



La toxicité subaiguë de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. (Fabaceae)

Amenan Geneviève IRIE-N'GUESSAN^{1*}, Kouakou Etienne EFFO¹,
Kadio Brou Donald KOUA², Sylvain Landry KOUAKOU¹,
Ayoman Thierry Lenoir DJADJI¹, Apie Annick ADEPO¹, N'golo DIARRASSOUBA¹ et
N'doua Gisèle KOUAKOU-SIRANSY¹

¹ Laboratoire de Pharmacologie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët-Boigny 01 BP V 34, République de Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Pharmacodynamie biochimique, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny 22 BP 582, République de Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant, E-mail : jemigrace@gmail.com, Tel : (+225) 07988157

RESUME

L'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. (Fabaceae) est traditionnellement utilisée, par trituration aqueuse en instillations nasales, pour traiter l'asthme en Côte d'Ivoire. Des propriétés antispasmodiques sur la musculature lisse du tractus respiratoire d'une part, des propriétés antioxydante et analgésique d'autre part, d'un extrait hydro-éthanolique de cette partie de la plante, ont précédemment été mises en évidence. Les présentes investigations ont consisté en l'évaluation de paramètres cliniques, hématologiques et biochimiques au cours d'une étude de toxicité subaiguë des doses pharmacologiