55
2.2. Toxicité subaiguë du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel®	61
2.2.1. Effets sur les paramètres biochimiques.....	61
2.2.2. Effets sur les paramètres histologiques	61
2.3. Toxicité subchronique du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel®	65
2.3.1. Effets sur les paramètres biochimiques	65
2.3.2. Effets sur les paramètres histologiques.....	65
2.4. Discussion- conclusion.....	69
3. Étude du pouvoir hépatoprotecteur.....	71

3.1. Effets hépatoprotecteurs du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel, vis à vis de l'intoxication au paracétamol.....	71
3.1.1. Sur les paramètres biochimiques.....	71
3.1.2. Sur les paramètres histologiques.....	71
3.1.3. Sur la potentialisation du sommeil barbiturique.....	72
3.2. Discussion- conclusion.....	78
3.3. Effets hépatoprotecteurs du <i>Lippia multiflora</i> et du Tétracel, vis à vis de l'intoxication au tétrachlorure de carbone.....	81
3.3.1. Sur les paramètres biochimiques	81
3.3.2. Sur les paramètres histologiques.....	81
3.4. Discussion- conclusion.....	87
IV. DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALES.....	89
1. Discussion générale.....	89
2. Conclusion générale.....	94
V. PERSPECTIVES.....	95
SUMMARY.....	97
BIBLIOGRAPHIE.....	98

LISTE DES ABREVIATIONS

B : Ballonnisation
Bil T : Bilirubine totale
C : Conservée
C.B.M : Centre de Biologie Médicale (Laboratoires Professeur F. YALA)
C.E.R.V.E : Centre d'Etudes sur les Ressources Végétales
C.n : Clarification nucléaire
CCl₄ : Tétrachlorure de carbone
Cg : Congestion
CIRRH : Cirrhose
CL : Clarification
D : Dilaté
Ds : Désorganisation
E : Elargis
E.P : Espace Porte
G.T (.γ-) : gamma-glutaryl transférase
H.A : Hépatite Aiguë
H.C : Hépatite Chronique
LHC : Insuffisance Hépatocellulaire
LDH : Lactate déshydrogénase
M.T.A : Médicament Traditionnel Amélioré
M.V : Microvilosités ou macrovilosités
MAD : Malonylaldéhyde
MDH : Malate déshydrogénase
N : Normal
N.S : Non significatif
NADH : Nicotinamide adénine
Nc : Nécrose
O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé
PAL : Phosphatase alcaline
Sg : Sang
SGOT : Glutamate oxalate transaminase sérique
SGTP : Glutamate pyruvate transaminase sérique
SN : Subnormal
T₃ : Tétrac pH 3,40
T-HA (.1-OH-) : 1-hydroxy-thiohydroxyacétamide
Tp : Tampon
UDP : Uridyl-diphosphate
V.C.L : Veine Centrolobulaire
V V : Volume à volume

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau I : Indications thérapeutiques du Tétra [®]	6
Tableau II : Propriétés pharmacologiques du <i>Lippia multiflora</i>	11
Tableau III : Plantes médicinales dont l'hépatotoxicité a été vérifiée scientifiquement	12
Tableau IV : Quelques plantes à vertus hépatoprotectrices	19
Tableau V : Quelques composés chimiques à effet hépatoprotecteur isolés des plantes médicinales	25
Tableau VI : Action du Tétra [®] sur les globules rouges	49
Tableau VII : Action du <i>Lippia multiflora</i> sur les globules rouges	50
Tableau VIII : Effet du pH du Tétra [®] sur la lyse des globules rouges	51
Tableau IX : Screening chimique du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®]	52
Tableau X : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les paramètres biochimiques (Toxicité aiguë)	56
Tableau XI : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les compartiments hépatiques (Toxicité aiguë)	57
Tableau XII : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les paramètres biochimiques (Toxicité subaiguë)	62
Tableau XIII : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les paramètres histologiques (Toxicité subaiguë)	63
Tableau XIV : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les paramètres biochimiques (Toxicité suchronique)	66
Tableau XV : Effet du <i>Lippia multiflora</i> et du tétra [®] sur les paramètres histologiques (Toxicité suchronique)	67
Tableau XVI : Effet des différents traitements sur les paramètres biochimiques (intoxication au paracétamol)	72
Tableau XVII : Effet des différents traitements sur les paramètres histologiques (intoxication au paracétamol)	73
Tableau XVIII : Effet des différents traitements sur le sommeil induit par le pentobarbital	74
Tableau XIX : Effet des différents traitements sur les paramètres biochimiques (intoxication au tétrachlorure de carbone)	82
Tableau XIX : Effet des différents traitements sur les paramètres histologiques (intoxication au tétrachlorure de carbone)	83

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1 : Photographie du produit Tétrax [®]	7
Figure 2 : Photographie d'un pied de <i>Lippia multiflora</i>	9
Figure 3 : Photographie des fleurs de <i>Lippia multiflora</i> Immatures	9
Figure 4 : Photographie des fleurs de <i>Lippia multiflora</i> en instance d'éclosion	9
Figure 5 : Photographie d'une éclosion totale des fleurs de <i>Lippia multiflora</i>	10
Figure 6 : Photographie des feuilles de <i>Lippia multiflora</i> séchées, vendues sur les marchés	10
Figure 7 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée (Témoins)	59
Figure 8 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité avec le Tétrax [®] 1.35 ml kg (Toxicité aiguë)	60
Figure 9 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité au <i>Lippia multiflora</i> 1200 mg kg (Toxicité aiguë)	60
Figure 10 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le Tétrax [®] 0.90 ml kg (Toxicité subaiguë)	64
Figure 11 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le <i>Lippia multiflora</i> 400mg kg (Toxicité subaiguë)	64
Figure 12 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le <i>Lippia multiflora</i> 400mg kg (Toxicité subchronique)	68
Figure 13 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le Tétrax [®] 0.45 ml kg (Toxicité subchronique)	68
Figure 14 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée (Témoins)	75
Figure 15 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au paracétamol, après traitement à l'eau distillée	75
Figure 16 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au paracétamol après traitement au <i>Lippia multiflora</i> 400 mg kg	76
Figure 17 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au paracétamol après traitement par le Tétrax [®] 0.45 ml kg	76
Figure 18 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au paracétamol après traitement	

par le Tétrax® 0.90 ml/kg	77
Figure 19 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au paracétamol après traitement	77
à la silymarine ou Légalon 100mg/kg	
Figure 20 : Micrographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée (Témoins)	84
Figure 21 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au tétrachlorure de carbone après traitement à l'eau distillée	84
Figure 22 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au tétrachlorure de carbone après traitement au <i>Lippia multiflora</i> 400 mg/kg	85
Figure 23 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au tétrachlorure de carbone après traitement au Tétrax® 0.45 ml/kg	85
Figure 24 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au tétrachlorure de carbone après traitement au Tétrax® 0.90 ml/kg	86
Figure 25 : Micrographie d'une section de foie de rat normal intoxiqué au tétrachlorure de carbone après traitement à la silymarine ou légalon 100 mg/kg	86

**INTRODUCTION
GENERALE**

La médecine moderne ne peut et ne pourra vraisemblablement assurer ses services, au sein des populations des pays en développement, sans que ne soient prises en compte leurs particularités. En effet ces populations ont aussi recours à la médecine traditionnelle pour des raisons entre autres :

- Culturelles : la médecine traditionnelle constitue un patrimoine culturel transmis de génération en génération ;
- Socio-économiques : le bas niveau économique des populations rurales et l'enclavement des zones rurales ne permettent pas non seulement l'approvisionnement, mais aussi l'achat des produits pharmaceutiques dont le coût est élevé [57 :133].

Il est établi que pour un grand nombre d'affections, les plantes médicinales sont une alternative aux médicaments dits modernes ; d'ailleurs, beaucoup de ces derniers sont produits à partir des principes actifs des plantes et l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) a déjà élaboré une liste de plantes répondant à cette définition [133 :124] . L'usage thérapeutique de certaines espèces décrites a fait l'objet de vérification scientifique ; d'autres méritent un examen approfondi. Ainsi dans ce cadre, nous nous sommes intéressé à l'étude du *Lippia multiflora* et d'un médicament traditionnel amélioré congolais ; le Tétra® , mis au point par le tradithérapeute, Charles MBEMBA.

Premier médicament traditionnel amélioré congolais préparé à partir d'une vingtaine de plantes médicinales et aromatiques, le Tétra® présenterait de multiples propriétés thérapeutiques notamment antalgique et anti-inflammatoire [4]. Son utilisation semble non négligeable au Congo [29]. Cependant aucune étude n'a été réalisée pour infirmer ou mettre en évidence une éventuelle toxicité de la préparation sur certains organes notamment le foie. En effet, l'usage des plantes s'avère avoir occasionnellement une hépatotoxicité ; celle-ci est particulièrement difficile à mettre en évidence du fait :

- de l'automédication très fréquente et de la réputation d'innocuité ;
- de l'absence ou du peu de contrôle exercé sur la toxicité de nombreuses plantes ;
- de la multiplicité des produits végétaux contenus dans certaines préparations (cas du Tétra®), rendant très difficile la détermination de la plante responsable de l'effet indésirable [93].

Aussi, *Teucrium chamaedrys*, *Symphytum officinale*, *Azadirachta indica*, *Sassafras albidum* sont reconnus hépatotoxiques [93].

L'un des constituants du Tétra® est le *Lippia multiflora*, plante dont les effets favorables sur l'ictère ont été signalés dans la littérature [57] sans qu'aucun travail scientifique ne le confirme.

La consommation du *Lippia multiflora* en infusion théiforme est quasi quotidienne dans certains foyers congolais voire africains. Ici aussi, aucune étude n'a jusque là mentionné les conséquences de cette importante consommation à court et long terme sur l'organisme en général et particulièrement sur le foie.

Aussi la présente étude, qui a été réalisée au Laboratoire de Biochimie et de Pharmacologie de la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université Marien Nguabi a pour objectifs de :

- Déterminer le profil chimique du Tétrax[®] et de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* ;
- Evaluer les effets secondaires du Tétrax[®] et du *Lippia multiflora* chez le rat notamment au niveau hépatique ;
- Evaluer l'éventuel potentiel hépatoprotecteur du *Lippia multiflora* et du Tétrax[®] chez le rat (en tenant compte du fait que le *Lippia multiflora* aurait un effet intéressant sur l'ictère).

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Présentation du Tétrax®

1.1 Composition et préparation

Le Tétrax® est un médicament traditionnel amélioré (MTA), qui a été mis au point par un herboriste congolais Charles MBEMBA et présenté sous forme de suspension buvable de couleur marron, très aromatisé, d'un goût assez agréable, très concentré avec un dépôt. C'est un médicament non visqueux, vendu en boîte de deux flacons marrons de 250 ml, de faible actinisme, disponible dans 4 à 6 officines de Brazzaville (Pharmacies Texaco à Ouenzé, Jane Vialle à Moungali, Sainte Rita au Plateau des 15 ans, Saint Pierre Claver à Bacongo...). De nos jours, le Tétrax® est vendu dans d'autres villes du Congo telles que Impfondo et Owando.

Le Tétrax® résulte d'un mélange d'une vingtaine de plantes médicinales. En raison de l'inexistence d'un brevet, l'inventeur ne peut pas divulguer son mode opératoire et sa composition intégrale. Néanmoins, quelques plantes sont connues : il s'agit de : *Abrus precatorius*, *Ageratum conyzoides*, *Bidens pilosa*, *Diaochophyllum Thoclonnu bail* ; *Lantana camara* ; *Lippia multiflora* ; *Navelea vanderghelitti* ; *Pauridiantha dewevrei* ; *Phyllanthus amaris* ; *Tetracera alnifolia*.

La dernière plante (*Tetracera alnifolia*) est à l'origine de la dénomination commerciale de ce médicament. Le tétra® a eu un visa de vente en pharmacie sous le numéro 115 95.

1.2. Posologie

- En traitement d'attaque, il est conseillé 2 cuillerées à soupe pure ou diluée dans un peu d'eau, 3 fois par jour
 - Et en traitement d'entretien, une cuillerée à soupe pure ou diluée dans un peu d'eau : matin et soir
- Ce schéma thérapeutique est le même quelque soit la pathologie traitée.

1.3. Indications Thérapeutiques

Les indications thérapeutiques proposées par l'inventeur sont consignées dans le Tableau I.

**Tableau I : Indications thérapeutiques du Tétrax[®]
(d'après l'inventeur)**

- | | |
|--|--|
| ▪ Gastrites | ▪ Œdèmes d'origine cardiaque ou rénale |
| ▪ Ulcère gastroduodenal | ▪ Toux |
| ▪ Hernie hiatale | ▪ Bronchite |
| ▪ Constipation | ▪ Asthme |
| ▪ Salpingite | ▪ Névralgie, Insomnie |
| ▪ Tranchées utérines | ▪ Etats fébriles et infectieux |
| ▪ Métrorragies | ▪ Coliques hépatiques |
| ▪ Dysménorrhée | ▪ Inflammations et douleurs persistantes après certaines opérations chirurgicales vieilles ou récentes |
| ▪ Rhumatismes | ▪ Colopathie |
| ▪ Insuffisance circulatoire artérielle | |
| ▪ Palpitations | |

1.4. Contre-indications

Le Tétrax[®] est contre indiqué chez la femme enceinte, et dans l'hypotension sévère.



Figure 1 : Photographie du produit « Tétra »
 Forme de commercialisation dans les officines

2. Présentation du *Lippia multiflora*

2.1. Données botaniques

Le *Lippia multiflora* est une plante aromatique d'odeur camphrée. Il pousse dans les savanes. Il est vivace par sa souche ligneuse dressée en touffe atteignant deux mètres de hauteur (Figure 2).

Il appartient à la famille des verbanaceae. Ses feuilles sont elliptiques à base longuement cunée, à sommet acuminé, à bord finement denté, à pubescence blanchâtre.

Il possède des inflorescences en épis terminaux, ombelliformes, globuleux ou cylindriques (Figure 3, 4, 5).

2.2. Noms vernaculaires

Communément appelé Thé de Gambie (Figure 6), le *Lippia multiflora* prend des appellations diverses selon les différentes ethnies du Congo ; à titre d'exemple :

- Bulukutu chez les Kongo et les Lari
- Malukutu chez les Dondo
- Bisakambu chez les Kamba
- Mufilu Nseke chez les Bembé

2.3. Usages en médecine traditionnelle congolaise

Le *Lippia multiflora* est largement utilisé dans des pays d'Afrique et des Amériques, pour ses multiples vertus thérapeutiques [8, 120].

Tel est le cas au Congo, où sous forme de tisane, il est employé dans le traitement de la fièvre et de l'hypertension artérielle [174].

2.4. Données pharmacologiques

Diverses indications thérapeutiques traditionnelles du *Lippia multiflora* ont été vérifiées scientifiquement par des études pharmacologiques telles que représentées au Tableau II.

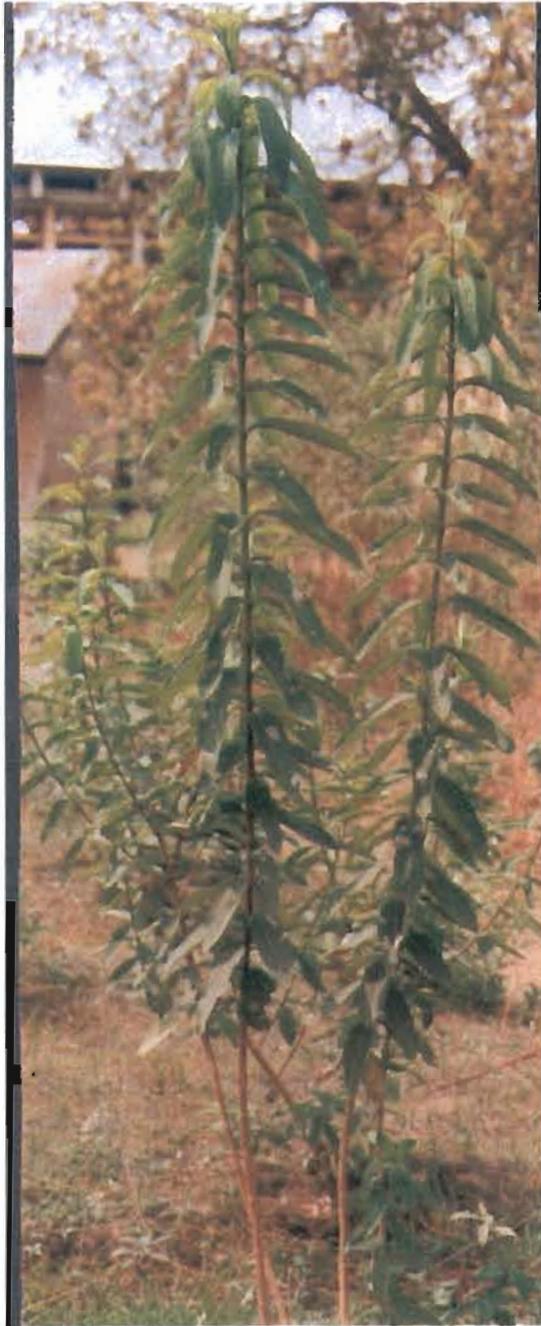


Figure 2 : Photographie d'un pied de Lippia multiflora

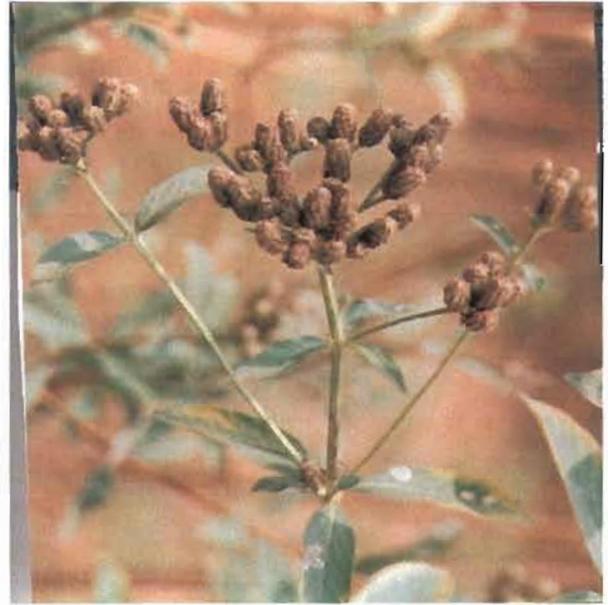


Figure 3 : Photographie de fleurs de Lippia multiflora immatures



Figure 4 : Photographie de fleurs de Lippia en instance d'éclosion



Figure 5 : Photographie d'une éclosion totale de fleurs de *Lippia multiflora*



Figure 6 : Photographie de feuilles de *Lippia multiflora* séchées, et vendues sur le marché

Tableau II : Propriétés pharmacologiques du *Lippia multiflora* vérifiées scientifiquement.

Potentiel	Nature de la drogue		Références
	Extrait aqueux	Huile essentielle	
Activité antalgique anti-inflammatoire antipyrétique			85
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
			3
			5
Activité antibactérienne			91
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	28
Activité antimalarique			68
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	164
Activité myorelaxante			31
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	125
Activité antifongique			1
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	139
Activité antihypertensive			68
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	140
Activité vasculaire			126
	<input type="checkbox"/>		127

3. Hépatotoxicité médicamenteuse [34 ;93;94;109;110;130]

Certains médicaments modernes peuvent être à l'origine des lésions hépatiques telles que la stéatose, la nécrose... Il s'agit principalement des antalgiques, des anti-inflammatoires, des antipyrétiques, des antibiotiques, des antidiabétiques, des diurétiques, antifongiques, antituberculeux, des antihypertenseurs et des anticancéreux [34]. Il en est de même pour les plantes médicinales scientifiquement étudiées (Tableau III).

Tableau III : Plantes médicinales dont l'hépatotoxicité a été vérifiée scientifiquement

Types de plantes médicinales	Types de lésions hépatiques	Références
<i>Amatina phalloïdin</i>	Nécrose	171
<i>Atractylis gummifera. L.</i> (charbon à glu)	Hépatite cholestatique	92
<i>Azadirachta indica</i>	Stéatose	92 ;146
<i>Callipepsis laureola</i>	Hépatite Fulminante nécrose	118
<i>Cassia angustifolia</i> (senna)	Hépatite aiguë	141
<i>Cogniauxia podoleana-</i> <i>Baillon</i>	Hépatite cytolytique aiguë Stéatose	56
<i>Crotalaria</i>	-Hépatite aiguë (HA) -Hépatite Chronique(HC) -Necrose -Cirrhose(CIRRH) -Insuffisance- hépatocellulaire(IHC)	38
<i>Ephedra (Ma.Huang)</i>	Hépatite aiguë	122
<i>Hedéoma pulegioides</i>	-Nécrose -Hépatite Fulminante	19
<i>Heliotropium</i>	-Hépatite aiguë(HA) -Hépatite Chronique(HC) -Necrose -Cirrhose(CIRRH) -Insuffisance-	83 ; 50

Tableau III (suite)

	hépatocellulaire(IHC)	
<i>Larrea tridentata</i> (chaparral)	-Hépatite aiguë(HA) -Hépatite Chronique(HC) -Insuffisance- hépatocellulaire(IHC) -Necrose -cirrhose(CIRRH)	128 ; 15
<i>Lycopodium serratum</i> (Jin-Bu-Huan)	-Hépatite aiguë -Fibrose modérée	172
<i>Mentha pulegium</i>	-Hépatite -Necrose	19
<i>Sassafras albidum ou</i> <i>sassafras</i>	-Hépatite carcinogène -Stéatose	153
<i>Sénecio longilobus</i>	-Hépatite aiguë -Nécrose	146 ;159 ;61
<i>Sérrenoa serriclata</i>	Hépatite cholestatique	70
<i>Scutellaria (skulleap)</i>	Fibrose	78
<i>Symphylum (comfrey)</i>	stéatose	71 ;111
<i>Symphytum</i> <i>officinale(consoude)</i>	Hépatite aiguë stéatose	84 ; 92
<i>Teucrium charmaedrys</i> (germandrée-petit chène)	-Hépatite Aiguë(HA) -Hépatite Chronique(HC) -hépatite cholestatique(IHC) Fibrose -cirrhose(CIRRH)	30 ;49 ;151 ; 90
<i>Teucrium polium</i>	Hépatite	110
<i>Valeriana officinalis</i> (valerian)	Hépatite	62 ; 114
<i>Viscum album (gui)</i> Mistletoe	Hépatite	92

3.1. La stéatose [115 ; 116 ; 149]

Elle se définit comme une surcharge du cytoplasme des hépatocytes par des lipides. Elle se présente sous deux aspects principaux.

- que tout le cytoplasme est occupé par une large vésicule de graisse qui repousse le noyau : on parle de stéatose macrovésiculaire.
- que tout le cytoplasme est occupé par de fines gouttelettes qui ne déplacent pas le noyau : on parle de stéatose microvésiculaire.

Globalement, il existe dans la plupart des situations pathologiques, associées à une stéatose un déséquilibre entre la synthèse des triglycérides à partir des acides gras dans l'hépatocyte d'une part, et leur sécrétion d'autre part. Aussi, les principaux mécanismes responsables d'une stéatose peuvent être isolés ou intriqués.

- Au cours des stéatoses, l'augmentation de l'activité sérique des transaminases est habituellement peu élevée : elle est la traduction d'une nécrose associée. D'autres enzymes peuvent être étudiés, notamment les phosphatases, la γ -glutanyl transférase sérique dont les activités augmentent en cas de stéatose.
- Les lipides essentiels sont sous forme de grosses vésicules de triglycérides qui s'accumulent préférentiellement dans la zone centrolobulaire, et qui repoussent le noyau en périphérie de la cellule hépatocytaire. Une coloration spécifique permet de mieux repérer les stéatoses microvésiculaires lorsqu'elles sont peu intenses. Ces stéatoses peuvent être pures ou associées à la nécrose ; dans ce cas des cellules inflammatoires peuvent également être observées.

3.2. Les hépatites : [115 ; 116 ; 149]

Ce sont des lésions hépatiques de types variés, provoquées par des produits dits hépatotoxiques, et survenant dans des circonstances bien particulières. Les produits responsables forment un groupe hétérogène, d'origine. Les médicaments représentent la plus grande partie de produits étrangers introduits dans l'organisme, autres que les aliments et qui doivent être excrétés.

On distingue trois groupes principaux d'hépatites:

- Les hépatites cholestatiques
- Les hépatites cytolytiques
- Les hépatites mixtes où cohabitent les types précédents.

Le mécanisme dans le cas de l'hépatite cholestatique, reste encore assez mal connu, ce qui donne lieu à plusieurs hypothèses.

- soit qu'il y a sécrétion d'une bile plus épaisse avec altération de la membrane des hépatocytes ou des canalicules biliaires, qui permet le reflux de la bile dans l'espace-porte.
- soit une sécrétion biliaire par un mécanisme différent, autre que l'hypersensibilité ou l'hépatotoxicité et qui reste encore inconnu. L'hépatite cytolitique évolue généralement vers une hépatite chronique avec cirrhose.

La forme mixte peut rejoindre les formes cholestatiques ou cytolitiques.

- La biologie est du type retentionnel avec élévation du taux de bilirubine conjuguée, de phosphatase alcaline, lorsque l'électrophorèse reste normale. Les transaminases sont généralement normales ou peu élevées (dans le cas de l'hépatite cholestatique) et augmentées dans le cas de l'hépatite cytolitique. Parfois on observe un ictère d'intensité variable ; le taux de lipides et de cholestérol sanguins sont élevés.

Histologiquement les hépatites cytolitiques et cholestatiques donnent naissance à des nécroses qui dominent dans la région centrolobulaire avec présence d'infiltrat inflammatoire de l'espace-porte et de la bile (dans le cas de l'hépatite cholestatique).

Cette infiltration est faite principalement de cellules mononuclées de types lymphocytes et plasmocytes, de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles.

3.3. La nécrose [115;116;149]

Il s'agit de lésions hépatiques qui peuvent présenter deux aspects ; l'un mineure et l'autre plus grave et plus caractéristique.

- Les atteintes hépatiques mineures correspondent à des anomalies de l'hépatocyte, traduisant une souffrance modeste, il s'agit d'hépatocyte bi ou trinuéclées avec ballonnisation cytoplasmique ou de corps acidophiles
- La nécrose hépatique d'origine médicamenteuse ; elle serait plus souvent diffuse au cours des atteintes médicamenteuses, et se localisent dans la région centrolobulaire.

Leur mécanisme s'inscrirait en faveur d'une toxicité par des métabolites chimiquement réactifs. La zone centrolobulaire est particulière riche en cytochrome P450. La nécrose y est prédominante ; une forme majeure de nécrose hépatique est la nécrose en pont unissant deux régions centrolobulaire ; ou deux espaces-portes.

Biologiquement le signe le plus caractéristique est une élévation des transaminases, qui est parallèle à l'intensité de la nécrose. La bilirubine conjuguée, les phosphatases alcalines, et les gamma GT sont également élevées,

mais dans de moindres proportions. Parfois on observe des transaminases normales associées à une bilirubine élevée et à un effondrement du taux de prothrombine au cours des hépatites fulminantes médicamenteuses ; une hyperéosinophilie sanguine et des auto anticorps peuvent s'observer au cours des hépatites immunologiques.

Histologiquement la nécrose hépatocytaire se voit en foyer intéressant de petits groupes de deux à trois hépatocytes et localisée dans la région périlobulaire. Elle est caractéristique de l'hépatite chronique active. sont aussi observées des fibroses, qui prédominent dans l'espace-porte et dans la région périlobulaire. On parle de fibrose en pont (faisant suite à la nécrose), et peut dans les formes plus sévères s'étendre des espaces-portes aux veines centrolobulaires.

3.4. Le syndrome de cytolyse [115;116;149]

Il se définit comme l'ensemble de signes liés à une lésion hépatocytaire, ou à des altérations réversibles ou irréversibles, tantôt évidentes et en concordance avec les explorations biologiques.

On distingue :

- des modifications cytoplasmiques (éventuellement réversibles). On peut citer les clarifications et les ballonnisations cytoplasmiques correspondant à des ulcérations dégénératives létales.
- des modifications cytoplasmiques (non réversibles ou irréversibles). Il s'agit des altérations de types nécroses, dont on distingue deux types de variétés (acidophiles ou éosinophiles), ou hyalines (avec des corps de Mallory), ou cytolytiques

Le mécanisme de ce types de lésions se traduit par la production de métabolites chimiquement réactifs, au niveau de la région centrolobulaire riche en cytochrome P450.

Biologiquement tout se résume à une élévation inconstante et habituellement modérée des transaminases, associées ou non à des phosphatases alcalines augmentées ; parfois à une élévation de la bilirubine et à un effondrement de la prothrombine.

Histologiquement ces lésions se traduisent par des nécroses et par la présence d'infiltrat au niveau de l'espace-porte, se traduisant par des cellules inflammatoires ou des polynucléaires éosinophiles.

3.5. Les hépatopathies vasculaires [115;116;149]

Désignent des lésions hépatiques, qui se traduisent par des congestions veineuses hépatiques. Parmi les causes reconnues, les deux plus fréquentes sont :

- la polyglobulie primitive qui favorise l'apparition de thrombose et de tumeurs primitives du foie et des reins ; par envahissement local.
- Les autres causes sont très rares ; telles que les malformations congénitales de la veine cave inférieure (diaphragme), ou des veines sus-hépatiques.

Les examens biologiques montrent dans le foie cardiaque aigu, une cytolysse importante où les transaminases sont très élevées, et un taux de cholestérol modéré. Le taux de prothrombine est abaissé dans les formes aiguës.

Dans les formes chroniques, les examens biologiques apportent peu d'arguments, sauf l'absence de syndrome inflammatoire.

Histologiquement, trois stades successifs possibles peuvent être observés :

- Des lésions d'obstruction veineuses, qui se traduisent par des dilatations sinusoidales et des nécroses hépatocytaires prédominantes dans la région centrolobulaire (syndrome de Budd-chiari)
- Puis un stade de fibrose, qui prédomine dans la région centrolobulaire.
- Et enfin, tardivement une cirrhose peut être observée

3.6. Insuffisance hépatocellulaire [39;115;116;149]

Le syndrome d'insuffisance hépatocellulaire se définit comme l'ensemble de signes liés à la diminution (voire à l'arrêt) des fonctions de synthèse hépatocytaires. Elle est due à toute lésion aiguë ou chronique altérant la machinerie de synthèse de l'hépatocyte.

Le mécanisme lésionnel est en dépit de la diversité des cibles cellulaires potentielles, dominé par l'hépatite aiguë ou chronique, quelle qu'en soit l'étiologie.

L'insuffisance hépatocellulaire est la conséquence de la cytolysse. Elle est caractérisée :

- sur le plan biologique, par une hypoalbuminémie et un trouble du métabolisme protéique avec une chute de protéines de coagulation. On note également une hypolipidémie et une hypocholestérolémie ;
- sur le plan histopathologique, par la présence de nécroses qui prédominent dans la région centrolobulaire ; l'inflammation est particulièrement discrète ;

- sur le plan clinique, par une altération de l'état général, associant des œdèmes qui siègent exclusivement à la moitié du corps, une ascite, des troubles cutanés, un ictère très franc, un syndrome hémorragique, des troubles neurologiques et circulatoires.

4. Médicaments hépatoprotecteurs

4.1. Molécules utilisées en thérapeutiques

Les médicaments hépatoprotecteurs actuellement commercialisés sont en nombre très limité ; ils comprennent des molécules de synthèse : (le Clésidren ou Epomédiol ; le Thioxidren ; le Mucorex ou Citolase). En revanche, on note un grand nombre de plantes médicinales à effet hépatoprotecteurs (Tableau IV).

A partir d'un certain nombre de plantes médicinales, des chercheurs ont pu caractériser et isoler les molécules ayant des vertus hépatoprotectrices (Tableau VI)

Tableau IV : Quelques plantes à vertus hépatoprotectrices et vérifiées scientifiquement

Espèces	Modèle d'étude					Références
	Induction de l'hépatopathie chez l'animal					
	CCl ₄	Paracétamol	D.galactosamine	Rifampicine	Pentobarbital	
<i>Achiella millefolium</i>	Rats	Rats				43
<i>Artemisia scoparia</i>	Rats					66
<i>Artemisia maritima</i>	Rats	Rats				79
<i>Balanitis aegyptiaca</i>		Souris				16
<i>Ban-Zhilian</i>	Rats	Rats	Rats			102
<i>Bombax malabarica</i>			Rats			92
<i>Bupleurium chinense</i>						92
<i>Cassia Fistila</i>	Rats					33
<i>Capparis spinosa</i>	Rats					154;43

Tableau IV (suite)

<i>Cichorium intybus.L.</i>	Rats					178;26;43
<i>Cnidium monnieri</i>	Rats					132
<i>Combretum dilichopetalum</i>		Rats				163
<i>Cudrania cochinchinensis var. gerontogea</i>	Rats					103
<i>Chyavanaprash</i>	Rats					81
<i>Cyperus scariosus</i>	Souris	Souris			Souris	63
<i>Daucus carota.L.</i>						36
<i>Desmodium alscendens</i>						92
<i>Eclipta Alba leaves</i>	Souris rats					156
<i>Eléphantopus scaber Linn</i>	Rats					144
<i>Emblica officinalis</i>	Rats					81

Tableau IV (suite)

<i>Ficus racemosa</i> leaf	Rats					108
<i>Gardenia</i> <i>jasminoides</i>						92
<i>Ginkgo biloba</i>	Rats					101
<i>Haplophylum</i> <i>tuberculatum</i>		Souris				16
<i>Inula racemosa</i> root	Rats	Rats		Rats		143
<i>Jigrine</i>	Rats					11
<i>Kulthi (Dolichos</i> <i>biflorus)</i>		Rats				96
<i>Luffa échinata</i>	Rats					12
<i>Lycium chinense</i>	Rats					45
<i>Melothria</i> <i>maderaspatana</i>	Rats					160
<i>Mikania cordata</i>		Souris				109
<i>Moringa</i> <i>oleifera</i>	Rats					134
<i>Morinda lucida</i> leaf		Rats				163
<i>Nicotiana</i> <i>glauca</i>	Rats					80

Tableau IV (suite)

<i>Paederia foetida</i> leaf	Rats						52
<i>Panax</i> <i>japonicum</i>		Rats					92
<i>Phyllanthus</i> <i>amaris</i>	Rats						143, 152
<i>Phyllanthus</i> <i>kozhibodanus</i>	Rats						23
<i>Phyllanthus</i> <i>frateris</i>	Rats						13
<i>Phyllanthus</i> <i>maderaspetensis</i>	Rats						23
<i>Phyllanthus</i> <i>mirri</i>							143, 152
<i>Phyllanthus</i> <i>innarica</i>							143, 152
<i>Phillyrea</i> <i>latifolia</i>							80
<i>Pistacia</i> <i>lentiscus</i>	Rats						80
<i>Paniclagm</i> <i>(terminalia)</i>	Rats						105, 106

Tableau IV (suite)

<i>Punica lin</i>	Rats					105;106
<i>Rhazya stricta</i>	Rats					16
<i>Salacia reticulata</i>	Souris					176
<i>Scutellaria rivaluris</i>						92
<i>Silybum marianum</i>	Rats					92 ;152 ;170
<i>Solanum alcitum</i>	Rats					104
<i>Solanum indicum</i>	Rats					23
<i>Tinospora bakis</i>	Rats					54
<i>Tinospora cordifolia</i>	Rats					37
<i>Trichilia roka</i>	Rats					64
<i>Verbena officinalis L.</i>	Rats	Souris				155

Tableau V : Quelques composés chimiques à effet hépatoprotecteur isolés des plantes médicinales

Groupes chimiques	Molécules actives	Plantes	Références
saponines	Saiko saponine-D	<i>Bupleurum falcatum L.</i>	6
	1-0-galloyl-1-6-0-(4-hydroxy-3,5 dimethoxy) benzoyl-beta-D-glucose	<i>Combretum quadrangulaire</i>	10
Polyphénols	- acide isochlorogénique -acide chlorogénique -luteolin-7-glucoside -acide caféïque	<i>Cynera scolymus</i>	9
	Iridoïd-glucoside	<i>Aucubin japonica</i>	42
	Phénols	<i>Rosmaricus officinalis L.</i>	58
	Gallique-acid ellagique-ellagitannins-flavonoïds	<i>Cochlospermum tinctorium rhizomes</i>	53
	Acide gallique - prophyll gallate - épigallocatechin 3-0-gallate : Kaempferol -Kaempferol-7-0-alpha-L. Rhamnopyranoside. Herbacetin-7-O-alpha-L-rhamnopyranoside -Rhodiolinin	<i>Rhodiola sachalinensis</i> <i>A.Br</i>	45 ;24 ;99 ;100 ; 113
	Phenyl flavonoïds - eudraflavone B - eudraflavone C - oxyresveratrol	<i>Morus alba</i>	130
	Kaempferol- salidroside	<i>Rhodiola sachalinensis</i>	158

Tableau V (suite)

Polyphénols	Mangiferin - 4'-O- méthylepigallocatechin- epicatechin-(4 beta->8) -4'-O- méthylepigallocatechin	<i>Salacia reticulata</i>	176
	Phenols Flavonoïds	<i>Brazilian propolis</i>	27
	Phenylpropanoïds - 4-O-E-p. methoxycinnomoyl- alpha-L- rhamnopyranoside-ester - acide-p- methoxycinnamique	<i>Serophularia buergeriana. MiQ</i>	100
	Kolaviron	<i>Garcinia kola seeds</i>	129
	Catechins - catechin (C) - epicatechin (EC) - epigallo catechin - epicatechin gallate	<i>Camelli sinensis</i>	24
	- theaflavin (TF1) - theaflavin digallate - theaflavin-3 gallate(TF2) - theafulvins	<i>Enantia chloranta</i>	47 ;107 ;177
Terpènes	Carabrane-type sesquiterpènes curcumenolactones A,B,C	<i>Zedoariae rhizoma</i>	113
	Caroténoïdes triterpènes	<i>Cochlospermum tinctorium Rhizomes</i>	53
	Sesquiterpènes - Toriline - Torilolone	<i>Cnidium momieri</i>	131

Tableau V (suite)

Terpènes	Bakuchiol (1); bakuchicin (2); psoraben (3)	<i>Psoralea corylifolia</i>	46
	Labdane type diterpenes	<i>Brazilian propolis</i>	27
	Sesquiterpenes	<i>Atractylodes rhizomes</i>	77
Autres	Furocoumarins -Imperatorin -isoimperatorin -byakangelicol -oxypeucedanin - byakangelicin -aviprin	<i>Angelica dahurica</i>	131
	Dianylheptanoïds curcumin -demethoxycurcumin bidesméthoxycurcumin	<i>Curcuma longa</i>	158
	Coumarin (furnisheed 5,7 dihydroxycoumarin 7- methyl-ether) -stilbene	<i>Morus albas</i>	130

4.2. Méthodes d'étude des médicaments hépatoprotecteurs [60;88]

Deux types de protocoles sont utilisés dans l'évaluation des propriétés hépatoprotectrices des médicaments : les tests in vivo et in vitro.

4.2.1. Les tests in vivo [17 ;23 ;42 ;48 ;60;88 ;98;142;160;165;170]

L'intoxication du foie est obtenue après administration de certaines substances et certains marqueurs permettent d'apprécier l'intensité de l'hépatotoxicité et de l'effet des substances hépatoprotectrices.

a) Les substances hépatotoxiques

Un grand nombre d'hépatotoxiques existent de nos jours. Ils ne procèdent pas tous par un même mécanisme : les plus couramment utilisés sont : le Tétrachlorure de carbone, le Paracétamol, le bromobenzene, la tacrine (ou

tetrahydroaminoacridine), l'isoniazide, la rifampicine, la D-galactosamine, le thioacetamine, le pentobarbital, le tert-butyl hydroxiperoxyde.

- **le tétrachlorure de carbone (CCl₄)**

[36;37;42 ;60 ;64 ;65 ;66 ;72 ;79 ;86 ;87 ;100 ;106 ;108 ;129 ;143 ;144 ;
145 ;147 ;160 ;165]

Le ccl₄ n'est pas directement actif, sur les cellules hépatiques. Il y a un clivage du tétrachlorure de carbone aboutissant à la formation des radicaux libres, seuls responsables des phénomènes toxiques. L'hépatotoxicité est dose dépendante, les lésions vont prédominer dans la région centrolobulaire. L'atteinte hépatique se traduit par une cytolysse hépatique, et par une nécrose. Il y a également lipoperoxydation des membranes cellulaires et des liaisons covalentes.

- **le paracétamol | 41 ;60 ;65 ;79;84;86 ;105;117;142 ;143;145 |**

Le paracétamol est principalement éliminé par glucuroconjugaison et sulfoconjugaison. Une petite partie de la dose administrée, est cependant transformée par le cytochrome P450, en une quinone imine réactive. Cette quinone imine est inactivée par conjugaison au glutathion. Lorsque des doses massives de paracétamol sont ingérées, tout le glutathion est alors consommé et les concentrations dans le foie s'effondrent, dès lors la quinone imine se fixe massivement sur les protéines et entraînent une hépatite toxique.

- **la galactosamine [60;89 ;167]**

Elle altère la synthèse de l'ARN, et diminue la synthèse protéique, en induisant une nécrose en traitement aiguë.

- **le tert-butyl-hydroxiperoxyde [60;77 ;148;162]**

Il agit en induisant un effet toxique sur la synthèse protéique, en bloquant l'action des enzymes. Il agit également par thioxydation et par une lipoperoxydation, grâce aux radicaux libres, qui entraîne une déplétion marquée en glutathion.

- **l'isoniazide | 34 ;60 |**

L'hépatotoxicité n'est pas liée à l'action directe de l'isoniazide : il n'y a aucun rapport entre les taux sanguins de l'isoniazide et sa toxicité hépatique. L'action toxique est en effet indirecte. La molécule est transformée par le foie en un métabolite toxique et instable : le N-hydroxy-acetyl-hydrazine. Ce métabolite instable, difficile à identifier, peut évoluer soit vers des voies toxiques, soit vers des voies non toxiques.

L'isoniazide est d'abord acétylé en acétylhydrazine, celle-ci est ensuite oxydée par le cytochrome P450, en un métabolite instable, qui se fixe irréversiblement sur les protéines hépatiques, les empêchant d'exercer leur fonction et provoquant ainsi une nécrose des hépatocytes. Ce sont principalement les cellules centrolobulaires, qui fabriquent le métabolite

- **la rifampicine [34 ;60;143]**

La rifampicine est toxique pour le foie. Elle provoque une augmentation des paramètres biochimiques avec apparition d'ictère ceci est lié à une toxicité directe de la rifampicine, mais non à une compétition au niveau du foie entre celle-ci et la bilirubine.

- **la tacrine [34;46;132 ;158]**

Elle est métabolisée en 1-hydroxy-T-HA, métabolite conservant une activité et présent dans le plasma à des concentrations supérieures en thiohydroxyacétamide. Ce métabolite de la Tacrine serait responsable de sa toxicité hépatique, laquelle est réversible après réduction des doses ou arrêt de traitement.

- **le pentobarbital [34 ;60;86]**

C'est un hypnotique non toxique en lui-même pour le foie. Les barbituriques stimulent les microsomes hépatiques (en provoquant une induction enzymatique portant particulièrement sur les hydroxylases) et qui sont capables d'accélérer leurs propres biotransformations, ainsi que de nombreuses substances toxiques

- **le thioacetamide [34;168]**

L'hépatotoxicité est augmentée par l'alcool à la suite de l'action des enzymes de son métabolisme.

- **le bromobenzene [135]**

Il est exceptionnellement responsable d'atteintes hépatiques.

b) Les marqueurs de l'intoxication hépatique [60;67 ;100;129;135]

Les paramètres biochimiques ci-après associés à l'examen histopathologique du foie et au temps du sommeil barbiturique sont utilisés pour évaluer les effets hépatoprotecteurs des drogues.

- le malondialdéhyde (MDA) hépatique
- la lactate déshydrogénase sérique

- l'alanine aminotransférase sérique
- l'aspartate aminotransférase sérique
- la phosphatase alcaline sérique
- la protéinémie totale
- l'albuminémie
- la bilirubinémie
- les enzymes des microsomes hépatiques
 - aniline hydrolase
 - aminopyrine N-déméthylase
 - ethoxyresonifin O-déméthylase
 - P-nitroaminasole o- déméthylase
 - UDP-glucuronosyl transférase
 - glutathion disulfure réductase
 - epoxyde hydroxylase
- le taux de lipides et de peroxyde lipidique du foie
- le taux de glutathion hépatique.

4.2.2. Les tests in vitro [58;77;145;88]

Les cultures des hépatocytes sont utilisées pour vérifier l'action hépatoprotectrice des drogues. Les marqueurs biochimiques hépatiques ci-dessus cités et l'examen histopathologique permettent de suivre l'évolution thérapeutique ces drogues.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Matériel animal

Des rats " Wistar " mâles et femelles d'un poids compris entre 100 et 150g ont été utilisés. Ils proviennent de IFFA CREDO (France) et sont élevés dans l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Santé où les conditions de ventilation et de lumière sont réunies. Chaque lot étudié comprenait 8 animaux maintenus dans des cages individuelles avec accès libre à une alimentation standard et à l'eau à volonté.

1.2. Matériel végétal

1.2.1 Le *Lippia multiflora* : Les tiges feuillées sèches de *Lippia multiflora* (Figure 6) achetées au marché de « Mounjali » de Brazzaville sont ramenées au laboratoire. Ce sont les feuilles sèches détachées des tiges qui seront utilisées pour la préparation de l'extrait. Ces feuilles vendues séchées, sont authentiquement reconnues par un botaniste du Centre d'Etudes sur les Ressources Végétales (C.E.R.VE) (KOUBOUANA) qu'il s'agit bien du *Lippia multiflora* (Moldenké).

1.2.2 Le Tétra[®] a été utilisé sous sa forme commerciale actuelle, fait d'une suspension de la vingtaine de plantes constituant la préparation. Il se présente sous forme de boîte contenant un flacon de 250 ml.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'extrait brut de *Lippia multiflora*

20 grammes de feuilles sèches de *Lippia multiflora* sont macérées pendant 15 minutes dans 500ml d'eau distillée préalablement bouillie à 100°C. La solution obtenue est conservée à -4°C dans un Becher en pyrex. C'est cette solution qui sera d'une part utilisée pour l'identification de principaux groupes chimiques, d'autre part administrée aux animaux pour les études biologiques à une dose ayant déjà servi pour des études antérieures [1 ; 2 ; 3].

2.2. Méthodes chimiques d'identification des principaux phytoconstituants du *Lippia multiflora* et du Tétra[®]

Les grands groupes chimiques susceptibles de posséder des activités biologiques ont été identifiés grâce aux tests ci-après.

a) Test de production de la mousse

► Mode opératoire

A 5 ml de solution sont placés dans un tube à essai ; celui-ci est ensuite bouché avec le pouce et agité fortement pendant 2 minutes. On laisse le tube reposer pendant 15 minutes à la température ambiante. La formation d'une mousse persistante après ce temps, gardant une hauteur d'au moins 1cm indique un test positif.

b) Test de l'hémolyse

► Mode opératoire

Une solution de contrôle a été préparée : le tampon glycine-HCl 25 mM, pH 3,4 contenant du NaCl à 9 g/l.

Aux échantillons de sang humains (n = 5), on a ajouté soit la solution de contrôle (tp), soit la fraction de Tétra pH 3,4 et pH 7,4 , soit la fraction de *Lippia multiflora* pH 3,4 et pH 7,2 selon les proportions suivantes :

Le mélange est laissé à +4°C pendant 24 et 48 heures. Au terme de ces différents temps, les paramètres de l'hémolyse ont été déterminés grâce à l'automate Coulter T- 540. Le facteur de dilution a été pris en compte dans le calcul des paramètres.

2.3.2. Recherche des alcaloïdes :

Elle a été réalisée grâce au réactif de Mayer composé de :

- Chlorure de mercure II	1.35g
- Iodure de potassium	5g
- Eau q. s. p. f.	100ml

► Mode opératoire

A 5 ml de solution introduits dans un tube à essai, sont ajoutés 1 ml d'acide chlorhydrique 1 N et quelques gouttes de réactif de Mayer. Après mélange, la formation d'un précipité blanc jaunâtre indique un test positif.

2.3.3. Recherche des glucides

Elle a été réalisée au moyen du réactif de Molish (α - naphтол à 5% dans l'éthanol à 95°)

► Mode opératoire

4 ml de solution sont placés dans un tube à essai, on y ajoute ensuite deux gouttes de α - naphthol à 5% préparé extemporanément. Après mélange, on laisse couler sur les parois du tube 5ml de H_2SO_4 concentré de manière à ce que les deux couches soient bien distinctes. On laisse reposer à la température ambiante. L'apparition à la limite de séparation des deux liquides d'un anneau rose qui passe ensuite au rouge indique un test positif.

2.3.4. Recherches des composés aminés autres que les alcaloïdes :

Il ont été mis en évidence avec le réactif à la ninhydrine composé comme suit :

- Ninhydrine	300mg
- n – butanol	100ml
- acide acétique glacial	3ml

► Mode opératoire

A une goutte de la solution déposée sur le papier filtre on superpose, après son absorption, une goutte de réactif de ninhydrine préparé extemporanément. Le papier filtre est ensuite placé pendant quelques minutes à $+100^\circ C$. L'apparition d'une coloration mauve ou violette est la preuve d'un test positif.

2.3.5. Recherche des polyphénols :

Elle a été réalisée avec le réactif de BARTON : $FeCl_3$ à 2% + $K_3Fe(CN)_6$ à 1% (1 vol/1 vol)

► Mode opératoire

A 5 ml de solution placés dans un tube à essai, on ajoute 5 ml de réactif de BARTON. La présence des polyphénols est indiquée par l'apparition d'une coloration bleu-violacée.

a) Recherche des flavonoïdes

Le réactif utilisé est celui de SHINODA :

- a- HCl concentré
- b- Copeaux de Zn

► Mode opératoire

A 5 ml de solution, on ajoute 1ml de HCl concentré, puis quelques copeaux de zinc. Après mélange, on chauffe quelques minutes. L'apparition d'une coloration caractéristique indique la présence de :

- * Flavones : coloration orangée
- * Flavonols : coloration rouge-cérise
- * Flavonones : coloration rouge-violacée.

b) Recherche des tanins

Le réactif de STIASNY a été utilisé : HCl concentré + Formol (2 vol/3 vol).

► Mode opératoire

A 5 ml de solution, on ajoute 3 ml de FeCl_3 à 1 %. Il apparaît une coloration brune accompagnée ou non d'un précipité.

▪ Recherche des tanins catéchiques

On ajoute quelques gouttes de réactif de STIASNY à 5 ml de solution, puis on chauffe au bain-marie à $+90^\circ\text{C}$ pendant 30 minutes. L'apparition d'un précipité brun indique la présence des tanins condensés ou catéchiques.

▪ Recherche des tanins galliques

On élimine le précipité brun contenu dans la solution ci-dessus par filtration. Au filtrat on ajoute 3 ml de FeCl_3 à 2% et quelques cristaux d'acétate de sodium. L'apparition d'une coloration vert-noir ou vert pale indique la présence des tanins hydrosolubles ou tanins galliques.

c) Recherche des anthocyanes

Elle a été réalisé avec du HCl à 20%

► Mode opératoire

A 25ml d'extrait aqueux, on ajoute 3 ml d'HCL à 20%.

- A froid, la solution vire au rose foncé au cas ou le test est positif.
- A chaud, au bain-marie, l'apparition de la coloration rouge orangé indique la présence de chlorure d'anthocyanidine.

d) Recherche des quinones liées

Elle a été réalisé avec le réactif de BORNTRAGER : NaOH à 10% ou NH_4OH à 10% ou KOH à 10%.

► Mode opératoire

A 5 ml de solution, on ajoute 3 ml de réactif de BORNTRANGER. Une coloration rouge ou rouge violacé indique la présence des quinones liées.

c) Recherches des quinones libres

Elle a été réalisée avec le réactif de BORNTRAGER : NaOH à 10% ou KOH à 10% ou NH_4OH .

► Mode opératoire

5 ml de solution ont été mis dans un tube à essai, auquel on y a ajouté 1 ml de réactif de BORNTRAGER. Après agitation énergique du tube pendant 2 minutes, on le laisse reposer pendant quelques minutes à la température ambiante. L'apparition d'une coloration violacée ou rouge indique un test positif.

2.3.6. Recherche des composés réducteurs

Elle a été réalisée avec la liqueur de Fehling constituée de 2 solutions :

- Solution de Fehling A (CuSO_4)
- Solution de Fehling B (tartrate sodico-potassique + NaOH)

► Mode opératoire

A 2 ml de solution, on ajoute 1 ml de solution A puis 1 ml de solution B. on chauffe à $+100^\circ\text{C}$ au bain-marie pendant quelques minutes. L'apparition d'un précipité rouge brique indique que le test est positif.

2.3.7. Recherche des phlobatanins

Elle a été réalisée grâce à l'acide chlorhydrique aqueux à 1%.

► Mode opératoire

A 5 ml de solution portée à ébullition, on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique à 1%. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des phlobatanins.

2.3.8. Recherche des glycosides cardiotoniques

Ils ont été mis en évidence grâce au test de LIEBERMAN et KELLER-KILIANI.

a) Test de LIEBERMAN

Réactifs : anhydride acétique et acide sulfurique.

► Mode opératoire

A 4 ml de solution on ajoute 2 ml d'anhydride acétique et on laisse refroidir quelques minutes dans la glace, puis on y ajoute avec précaution 1 ml d'acide sulfurique. Un changement de couleur du violet au bleu ou vert indique la

présence d'un noyau stéroïde (c'est-à-dire l'aglycone du glycoside cardiotonique).

b) Test de KELLER-KILIANI

Réactifs : - acide acétique glacial ;
- chlorure de fer ;
- acide sulfurique concentré.

► Mode opératoire

A 4 ml de solution contenue dans le tube à essai, on ajoute 2 ml d'acide acétique glacial puis une goutte de solution de chlorure de fer. Au mélange, on laisse couler très lentement sur les parois du tube de l'acide sulfurique concentré pour former la phase inférieure. L'apparition d'un anneau brun à la limite de séparation des deux liquides indique la présence d'un désoxy-sucres caractéristique des cardénolides.

2.3.9. Recherche de terpénoïdes et stéroïdes

Elle a été réalisée avec la réactif de LIEBERMAN

► Mode opératoire

A 5 ml de solution, on ajoute 1 ml d'anhydride acétique, puis on laisse couler sur la paroi du tube à essai quelques gouttes de H_2SO_4 concentré. L'apparition d'une coloration verte indique que le test est positif.

▪ Recherche des stéroïdes

A 5 ml de solution, on ajoute 1 ml d'anhydride acétique, puis quelques gouttes de H_2SO_4 concentré. Après mélange, l'apparition d'une coloration verte indique la présence de stéroïdes

▪ Recherche des terpénoïdes

A 5 ml de solution, on ajoute 1 ml d' H_2SO_4 concentré que l'on laisse couler lentement sur la paroi du tube pour ne pas mélanger les deux liquides. L'apparition d'un anneau coloré en rouge indique la présence de terpénoïdes.

2.4. Détermination du pH des extraits

Les pH de la suspension du Tétr et de l'extrait du *Lippia multiflora* ont été déterminés grâce à un pH-mètre Henna.

2.5. Méthodes d'étude d'une éventuelle toxicité hépatique induite par le Tétra® et le *Lippia multiflora*

- Les travaux antérieurs sur l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* [115] ont relevé que la dose efficace est de 400mg/kg. Laquelle dose a été choisie pour la présente étude.
- Les doses de Tétra® ont été choisies, en fonction de la posologie proposée par le tradithérapeute. Chez l'homme, la dose d'attaque est de deux cuillerées à soupe 2 fois par jour, et la dose d'entretien une cuillerée à soupe 3 fois par jour)

Pour la présente étude deux doses de Tétra® ont été utilisées : 0.45ml/kg et 0.90ml/kg. Les travaux antérieurs [120] indiquent que la dose de 0.45 ml/kg est plus efficace que celle de 0.90 ml/kg.

- Trois types de toxicité ont été étudiés : la toxicité aiguë, subaiguë, et subchronique

2.5.1. Toxicité aiguë

Trois lots de 8 rats chacun constituent la population d'études et ont reçu par voie orale une seule dose trois fois supérieure à la normale, soit : 0.45ml/kg $\times 3 = 1.35$ ml/kg pour le Tétra® et 400 mg/kg $\times 3 = 1200$ mg pour le *Lippia multiflora* et 0.5ml $\times 3 = 1.5$ ml 100g d'eau distillée (lot témoin).

2.5.2. Toxicité subaiguë

Quatre lots de rats ont reçu respectivement pendant 21 jours consécutifs les doses de :

- 400mg/kg de *Lippia multiflora* ;
- 0.45ml/kg de Tétra® ;
- 0.90ml/kg de Tétra® ;
- 0.50ml 100g d'eau distillée.

2.5.3. Toxicité subchronique

Les rats ont été traités pendant 90 jours respectivement par :

- Le *Lippia multiflora* à la dose de 400mg/kg ;
- Le Tétra® aux doses de 0.45ml/kg et 0.90 ml/kg ;
- L'eau distillée : 0.50ml/kg .

Au terme du traitement, les animaux sont sacrifiés après anesthésie à l'éther, puis le sang et le foie sont prélevés en vue respectivement de la détermination des paramètres biochimiques et de l'examen histopathologique.

2.6. Détermination des paramètres biochimiques sanguins.

Elle a été réalisée selon les méthodes des laboratoires bio Mérieux (France).

2.6.1. La Bilirubinémie totale

a) Principe

En présence de la diméthylsulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale réagit avec l'acide sulfanilique diazote pour former un composé coloré. La concentration de la bilirubine est déterminée par spectrophotométrie, en utilisant les variations de l'absorbance à 550nm, contre des blancs échantillon.

b) Composition des réactifs

Réactif1 (R₁) :

- | | |
|-----------------------|-----------|
| ▪ acide sulfanilique | 30 mmol l |
| ▪ D.M.S.O | 7mmol/l |
| ▪ Acide chlorhydrique | 130mmol l |

Réactif (R₃) :

Nitrite de sodium	0.78mmol l
-------------------	------------

c) Mode opératoire

On introduit dans deux tubes à essai un tube blanc et un tube échantillon. 1 ml de réactif R1, puis on ajoute 100µl d'eau distillé, dans le tube blanc et 100 µl de sérum dans le tube échantillon. On y ajoute 100µl de réactif R3.

Après addition de l'échantillon : le chronomètre est déclenché et le contenu des deux tubes est bien mélangé et incubé 5 minutes à la température ambiante ou 3 minutes à la température de 37°C. La détermination de la bilirubine se fait à 550 nm contre le tube blanc.

2.6.2. L'action de l'alanine et l'aspartate aminotransférases

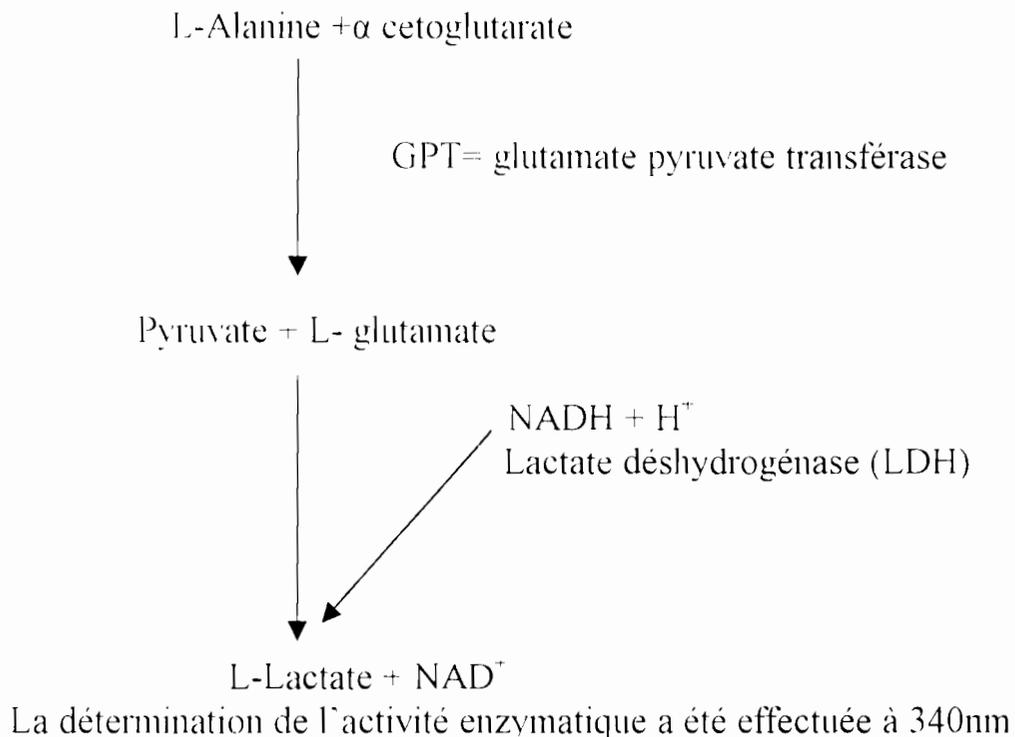
La détermination des activités GOT et GPT sérique revient à étudier la consommation de NADH : en fonction du temps, en suivant la baisse de densité optique à 340nm. Dans les condition de dosage, la consommation de NADH est directement proportionnelle à l'activité de GOTet de GPT

a) Détermination de l'activité de l'alanine aminotransférase

a₁) Principe

En présence de déshydrogénase lactique (LDH) et de NADH, l'acide pyruvique est réduit au fur et à mesure de sa formation en acide lactique.

L'activité de l'alanine aminotransférase ou glutamate pyruvate transférase est mesurée cinétiquement selon le schéma réactionnel suivant



a₂) Composition des réactifs

Réactif 1 (R₁) : L-alanine

- Tampon tris pH 7,5 100mmol/l
- L-alanine 500mmol/l
- α - cétoglutarate 15mmol/l

Réactif 2 (R₂) :

- NADH 0,18mmol/l
- LDH \geq 1200UI/l

Le contenu du flacon R₂, a été repris par celui du flacon R₁ à l'aide d'un bouchon adaptateur.

a₃) Mode opératoire

- introduire dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique 1ml de réactif du mélange R₁ et R₂ :

- incuber au bain-marie à - 70 °C, pendant 5 minutes ;
- ajouter 100µl d'échantillon, puis mélanger ;
- lire l'absorbance à 340nm, toutes les minutes pendant 3 minutes ;
- calculer les activités enzymatiques en (UI l) à partir de la relation :

$$\text{Activité enzymatique} = (\Delta \text{ abs/min}) \times 1746$$

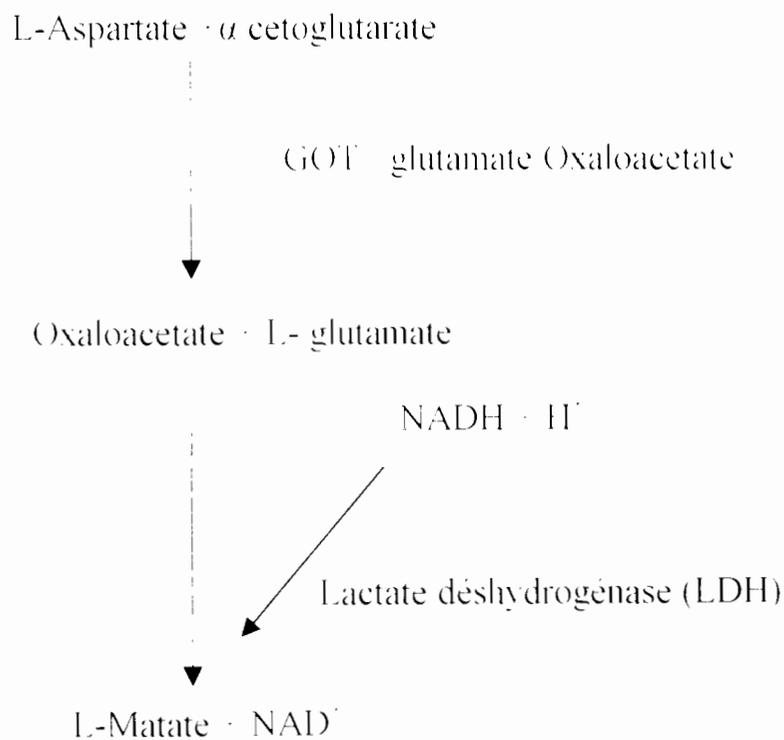
Avec $\Delta \text{ abs}$ = variation de l'absorbance.

b) Détermination de l'activité de l'Aspartate aminotransférase

b₁) Principe

En présence de déshydrogénase malique (MDH) et de NADH, l'acide oxaloacétique est réduit au fur et à mesure de sa formation en acide malique.

L'activité de l'aspartate aminotransférase a été déterminée cinétiquement selon le schéma réactionnel ci-après



L'activité enzymatique est déterminée à la longueur d'onde de 340nm

b₂) Composition des réactifs

Réactif 1 (R₁) : acide Aspartate

- | | |
|---------------------------|-----------|
| ▪ Tampon tris pH 7.8 | 80mmol l |
| ▪ L-Aspartate | 200mmol l |
| ▪ α ceto glutarate | 12mmol l |

Réactif 2 (R₂) : Enzymes-coenzymes

- NADH 0,18mmol l
- MDH ≈ 500UI l
- LDH ≈ 500UI l

Le contenu du flacon R₂, a été repris par celui du flacon R₁ à l'aide d'un bouchon adaptateur.

b₃) Mode opératoire

- introduire dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique 1ml de réactif du mélange R₁ et R₂ ;
- incuber au bain-marie à +30 °C pendant 5 minutes ;
- ajouter 100µl d'échantillon, puis mélanger ;
- lire l'absorbance à 340nm, toutes les minutes pendant 3 minutes ;
- calculer les activités enzymatiques en (UI l) à partir de la relation :

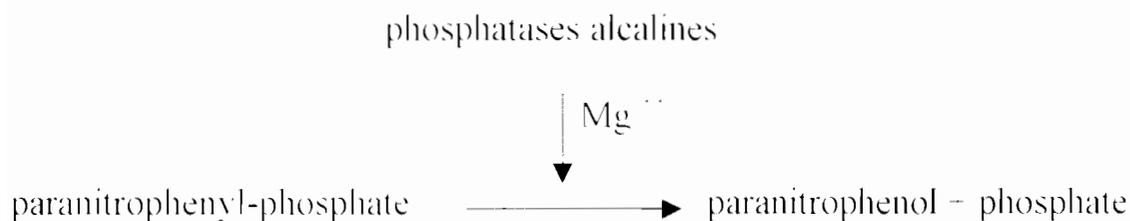
$$\text{Activité enzymatique} = (\Delta \text{ abs/min}) \times 1746$$

Avec $\Delta \text{ abs}$ = variation de l'absorbance.

2.6.3. Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline

a) Principe

En milieu alcalin et sous l'action des phosphatases alcalines, le paranitrophenylphosphate est hydrolysé en paranitrophenol et en phosphate. La vitesse d'apparition du paranitrophenol, suivie par la variation de l'absorbance à 405 nm, est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline sérique.



b) Composition des réactifs

Réactif 1 (R₁)

- Tampon DE1 (diéthanolamine) pH 9,8 1mmol l

Réactif 2 (R₂)

- Substrat PNPP (paranitrolophosphate) 10mmol l
- Chlorure de Magnésium 0,50mmol l

c) Mode opératoire

- introduire dans une cuve de lecture de 1cm de trajet optique thermostatée, 1ml de réactif issu du mélange R1 et R2 ;
- incuber au bain-marie à -30 °C, pendant 5 minutes ;
- ajouter 15µl d'échantillon, puis mélanger ;
- lire l'absorbance à 405nm, toutes les minutes pendant 3 minutes ;
- calculer les activités enzymatiques en (UI l) à partir de la relation :

$$\text{Activité enzymatique} = (\Delta \text{ abs/min}) \times 3660$$

Avec $\Delta \text{ abs}$ = variation de l'absorbance.

2.7. Méthode histopathologique

2.7.1. Principe

Elle permet d'étudier les lésions hépatiques causées par le paracétamol et le tétrachlorure de carbone, d'évaluer l'étendue de ces lésions et leur atténuation en présence de substances dites protectrices.

La méthode utilisée est la coupe après inclusion à la paraffine. Le foie prélevé chez le rat est rincé à l'eau distillée, puis placé dans un flacon contenant du formaldéhyde à 10% (agent fixateur), en vue de consolider le substrat morphologique .

2.7.2. Mode opératoire

a) La déshydratation

Après lavage du foie ce dernier est disséqué en fragments qui sont soumis à deux passages dans deux milieux successifs :

- L'éthanol à concentration croissante : éthanol à 90 , éthanol à100 et éthanol absolu ;
- Le Toluène.

b) L'inclusion à la paraffine

Les fragments sont inclus dans la paraffine à -70 °C dans des moules spéciaux. Les blocs encore tièdes sont plongés avec leur moule, dans un cristalliseur rempli d'eau fraîche

c) Les coupes

d) L'étalement

Il est réalisée grâce à l'eau albumineuse. Il est fait sur une platine chauffante.

e) Le déparaffinage

Il permet de déshydrater les fragments de tissus pour en faire, ceux-ci sont immergés dans le toluène

f) Le montage des lames

Après coloration des fragments de tissu à l'hématoxyline-éosine, des lames sont montées en utilisant le baume de Canada pour appliquer la lamelle sur la lame.

g) La lecture histologique

Elle est réalisée grâce au microscope ordinaire.

2.8. Méthode d'étude de l'hépatoprotection induite par le *Lippia multiflora* et le Tétracel®

2.8.1. Hépatotoxicité induite par le paracétamol

Le paracétamol à fortes doses est hépatotoxique. Cette hépatotoxicité est souvent utilisée pour étudier les extraits de plantes à effet hépatoprotecteur

6 lots de 8 rats chacun ont été utilisés :

Lot I (Témoin eau) : animaux ayant reçu 0.5 ml/100g d'eau distillée pendant trois jours, par voie orale.

Lot II (Témoin-paracétamol): animaux ayant reçu 0.5 ml/100g d'eau distillée pendant trois jours, puis 60mn après le dernier traitement du paracétamol à 3g/kg par voie orale.

Lot III (Lippia multiflora): animaux ayant reçu 400mg/kg de *Lippia multiflora* pendant trois jours, puis 60 mn après le dernier traitement du paracétamol à 3g/kg par voie orale

Lot IV (Tétracel® 0,45ml/kg): animaux ayant été traités trois jours durant par le Tétracel® 0,45ml/kg , puis 60mn après le dernier traitement du paracétamol à 3g/kg par voie orale.

Lot V (Tétracel® 0,90ml/kg) : animaux ayant été traités trois jours durant par le Tétracel® 0.90ml/kg , puis 60 mn après le dernier traitement du paracétamol à 3g/kg par voie orale.

Lot VI (silymarine ou Legalon[®] 100mg/kg): animaux ayant reçu pendant trois jours durant de la silymarine ou Legalon[®], puis 60mn après le dernier traitement du paracétamol à 3g/kg par voie orale.

48 heures après l'administration du paracétamol, les animaux sont anesthésiés à l'éther, puis sacrifiés, le sang et le foie sont prélevés en vue respectivement de la détermination des paramètres biochimiques, et de l'examen histopathologique.

2.8.2. Hépatotoxicité induite par le Tétrachlorure de carbone

Le Tétrachlorure de carbone est également hépatotoxique. Cette hépatotoxicité peut être aussi mis à profit pour étudier les extraits de plantes à effet hépatoprotecteur

6 lots de 8 rats ont été utilisés :

Lot I (Témoin eau) : animaux ayant reçu 0.5 ml/100g d'eau distillée pendant trois jours, par voie orale.

Lot II(Témoin-CCl₄ 2,5ml/kg): animaux ayant reçu 0.5 ml/100g d'eau distillée pendant trois jours, puis 60mn après le dernier traitement, du CCl₄ à 2,5ml/kg + l'huile d'olive (vv), par voie orale.

Lot III (Lippia multiflora 400mg): animaux ayant reçu 400mg/kg de *Lippia multiflora* pendant trois jours, puis 60mn après le dernier traitement, du CCl₄ à 2,5ml/kg + l'huile d'olive (vv), par voie orale.

Lot IV (Tétra[®] 0,45ml/kg) : animaux ayant été traités trois jours durant par le Tétra[®] 0.45ml/kg , puis 60 mn après le dernier traitement, du CCl₄ à 2,5ml/kg + l'huile d'olive (v/v), par voie orale.

Lot V (Tétra[®] 0,90ml/kg) : animaux ayant traités trois jours durant par le Tétra[®] 0,90ml/kg , puis 60 mn après le dernier traitement, du CCl₄ à 2,5ml/kg + l'huile d'olive (v/v), par voie orale

Lot VI (silymarine ou Legalon[®] 100mg/kg): animaux ayant reçu pendant trois jours durant de la silymarine, puis 60 mn après le dernier traitement, du CCl₄ à 2,5ml/kg + l'huile d'olive (v/v), par voie orale.

48 heures après l'administration du tétrachlorure de carbone, les animaux sont anesthésiés à l'éther ; puis sacrifiés, le sang et le foie sont prélevés en vue respectivement de la détermination des paramètres biochimiques, et de l'examen histopathologique.

2.8.3. Test de potentialisation du sommeil barbiturique

Les barbituriques induisent chez le rat un sommeil dont la durée peut être en relation avec l'état fonctionnel du foie (siège de la dégradation métabolique de ses molécules).

L'hépatotoxicité que provoque le paracétamol en diminuant la dégradation du barbiturique devrait provoquer une augmentation de la durée du sommeil à laquelle s'opposerait une substance hépatoprotectrice.

Six lots de rats (n = 8) ont été utilisés. Ces lots reçoivent par voie orale pendant trois jours successifs, respectivement de l'eau distillée 0,5ml/100g, du Tétracé® 0,45ml/kg et 0,90ml/kg, du *Lippia multiflora* 400mg/kg, de la silymanine ou Légalon® 100mg/kg. 60 mn après le dernier traitement, les animaux reçoivent du paracétamol (3g/kg), puis 60 minutes plus tard, du pentobarbital à 50 mg/kg, par voie intrapéritonéale. Le délai et la durée du sommeil (temps entre la disparition et la réapparition du réflexe de redressement) sont alors déterminés.

2.9. Analyse statistique | 95 |

Les résultats sont exprimés en moyennes accompagnées des erreurs standard sur la moyenne.

Le test « t » de Student a été utilisé pour les analyses statistiques, avec une limite de significativité fixée à 5% .

**RESULTATS ET
DISCUSSION**

1. Analyse chimique du *Lippia multiflora* et du Tétr@® :

1.1. Résultats

Le test de production de la mousse et celui de l'hémolyse ont permis de mettre en évidence la présence des saponines dans le Tétr@® et l'extrait aqueux du *Lippia multiflora*.

L'action hémolytique du Tétr@® et de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* sur les globules rouges s'exerce à pH acide (3,40). En revanche, aucune hémolyse n'est observée à pH physiologique (Tableaux VI, VII et VIII). Cette hémolyse n'est significativement observée que lorsque les globules rouges sont pendant 24 et 48 heures, mise en contact, respectivement avec 5 et 3 fois plus de volume de Tétr@® ou de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* de pH 3,40 ($p < 0,001$). (Tableaux VI et VII). Au temps d'incubation de 48 heures, une différence significative est observée entre le taux de globules rouges du sang traité avec 3 fois plus de volume de Tétr@® et celui du sang traité avec 5 fois plus de volume de Tétr@® ($p < 0,05$) (Tableau VI). Par contre, aucune différence significative n'est observée entre les taux de globules rouges de différents échantillons de sang traités avec 5 fois plus de volume de Tétr@® de pH 3,40, pendant 24 heures et 48 heures (Tableau VI).

Les autres tests d'identification des phytoconstituants révèlent que :

- le Tétr@® et l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* ont en commun les acides aminés, les glucides, les composés réducteurs, les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins ;
- les chlorures d'anthocyanidine et les stéroïdes ne sont présents que, respectivement dans le Tétr@® et dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* (Tableau IX).

Les pH du Tétr@® et de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* sont respectivement de $3,40 \pm 0,05$ et de $7,22 \pm 0,02$.

Tableau VI : Action du Tétrac sur les globules rouges

Traitements	Témoins		Sang traité avec le Tétrac de pH normal (pH 3,4)				48 heures
	0,35g/0,9p (V/V)	0,35g/1,5p (V/V)	0,35g/0,6T (V/V)	0,35g/0,9T (V/V)	0,35g/1,5T (V/V)	0,35g/0,6T (V/V)	
Globules rouges ($\times 10^7/l$)	4,40 ± 0,22	4,36 ± 0,31	4,23 ± 0,20	4,21 ± 0,32	2,00 ± 0,30	4,20 ± 0,3	2,60 ± 0,57 (***)
Hémoglobine (g/dl)	14,1 ± 0,60	13,8 ± 0,60	13,7 ± 1,00	14,2 ± 0,90	12,3 ± 1,40	14,2 ± 0,4	13,0 ± 1,10 (***)
Hématocrite (H)	0,43 ± 0,02	0,48 ± 0,08	0,43 ± 0,03	0,51 ± 0,04	0,22 ± 0,03	0,45 ± 0,01	0,31 ± 0,08 (***)
Volume globulaire moyen (fl)	98,0 ± 1,40	108,3 ± 15,7	99,0 ± 0,20	120,5 ± 7,10	108,4 ± 2,0	110,4 ± 4,2	117,7 ± 9,5 (***)
Teneur corpulaire moyenne en hémoglobine (pg)	31,8 ± 0,60	32,2 ± 0,40	31,6 ± 0,70	33,6 ± 1,70	61,5 ± 9,40	32,7 ± 3,70	51,7 ± 10,8 (***)
Concentration corpulaire moyenne en hémoglobine (g/dl)	32,4 ± 0,80	30,1 ± 4,30	32,0 ± 0,70	27,9 ± 2,10	56,3 ± 8,90	31,3 ± 0,5	44,2 ± 9,6 (***)

Tableau VII : Action de *Lippia multiflora* sur les globules rouges

Traitements	Sang traité avec l'eau physiologique pendant 48 heures		Sang traité avec <i>Lippia multiflora</i> de pH normal (7,2) pendant 48 heures		Sang traité avec <i>Lippia multiflora</i> de pH 3,40 pendant 48 heures	
	0,35g/0,9L (V/V)	0,35g/1,5L (V/V)	0,35g/0,9LN (V/V)	0,35g/1,5LN (V/V)	0,35g/0,9LN (V/V)	0,35g/1,5LN(V/V)
Paramètres						
Globules rouges ($\times 10^{-7}/l$)	7,04 \pm 0,06	6,01 \pm 0,23	7,32 \pm 0,03	6,59 \pm 0,11	6,89 \pm 0,06 (***)	4,73 \pm 0,06 (***)
Hémoglobine (g/dl)	14,76 \pm 0,41	15,36 \pm 0,09	15,36 \pm 0,09	16,96 \pm 0,39	14,32 \pm 0,08	14,4 \pm 0,00
Hématocrite (Hf)	40,44 \pm 0,34	43,28 \pm 0,40	43,28 \pm 0,40	36,48 \pm 0,59	41,76 \pm 0,51	29,76 \pm 0,96
Volume globulaire moyen (Hf)	57,90 \pm 0,27	58,82 \pm 0,17	58,82 \pm 0,17	55,80 \pm 0,34	61,28 \pm 0,39	63,64 \pm 0,74
Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (pg)	19,68 \pm 0,17	20,98 \pm 0,12	20,98 \pm 0,12	26,04 \pm 0,43	28,94 \pm 8,24	30,10 \pm 0,66
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g/dl)	25,52 \pm 3,66	35,70 \pm 0,30	35,70 \pm 0,30	47,38 \pm 0,37	38,86 \pm 5,03	47,64 \pm 0,80
E : Eau physiologique ; LN : <i>Lippia multiflora</i> pH 7,22 ; V/V : Volume ; LN : Volume ;						50

Tableau VIII : Effet du pH du Tétrá® sur la lyse des globules rouges

Traitements Paramètres	Sang traité avec le Tétrá® de pH 3,4		Sang traité avec le Tétrá® de pH 7,4	
	0,3 Sg/0,9 T; (V V)	0,3 Sg 1,5 T; (V V)	0,3 Sg/0,9 T- (V V)	0,3 Sg 1,5 T- (V V)
pH du mélange	4.20 ± 0.02	4.14 ± 0.04	7.40 ± 0.02	7.40 ± 0.02
Globules rouges (× 10 ¹² l)	2.60 ± 0.57 (***)	1.87±0.12 (***)	4.23±0.12	4.33±0.33
Hémoglobine (g dl)	13.0 ± 1.1	13.6 ± 0.6	15.4 ± 0.4	17.1 ± 1.3
Hématocrite (ll)	0.31 ± 0.8	0.22 ± 0.02	0.42 ± 0.01	0.43 ± 0.02
Volume globulaire moyen (fl)	117.7 ± 9.5	115.3 ± 4.9	98.5 ± 0.5	98.4 ± 0.5
Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (pg)	51.7 ± 10.8	72.9 ± 5.7	36.7 ± 0.4	39.4 ± 0.6
Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g dl)	44.2 ± 9.6	63.3 ± 4.4	37.3 ± 0.3	38.8 ± 2.0

Sg : Sang ; T; : Tétrá® pH 3.4 ; T- : Tétrá® pH 7.4 ; V V : Volume à Volume

Tableau IX : Screening chimique du Tétrá® et du *Lippia multiflora*

Tableau IX : Screening chimique du Tétrá® et du *Lippia multiflora*

Groupes chimiques	Extrait aqueux de <i>Lippia multiflora</i>	Tétrá®
Acides aminés	+	+
Alcaloïdes	-	-
Chlorures d'anthocyanidine	-	+
Composés réducteurs	+	+
Glucides	+	+
Glycosides cardiotoniques	-	-
Flavonoïdes	+	+
Phlobatanins	-	-
Polyphénols	+	+
Quinones	-	-
Saponines	+	+
Stéroïdes	+	-
Tanins		
- Tanins condensés	+	+
- Tanins galliques	+	+
Terpénoïdes	-	-

+ : Présence de constituants

- : Absence de constituants

1.2 Discussion - conclusion

□ Discussion.

Le *Lippia multiflora* est l'un des vingt constituants du Tétra®. La présence des stéroïdes dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* et leur absence dans le Tétra® suggèrent que le procédé de préparation du Tétra® pourrait expliquer l'absence de ces composés dans ce dernier. En effet, divers auteurs ont montré que lors de la préparation de des drogues, des transformations des produits initiaux, des inductions de variations dans le taux de certains groupes chimiques ou des artéfacts peuvent se réaliser [119 ;75 ;97]. Ainsi, l'absence des stéroïdes dans le Tétra® pourrait être attribuée aux phénomènes chimiques qui se sont déroulés pendant la préparation du Tétra® qui n'extraient pas les stéroïdes.

En outre, la présence des chlorures d'anthocyanidine dans le Tétra® et leur absence dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* indiquent que ces composés chimiques proviendraient des autres plantes entrant dans la constitution du Tétra®.

La différence dans les pH du Tétra® (3,40) et de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* (7,22) pourrait être expliquée par la présence d'une teneur plus importante en acides organiques dans le Tétra® que dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora*.

La grande teneur en acides organiques serait responsable de l'acidité du Tétra®. En revanche, dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora*, soit la concentration en acides organiques serait trop faible, ne pouvant ainsi provoquer une diminution de pH, soit les acides organiques seraient neutralisés par des composés basiques se trouvant en quantité plus importante.

La revue de la littérature révèle que l'une des propriétés caractéristiques des saponines est son action lytique sur les globules rouges. Cette action hémolytique est due à la présence d'au moins un groupe carbonyle libre appartenant à la génine [35]. La différence observée dans l'action des saponines du Tétra® et de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* à pH 3,40 et à pH 7,22 – 7,40 ; pourrait être expliquée par la nature des groupes réactifs des saponines impliquées dans l'hémolyse.

A pH 3,40 , les groupes réactifs des saponines seraient protonés et libre, occasionnant ainsi l'hémolyse. En revanche à pH 7,22 – 7,40 , les groupes réactifs seraient déprotonés ; la dissociation des protons fixés sur les groupes réactifs favoriserait l'interaction entre les groupes réactifs déprotonés et les autres substances chimiques présentes dans les drogues, entraînant ainsi une perte de l'activité hémolytique des saponines. Ainsi le pH physiologique (7,40)

défavoriserait in vitro l'agression directe de la membrane des globules rouges par les saponines contenus dans la Tétr@ et l'extrait aqueux de *Lippia multiflora*.

L'une des caractéristiques du Tétr@ et de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* est leur richesse en polyphénols, flavonoïdes et Tanins.

Des travaux réalisés sur des thés verts et thés noirs indiquent que leurs composés phénoliques, précisément les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes [121 ;173].

En outre, la revue de la littérature révèle que l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* , encore appelé thé de Gambie, aurait des propriétés hépatoprotectrices, mais non confirmées scientifiquement [57]. Ainsi, au vue des données des thés noirs et verts, on pourrait émettre l'hypothèse que les polyphénols, notamment les flavonoïdes, contenus dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* (Thé de Gambie) et dans le Tétr@, pourraient avoir des propriétés antioxydantes et donc des effets hépatoprotecteurs.

▢ Conclusion

Le Tétr@ et l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* sont très riches en substances polaires. Parmi celles-ci, figurent les flavonoïdes réputés avoir des propriétés hépatoprotectrices et les saponines doués de pouvoir hémolytique. L'action hémolytique de ces saponines ne s'exerce qu'à pH 3,40 ; elle est inexistante à pH physiologique.

2. Etude d'une éventuelle toxicité hépatique du *Lippia multiflora* et du Tétr@®

2.1. Toxicité aiguë du *Lippia multiflora* et du Tétr@®

2.1.1 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@® sur les paramètres biochimiques (Tableau X)

Les variations des activités respectives de la glutamate pyruvate transaminase (SGPT) ; la glutamate oxaloacétique transaminase (SGOT) ; la phosphatase alcaline (PAL) sériques, et de la bilirubinémie ne sont pas significatives chez les animaux ayant été traités par le *Lippia multiflora* à la dose 1200mg/kg et par le Tétr@® à la dose de 1,35ml/kg ce, par rapport à celles des animaux témoins (eau distillée) à 1.5ml/100g.

Tableau X : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@ sur les paramètres biochimiques

Produits	Doses (ml ou mg/kg)	SGPT (UI/l)	SGOT (UI/l)	PAL (UI/l)	Bil Totale (mg/l)
Eau distillée	0,5ml · 3 = 1,5 ml/100g	50,48 ± 10,69	234,70 ± 33,63	314,65 ± 18,20	4,86 ± 3,50
<i>Lippia multiflora</i>	400 · 3 = 1200 mg/kg	45,30 ± 7,20 (N.S)	178,52 ± 21,41 (N.S)	275,70 ± 20,82 (N.S)	2,95 ± 2,14 (N.S)
Tétr@	0,45 · 3 = 1,35 ml/kg	47,50 ± 2,75 (N.S)	186,75 ± 16,18 (N.S)	287,37 ± 15,47 (N.S)	3,66 ± 1,35 (N.S)

n = 8

(N.S) : non significatif

SGPT: glutamate pyruvate transaminase sérique

SGOT: glutamate oxaloacétate transaminase sérique

PAL: phosphatase alcaline

Bil Totale : bilirubine totale

2.1.2 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@® sur les compartiments hépatiques

Le tableau XI rassemble, les lésions présentées par les différents compartiments du foie de rats normaux, après administration du *Lippia multiflora* et du Tétr@® .

Les figures 7, 8 et 9 illustrent les foies de rats respectivement normaux traités respectivement par l'eau distillée 1.5ml/100g (témoins), le *Lippia multiflora* 1200 mg/kg et par le Tétr@® 1.35 ml/kg.

Aucune modification structurale n'a pu être décelée au niveau du parenchyme hépatique de rats témoins (Figure 7). Par contre les foies de rats traités par le Tétr@® 1.35 ml/kg et par le *Lippia multiflora* 1200mg/kg présentent des lésions élémentaires qui se traduisent par une souffrance cellulaire avec ballonnisation et clarification (Figures 8 et 9) accompagnée d'une désorganisation et d'une congestion, suivies de mort cellulaire avec pour conséquence une nécrose de coagulation tissulaire mineure ou modérée.

Tableau XI : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@®, sur les compartiments du foie (Toxicité aiguë)

Produits	Doses	Données histopathologiques				
		Architecture du parenchyme	Espace-porte (EP)	Cellules hépatiques	sinusoïdes	Veine centrolobulaire
Eau distillée	0,5ml · 3 = 1,5ml/100g	C	N	N	N	N
<i>Lippia multiflora</i>	400 · 3 = 1200mg/kg	Ds	N	Noyaux pycnotiques -ballonisation -clarification	Réduits	Cg
Tétr@®	0,45 · 3 = 1,35ml/kg	Ds	N	Noyaux proéminents -ballonisation -clarification	Réduits	Cg

C = Conservée ; N = Normal ; Ds = Désorganisée ; Cg = Congestion

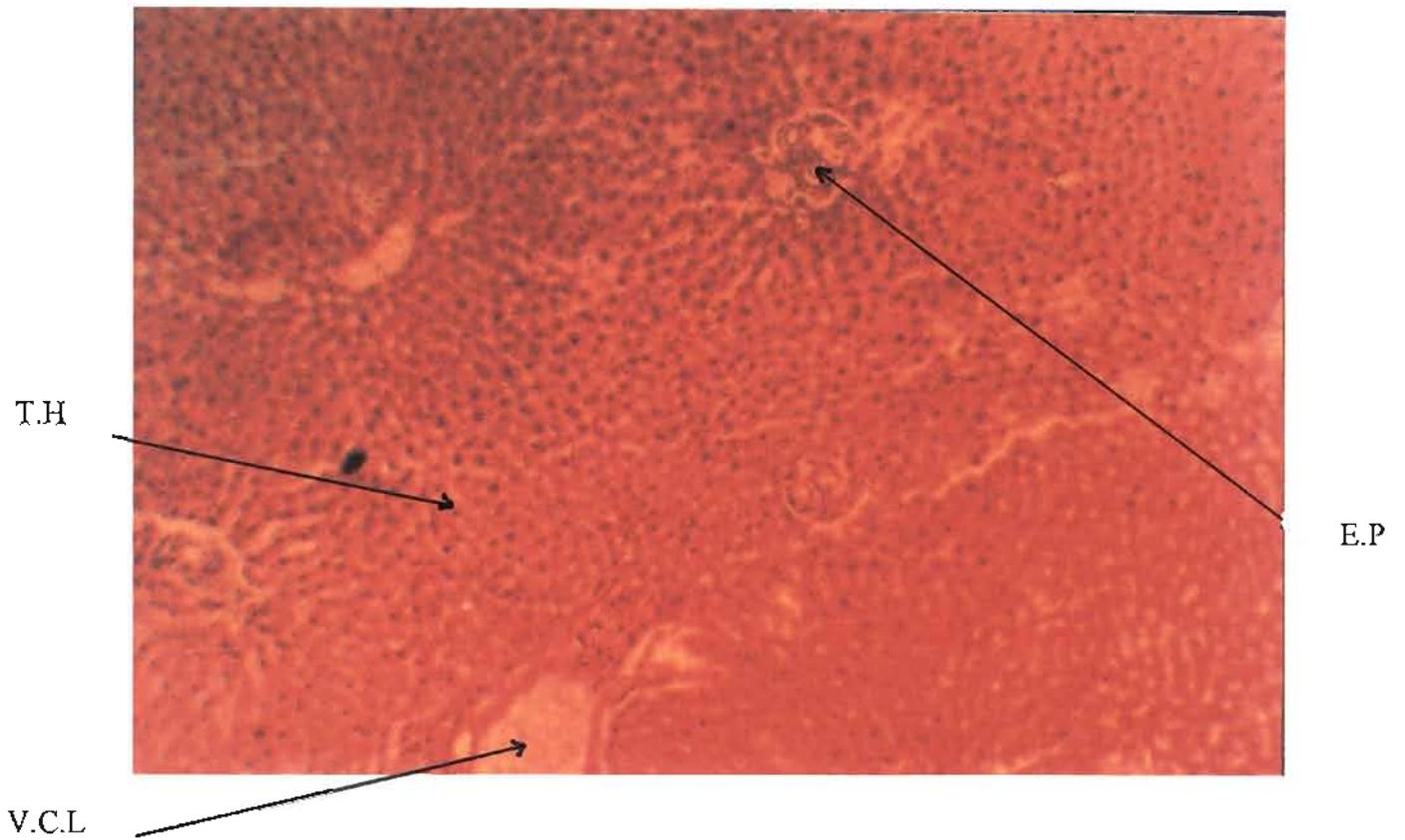


Figure 7 : Photographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée. G.X.250
Aspect normal de l'architecture hépatique, comportant des veines Centrolobulaires(V.C.L), des espaces portes et des travées hépatocytaires(T.H) perilobulaires

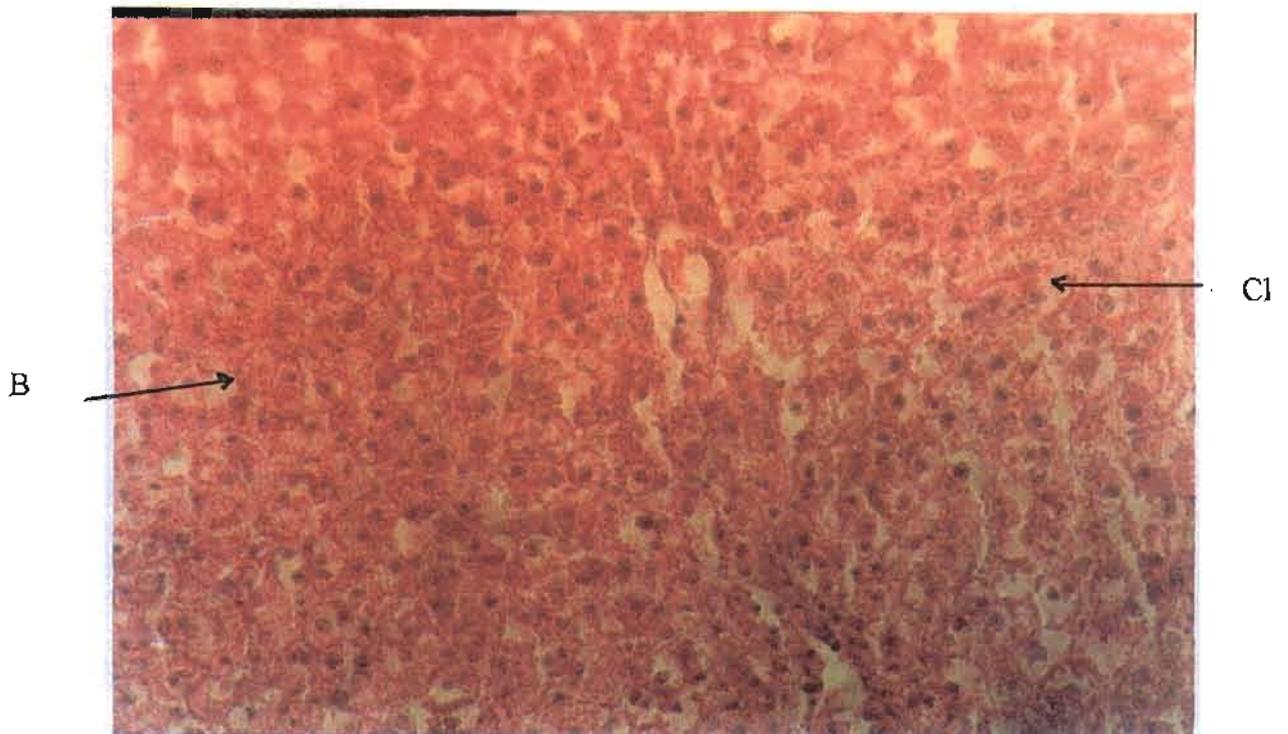


Figure 8 : micrographie d'une section de foie de rat normal, traité avec du Tétracycline 1,35 ml/kg G.X.400
Aspect de ballonnisation(B) et clarification(Cl) cytoplasmique (Toxicité aiguë)

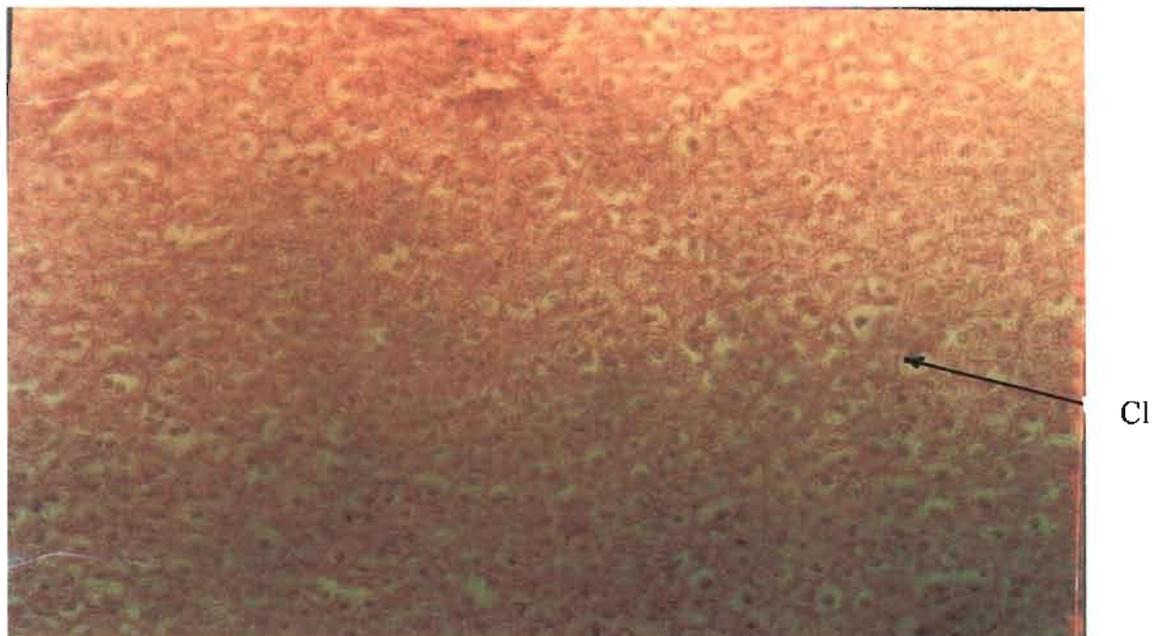


Figure 9 : Photographie d'une section de foie de rat normal, traité par du *Lippia multiflora* 1200 mg/kg G.X.250
Aspect de clarification cytoplasmique(Cl). (toxicité aiguë)

2.2. Toxicité subaiguë du *Lippia multiflora* et du Tétracel®

2.2.1 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétracel® sur les paramètres biochimiques

Les variations des activités de la glutamate pyruvate transaminase sérique (SGPT), de la glutamate oxaloacetate transaminase sérique (SGOT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubinémie totale sérique sont rassemblées dans le Tableau XII. Ces activités ne sont pas significativement modifiées chez les animaux ayant été traités par le *Lippia multiflora* à la dose de 400 mg/kg et par le Tétracel® aux doses de 0,45 ml/kg et 0,90 ml/kg, ce, par rapport aux animaux témoins après un traitement de 21 jours (Tableau XII).

2.2.2 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétracel® sur les paramètres histologiques

Le tableau XIII rassemble, les lésions présentées par les différents compartiments du foie de rats normaux, après administration subaiguë du *Lippia multiflora* et du Tétracel®.

Les figures 10 et 11 illustrent les foies des rats normaux, traités respectivement par le *Lippia multiflora* et le Tétracel® aux doses de 0,45 ml/kg et 0,90ml/kg.

Aucune modification structurale n'a pu être décelée au niveau du parenchyme hépatique de rats témoins (Figure 7). Par contre les foies des rats traités par le *Lippia multiflora* 400mg/kg et le Tétracel® 0,45 et 0,90ml/kg présentent des lésions de souffrance cellulaire (clarification et ballonnisation) allant jusqu'à la nécrose de coagulation, alors qu'à 0,90 ml/kg, ces lésions sont plus étendues avec des fantômes cellulaires et une désorganisation architecturale (Figures 10 et 11).

Tableau XII: Effets du *Lippia multiflora* et du Tétracel® sur les paramètres biochimiques (Toxicité subaiguë)

Produits	Doses ml ou mg/kg	SGPT (UI/l)	SGOT (UI/l)	PAL (UI/l)	Bil Totale (mg/l)
Eau distillée	0,5ml/100g	20,94±2,84	84,45±5,52	305±15,17	8,68±0,96
<i>Lippia multiflora</i>	400mg/kg	23,28±3,45 (N.S)	106,94±27,37 (N.S)	320,16±11,45 (N.S)	9,98±1,28 (N.S)
Tétracel®	0,45ml/kg	22,52±1,28 (N.S)	101,51±20,45 (N.S)	312,63±14,65 (N.S)	9,91±0,40 (N.S)
	0,90ml/kg	21,38±2,13 (N.S)	93,44±9,83 (N.S)	306,87±23,82 (N.S)	10,2±0,49 (N.S)

n= 8

(N.S) : non significatif

SGPT: glutamate pyruvate transaminase sérique

SGOT: glutamate oxaloacétate transaminase sérique

PAL: phosphatase alcaline

Bil Totale : bilirubine totale

Tableau XIII : Effets du Tétr@ et du *Lippia multiflora*, sur les compartiments du foie (Toxicité subaiguë)

Produits	Doses	Données histopathologiques				
		Architecture du parenchyme	Espace- porte (EP)	Cellules hépatiques	sinusoïdes	Veine centrolobulaire
Eau distillée	0,5ml/100g/j Pendant 21j	C	N	N	N	N
<i>Lippia multiflora</i>	400mg/kg/j Pendant 21j	C	SN	- fantômes cellulaires - ballonisation - clarification -absence de surcharge	Collabés	Cg
Tétr@	0,45ml/kg/j Pendant 21j	Ds	N	-fantômes cellulaires - ballonisation - clarification - cytoplasme éosinophile	Collabés	Cg
	0,90ml/kg/j Pendant 21j	Ds	SN	-fantômes cellulaires -ballonisation -clarification -cytoplasme éosinophile	Collabés	Cg

C = Conservée ; N = Normal ; Ds = Désorganisation ; Cg = Congestion ; SN = Subnormal

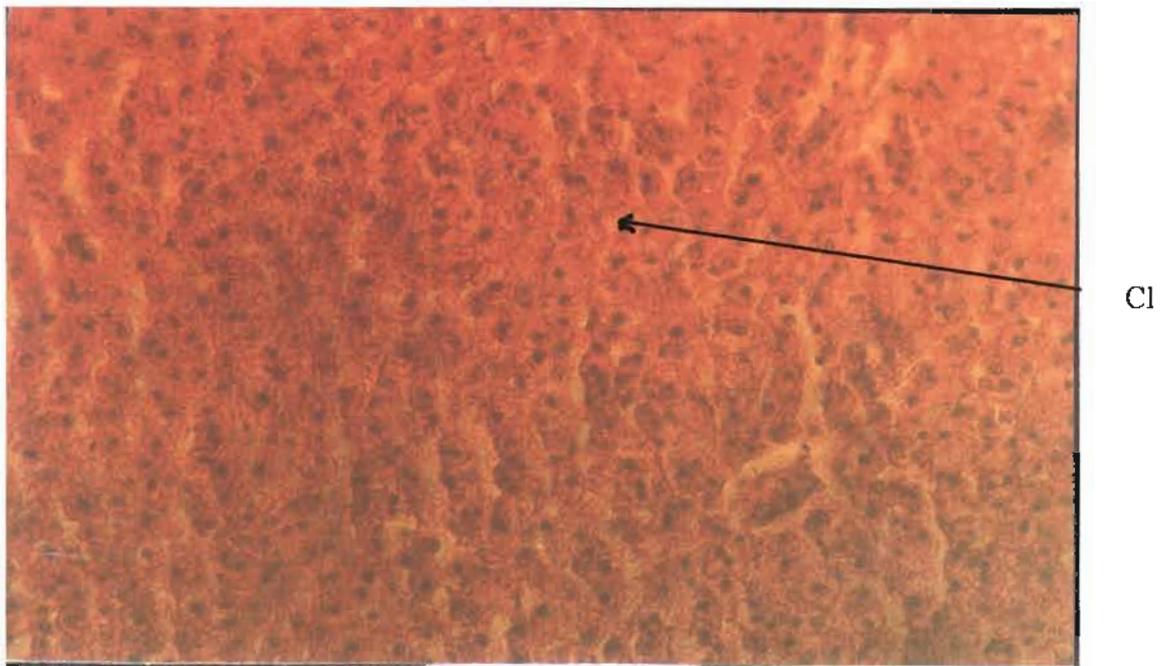


Figure 10 : micrographie d'une section de foie normal, traité par du Tétracéolone 0,90ml/kg G.X.250 aspect de clarification(Cl) (toxicité subaiguë)

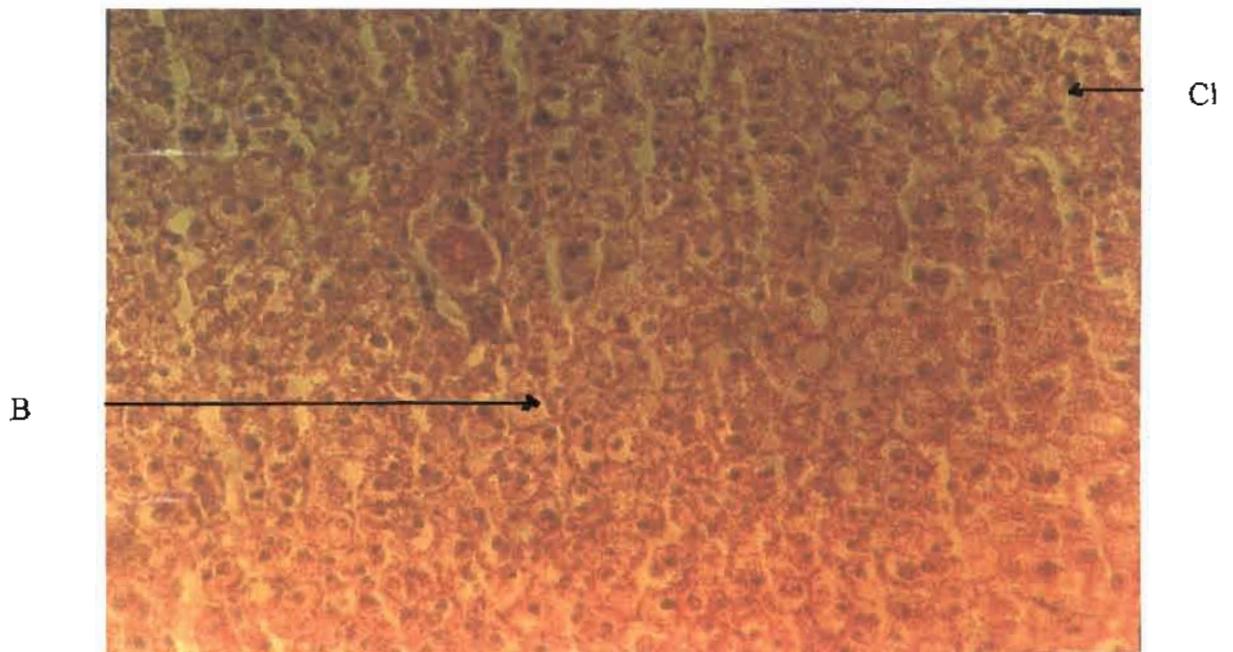


Figure 11 : micrographie d'une section de foie de rat normal, traité par le Lippia multiflora 400mg/kg G.X.250 Aspect le de clarification(Cl) et ballonisation(B) (toxicité subaiguë)

2.3. Toxicité subchronique du *Lippia multiflora* et du Tétracel®

2.3.1 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétracel® sur les paramètres biochimiques

Les variations des différentes activités de la glutamate pyruvate transaminase (SGPT), de la glutamate oxaloacétate transaminase (SGOT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubine totale sérique ne sont pas significatives, chez les animaux ayant été traités par le *Lippia multiflora* à la dose 400mg/kg et par le Tétracel® aux doses de 0,45 et 0,90 ml/kg, par rapport aux animaux témoins (eau distillée). après un traitement de 90 jours (Tableau XIV)

2.3.2 Effets du *Lippia multiflora* et du Tétracel® sur les paramètres histologiques

Le tableau XV rassemble, les lésions présentées par les différents compartiments du foie de rats normaux, après administration subchronique du *Lippia multiflora* et du Tétracel®

Les figures 12 et 13 illustrent les foies de rats respectivement normaux traités respectivement par le *Lippia multiflora* 400mg/kg, et le Tétracel® à la dose de 0.45 ml/kg.

Aucune modification structurale n'a pu être décelée au niveau du parenchyme hépatique de rats témoins (Figure 7). Par contre les foies des rats traités par le *Lippia multiflora* 400 mg/kg et par le Tétracel® 0.45 et 0.90 mg/kg présentent des lésions hépatiques mineures qui se traduisent par une clarification nucléaire des noyaux proéminents avec une structure architecturale globale plus ou moins conservée avec une congestion de la veine centrolobulaire pour le Tétracel® 0.45 et le *Lippia multiflora* (Figures 12 et 13)

Tableau XIV: Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@ sur les paramètres biochimiques (Toxicité subchronique)

Produits	Doses (ml ou g/kg)	SGPT (UI/l)	SGOT(UI/l)	PAL (UI/l)	Bil Totale (mg/l)
Eau distillée	0,5ml/100g	50,48 ±10,69	141,25 ± 15,18	176,62±32,64	3,42 ± 1,17
<i>Lippia multiflora</i>	400mg/kg	63,24 ± 12,26 (N.S)	172,38 ± 20,15 (N.S)	235,18 ± 25,75 (N.S)	6,02 ± 2,47 (N.S)
Tétr@	0,45ml/kg	60,17 ± 10,52 (N.S)	159,62 ± 13,90 (N.S)	220,37 ± 27,20 (N.S)	5,05 ± 1,06 (N.S)
Tétr@	0,90ml/kg	58,32 ± 6,67 (N.S)	166,87±18,41 (N.S)	210,25±14,23 (N.S)	4,87 ± 1,85 (N.S)

n= 8

(N.S) : non significatif

SGPT:glutamate pyruvate transaminase sérique

SGOT: glutamate oxaloacétate transaminase sérique

PAL: phosphatase alcaline

Bil Totale : bilirubine totale

Tableau XV : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétr@ sur les compartiments du foie (Toxicité subchronique)

Produits	Doses	Données histopathologiques				
		Architecture du parenchyme	Espace-porte (EP)	Cellules hépatiques	sinusoïdes	Veine centrolobulaire
Eau distillée	0,5ml/100g/j Pendant 90 j	C	N	N	N	N
<i>Lippia multiflora</i>	400mg/kg/j Pendant 90 j	C	SN	-noyaux pycnotiques -noyaux proéminents -clarification nucléaire	D	Cg
Tétr@	0,45ml/kg/j Pendant 90 j	C	SN	-noyaux pycnotiques -noyaux proéminents -clarification nucléaire	E ou D	Cg
	0,90ml/kg/j Pendant 90 j	Ds	SN	-noyaux proéminents -clarification nucléaire	E ou D	Cg

C = Conservée ; N = Normal ; Ds = Désorganisation ; Cg = Congestion ; E = Elargis ; SN = Subnormal ;
D = Dilatés ou E = Elargis



Figure 12 : micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le *Lippia multiflora* 400 mg/kg G.X.250
 Aspect de parenchyme hépatique plus ou moins conservé(E.P) :
 présence de noyaux pycnotiques, plus clarification nucléaire(Cn) et
 congestion(Cg)
 (Toxicité subchronique)

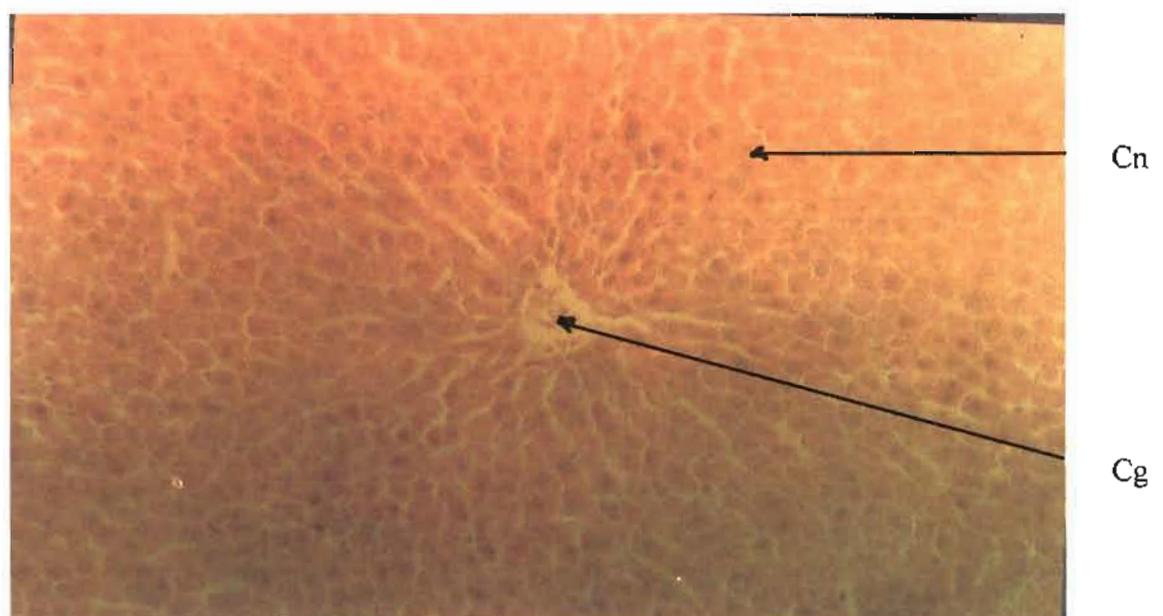


Figure 13 : micrographie d'une section de foie de rat normal traité par le *Tétra* 0,45 ml/kg G.X.250
 Aspect clarification nucléaire(Cn) plus congestion(Cg) Parenchyme
 hépatique plus ou moins conservé
 (Toxicité subchronique)

2.4 Discussion – conclusion

= Discussion

Divers travaux révèlent que les médicaments peuvent provoquer des atteintes hépatiques et rénales, des accidents hématologiques et des réactions allergiques. Aussi une détection précoce de ces accidents s'avère indispensable pour tenter d'éviter l'évolution vers une forme grave ou mortelle [63;138].

Les valeurs normales de l'activité de l'aspartate aminotransférase observée aussi bien chez les rats normaux que chez les rats traités suggèrent une bonne tolérance rénale du Tétrax[®] et du *Lippia multiflora*. En effet, cette activité enzymatique peut traduire l'état fonctionnel de la cellule rénale [51 ; 169].

Les résultats des activités de la phosphatase alcaline, de l'alanine aminotransférase et de l'aspartate aminotransférase observés chez les rats traités suggèrent que le Tétrax[®] et le *Lippia multiflora* n'induiraient pas une destruction des macromolécules des membranes et des mitochondries des hépatocytes, indiquant ainsi une bonne tolérance hépatique. En effet, les activités de ces enzymes sont élevées lors des atteintes hépatiques modérées ou sévères [69 ;169].

Il faille aussi signaler, au regard des résultats obtenus du screening chimique que le Tétrax[®] et le *Lippia multiflora* n'ont pas de toxicité directe sur les éléments figurés du sang. En effet, aucune activité lytique de ces préparations n'a été observée à pH physiologique.

La bonne tolérance hépatique signalée à travers les données biochimiques est confirmée par les examens histopathologiques qui n'évoquent que l'existence des lésions hépatiques élémentaires ou mineures au cours de l'étude de la toxicité aiguë. Ces lésions mineures se traduisent par des souffrances cellulaires suivies de mort avec pour conséquence une nécrose de coagulation tissulaire mineure ou modérée.

De même au cours de l'étude sur la toxicité subaiguë à la dose de 0,45 ml /kg de Tétrax[®] et du *Lippia multiflora* 400 mg/kg, sont observées des lésions de souffrance cellulaire (clarification et ballonnisation) allant jusqu'à la nécrose de coagulation. Alors qu'à 0,90 ml /kg de Tétrax[®], ces lésions sont plus étendues.

En ce qui concerne la toxicité subchronique, les lésions hépatiques se traduisent par des lésions élémentaires plus prononcées pour le le *Lippia multiflora* 400 mg/kg et le Tétrax[®] 0,45 et 0,90ml/kg avec désorganisation architecturale et un empâtement des travées hépatocytaires associé à de la congestion. Ces lésions traduisent une atteinte plus prononcée du foie.

□ Conclusion

Si le Tétracel et *Lippia multiflora* présentent une toxicité aiguë et subaiguë négligeables, les lésions observées au cours de la toxicité subchronique suggèrent une certaine prudence lors de l'utilisation prolongée de ces préparations où une surveillance de la fonction hépatique s'impose, surtout lorsque l'on sait que le *Lippia multiflora* est consommé tous les jours par certains congolais en infusion ou en décoction théiforme.

3. Etude du pouvoir hépatoprotecteur du *Lippia multiflora* et du Tétrá®

3.1 Effets hépatoprotecteurs du *Lippia multiflora* et du Tétrá® vis à vis de l'intoxication au paracétamol

3.1.1. Effets des différents traitements sur les paramètres biochimiques (Tableau XVI)

Les variations des activités de la glutamate pyruvate transaminase (SGPT), de la glutamate oxaloacétique transaminase (SGOT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubinémie sont significativement moins élevées ($p < 0,001$) chez les animaux ayant été traités par le Tétrá® à la dose de 0,45ml/kg, le *Lippia multiflora* à la dose de 400mg/kg et la silymarine à la dose de 100mg/kg, après intoxication au paracétamol. par rapport aux animaux témoins (eau distillée + paracétamol).

En revanche, les animaux traités par le Tétrá à la dose de 0,90ml/kg, présentent une bilirubinémie, significativement plus élevée ($p < 0,001$) et des activités enzymatiques légèrement plus importantes que celles des animaux traités à la dose de 0,45 ml/kg (différences non significatives)

3.1.2 Effets des différents traitements sur les paramètres Histologiques

Le tableau XVII rassemble les différents types de lésions présentées par les différents compartiments du foie des rats intoxiqués au paracétamol, après administration du Tétrá®, du *Lippia multiflora* et la silymarine.

Les figures 14,15,16,17,18 et 19 illustrent le foie des rats, respectivement normaux, intoxiqués au paracétamol et traités par le *Lippia multiflora*, le Tétrá® aux doses de 0,45ml/kg et 0,90ml/kg et la silymarine à 100 mg/kg.

Les foies de rats témoins présentent un parenchyme hépatique normal (Figure 14).

Le traitement par le paracétamol entraîne une destruction massive des structures hépatiques, et une nécrose de coagulation hépatocytaire diffuse ou parcellaire, et une lyse hépatocytaire diffuse (Figure 15).

Les traitements par le Tétrá®, du *Lippia multiflora* et de la silymarine révèlent des parenchyms normaux.. plus ou moins conservés, avec des congestion au niveau de la veine centrolobulaire(Figures 16,17,19). Outre cela, les traitements par la silymarine et le *Lippia multiflora* montre des sinusoides dilatés alors que celui par Tétrá® 0,45 ml/kg et 0,90 ml/kg montre des sinusoides subnormaux avec ballonnisation et clarification cytoplasmique (Figures 17,18).

3.1.3. Effets des différents traitements sur le sommeil induit par le pentobarbital

Comme l'indique le tableau XVII, le pentobarbital induit une durée de sommeil significativement plus élevée ($p < 0.001$) chez les rats intoxiqués au paracétamol, comparativement aux normaux.

La durée de sommeil observée chez les animaux traités par le Tétra®, le *Lippia multiflora*, et la silymarine est moins importante que celle des témoins (paracétamol – pentobarbital).

Tableau XVI : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétra® sur les paramètres biochimiques

Produits	Doses	SGPT	SGOT	PAL	BIL. TOTALE
Eau distillée	5ml kg	75,25 ± 3,69	107,12 ± 8,75	291,25 ± 35,60	2,76 ± 0,54
Eau distillée + Paracétamol	5 ml kg 3 g kg	378,37 ± 58,92	392,37 ± 59,61	371,25 ± 8,65	17,11 ± 1,99
<i>Lippia multiflora</i> - Paracétamol	400mg kg 3 g kg	203,00 ± 31,40 (***)	245,12 ± 19,94 (***)	326,75 ± 18,41 (***)	4,87 ± 0,57 (***)
Tétra® + Paracétamol	0,45 ml/kg 3 g kg	183,75 ± 42,43 (***)	246,75 ± 27,39 (***)	335,37 ± 7,41 (***)	5,21 ± 1,11 (***)
Tétra® - Paracétamol	0,90 ml kg 3 g kg	237,25 ± 31,11 (NS)	265,37 ± 18,54 (NS)	346,37 ± 8,27 (NS)	12,60 ± 0,63 (NS)
Silymarine - Paracetamol	100mg kg 3 g kg	179,75 ± 31,40 (***)	235,37 ± 20,72 (***)	197,50 ± 58,72 (***)	5,38 ± 1,61 (***)

n = 8

(N.S) : non significatif

(***) : $p < 0.001$

SGPT: glutamate pyruvate transaminase sérique

SGOT: glutamate oxaloacétate transaminase sérique

PAL: phosphatase alcaline

Bil Totale : bilirubine totale

Tableau XVII : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétrá®, sur les compartiments du foie

Produits	Doses	Données histopathologiques				
		Architecture du parenchyme	Espace-porte (EP)	Cellules hépatiques	sinusoïdes	Veine centrolobulaire
Eau distillée	0,5ml 100g	C	N	N	N	N
Eau distillée + Paracétamol	0,5ml.ml + 3 g/kg	Ds	Dstm	Nécroses de coagulation diffuse	Dstm	Dstm
<i>Lippia multiflora</i> + Paracétamol	400mg/kg + 3g/kg	C	N	Souffrance cellulaire modérée	D	Cg
Tétrá® + paracétamol	0,45ml/kg + 3 g/kg	C	N ou SN	Souffrance cellulaire modérée, Ballonisation et clarification	SN	Cg
Tétrá® + Paracétamol	0,90 ml/kg + 3g/kg	C	SN	Ballonisation et clarification cytoplasmique	SN	Cg
Silymarine + Paracetamol	100 mg/kg + 3 g/kg	C	N	Parenchyme normal et congestif	D	Cg

C = Conservée ; N = Normal ; Ds = Désorganisation ; Cg = Congestion ; SN = Subnormal ; D = Dilatation ; Dstm = Destruction massive

Tableau XVIII : Effets du Tétr@ et du *Lippia multiflora* sur le sommeil induit par le pentobarbital

Produits	Doses (ml ou mg/kg)	Durée de sommeil (mn)	% d'augmentation
Eau distillée + Pentobarbital	5ml/kg + 50 mg/kg	196±1,26	
Eau distillée + paracétamol + Pentobarbital	5 ml/kg + 3 g/kg + 50 mg/kg	290 ± 2,02 (***)	+ 47,95%
<i>Lippia multiflora</i> + paracétamol + Pentobarbital	400 mg/kg + 3 g/kg + 50 mg/kg	215 ± 1,28 (***)	+ 9,6%
Tétr@ + paracétamol + Pentobarbital	0,45 ml/kg + 3 g/kg + 50 mg/kg	(***) 220 ± 4,04	+12,24%
Tétr@ + paracétamol + Pentobarbital	0,90 ml/kg + 3 g/kg + 50 mg/kg	230 ± 11,35 (***)	+17,34%
Silymarine + paracetamol+ Pentobarbital	100 mg/kg + 3 g/kg + 50 mg/kg	205 ± 2,02 (***)	+ 4,89%

n= 8 ;

(***) p< 0,001

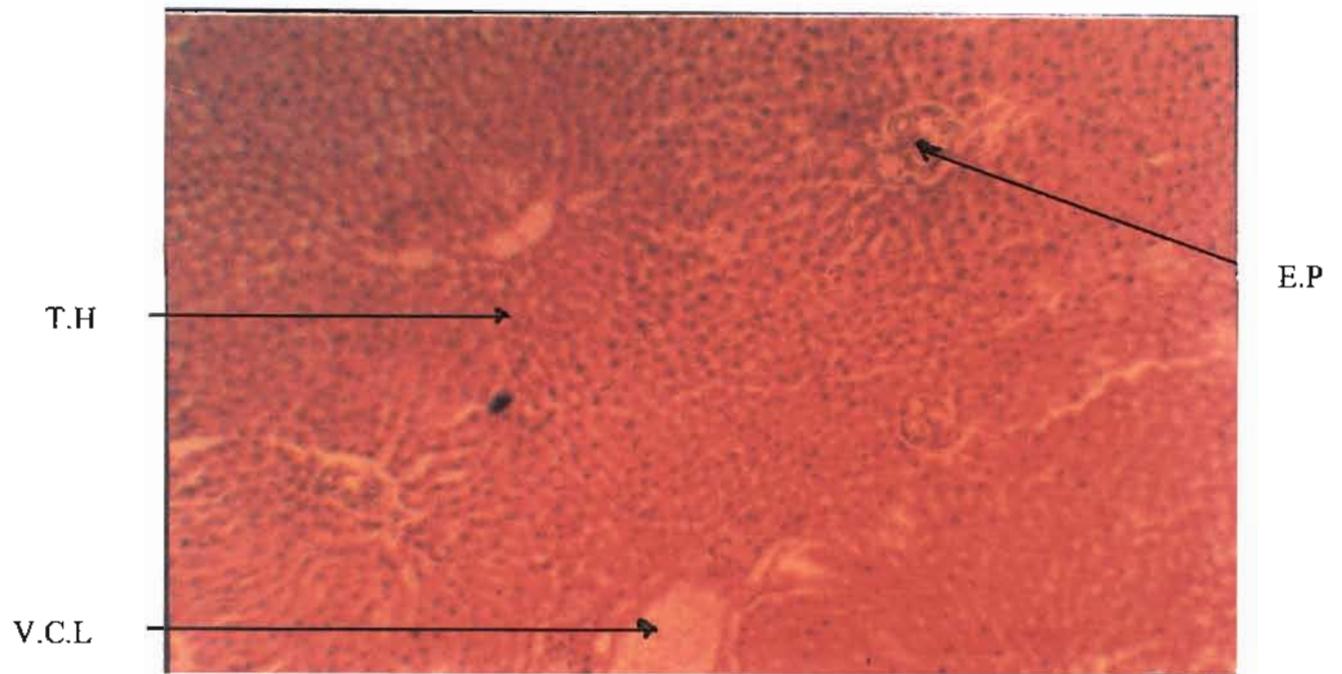


Figure 14 : micrographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée G.X.250
 Aspect du parenchyme hépatique normal : veines centrolobulaires(V.C.L), espaces portes(E.P), travées hépatocytaires(T.H)

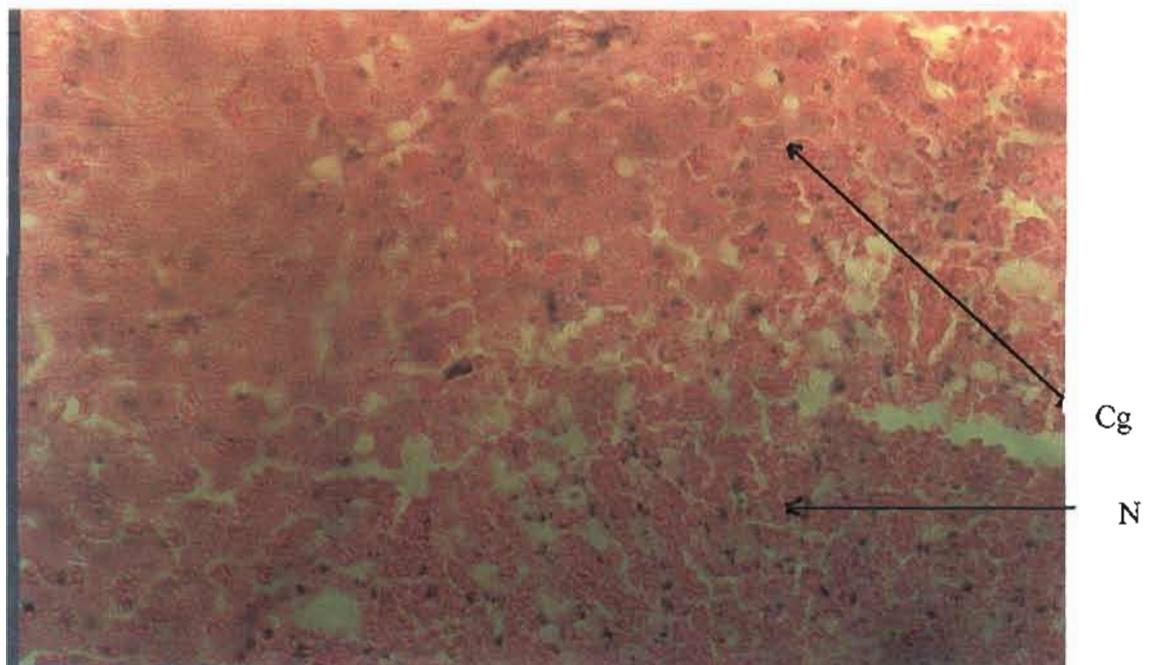


Figure 15 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au paracétamol après traitement à l'eau distillée G.X.250
 Aspect de nécrose(N) avec congestion(Cg)

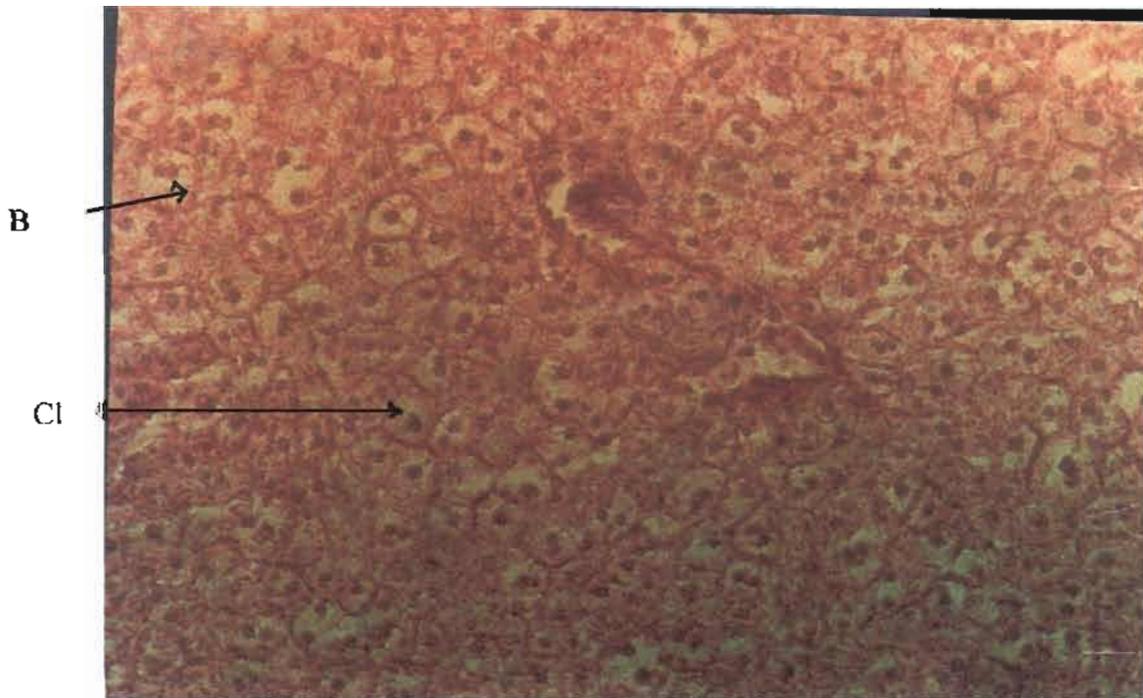


Figure 16 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au paracétamol après traitement par le *Lippia multiflora* 400 mg/kg G.X.250
Aspect de Parenchyme plus ou moins conservé ; souffrance cellulaire modérée : clarification(Cl) et ballonnisation(B)

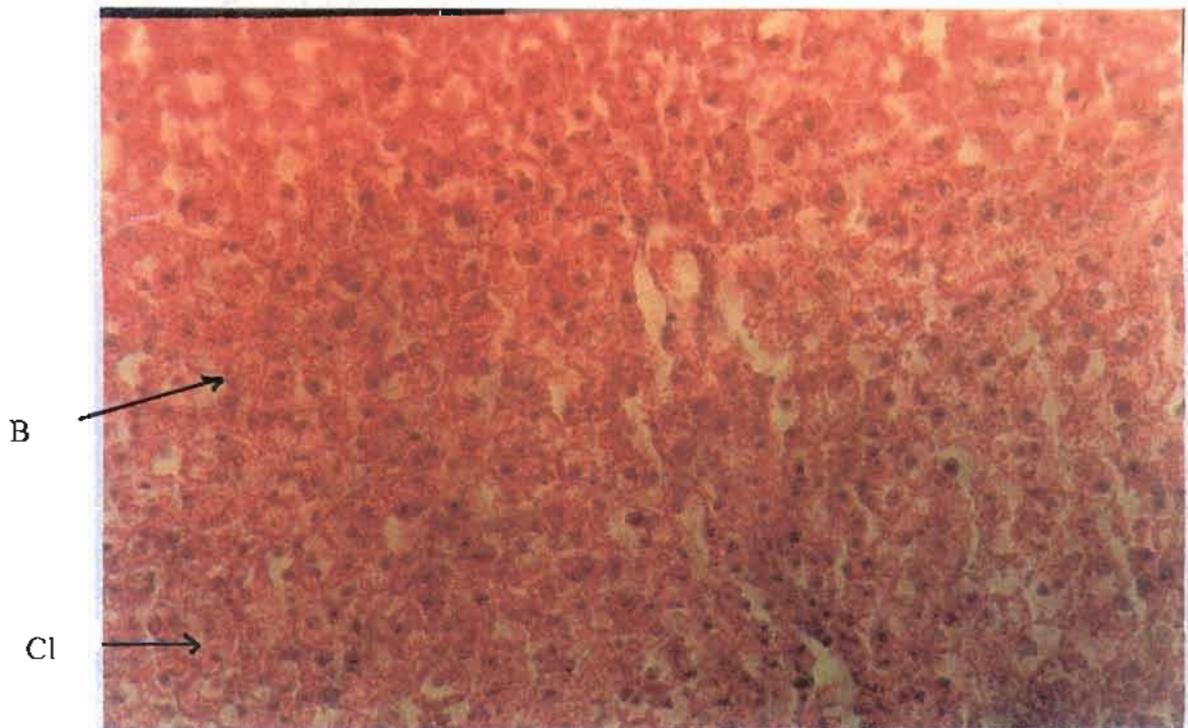


Figure 17 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au paracétamol après traitement par le Tétré 0,45 ml/kg et par voie orale G.X.250
Aspect de Parenchyme hépatique subnormal ou normal, souffrance cellulaire modérée : clarification(Cl), ballonnisation(B)

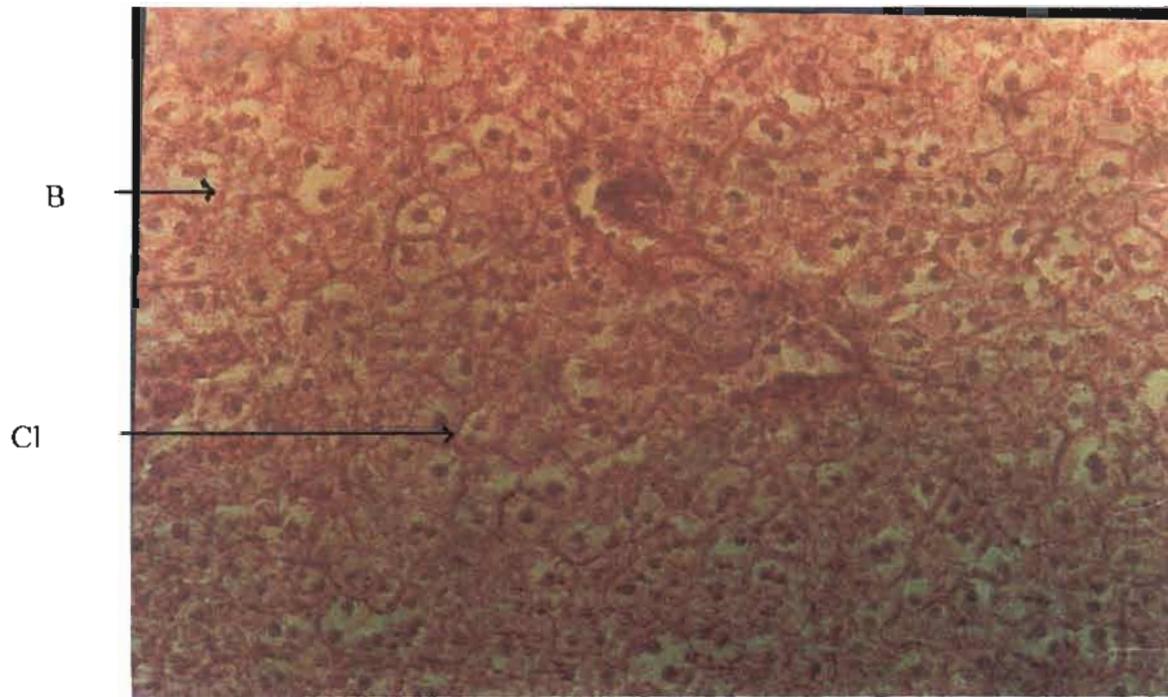


Figure 18 : micrographie d'une section de foie intoxiqué, par paracétamol après traitement par le Tétracort 0,90ml/kg
Aspect de Parenchyme hépatique plus ou moins normal :
Ballonisation(B) plus clarification(Cl) cytoplasmique

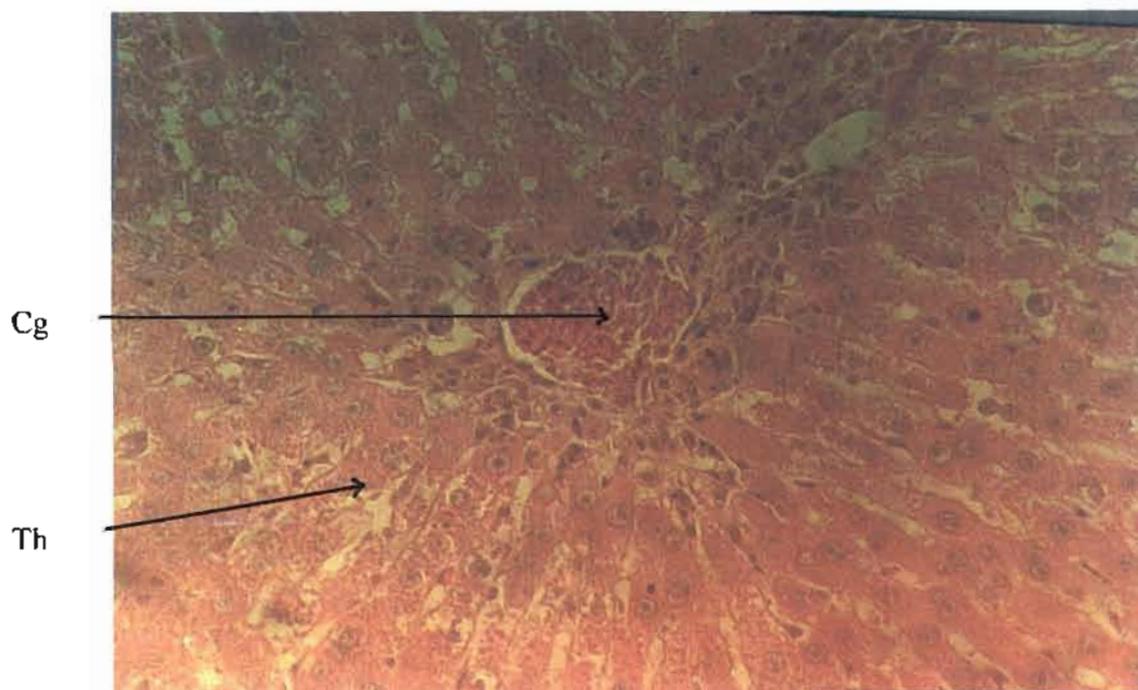


Figure 19 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au paracétamol après traitement à la silymarine ou légalon 100 mg/kg, par voie orale G.X.400
Aspect de Parenchyme hépatique subnormal plus
Congestion(Cg)

3.2. Discussion – conclusion

□ Discussion

A la lumière des résultats présentés ci-dessus, il ressort ce qui suit :

- sur le plan biochimique.

Le paracétamol induit une toxicité hépatique. L'augmentation de 2 à 5 fois de la valeur normale des transaminases (SGOT et SGPT) et de la phosphatase alcaline (PAL) témoigne bien d'une cytolysse hépatique. Il faut cependant noter que les valeurs normales des activités enzymatiques obtenus dans la présente étude sont légèrement supérieures à celles de la littérature [155 :166].

L'intoxication au paracétamol qui est l'un des modèles les plus utilisés pour l'étude de l'hépatotoxicité [23 :60 :96 :166] entraîne donc une augmentation significative de ces paramètres biochimiques. C'est à travers le niveau de cette augmentation qu'est évaluée l'étendue des lésions hépatiques. En effet, la toxicité induite par le paracétamol, est l'œuvre d'un de ces métabolites intermédiaires très réactif et toxique, le N-acétyl-P-benzoquinone imine (NAPQI) [163]. Cette substance est obtenue après le métabolisme du paracétamol par un certain nombre d'isoenzymes du cytochrome P450, notamment CYP2E1, CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4, et CYP2D6. Le N-acétyl-P-benzoquinone imine se lie aux macromolécules des membranes hépatocytaires [163]. Ce métabolite réagit avec la forme réduite du glutathion pour former un métabolite non toxique qui est le 3-GS-yl-paracétamol.

Malheureusement, lors de l'intoxication avec une forte dose de paracétamol, ce système de détoxification est débordé par déplétion des taux de glutathion. La conséquence est la mise en œuvre et la propagation des réactions d'alkylation et de peroxydation induites par le toxique avec destruction des macromolécules cellulaires et libération des enzymes cytoplasmiques (SGOT et SGPT) Les substances antioxydantes et celles capables de capter les radicaux libres, ainsi que les inhibiteurs enzymatiques vont protéger l'hépatocyte de cette toxicité [86].

Aux doses utilisées, le *Lippia multiflora* (400mg/kg), le Tétr@ (0,45 ml/kg) et la silymarine (100mg/kg), s'opposent significativement à la toxicité hépatique induite par le paracétamol. Mais tel n'est pas le cas pour le Tétr@ 0,90 ml/kg qui ne s'oppose pas efficacement à l'hépatotoxicité, les activités des transaminases n'étant pas significativement différentes des témoins intoxiqués, qui traduit un dommage hépatique plus prononcé. Ce dommage hépatique perturberait l'élimination de la bilirubine, d'où l'hyperbilirubinémie observée.

L'effet hépatoprotecteur le plus important est observé avec la silymarine, substance de référence utilisée, suivie du *Lippia multiflora*, et du Tétr@ à la dose de 0,45ml/kg. Il est donc possible que le Tétr@ à faible dose et le *Lippia multiflora* exercent une activité antioxydante ou de captage des radicaux libres protégeant ainsi l'hépatocyte la destruction membranaire. En outre, il est reconnu que l'inflammation est la plaque centrale dans l'hépatite aiguë provoquée par les drogues avec une importante implication des leucotriènes produits du métabolisme de l'acide arachidonique (voie de la 5-lipoxygénase). Aussi, les effets anti-inflammatoires rapportés sur le Tétr@ 0,45 [4] ml/kg (et non à 0,90 ml/kg) pourraient partiellement contribuer à l'effet hépatoprotecteur observé dans cette étude. Les valeurs de la phosphatase alcaline (PAL) obtenues avec la silymarine sont nettement moins importantes que celles observées chez les témoins. Cette observation rejoint celle de RAO et al [143] qui ont aussi obtenu des valeurs de PAL nettement inférieures à celles des témoins ; ce qui traduit l'importance de l'effet hépatoprotecteur de cette substance de référence. Le mécanisme de cette activité particulière sur la PAL reste à élucider ; ceci d'autant plus que dans les deux cas cet effet ne se manifeste que pour l'intoxication au paracétamol et non au CCl₄.

- sur le plan histopathologique

L'intoxication par une forte dose de paracétamol (3 g/kg) par voie orale, entraîne une hépatocytolyse massive avec nécrose de coagulation hépatocytaire diffuse, ce qui explique les perturbations biochimiques qui se traduisent par une élévation des transaminases sériques. Les traitements par le *Lippia multiflora*, le Tétr@ et la silymarine révèlent des parenchymes normaux plus ou moins conservés ou subnormaux avec des congestions au niveau de la veine centrolobulaire, traduisant ainsi un certain effet d'hépatoprotection vis à vis de l'intoxication induite par le paracétamol. En plus, le traitement par la silymarine et le *Lippia multiflora* montre des sinusoides dilatés, tandis que celui par le Tétr@ 0,45 ml/kg indique des sinusoides subnormaux, ce qui confirme la protection du foie.

- sur le plan pharmacologique

Les effets protecteurs du *Lippia multiflora*, du Tétr@ et de la silymarine vis à vis de l'hépatotoxicité induite par le paracétamol sont confirmés par leur activité sur la potentialisation du sommeil induite par le pentobarbital.

En effet, le traitement des animaux par le paracétamol induit des perturbations dans l'activité des enzymes hépatocytaires impliquées dans le métabolisme médicamenteux avec pour conséquence une substantielle diminution de la capacité du métabolisme et une prolongation du sommeil barbiturique. C'est ce qui est observé chez les animaux témoins (eau distillée + paracétamol + pentobarbital). Sous Tétr@ 0,45 ml/kg et *Lippia multiflora*, la

potentialisation du sommeil barbiturique est plus faible. Ce qui implique une certaine fonctionnalité des cellules hépatiques.

Les résultats obtenus avec le Tétrax® 0,90ml/kg rejoignent ceux des paramètres biochimiques, confirmant ainsi un effet négligeable à cette dose sur l'hépatoprotection.

La présente étude semble donc démontrer que le Tétrax® à faible dose, s'oppose aux effets hépatotoxiques du paracétamol. Elle confirme l'effet hépatoprotecteur du *Lippia multiflora* signalé dans la littérature [57] lequel pourrait être l'un des supports de cette activité dans la recette.

□ Conclusion

Le *Lippia multiflora* et le Tétrax® aux doses respectives de 400mg.kg et 0,45ml/kg, présentent un certain effet hépatoprotecteur, car ils s'opposent d'une manière significative à l'hépatotoxicité induite par le paracétamol.

3.3. Intoxication au Tétrachlorure de carbone

3.3.1. Effets des différents traitements sur les paramètres biochimiques (Tableau XIX)

Les activités de la glutamate pyruvate transaminase (SGPT), de la glutamate oxaloacétique transaminase (SGOT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubinémie sont moins élevées ($p < 0,001$). Chez les animaux ayant été traités par le Tétrachlorure® 0,45ml/kg, le *Lippia multiflora* et la silymarine 100mg/kg, après intoxication au tétrachlorure de carbone, par rapport aux animaux témoins.

Ces valeurs ne sont pas significativement modifiées pour le Tétrachlorure® 0,90ml/kg.

3.3.2. Effets des différents traitements sur les paramètres histologiques

Le tableau XX rassemble les lésions présentées par les différents compartiments du foie des rats intoxiqués au Tétrachlorure de carbone, après administration du Tétrachlorure® ; du *Lippia multiflora* et de la silymarine.

Les figures 20,21,22, 23, 24 et 25 illustrent le foie des rats, respectivement normaux, intoxiqués au tétrachlorure de carbone et traités par le *Lippia multiflora* 400mg/kg, le Tétrachlorure® 0,45ml/kg et 0,90ml/kg et la silymarine 100mg/kg.

Les foyes des rats témoins ne présentent aucune modification structurale au niveau du parenchyme hépatique (Figure 20), alors que ceux des rats traités par le Tétrachlorure de carbone présentent une désorganisation massive, avec destruction au niveau de la veine centolobulaire et une stéatose macrovésiculaire diffuse et un élargissement de l'espace-porte (Figure 21).

Les traitements par le Tétrachlorure®, le *Lippia multiflora* et la silymarine révèlent des parenchymes normaux plus ou moins conservés, des espaces-portes subnormaux, traduisant ainsi un certain effet d'hépatoprotection vis à vis du Tétrachlorure de carbone avec une microstéatose minime ou modérée (Figures 22 et 23).

En plus les traitements par la silymarine et le Tétrachlorure 0,90 montrent des macrostéatoses moins importantes et une structure hépatique plus ou moins conservée (Figures 24 et 25).

Tableau XIX: Effets du *Lippia multiflora* et du Tétrac® sur les paramètres biochimiques
(intoxication au Tétrachlorure de carbone)

Produits	Doses	SGPT (UI/l)	SGOT (UI/l)	PAL (UI/l)	Bil totale
Eau distillée	0,5ml/100g	83,94±3,06	128,75±9,13	201,15±27,71	3,08 ± 0,32
Eau distillée + Tétrachlorure de carbone	0,5ml/100g 2,5ml/kg	220,43±25,47	235,32±17,85	498,25±49,86	5,59±0,33
<i>Lippia multiflora</i> + Tétrachlorure de carbone	400mg/kg 2,5ml/kg	145,37±12,21 (***)	169,18±15,31 (***)	347,04±19,17 (***)	3,8< 6±0,08 (***)
Tétrac® + Tétrachlorure de carbone	0,45ml/kg 2,5ml/kg	148,04±10,52 (***)	174,24±11,03 (***)	358,24±31,81 (***)	3,72±0,44 (***)
Tétrac® + Tétrachlorure de carbone	0,90ml/kg 2,5ml/kg	173,04±25,24 (N.S)	194,24±11,95 (N.S)	393,45±36,11 (N.S)	4,87±0,83 (N.S)
Silymarine + Tétrachlorure de carbone	100mg/kg 2,5ml/kg	140,05±12,95 (***)	150,59±13,21 (***)	278,32±26,52 (***)	3,97±0,53 (***)

n = 8 ; (N.S) : non significatif ; p < 0,001

Tableau XX : Effets du *Lippia multiflora* et du Tétrac® sur les paramètres histologiques
(intoxication au Tétrachlorure de carbone)

Produits	Doses (ml ou mg/kg)	Données histopathologiques				
		Architecture du parenchyme	Espace-porte (EP)	Cellules hépatiques	sinusoïdes	Veine centrolobulaire
Eau distillée	0,5ml/100g	C	N	N	N	N
Eau distillée + Tétrachlorure de carbone	0,5ml/100g + 2,5ml/kg	Ds	E	-empâtement -nécrose -stéatose macrovésiculaire diffuse (+ + +)	Dstm	Dstm
<i>Lippia multiflora</i> + Tétrachlorure de carbone	400mg/kg + 2,5ml/kg	±C	SN	-empâtement -nécrose -stéatose microvésiculaire minime (+)	D	Cg
Tétrac® + Tétrachlorure de carbone	0,45ml/kg + 2,5ml/kg	±C	SN	-nécrose -stéatose microvésiculaire minime ou modérée (+)	D	Cg
Tétrac® + Tétrachlorure de carbone	0,90 ml/kg + 2,5ml/kg	±C	SN	-empâtement -nécrose -stéatose macrovésiculaire (+ +)	D	Cg
Silymarine Tétrachlorure de carbone	100 mg/kg + 2,5ml/kg	±C	SN	-empâtement -stéatose microvésiculaire minime ou modérée (+ +)	E	Cg

C = Conservés ; N = Normal ; Ds = Désorganisation ; Cg = Congestion ; SN = Subnormal ; D = Dilatés ; E = Elargis ;
Dstm = Destruction massive

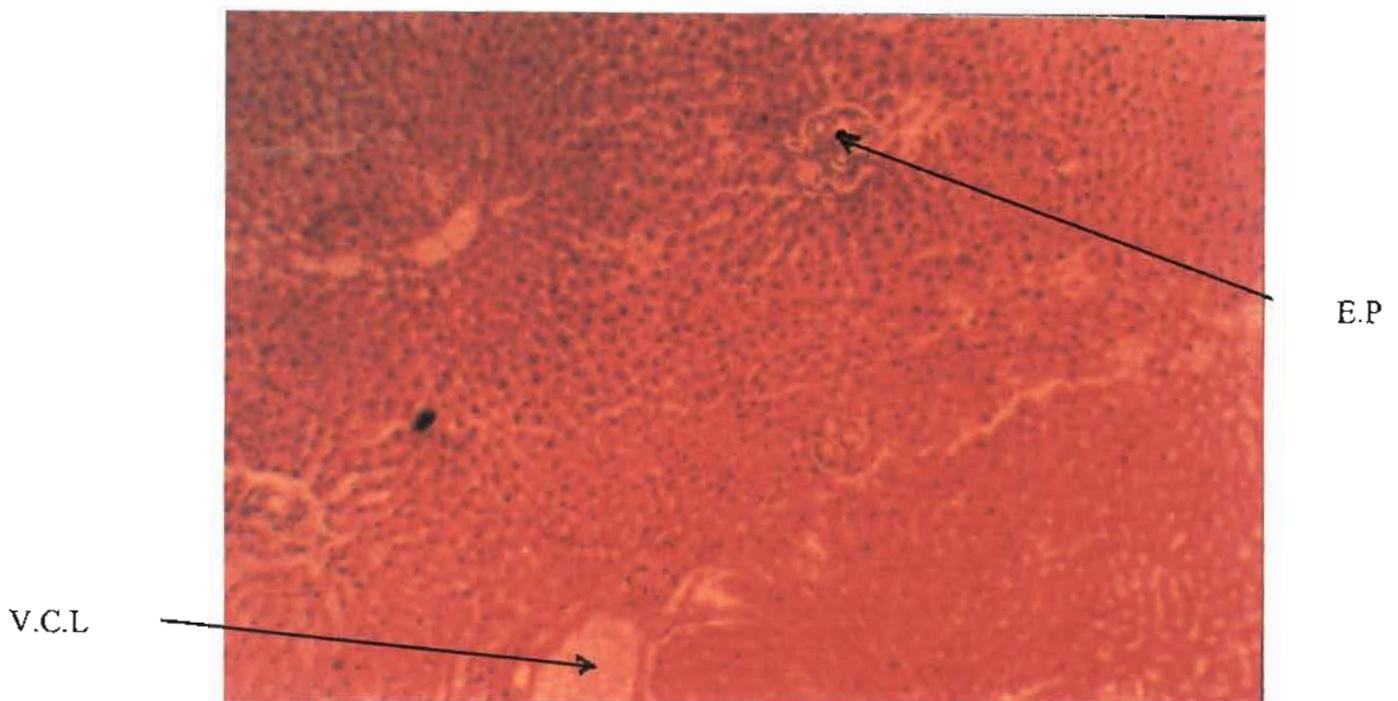


Figure 20 : micrographie d'une section de foie de rat normal traité à l'eau distillée G.X 250
Aspect normal de l'architecture hépatique, comportant des veines centrolobulaires (V.C.L) et des espaces portes (E.P)

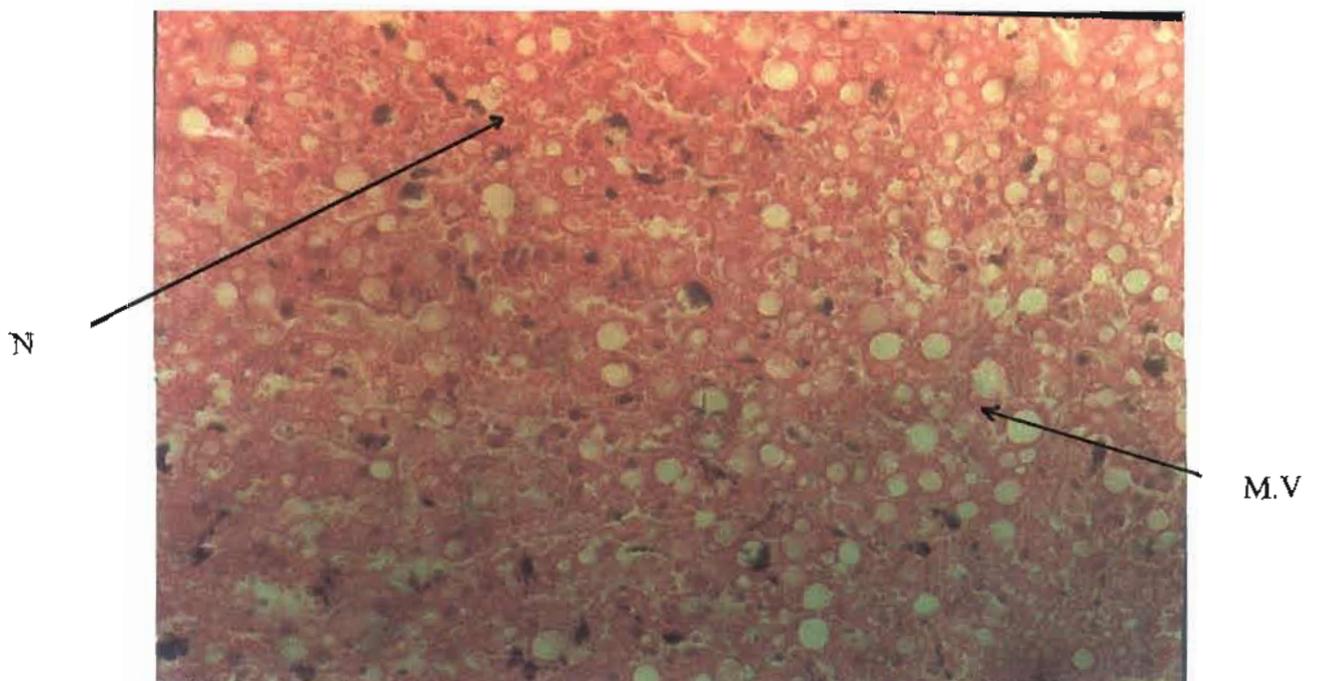


Figure 21 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au Tétrachlorure de carbone, après traitement à l'eau distillée G.X 250
Aspect d'une steatose macro et micro vésiculaires diffuse (M.V), plus empâtement et destruction massive: nécrose (N)

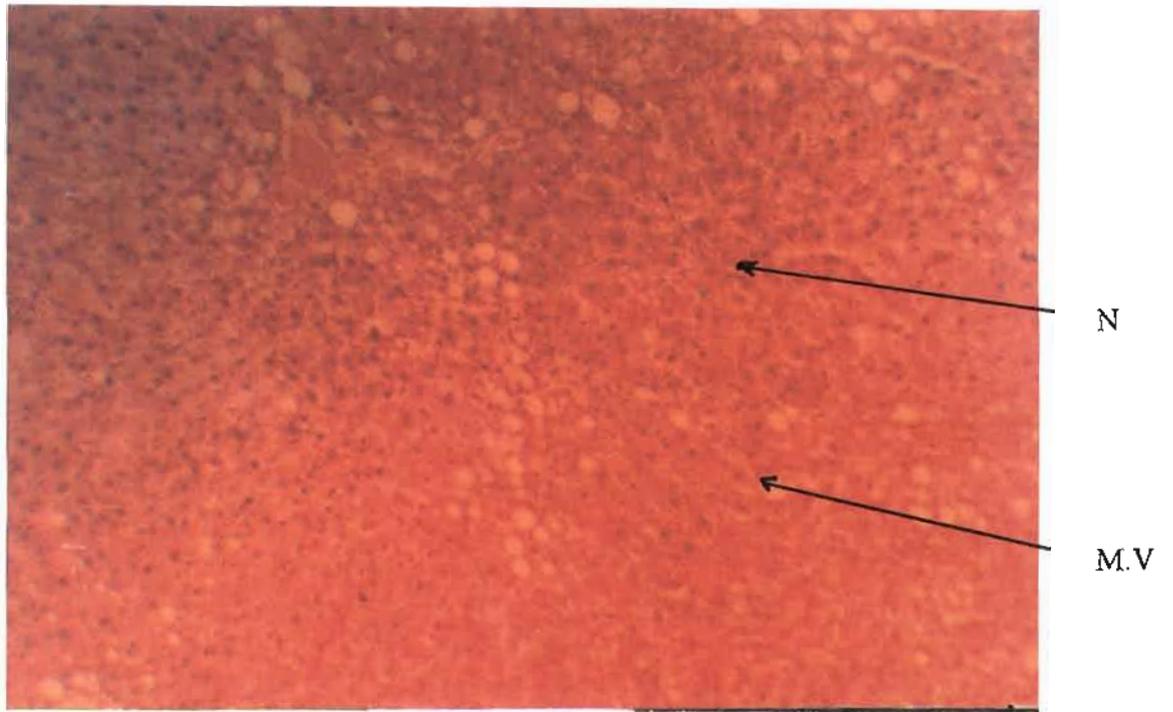


Figure 22 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au Ccl4 après traitement au *Lippia multiflora* 400 mg/kg G.X.250 Aspect de stéatose microvésiculaire modérée (M.V) plus nécrose (N)

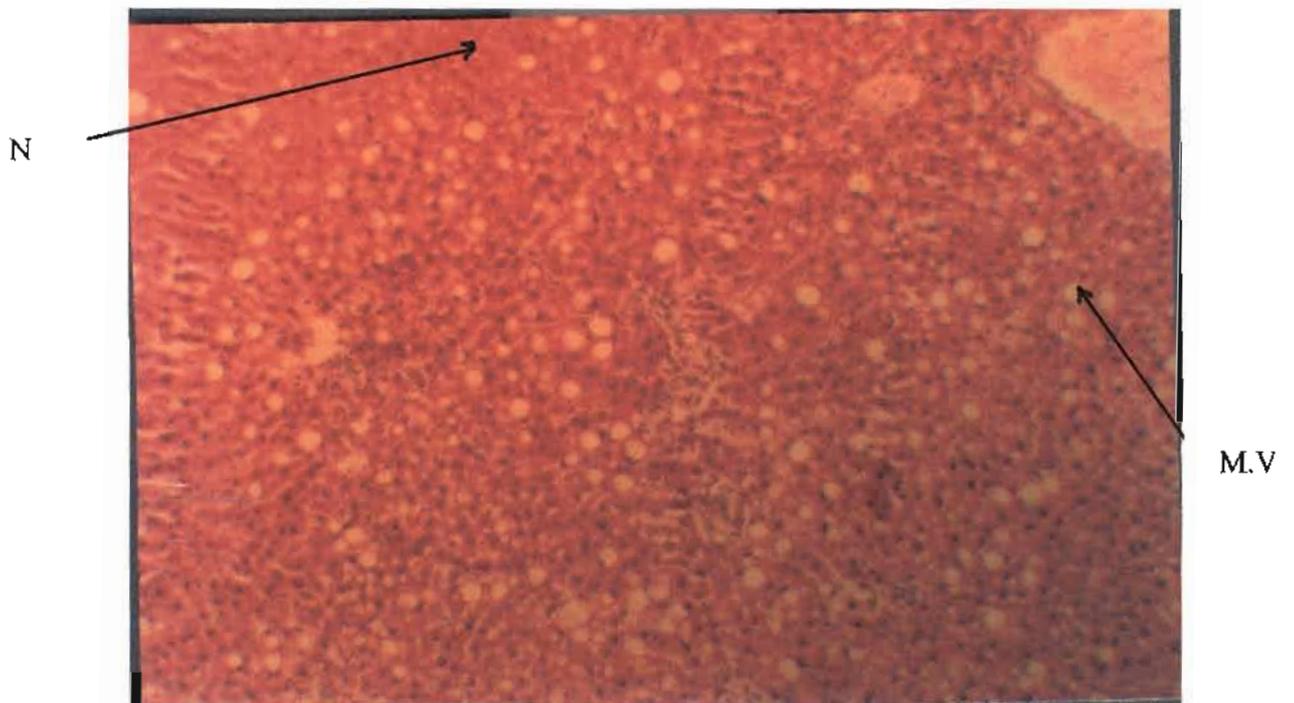


Figure 23 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au Ccl à 2,5 ml/kg, après traitement au *Tétra* 0,45 ml/kg G.X.250 Aspect de steatose microvésiculaire (M.V) plus nécrose (N)

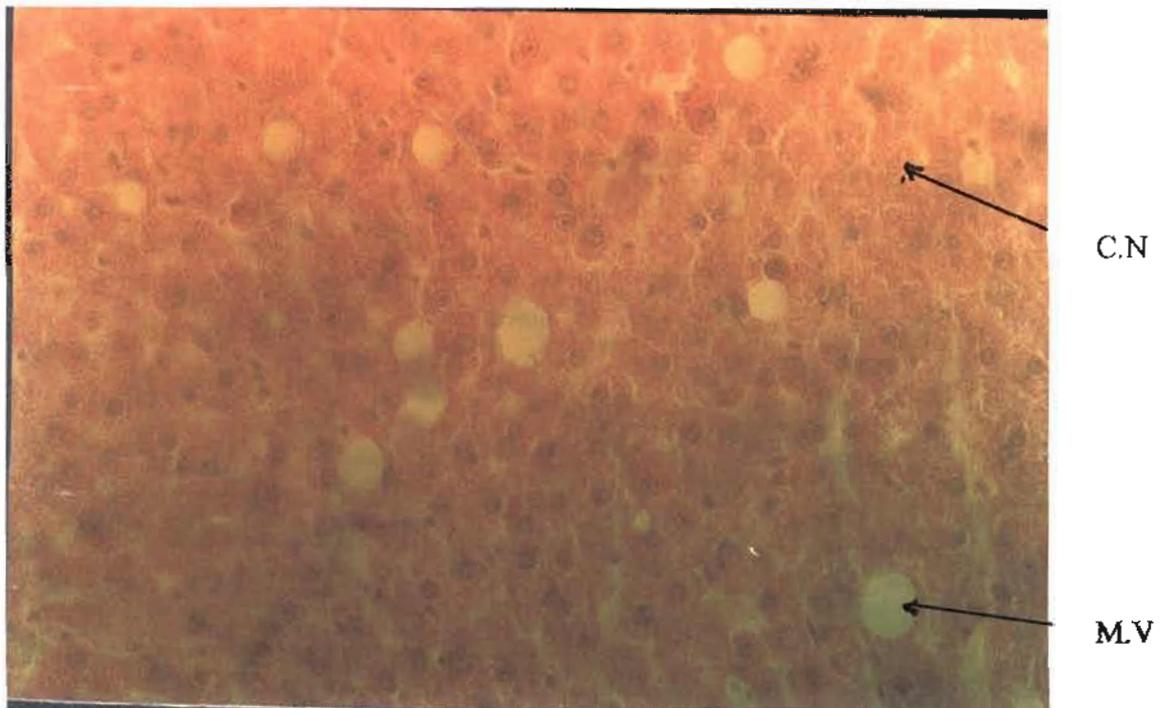


Figure 24 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au Tétrachlorure de carbone après traitement par le Tétrà 0,90 ml/kg par voie orale G.X.400 Aspect de steatose macrovésiculaire (M.V), et empâtement plus clarification nucléaire (C.N)

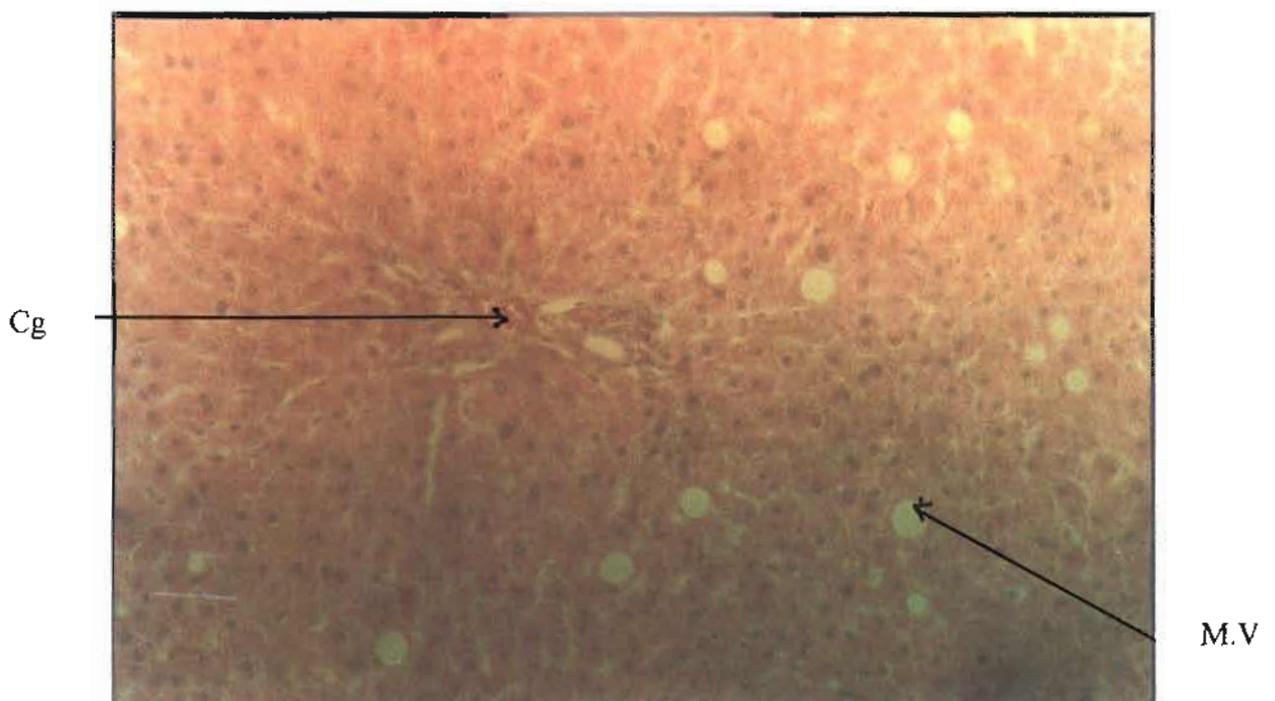


Figure 25 : micrographie d'une section de foie de rat intoxiqué, au Tétrachlorure de carbone après traitement à la silymarine ou légalon à 100mg/kg par voie orale G.X.250 Aspect de steatose microvésiculaire(M.V) modérée , avec structure hépatique plus ou moins conservée au niveau de la veine centrolobulaire (V.C.l), plus empâtement et congestion(Cg)

3.4. Discussion - conclusion

□ Discussion

Au regard des résultats obtenus, il ressort ce qui suit :

- sur le plan biochimique

L'intoxication au tétrachlorure de carbone qui est l'un des modèles utilisés, pour l'étude de l'hépatotoxicité [23 ;96 ;166] entraîne l'augmentation de 2 à 3 fois la valeur normale des transaminases (SGOT et SGPT) et de la phosphatase alcaline ces données témoignent bien d'une cytolyse hépatique. Il faut cependant noter que les valeurs des activités enzymatiques obtenues chez les témoins dans la présente étude sont légèrement supérieures à celles de la littérature [155 ;166]. L'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure met en jeu de nombreux processus biochimiques, lipoperoxydation, liaisons covalentes, inactivations enzymatiques diverses entraînant ainsi une nécrose dont l'étendue est très variable [60]. Le CCl_4 entraîne aussi une déplétion du glutathion réduit [100]. Ce sont donc ces mécanismes biochimiques qui aboutissent à la cytolyse hépatique et donc à l'augmentation de l'activité des transaminases.

Aux doses utilisées, le *Lippia multiflora* (400mg/kg), le Tétracel® (0,45 ml/kg) et la silymarine (100mg/kg), s'opposent significativement à la toxicité hépatique induite par le tétrachlorure de carbone. En revanche, le Tétracel® à la dose de 0,90 ml/kg ne s'oppose pas efficacement à l'hépatotoxicité.

L'effet hépatoprotecteur le plus important est observé avec la silymarine ; substance de référence utilisée, suivie du *Lippia multiflora*, et du Tétracel® à la dose de 0,45ml/kg ; cependant, comme pour l'intoxication au paracétamol, l'effet bénéfique du Tétracel® semble diminuer avec l'augmentation de la dose. Il est donc possible que le Tétracel® 0,45 ml/kg, le *Lippia multiflora* et la Silymarine agissent comme certains extraits de plantes par inhibition de la lipoperoxydation [6 ;54] induite par le tétrachlorure réduisant ainsi la lyse cellulaire et donc la libération des enzymes cytoplasmiques.

- sur le plan histopathologique

Le traitement par le tétrachlorure de carbone entraîne une hépatocytolyse, se traduisant par une stéatose macro et microvésiculaire avec destruction massive des structures hépatiques associées à de la nécrose de coagulation hépatocytaire diffuse. Les traitements par le *Lippia multiflora*, le Tétracel® et la silymarine révèlent des parenchymes normaux ou subnormaux avec des congestions au niveau des espaces-portes. Ces traitements révèlent également des sinusoides dilatés et élargis avec une congestion des veines centrolobulaires.

Ces données confirment au niveau cellulaire un certain effet protecteur des substances étudiées

1 Conclusion

Le *Lippia multiflora* et le Tétracel® aux doses respectives de 400mg.kg et 0,45ml/kg, présentent un certain effet hépatoprotecteur, car ils s'opposent d'une manière significative à l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone.

**DISCUSSION ET CONCLUSION
GENERALES**

1. Discussion générale

L'objectif de la présente étude était de :

- déterminer le profil chimique de la recette Tétr@ et de l'extrait aqueux de l'un de ses constituants, le *Lippia multiflora*.
- évaluer d'une part les effets secondaires du Tétr@ et l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* notamment au niveau hépatique, d'autre part le potentiel hépatoprotecteur de ces deux préparations sur les modèles classiques d'hépatotoxicité chez le rat .

Les résultats obtenus révèlent que :

- Le Tétr@ et l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* renferment les groupes chimiques polaires
- Le Tétr@ et le *Lippia multiflora* sont bien tolérés notamment au niveau hépatique et hématologique
- Le Tétr@ et le *Lippia multiflora* aux doses respectives de 0.45ml/kg et de 400mg/kg, présentent comme la silymarine, (substance de référence), un certain effet hépatoprotecteur, car ils s'opposent d'une manière significative à l'hépatotoxicité induite par le paracétamol ou le Tétrachlorure de carbone, effet protecteur confirmé sur le plan pharmacologique par une moindre potentialisation du sommeil barbiturique chez les animaux ayant subi les traitements précités, après intoxication au paracétamol, comparativement au lot témoin.

Aucun travail n'a jusque là mis en évidence les constituants chimiques du Tétr@ et de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora*. Il est vrai que de nombreuses études ont été consacrées à l'huile essentielle [3;5;28 ;31 ;91;126;140 ;164], mais pas à l'extrait brut du *Lippia multiflora*.

Les résultats du présent travail montrent que certaines substances chimiques présentes dans l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* (stéroïdes) sont absentes de la recette, de même d'autres constituants (chlorures d'anthocyanidine) présents dans la recette, sont absents dans l'extrait aqueux du *Lippia multiflora*. Cependant Tétr@ et *Lippia multiflora* ont en commun des acides aminés, des glucides, des tanins condensés et galliques, des flavonoïdes, des saponines, et des polyphénols.

Le Tétr@, commercialisé au Congo depuis 1995 n'a pas encore fait l'objet de nombreuses études scientifiques, bien qu'un travail préliminaire [29] ait montré que cette recette est beaucoup utilisée par la population. L'on sait par ailleurs que l'inventeur du Tétr@ signale que son produit ne présente aucun effet indésirable.

Il est donc important de rechercher scientifiquement les effets indésirables de cette préparation. Déjà une étude clinique [4] avait montré sa bonne tolérance hépatique, rénale, et cardiovasculaire, chez le volontaire sain et le malade.

La présente étude confirme cette bonne tolérance du Tétra® aux doses thérapeutiques, notamment au niveau hépatique (ceci après des études de toxicité aiguë, subaiguë), alors qu'un traitement continu de 90 jours (toxicité subchronique) révèle une certaine atteinte hépatique. En effet l'usage des plantes médicinales, bien que faisant partie de notre patrimoine culturel ne peut faire évacuer leur éventuelle toxicité comme en témoignent les lésions digestives rapportées au CHUB, après absorption des extraits à base des plantes (données non publiées).

Les résultats de la présente étude constitue donc un élément favorable pour la recette du Tétra® et son constituant, tenant compte du fait qu'aucun traitement au long cours n'est proposé par le tradithérapeute. Ces observations permettent aussi de montrer la nécessité de coupler les résultats biochimiques, traduits par les activités des transaminases et les données histologiques dont les lésions qui sont légères dans certaines conditions, peuvent devenir importantes dans d'autres.

Les propriétés hépatoprotectrices du *Lippia multiflora* sont signalées dans la littérature [57]. L'on peut penser que cette activité puisse aussi se retrouver, dans le Tétra®, d'où l'intérêt de rechercher, les éventuels effets hépatoprotecteurs de cette recette et de les comparer à ceux du *Lippia multiflora*.

Les résultats obtenus montrent que le Tétra à la dose de 0,45 ml/kg comme le *Lippia multiflora* à 400 mg/kg, et la sylimarine 100 mg/kg possèdent bien une activité hépatoprotectrice sur les modèles de l'hépatotoxicité au paracétamol et Tétrachlorure de carbone, modèles largement utilisés pour la mise en évidence de l'hépatoprotection [59]. En effet ces tests in vivo, constituent un choix d'évaluation globale de l'activité hépatoprotectrice des substances, contrairement aux études in vitro qui bien qu'intéressantes, par le maintien de l'activité métabolique hépatocytaire, sur de courtes périodes, par le contrôle beaucoup plus aisé de l'environnement physico-chimique, mais également des conditions d'intoxication lors d'essais pharmacologiques, par une grande homogénéité des échantillons, et enfin par une économie de produits à tester, par rapport aux quantités utilisées au cours d'expérimentation in vivo, ont l'inconvénient d'être étrangères à certaines considérations d'ordre pharmacocinétique, de n'observer que des événements purement cellulaires, alors qu'in vivo, une partie des phénomènes toxiques peut être de nature immunoallergique ou de nature tissulaire à type de réactions inflammatoires de fibroses, de scléroses [59].

Il faut toutefois mentionner qu'il est reproché au tétrachlorure de carbone un métabolisme relativement complexe donnant lieu à des métabolites (chloroforme, phosphagène, monoxyde de carbone) qui peuvent développer une toxicité à leur propre compte [18]

Il faille enfin signaler que les valeurs biochimiques des témoins obtenus avec les deux modèles utilisés sont largement supérieures à celles de la littérature [59]. Cette différence peut s'expliquer par d'importantes variations interindividuelles sur les valeurs des transaminases : variations que reconnaissent d'ailleurs FLEURENTIN et JOYEUX [60] qui rapportent par exemple pour les GPT des variations de 150 à 7500 U/L. Néanmoins les résultats de cette partie de travail montrent bien que le Tétra à dose faible (0,45 ml/kg) possèdent des effets hépatoprotecteurs qui disparaissent à des doses plus élevées. HOFLEER et al [74] ont aussi observé le même phénomène avec le *Rosmarinus officinalis* dont l'effet hépatoprotecteur optimal à 100mg/kg, diminuait avec l'augmentation de la dose alors que LEXA et al [98] trouvent un effet hépatoprotecteur comparable chez *Eupatorium cannabinum* avec les doses de 250, 500 et 1000 mg/kg.

Cette activité qui peut être en partie attribuée à la présence du *Lippia multiflora* dans cette recette, est inférieure à celle de la substance de référence, (la silymarine) elle même extraite de la graine de *Silybum marianum*. Peu de travaux étudiant les plantes à potentialités hépatoprotectrices ont utilisé un produit de référence [143 :163 :170] alors que celui-ci permet de situer l'activité des préparations étudiées par rapport aux produits existants sur le marché.

L'effet bénéfique du Tétra® et du *Lippia multiflora* sur l'état fonctionnel de l'hépatocyte est confirmé par le test de la potentialisation du sommeil barbiturique. En effet le pentobarbital induit un sommeil qui peut être potentialisé par certaines substances, et réduit par d'autres. Cette potentialisation ou cette réduction dépend de la fonctionnalité des hépatocytes, qui vont assurer la dégradation métabolique du barbiturique à travers le cytochrome P 450 [86]. Lorsque l'état fonctionnel des hépatocytes est altéré par le paracétamol, la dégradation du barbiturique est ralentie et le temps de sommeil augmente [86] c'est ce qui est observé dans la présente étude.

L'antagonisme de l'augmentation de la durée de sommeil induit par le pentobarbital par le Tétra® 0,45 ml/kg, le *Lippia multiflora* 400 mg/kg, et la silymarine à 100 mg/kg détermine indirectement et confirme l'effet hépatoprotecteur des ces préparations.

Quel est le mécanisme de cette hépatoprotection observée avec le Tétra® et le *Lippia multiflora* ?

Les intoxications par le paracétamol et par le tétrachlorure de carbone, entraînent une augmentation des paramètres biochimiques (transaminases,

bilirubine, phosphatase alcaline) après cytolyse suite à des perturbations structurales de la membrane hépatocytaire soit par le métabolite réactif, le N-acétyl-P-benzoquinone imine (cas du paracétamol), soit par lipoperoxydation et la formation de liaisons covalentes (cas du tétrachlorure de carbone).

Le Tétr@ et le *Lippia multiflora*, comme la silymarine pourraient s'opposer à la déplétion du stock hépatique de glutathion, assurant ainsi soit la détoxification du métabolite réactif, soit l'inhibition de la lipoperoxydation en diminuant la formation des radicaux libres par effet inhibiteur sur les cytochromes P450 et ses isoenzymes dont les activités seraient alors réduites. Enfin, les propriétés anti-inflammatoires du Tétr@ [5] pourraient contribuer à l'effet antihépatotoxique.

Cet effet hépatoprotecteur serait-il en relation avec la constitution chimique de ces préparations ?

Les résultats des screening chimiques du Tétr@ et du *Lippia multiflora* révèlent la présence des polyphénols et des flavonoïdes. Ces substances possèderaient des effets hépatoprotecteurs, lesquels ont été largement décrits [7;9 ;20 ;47 ;53 ;58 ;76 ;107 ;112 ;121;130 ;135 ;136 ;150 ;173 ;176].Elles pourraient donc être en partie impliquées dans l'hépatoprotection observée avec le Tétr@ et le *Lippia multiflora* dans la présente étude.

2. Conclusion générale

Le présent travail a permis d'apporter une importante contribution sur la toxicité et les effets hépatoprotecteurs du Tétrax® et du *Lippia multiflora*

Dans la première partie de ce travail nous avons pu identifier dans les deux drogues les groupes chimiques polaires. Il s'agit de :

- Glucides, acides aminés, composés réducteurs, tanins condensés et galliques, polyphénols, saponines, et chlorures d'anthocyanidine dans le Tétrax®
- Glucides, acides aminés, tanins condensés et tanins galliques, polyphénols, saponines, flavonoïdes, et des stéroïdes dans le *Lippia multiflora*.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons montré que le Tétrax® et le *Lippia multiflora* présentent une toxicité aiguë et subaiguë négligeables. Les lésions observées au cours de la toxicité subchronique suggèrent une certaine prudence lors de l'utilisation prolongée où une surveillance de la fonction hépatique s'impose.

Dans la troisième partie, nous avons mis en évidence les propriétés hépatoprotectrices du Tétrax® et du *Lippia multiflora*. Comparativement à l'action hépatoprotectrice de la silymarine, celles du Tétrax® et du *Lippia multiflora* sont moins importantes, comme en témoignent les résultats sur les données biochimiques, histopathologiques et pharmacologiques. Des deux doses de Tétrax® administrées (0,45 ml/kg et 0,90 ml/kg), seule celle de 0,45 ml/kg présente une activité hépatoprotectrice significative. Au-delà, cette activité diminue.

L'action hépatoprotectrice du Tétrax® et du *Lippia multiflora* pourrait être attribuée à certaines substances chimiques tels que les composés polyphénoliques (flavonoïdes et tanins) et certains stéroïdes, que l'on retrouve dans la plupart des plantes à vertus hépatoprotectrices et antioxydantes.

PERSPECTIVES

Perspectives

En relation avec les laboratoires plus équipés :

- Étudier les effets du Tétracel et du *Lippia multiflora* sur le cytochrome P450 et ses isoenzymes dans les mêmes conditions expérimentales que les nôtres.
- Doser les taux de glutathion hépatique, afin de comprendre le mécanisme intime des effets du Tétracel et du *Lippia multiflora*.
- Réaliser des cultures hépatocytaires afin d'étudier in vitro les effets du Tétracel et du *Lippia multiflora*.
- Réaliser un screening pharmacologique avec les autres plantes de la recette..

SUMMARY

The aim of the present study is

- to determine the chemical profile of Tetra® and aqueous extract of its component, *Lippia multiflora* ;
- to evaluate the side effects of Tetra® and constituent aqueous extract of *Lippia multiflora* on the normal liver ;
- to evaluate the hepatoprotective activity of the two preparations on the classical models hepatotoxicity in rat ;

Results this study reveals that steroids can only be found in the aqueous extract of *Lippia multiflora* whereas anthocyanidin chlorides exist in Tetra®. Conversely, the following components exist in Tetra® as well in the aqueous extract of *Lippia multiflora*: aminoacids, glucids, flavonoids, tanins, saponins and polyphenols. Investigations on acute, subacute and subchronic toxicity have revealed slight moderate lesions in the liver ; this means that the liver tolerates Tetra® and the aqueous extract of *Lippia multiflora* fairly well. Indeed, orally administered to rat. Tetra® 0.45 ml/kg, *Lippia multiflora* 400 mg/kg and Silymarin (Legalon)100 mg/kg seriously prevent ($p < 0,001$) the increase of total bilirubin, Transaminase pyruvate glutamate, Transaminase oxaloacetate glutamate and alcalin phosphatase caused by paracetamol and carbon tetrachloride. Conversely Tetra® 0.90 ml/kg induces a slight but no significant increase of enzymatic activities, and a very high bilirubinemia ($p < 0,001$) as compared with Tetra® 0.45 ml/kg (paracetamol intoxication). The hepatic lesions that can be observed (necrosis and steatosis) are less important than those found in control group (paracetamol + distilled water) and (carbon tetrachloride + distilled water), showing sometimes a normal or subnormal architecture. The duration of sleeping induced by pentobarbital in intoxicated animals (paracetamol) which taken the Tetra® 0,45 ml/kg, *Lippia multiflora* 400 mg/kg, silymarin 100 mg/kg is quite shorter ($p < 0,001$) than that of animal which takes distilled water + paracetamol. Conversely, with reference to the intoxicated rats which have taken the Tetra® 0,45 ml/kg, the duration sleeping was much longer for those which have taken Tetra® 0,90 ml/kg, ($p < 0,05$). In the light of all these data, it might be suggests that Tetra®, when taken in low dose (0,45 ml/kg) possess hepatoprotective properties. This effect could be attributed to the extract of *Lippia multiflora* which is known as hepatoprotective. In conclusion, the aqueous extract of *Lippia multiflora* and Tetra® are drugs rich in polar constituents. Those preparations which are relatively well tolerated by normal liver possess hepatoprotective properties which are weaker than that of the reference substance, silymarin. These observations are in agreement with the folk use of *Lippia multiflora* and suggests the important place of this plant in hepatoprotective activity of Tetra®.

Keywords : Tetra®, *Lippia multiflora*, silymarin, paracetamol, carbon tetrachloride, hepatotoxicity, chemical screening.

BIBLIOGRAPHIE

1. **ABENA AA , BIOKA D, BADILA SAMBA C, HONDI-ASSAH Th, DIATEWA M** (1997). Propriétés tranquillisante et antalgique du *Lippia multiflora* *Pharm. Med. Trad. Afr.* **9: 94-107**.
2. **ABENA AA , NGONDZO-KOMBETI GR, BIOKA D.**(1998). Propriétés psychopharmacologiques du *Lippia multiflora*. *Encephale* **24(5): 449-454**.
3. **ABENA AA, ATIPO-EBATA J K, HONDI-ASSAH Th, DIATEWA M.** (2001). Propriétés psychopharmacologiques de l'extrait aqueux et de l'huile essentielle du *Lippia multiflora*. *Encephale: 27(4): 360-364*
4. **ABENA AA, BOUTETE F R, NTSIBA H, NGOUONI G R, DIATEWA M, HONDI-ASSAH Th.**(2002). Etude clinique d'un phytomédicament congolais : le Tétraxol. *Phytoterapie, 14 : 5-9*.
5. **ABENA AA, DIATEWA M, GAKOSSO G, GBEASSOR M, HONDI-ASSAH Th, OUAMBA J M.**(2003). Analgesic, antipyretic and inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia, 74(3): 231-236*.
6. **ABE H, SAKAGUCHI M, ODASHIMA S, ARICHI S.** (1982). Protective effect of saikosaponin-d-isolated from *Bupleurum falcatum* L. on CCl₄-induced liver injury in the rat. *Naunym Schmiedebergs. Arch. Pharmacol, 320(2): 266-271*.
7. **ADANISKA T, MLYNAREZYK W, JODYNIS-LIEBERT, BYLKA W, MATLAWSKA I.** (2003). Hepatoprotective effect of the extract and isocytisoid from *aquilegia vulgaris*. *Phytotherapy Research, 17(6): 691-696*.
8. **ADJANOHOUN EJ, AHYI AM, AKE ASSI JB, BANIAKINA et al.** (1988). Médecine traditionnelle et pharmacopée. *Ed. ACCT,(1): P 79-80*.
9. **ADZET T, CAMARASA J, LAGUNA J C.** (1987). Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *cynara scolymus* against CCl₄ Toxicity in isolated rat hepatocytes. *J. Nat. Prod, 50(4) : 612-617*.
10. **ADNYANA I K, TEZUKA Y, AWALE S, BANSKOTA A H, TRAN K Q, KODATA S.** (2001). 1-O-galloyl-1-6-O-(4-hydroxy-3,5 dimethoxy) benzoyl-beta-D-glucose, a new hepatoprotective constituent *Combretum quadrangulare*. *Planta. Med, 67(4): 370-371*.

11. AHMED A, PILLAI K K, MAJMI AK, AHMAD S I, PAL S , BALANI D K. (2002). Evaluation of hepatoprotective potential of Jigrine post-treatment against thiacetamide induced hepatic damage. *J. Ethnopharmacol*, 79(1) : 35-41.
12. AHMED B, ALAM T, KHAN S.A. (2001). Hepatoprotective activity of *Luffa echinata* fruits. *J. Ethnopharmacol*, 76(2) : 187-189.
13. AHMED B, AL-HOWIRINY T A, MATHEW R. (2002). Antihepatotoxic activity of *Phyllanthus fraternus*. *Pharmazie*, 57(12): 855-856.
14. AKTAY G, DELIORMAN D, ERGUN F, YESILADA E, CAVIK C, (2000). Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury. *J. Ethnopharmacol*, 73(1-2) : 121-129.
15. ALDERMAN S, KAILAS S, GOLDFARB S, SINGARAM C, MALONE D G. (1994). Cholestatic Hepatitis after ingestion of chapparol, leaf confirmation by endoscopic retrograde cholangiopancreatography and liver biopsy. *J. Clin. Gastroenterol*, 19: 142-247.
16. ALI B H, BASHIR AK, RASHEED R.A. (2001). Effect of the traditional medicinal plants *Rhazya stricta*, *Balanitis aegyptiaca* and *Haplophylum triberculatum* on paracetamol-induced hepatotoxicity. *Phytother. Res.* 15(7) : 598-603.
17. AMAGAYA HAYAKAWA M, OGIHARA Y, OHTA Y, FUJIWARA K, OKA H, OSHIO H, KISHI, . (1989). Treatment of chronic liver injury in mice by oral administration of Xiao-Chai-Hu-Tang. *J. Ethnopharmacol*, 25 : 181-187.
18. ANDERS M W. (1984). Biotransformation of halogenated hydrocarbons in drug metabolism and drug toxicity 55-70. Mitchell J. R; Horning M.H (ed) *Raven press, New-York; 436P.*
19. ANDERSON IB , MULLEN W H, MECKER S E. (1996). Penicillamine toxicity: measurement of toxic metabolite levels in two cases and review of the literature. *Ann. Int. Med.* 124: 726- 734.
20. ANON M T, UBEDA A, ALCARAZ M I. (1992). Protective effects of phenolic compounds on CCl₄-induced toxicity in isolated rat hepatocytes. *Z. Naturforsch [C]*. 47(3-4): 275-279.

21. **ARASE Y, IKEDA K, MURASHIMA N, CHAYAMA K, TSUBOTA A, KOIDA I, et al.** (1997). The longterm efficacy of glycerrhizin in chronic hepatitis C patients. *Cancer*. **79**: 1494-1500.
22. **ARVIS P Y.** (1989). Utilisation des hépatocytes en culture pour le criblage toxico-pharmacologique de substances naturelles hépatotropes. *These de doctorat de l'université de Metz (France)* 236p.
23. **ASHA V V, PUSHANGADAN P** (1998). Preliminary evaluation of the antihepatotoxic activity of *Phyllanthus Kozhikodianus P. maderaspatensis* and *Solanum indicum*. *Fitoterapia*. **69(3)** : 255-259.
24. **AUCAMPS J, GASPAR A, HARA Y, APOSTOLIDES Z.** (1997). Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*camellisinensis*). *Anticancer. Res.* **17(6D)**: 4381-4385.
25. **BADRIA F A, MC CHESNEY, HALIM A F, ZAGHLOUL A M, EL SAHED K A** (1995). Time course and inhibition of stavarside K, veratramine and cevine induced hemolysis by over pregnane glycosides and veratrum alkaloids. *Pharmacie*. **50**:421-423.
26. **BAHAR A, TAWREQ A, AL – HOWIRINY, ABU B, SIDDIQUI.**(2003): Antihépatotoxique activity of seed of *Cichorium intybus*. *J. Ethnopharmacol.* **87(2-3)** : 237 à 240
27. **BANSKOTO A H, TEZUKA Y, ADNYANA I K, ISHÜ E, MIDORIKAWA K, MATSUSHIGE K, KADOTA S.** (2001). Hepatoprotective and anti-helicobater pylori activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine*, **8(1)**: 16-23.
28. **BASSOLE I H, OUATTARA A S, NEBIE R, OUATTARA C A, KABORE Z I, TRAORE S A.** (2003). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry*, **62(2)**: 2009-212;
29. **BAZEKA G B.** (2002). Etude de l'effet anti-ulcéreux du Tétra® et de l'Ageratum conyzoides. *Memoire.F.S.S.A. Université Marien NGOUABI* 69P.
30. **BEN YAHIA M, MAVIER P, MATREAU J M.** (1993). Hépatite chronique active et cirrhose induites par la germandrée petit-chêne à propos de trois cas. *Gastroenterol. Clin. Biol*, **17**: 959-962.

31. **BENOIT F, VALENTIN A, PELISSIER Y, DIAFOUKA F, MARION C, KONE-BAMBA D, KONE M, MALLIE M, YAPO A, BASTIDE I M.** (1996). In vitro antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional. *Am. J. Trop. Med. Hug*, **54(1): 67-71.**
32. **BERNEU J, MIROUZI D.** (1982). "Foie cardiaque". *Gastroenterol. Clin. Biol*, **6: 143-147.**
33. **BHAKRA T, MUKHERJEE P K, MUKHERJEE K, BANERJEE S, MANDAL S C, MAITY T K, PAL M, SAHA B P.** (1999). Evaluation of hepatoprotective activity of Cassia fistula leaf extract. *J. Ethnopharmacol*, **66(3): 277-282.**
34. **BIOUR M, POUPON R, GRANGE J D, CHAZOUILLERES O, JAILLON P.** (1998). Hépatotoxicité des médicaments : 12^{ème} mise à jour du fichier bibliographique des atteintes hépatiques et des médicaments responsables. *Gastroenterol. Clin. Biol*, **22: 1004-1044.**
35. **BIRK Y, PERI I.** (1980). Saponins in : Lierner I.E (ed). Toxic constituents of plant foodstuffs. *Academic Press, New York*, pp. **161-182.**
36. **BISHAYEE A, SARKAR A, CHATTERJEE M.** (1995). Hepatoprotective activity of carrot (*Daucus carota* L) against carbon tetrachloride intoxication in mouse liver. *J. Ethnopharmacol*, **47(2): 69-74.**
37. **BISHAYI B, ROYCHWDHURY S, GHOSH S, SENGUPTA M.**(2002). Hepatoprotective and immunomodulatory properties of *Tinospora cordifolia* in CCl₄ intoxicated mature albinos rats. *J. Toxicol sci*, **27(3): 139-146.**
38. **BRAS G, JELIFFE D B, STUART K L.** (1954). Veno-occlusive disease of liver with non-portol type of cirrhoses occurring in Jamaica. *Arch. Pathol*, **57: 285P.**
39. **CAROLI J, REBET A.** (1975). Précis de maladie du foie, du pancréas et des voies biliaires. *Ed Mason*, **P213-220.**
40. **CASTING D, SMAIL A.** (1989). Anatomie du foie et des voies biliaires. *Encycl. Med Chir: Hépatologie*. **7-001-A10-12p.**
41. **CAMPOS R, GARRIDO A, GUERRA R, VALENZUELA A** (1989) : Silibin dihemisuccinnate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta. Med*, **55: 417-419.**

42. **CHAN IM, RYU JC, PARK YC, YUN HS, YANG KH.** (1983). Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride induced liver damage in mice. *Drug. Chem. Toxicol*, 6(5): 443-453.
43. **CHHAYA GADGOLI, MISHRA S H** (1995): Preliminary screening of *Archillea millefolium cichorium intubus* and *Capparis spinosa* for antihepatotoxic activity: *Fitoterapia* 66 (4): 319-323.
44. **CHEMLI R, TOUMI A, OUESLATI S, ZOUAGHI H, BOUKEF K, BALANSARD G** (1990). *Calendula arvensis* L. Impact des saponines sur la toxicité, le pouvoir hémolytique et l'activité anti-inflammatoire. *J. Pharm. Belg.*45:12-16.
45. **CHIN Y W, LIN S W, KIM S H, SHIN DY, SUH YG, KIM YB, KIM Y C, KIM J.** (2003). Hepatoprotective pyrrole derivatives of *Lycium chinense* fruits. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 6,13(1) : 79-81.
46. **CHO H, JUN JY, SONG EK, KANG KH, BACK HY, KO YS, KIM YC.** (2001). Bukuchiol a hepatoprotective compound of *Psoralea corylifolia* on tacrine-induced cytotoxicity in hep G₂ cells. *Planta. Med*, 67(8): 750-751.
47. **CHUNG J Y , PARK J O, PHYU H, DONG Z, YANG CS** (2001). Mecanisms of inhibition of the Ras-Map Kinase signaling pathway in 30.7b Ras 12 cells by tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate and theaflavin-3,3-digallate. *FASEB J*,15(11): 2022-2024.
48. **CUILEI I.** (1982). Methodology for analyses of vegetable drug praticol manuels on industrial utilisation of medecinal and aromatic plants. *Ministry of chemical industry Bucharest.* 16-27.
49. **DAO.T , PEYTIER A, GALATEAU F , VALLA A.** (1993). Hépatite chronique cirrhogène à la germandrée petit-chêne. Gastroenterology. *Clin. Biol*, 17 : 9-10.
50. **DATTA D V, KHUROO M S, MATTOCKS A R, AIKT BK, CHHUTTANI P N.** (1978). Herbal, medecine and veno-occlusive disease in india. *Prostagrad. Med. J*, 54: 511-515.
51. **DHAWAN A, ANDERSON D, DEPASCUAL-TERESA S, SANTOS-BUELGA C, CLIFF M N, IONNIDES C.** (2002). Evaluation of the antigenotic potential of monomeric and dimeric flavonols and black tea polyphenols against heterocyanine induced DNA damage in human lymphocytes using th comet assay. *Mutat. Res.* 25;515(1-2):39-56

52. **DE. S, SHULA V J, RAVISHANKAR B, BHAVSAR GC.** (1996). A Preliminary study on the hepatoprotective activity of methanol extract of *Pedicularia foetida* leaf. *Fitoterapia*, 67(2): 106-109.
53. **DIALLO B, VANHAELEN-FASTRE R, VANHAELEN M, FIEGEL C, JOYEUX M, ROLAND A, FLURENTIN J.** (1992). Further studies on the hepatoprotective effects of *cochlospermum tinctorium* rhizomes. *J. Ethnopharmacol*, 36(2) : 137-142.
54. **DIALLO A, NDIAYENIANG M, NDIAYE A K, DIENG C, FAYE B.** (1977). Étude de l'effet hépatoprotecteur d'une plante de la pharmacopée sénégalaise : *Tinospora Bakis* (MENISPERMACEAE) à partir d'un modèle in vitro. *Pharm. Med. Trad. Afr.* (9): 24-32
55. **DIATEWA M, BADILA SAMBA C, HONDI-ASSAH T C, M'FINA MINIMBOU R E, ABENA A A.** (2003). Contribution à l'analyse chimique et à l'étude in vitro du pouvoir hémolytique du Tétracel®. *Rev. Med. Pharm. Afr*, 17 : 29-34.
56. **DIATEWA M, BADILA SAMBA C, KOKOLO J, HONDI-ASSAH T C, ABENA AA.** (2002). Macrovesicular steatosis and hepatitis induced by water extract of *cogniauxia poedoleana* leaves in rat. *Pharmacol. Rev. communication*, 12: 223- 228.
57. **ENDA TIERS-MONDE** (1986). Plantes médicinales. *Encyclopédie médicale d'Afrique*, 4 : 1081 P
58. **FAHIM FA, ESMAT A Y, FADEL H M, HASSAN K F.** (1999). Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *Int. J. Food-Sci Nutr*, 50(6): 413-427.
59. **FENG Q, TORÜ Y, UCHIDA K, NAKAMURA Y, HARA Y, OSAWA T.** (2002). Black tea polyphenols, theaflavins, prevent cellular DNA damage by inhibiting oxidative stress and suppressing cytochrome P450 1A1 in cell cultures. *J. Agric Food chem.*, 2: 50(1): 213-220.
60. **FLEURENTIN J, JOYEUX M.** (1993/1994). Les tests in vivo et in vitro dans l'évaluation des propriétés antihépatotoxiques de substances d'origine naturelle. *Phytotherapy* : 40/41 : 9-16.

61. FOX DW, HART MC, BERGESON PS, JARRET PB, STILLMAN AE, HUXTABLE R J. (1978). Pyrrolizidine (senecio) intoxication mimicking reye's syndrome. *J. Pediatric*, 93: 980-982.
62. GALLOWAY J II, MARSH I D, BITTNER I D, MESSENGER A G, GAWTRODGER D J, GLET R. (1997). Chinese herbs for eczema, the active compound. *Lancet*, 337: 566.
63. GAMBOMI-KIBAH J.(2002).Contribution à l'étude des effets subchroniques du Tétrac® chez le rat. *Mémoire F.S.S.A. Université Marien NGOUABI*, 35P.
64. GERMANO M P, D'ANGALO K, SANOGO R, MORABITO A, PERGOLIZZI S, DE PASQUALE R. (2001). Hepatoprotective activity of *Trichilia roka* on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *J. Pharm. Pharmacol*, 53(11): 1169-1174.
65. GILIANI A U, JANBAZ K H. (1995). Studies on protective effect of *Cyperus scariosus* extract on acetaminophen and CCl₄ -induced hepatotoxicity. *Gen. Pharmacol*, 26(3): 627-631.
66. GILIANI A H, JAMBAZ K H. (1994). Hepatoprotective effects of *Artemisa scoparia* against carbon tetrachloride: and environment contaminant. *J. Park. Med. Assoc*, 44(3): 65-68.
67. GOLE M K, DASGUPTA S. (2002). Role of plant metabolite in toxic liver injury. *Asia. Parc. J. Clin. Nutr*, 11(1) : 48-50.
68. GONGAULT B C.(1996). Etude de la composition chimique et des propriétés antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle du *Lippia multiflora*. *Mémoire. F.S.S.A. Université Marien NGOUABI*, 34P
69. GORNALL A G, GOLDBERG D M. (1986). Hepatobiliary disorders in GORNALL AG, (ed) applied biochemistry of clinical disorders *Lippincott company, Philadelphia: pp139-171*.
70. HAMID S, ROJTER S, VIERLING I. (1997). Protracted cholestatic hepatitis after the use of protata. *Ann. Inter. Med*, 127: 169-170.
71. HARRIS P M, CHEN K K. (1980). Developpement of hepatic tumors in rats following ingestion of *Senecio longilobus*. *Cancer. Res*, 30: 2881-2886.

72. **HATTA S, SUZUKI Y, MIYAMOTO A, TAKEMURA H, OHSHIBA H.** (1986). Effects of : 8-(2 dimethylaminoethyl)-3-oxo-4-phenyl-1-thia-4,8-diazospiro[4,5] decane, dihydrochloride monohydrate (Y-8845) on carbon tetrachloride-induced liver injury. *Jpn. J. Pharmacol*, **40(4)** : 561-567.
73. **HAUSTEEN B.** (1983). Flavonoids, a class of natural product of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol*, **32**:1140-1148.
74. **HOFLER C, FLEURENTIN J, MORTIER F, PELT J M.** (1987). Comparative choleric and hepatoprotective properties of young sprouts and total plant extracts of *Rosmarinus officinalis* in rats. *J. Ethnopharmacol*, **19**: 133:134.
75. **HOFMANN T, BORS W, STETTMAIER K.** (1999). Radical-assisted melanoidin formation during thermal processing of foods as well under physiological conditions. *J. Agric. Food Chem*, **47**:391-396.
76. **HONDI-ASSAH T C, ABENA A A, KOKOLO J, BADILA C, DIATEWA M.** (2003). Effets hépatoprotecteurs du *Lippia multiflora* et d'un phytomédicament congolais : le Tétracel®. *Phytothérapie* ; **5** :135-140.
77. **HWANG J M, TSENG Th, HSIEH Y S, CHON F P, WANG C J, CHU C Y.** (1996). Inhibitory effect of atractylon on tert-butyl-hydroperoxyde induced DNA, damage and hepatic toxicity in rat hepatocytes. *Arch. Toxicol*, **70(10)**: 640-644.
78. **ITOH S, MARUTANI K, NISHIJIMA T.** (1995). Liver injuries induced by herbal medicine "Sho-Saiko-To" (Xiao-Chai-Hu-Tang). *Dig. Dis. Sci*, **8**: 1845-1848.
79. **JANBAZ K H, GILANI A H.** (1995). Evaluation of the protective potential of *Artemisia maritima* extract on acetaminophen and CCl₄-induced hepatotoxicity. *J. Ethnopharmacol*, **47(1)**: 43-47.
80. **JANAKAT S, AL-MERIE H.** (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *J. Ethnopharmacol*, **83(1-2)**: 135-138.
81. **JOSE I K, KUTTAN R.** (2000). Hepatoprotective activity of *Embllica officinalis* and chyavanaprash. *J. Ethnopharmacol*, **72(1-2)**: 135-140.

82. **KALININ V I, PRAKOVIEVA N G, LIKHATSKAYQ G N, SHENTSOVA E B, AGOFONOVA I G, AVILOU S A, DROZDOVA I G** (1996). Hemolytic activity of triterpene glycoside from the *Dendro chirotda* order Holothurriam. *Qdy. Ext. Med. Biol*, **104**:557-564.
83. **KANE J A, KANE S P, JAIN S.** (1995). Hepatitis induced by traditional Chinese herbs possible toxic components. *Gut*, **36**: 146-147.
84. **KAPLOWITZ N.** (1997). Hepatotoxicity of herbal remedies in sights into the intricacies of plant animal warfare and cell death. *Gastroenterology*, **113**: 1408-1412.
85. **KEITA A, ABENA A A, OUAMBA J M, OUATARA S.** (1996). Constituants chimiques de l'huile essentielle de thé de Gambie *Lippia chevalieri molddenke* et/ou *Lippia multiflora molddenke*. *Rev. Med. Pharm. Afr*, **10(1)** , 35-39.
86. **KHALID H JANBAZ , SHEIKH A SAEED, ANWAR H GILANI.** (2002). Protective effect of rutin on paracetamol and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. *Fitoterapia*, **73**: 557-563.
87. **KISO Y, THOKIN M, HIKINO H.** (1983). Assay method for the antihepatotoxic activity using carbon tetrachloride induced cytotoxicity in primary cultured hepatocytes. *Planta. Med*, **49**: 222-225.
88. **KIBANGOU-SOLEMIA J.** (1999). Méthodologie en médecine traditionnelle. *Edition action culturelle. Paris. P60-68.*
89. **KISO Y, THOKIN M, HIKINO H.** (1983). Assay method for antihepatotoxic activity using galactosamine induced cytotoxicity in primary cultured hepatocytes. *J. Nat. Prat*, **46(6)** : 841-847.
90. **KOUZI S A, MC MURTY R J, NELSON S D .** (1994). Hepatotoxicity of germander (*Teucrium chamedrys. L*) and one of its constituent néoclerodane diterpene, teucin A in the mouse. *Chem. Res. Toxicol*, **7**: 850-856.
91. **KUNLE O, OKOGUM J, EGAMANA E, EMOJEVWE E, SHOK M.** (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, **10(1)**: 59-61.
92. **LARREY D .** (1997). Hepatotoxicity of herbal remedies. *J. Hepatol*, **26** (*Suppl 1*) : 47-51.

93. LARREY D. (2001). Plantes médicinales: intérêt thérapeutique et risque d'hépatotoxicité. *Encycl. Med. Chir. Hépatologie, 7-015-P₁₅: 6P.*
94. LARREY D. (2002). Prédisposition génétique à l'hépatotoxicité des médicaments. *Encycl. Med. Chir. Hépatologie, 7-015-M₄₄: 5P.*
95. LAZAR P, SCHWARTZ D. (1967). Eléments de probabilités statistiques. *Flammarion. Paris 163P.*
96. LASKAR S, BIATTACHARYYA U K, SINHABABU A, BASAK B K. (1998). Anti-hepatotoxic activity of Kulthi (*Dolichos biflorus*) seed in rats. *Fitoterapia, 69(5): 401-403.*
97. LEDL, BEEK, SENGL M, OSIANDER H, ESTENDORFER S, SEVERIN T, HUBER B. (1989). Chemical pathway of the maillard reaction. *Prog. Clin. Biol. Res, 304:23-42.*
98. LEXA A, FLEURENTIN J, LEHR P R, MORTIER F, PREVOST M, PELT J M. (1989). Choleric and hepatoprotective properties of *Eupatorium cannabinum* in the rat. *Planta. Med, 55: 127-132.*
99. LEE M W, LEE Y A, PARK H M, TOH S H, LEE E J, JANG H D, KIM YH. (2000). Anti oxidative phenolic compounds from the roots of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. *Arch. Pharm. Res, 23(5): 455-458.*
100. LEE E J, Kim J, KIM Y C. (2002). Hepatoprotective phenyl propanoïds from *Serophularia guergeriana* roots against CCl₄-induced toxicity: action mechanism and structure activity relationship. *Planta. Med, 68(5): 407-411.*
101. LI W, DAI Q T, LIU Z E. (1995). Preliminary study on early fibrose of chronic hepatitis B. treated with *Ginkgo biloba*. *Composita. Chung Kuo Chung Hsiehieh Hotsachih, 15: 593-595.*
102. LIN C C, SHIEH D E, YEN M H. (1997). Hepatoprotective effect of the fractions of Ban-Zhi-Lian on experimental liver injuries in rats. *J. Ethnopharmacol, 56(3): 193-200.*
103. LIN C C, LEE H Y, CHANG C H, YANG J J. (1999). The anti-inflammatory and hepatoprotective effects of fractions from *Cudrania Cochinchinensis* var. *Gerontogea*. *Am. J. Chin. Med, 27(2): 227-239.*
104. LIN C C, LIN W C, YANG S R, SHIEH D E. (1995). Anti-inflammatory and hepatoprotective effects of *Solanum alatum*. *Am. J. Chin. Med, 23(1): 65-69.*

105. LIN C C, HSU Y F, LIN T C, HSU H Y. (2001). Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalgin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats. *Phytother. Res*, **15(3)**: 206-212.
106. LIN C C , HSU Y F, LIN T C, HSU H Y. (1998). Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalgin and punicalin on carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *J. Pharm. Pharmacol*, **50(7)**: 789-794.
107. LIN J K, CHEN P C, HO C T, LIN-SHIAU S Y. (2000). Inhibition of xanthine oxidase and suppression of intracellular reactive oxygen species in HL-60 cells by theaflavin-3,3'-digallate(-)-epigallocatechin 3 gallate and propyl gallate. *J. Agric Food Chem*, **48(7)**: 2736-2743.
108. MANDAL S G, MAITY J K, DAS J, PAL M, SAHA B P. (1999). Hepatoprotective activity of Ficus racemosa leaf extract on liver damage caused by carbon tetrachloride in rats. *Phytother. Res*, **13(5)**: 430-432.
109. MANDAL P K, BISHAYEE A, CHATTERJEE M. (1992). Stimulation of hepatic protein synthesis in response to Mikania. *Ital. J. Biochem*, **41(6)**: 345-351.
110. MATEI A, RUCAY P, SAMUEL D. (1995). Liver transplantation for severe acute liver failure after herba medicine (Teucrium polium) administration. *J. Hepatol*, **22**: 597.
111. MATTOCHIS A R. (1986). Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. *London: Academic. Press*.
112. MASSANO G, CIOCATTO E, RASABIANCA C, VERALLI D, ACTIS G C, VERME G. (1982). Striking aminotransferase rise after chlorhexidine self-poisoning. *Lancet*, **(1)**: 289 P.
113. MATSUDA H, MORIKAWA T, NINOMIYA K, YOSHIKAWA M. (2001). Hepatoprotective constituents from Zedoaria rhizoma absolute stereostructures of three new cardane type sesquiterpenes, curcumenolactones A, B, and C. *BIOORG. Med. Chem*, **9(4)**: 209-216.
114. M C GREGOR F B, ABERNETHY V E, DUHABRA S, COBDEN I, HAVES P C. (1989). Hepatotoxicity of herbal remedies. *Bull. Medical J*, **299**: 1156-1157.

115. **MELIAN K, LARREY D.** (2002). Guide pratique des médicaments hepatotoxiques. Actualisation (*ed*) *scientif et médecine. Hépatologie. 7-015-M51 ; 15P.*
116. **MIGUET J P, BRESSON-HADNI S.** (1987). Guide pratique de médicaments hepatotoxiques. *Encycl. Med. Chir (Paris France). Foie, pancréas. 7-015-M50 ;7 : 8P.*
117. **MITCHELL J R, JOLLOW D J, POTTER W Z, DAVIS D C, GILLETTE J R, BRODIE B B.**(1973). Acetaminophen induced hepatic necrosis. I rol of drug metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther,* 187: 185-194.
118. **MOKHOBO KP.** (1976). Herb use and necrodegenerative hepatitis.*S. Afr. Med. J, 50: 1096-1099.*
119. **MORTIER F.** (1993-1994). Préparation des extraits destinés à l'évaluation pharmacologique. *Phytotherapy,40/41 :3-8*
120. **MOUKOUYOU R.** (1996). Activités antalgiques et anti-inflammatoire d'une recette traditionnelle congolaise : le Tétra®. *Mémoire. F.S.S.A. Université Marien NGOUABI. Brazzaville. 28P.*
121. **MURAKAMI C, HIRAKAWA Y, INUI H, NAKANO Y , YOSHIDA H.** (2002). Effect of tea catechins on cellular lipid peroxidation and cytotoxicity in hep G₂ cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem, 66(7): 1559-1562.*
122. **NADIR A , AGRAWAL S, KING P D, MARSHALL J B.** (1996). Acutes hepatitis associated with the use of a chinese herbal product Mahuang. *Am. J. Gastroenterol : 91 : 1436-1438.*
123. **NGONDZO-KOMBETI G R.** (1993). Etude de l'activité tranquillisante du Lippia multiflora chez le rat. *Mémoire. F.S.S.A. Université Marien NGOUABI. Brazzaville. 67P.*
124. **NGOUALA STP/TRM, OMS/AFRO.** FORUM africain Sur le rôle de la médecine dans le système de la santé. Rapport final OMS/Afrique Harare. *Afr/ TRM/ 01. 1. P16-35.*
125. **NOAMESI B K, ADEBAYO G I, BAMGBOSE S O.** (1985). Muscles relaxant properties of aqueous extract of Lippia multiflora. *Planta. Med, 3: 253-255.*

126. **NOAMESI B K.** (1977). Power tea (*Lippia multiflora*) a potent hypertensive therapy. *West afr. J. Pharmacol. Drug. Res*, *4(1)* : 33-36.
127. **NOAMESI B K, ADEBAYO G I, BAMGBOSE S O.** (1985). The vascular actions of aqueous extract of *Lippia multiflora*. *Planta. Med*, *3*: 256-258.
128. **OBERMEYER W R, MUSER S M, BERTZ J D, CASEY R E, POHLAND A E, PAGE S W.** (1995). Chemical studies of phytoestrogens in flax and chaparral (43824). *J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, *208* : 6-12 .
129. **OLATUNDE FAROMBI E.** (2000). Mechanisms for the hepatoprotective action of kaloviroh: studies on hepatic enzymes, microsomal lipids and lipid peroxidation in carbon tetrachloride treated rats. *Pharmacol. Res*, *42(1)*: 75-80.
130. **OH H, KO E K, JUN J Y, OH M H, PARK SU, KANG K H, LEE H S, KIM Y C.** (2002). Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenylflavonoïds, coumarin, and stilbene from *Morus alba*. *Planta. Med*, *68(10)*: 932-934.
131. **OH H, LEE H S, KIM T, CHAI K Y, CHUNG H T, KWONG T O, JUN J Y, JEONG O S, KIM Y C, YUN Y G.** (2002). Furocoumarins from *Angelica dahurica* with hepatoprotective activity on tacrine-induced cytotoxicity in hep G₂ cells. *Planta. Med*, *68(5)* : 463-464.
132. **OH H, KIM J S, SONG E K, CHO H, KIM D H, PARK S E, LEE H S, KIM Y C.** (2002). Sesquiterpenes with hepatoprotective activity from *enidium monieri* on tacrine-induced cytotoxicity in hep G₂ cells. *Planta. Med*, *68(8)* : 748-749.
133. **O.M.S (Bureau régional de l'Afrique, Harare).** Promotion du rôle de la médecine traditionnelle, dans les systèmes de la santé :stratégie de la région Afrique : P 1
134. **PARI L, KUMAR N A.** (2002). Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* on antitubercular drug-induced liver damage in rats. *J. Med. Food. Fall*, *5(3)*: 171-177.
135. **PARK J C, YU Y B, LEE J H, HATTORI M, LEE C K, CHOI J W.** (1996). Protective effect of *Donanthe javanica* on the hepatic lipid peroxidation in bromobenzene-treated rats and its bioactive component. *Planta, Med*, *62(6)*: 488-490.

136. **PASCUAL M E, SLOWING K, CARRETERO E, SANDREZ MATA D, VILLAR A.** (2001). Lippia: Traditional uses, chemistry and pharmacology a review. *J. Ethnopharmacol*, **76**: 201-214.
137. **PESSAYRE D.** (1988). Mecanism of drug induced hepatitis liver cells and drugs. *Eurotest London*, **129-142**.
138. **PESSAYRE D, LARREY D, BIOUR M.** (1999). Drug induced liver injury in Bucher. J(ed). Axford Texbook of clinical hepatology, *Vol 2. Oxford university. Press. Oxford; PP1261-1315*.
139. **PHAM HC, KOFFI Y, PHAM YC.** (1988). Comparative effects on TxA2 biosynthesis of products extrated from Lippia multiflora moldenke leaves. *Prostaglandines Leukot-Essent Fatty Acids*, **34(2)**: 83-88.
140. **PHAM HUU CHANH, KOFFI Y, PHAM HUU CHANH A.** (1988). Comparative hypotensive effects of compounds extracted from Lippia multiflora leaves. *Planta. Med.*, **54(4)**: 294-296.
141. **POPPER H, RUBEN E, GARDIOL D, SCHAFFNER F, PARONETTO F.** (1965). Drug-induced liver disease a penalty for progress. *Arch. Intern. Med*, **115**: 128-136.
142. **PRESCOTT L F.** (1983). Paracetamol overdose, Pharmacological considerations and chemical. *Management-Drug*, **25**: 290-314.
143. **RAO K S, MISHRA SH.** (1997). Hepatoprotective activity of Inula racemosa root. *Fitoterapia*, **68(6)**: 510-514.
144. **RAJESH MG, LATHA MS.** (2001). Hepatoprotection by Elephantopus scaber Linn in CCl₄-induced liver injury. *Indian. J. Physiol. Pharmacol*, **45(4)**: 481-486.
145. **REEN R K, KARAN M, KULDIP SINGH, KARAN V, JOHRI RK, JASWANT SINGH.** (2001). Screening of various swertia species extracts in primary monolayer cultures of rat hepatocytes against carbon tetrachloride and paracetamol-induced toxicity. *J. Ethnopharmacol*, **75(2-3)**: 239-247.
146. **RIDKER P M, OH KUMA S, ?C DERNOLT W V, TREY C, HUXTABLE R J.** (1985). Hepatic venoocclusive disease associated with the consumption of pyrrolizidine-containing dietary supplements. *Gastroenterolgy*, **88**: 1050-1054.

147. RUSH GF, RIPPLE JR, SOWINSKI J, BUGELSKI P, HEWELI W R. (1985). Organic hydroperoxide induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 78: 473-483.
148. RUSH GF, YODIS LA, ALBER J S D. (1986). Protection of rat hepatocytes from tertbutyl hydroperoxide induced injury by catechol. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 78: 473-483.
149. SALLEBERT S, FLEJOU J F, DEGOTT C, CAPRON J P. (1988). Steatoses hépatiques non alcooliques-*Encycl. Med. Chir. (Paris-France) Foie-Pancréas*. 7040. B¹⁰ (3) : 1-13.
150. SANO M, TAKAHASHI Y, YOSHINO K, SHIMO K, NAKAMURA Y, TOMITA I, OGUNI I, KONOMOTO H. (1995). Effects of tea (*Camellia sinensis* L.) on lipid peroxidation in rat liver and kidney: a comparison of green and black tea feeding. *Boilo. Pharm. Bull*, 18(7):1006-1008.
151. SAVONA G, GARCIA-ALVAREZ MC, RODRIGUEZ B. Dihydroteuigin a néo-clerodane diterpénoïde from *Teucrium chamaedris*. *Phytochemistry*, 21: 721-723.
152. SHUPPAN D, JIA JD, BRINKHAUS B, HAIN EC. (1999). Herbal products from liver diseases. a therapeutic challenge for the new millennium. *Hepatology*, 30: 1099-1104.
153. SHIANO T. (1998). Liver injury from herbs and other botanicals in Gitlin N. (ed) clinics in liver disease. *Chicago W.B. Saunders*, 607-630.
154. SHIRWAIKAR A, SREENIVASAN K K, KRISHNANAND B R, WASANTH KUMAR A. (1996). Chemical investigation and antihepatotoxic activity of the root bark of *Capparis spinosa*. *Fitoterapia*, 67: 200-204.
155. SINGH B, SAXENA AK, CHANDAN B K, ANAND K K. (1998). Hepatoprotective activity of verbenalin, on experimental liver damage in rodents. *Fitoterapia*, 69(2): 136-140.
156. SINSH B, SAXENA A K, CHANDAN BK, AGARWAL S G, ANAND K K. (2001). In vivo hepatoprotective activity of active fraction from ethanolic extract of *Eclipta alba* leaves. *Indian. J. Physiol. Pharmacol*, 4 : 435-441.

157. SONG E K, CHO H, KIM J S, KIM N Y, AN NY, KIM T A, LEE S H, KIM Y C. (2001). Diarylheptanoïds with free radical scavenging and hepatoprotective activity in vitro from *Curcuma longa*. *Planta. Med*, **67(9)**: 876-877.
158. SONG E K, KIM J H, KIM J S, CHO H, NAN J X, SOHN D H, KE E I, OH H, KIM Y C. (2003). Hepatoprotective phenolic constituents of *rhodiola sachalinensis* on tacrine-induced cytotoxicity in hep G2 cells. *Phytother. Res*, **17(5)**: 563-565.
159. STILLMAN AT, HUXTABLE R J, CONSROE P, KOHMEN P, SMITH S. (1977). Hepatic veno-occlusive disease due to pyrrolizidine (Senecio) poisoning in Arizona. *Gastroenterology*, **73**: 349-352.
160. THABREW M J, JAYATI LAKA K A, PERERA D J. (1988). Evaluation of the efficacy of *Melothria maderaspatana* in the liver dysfunction. *J. Ethnopharmacol*, **23(2-3)**: 305-312.
161. THYAGARAJAN S P, SUBRAMANIAN S, THIRUNALASUNDARI T, VENKATESWARAN P S, BLUMBERG B S. (1998). Effect of *phyllanthus amarus* on chronic carries of hepatitis B virus. *Lancet*, **2**: 764-766.
162. TRIBBLE D L, JONES D P, EDMONSON D E. (1988). Effect for hypoxia on ter-butyl hydroperoxide induced oxidative injury in hepatocytes. *Mol. Pharmacol*, **34**: 413-420.
163. UDEM S C, MADUBUNYI I I, OKOYE J O A, ANIKA S A. (1997). Antihepatotoxic effects of the ethanolic extracts of *combretum dolichopetalum* root bark and *Morinda Lucida* leaf. *Fitoterapia*, **68(1)**: 21-25.
164. VALENTIN A, PELISSIER Y, BENOIT F, MARION C, KONE D, MALLIE M, BASTIDE J M, BESSIERE J M. (1995). Composition and antimalarial activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytochemistry*, **40(5)**: 1439-1442.
165. VAN PUYVELDE L, KAYONGA A A, BRIOEN P, COSTA J, NDIMUBAKUNZI A, DE KIMPE N, SCHAMP N. (1989). The hepatoprotective principle of *Hypoestes Triflora* leaves. *J. Ethnopharmacol*, **26**: 121-127.

166. **VIJAYA PADMA V, SUJA V, SHIYAMALA DEVI C S.** (1998). Hepatoprotective effects of liver on antitubercular drug, induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*, **69(6): 520-522.**
167. **VIRTANEN P, LASSILA V, NJIMI T, EKOTTO MENGATA D.** (1988). Regeneration of D.galactosamine-traumatized rat liver with naturel protoberberine alkaloids from Enantia chlorantha. *Acta. Anat*, **132: 159-163.**
168. **VIRTANEN P, LASSILA V, NJIMI T, EKOTTO MENGATA D.** (1988). Natural protoberberine alkaloids from Enantia chlorantha, palmitine, columbamine and jatrorrhizone for thioacetamine-traumatized rat liver. *Acta. Anat*, **131: 166-170.**
169. **WALMSLEY R N, WHITE GIL.**(1983):A guid to diagnostic clinical chemistry. *Blackwell scientific publications, oxford; 543P.*
170. **WANG M, LAGRANGE L, TAO J, REYES E.** (1996). Hepatoprotective properties of Silybum marianum herbal preparation on ethanol-induced liver damage. *Fitoterapia*, **67(2): 196-171.**
171. **WIELAND O.** (1965). Changes in liver metabolism induced by the poisons of Amanita phalloïdes. *Clin. Chem*, **11: 325-338.**
172. **WOOLF G M, PETROVIC L M, ROITIER S E, WAINWRINGHT S, VILLAMIL F G, RATKOW W N.** (1994). Acute hepatitis associated with the Chinese herbal product JI-BU-HUAN. *Ann. Inter. Med*, **10: 729-735.**
173. **XIE B, SHI H, CHEN Q, HO C T.**(1993). Antioxidant propeties of fractions and polyphenols constituents from green, oolong and black teas. *Proc. Nalt. Sci.Counc. Repub. Cina B*, **17(2):77-84.**
174. **YOA, KOFFI J P.** (1985). Recherches phytochimiques et pharmacologiques sur trois verbenaceaes utilisées comme anti-hypertenseur en médecine traditionnelle. Lippia multiflora, Lantana camara, Binelina Qrborca. Moub. *Thèse de doctorat 3^{ème} cycle Université de Toulouse III.*
175. **YAMASHIKI M, NISHIMURI A, SUZUKI H, SAKAGUCHI S, KASAKA Y.** (1997). Effects of the Japanese herbal medicine Sho-Saiko-To (T5-9) on in vitro ineterleukin 10 production by peripheral blood mononuclear of patients with chronic hepatitis. *C. Hepatology*, **25: 1390-1397.**

HONDI-ASSAH Théophile Coffi

UNIVERSITE MARIEN NGOUABI

Travail * Progrès * Humanité

VICE-RECTORAT *Gu*

DIRECTION DE LA RECHERCHE *DRS*

NOTE DE SERVICE N° N° - -077 /UMNG.VR.DR.

En application de l'article 27 de l'arrêté n° 3560 du 15 juin 2001 portant organisation des études doctorales à l'Université Marien NGOUABI, il est accordé à Monsieur **HONDI-ASSAH Théophile Coffi** une autorisation de soutenance de sa thèse de doctorat d'état, au titre de l'année universitaire 2003 – 2004.

Le titre de la thèse est :

« Contribution à l'étude des effets du *Lippia Multiflora* Moldenke et d'une recette de la pharmacopée traditionnelle congolaise, le Tétra, sur le foie des rats »

La présente note de service prend effet à compter de sa date de signature.

Brazzaville, le 16 FEV 2004

Le Recteur,



Professeur Georges MOYEN.

AMPLIATIONS :

Rect 1
V/Rect 1
Etablts 11
DR 1
DSE..... 1
Intéressé 1
Archives 2/18



RESUME

Notre travail a pour but :

de déterminer le profil chimique de la recette Tétr@ et de l'extrait aqueux de l'un de ses constituants, le *Lippia multiflora* ;

d'évaluer les effets secondaires du Tétr@ et de l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* sur le foie ;

d'évaluer l'activité hépatoprotectrice de ces deux préparations sur les modèles classiques d'hépatotoxicité chez le rat.

Les résultats du présent travail montrent que les stéroïdes ne sont présents que dans l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* et les chlorures d'anthocyanidine dans le Tétr@. Cependant les composés chimiques suivants sont présents aussi bien dans le Tétr@ que dans l'extrait aqueux de *Lippia multiflora* : Acides aminés, Glucides, Tanins, Flavonoïdes, Saponines et Polyphénols.

Les études de toxicités aiguë, subaiguë et subchronique ont révélé la présence de lésions élémentaires modérées ou minimales au niveau du foie, traduisant ainsi une bonne tolérance du Tétr@ et de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora*, au niveau hépatique.

Sur le plan biochimique, le Tétr@ à la dose de 0,45 ml/kg, le *Lippia multiflora* à la dose de 400mg/kg et la Silymarine ou Légalon à la dose de 100 mg/kg, administrés par voie orale, s'opposent significativement à l'augmentation de la bilirubine totale (BilT) et des activités de la glutamate pyruvate, transaminases (SGPT), de la glutamate oxaloacétate transaminase (SGOT), et de la phosphatase alcaline (PAL) sérique, induite par le paracétamol et le tétrachlorure de carbone. Par contre, le Tétr@ à la dose de 0,90 ml/kg, induit une légère augmentation non significative des activités enzymatiques, et une bilirubinémie significativement élevée, comparativement à la dose de 0,45 ml/kg (intoxication par le Paracétamol).

Sur le plan histopathologique, les lésions hépatiques observées (nécroses et stéatoses) sous Tétr@ 0,45 ml/kg, *Lippia multiflora* 400 mg/kg et silymarine 100 mg/kg sont moins importantes que celles observées chez les témoins (paracétamol + eau distillée et tétrachlorure de carbone + eau distillée) avec parfois une architecture normale ou subnormale.

Sur le plan pharmacologique, la durée de sommeil induite par le pentobarbital, observée chez les animaux intoxiqués ayant reçu le Tétr@ à la dose de 0,45 ml/kg, le *Lippia multiflora* 400mg/kg et la Silymarine 100mg/kg est significativement plus basse que celle des lots témoins (eau distillée + paracétamol + pentobarbital). En revanche, comparativement aux rats intoxiqués puis traités par le Tétr@ à la dose de 0,45 ml/kg, ceux ayant reçu le Tétr@ à la dose de 0,90 ml/kg, présentent une durée de sommeil significativement plus élevée.

L'analyse de toutes ces données suggère que le Tétr@ aurait des effets hépatoprotecteurs à faible dose (0,45 mg/kg), lesquels pourraient être attribués entre autres à l'extrait de *Lippia multiflora*, dont les résultats obtenus confirment ceux de la littérature.

Conclusion :

L'extrait aqueux du *Lippia multiflora*, et le Tétr@ riches en constituants polaires sont des drogues possédant une bonne tolérance hépatique. Ils sont doués d'un potentiel hépatoprotecteur qui est moins prononcé que celui de la substance de référence, la silymarine.

Mots clés : Tétr@, *Lippia multiflora*, effets hépatoprotecteurs, paracétamol, tétrachlorure de carbone, pentobarbital, silymarine hépatotoxicité médicamenteuse.

Unité de recherche : Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie ; Faculté des Sciences de la Santé de l'Université Marien NGOUABI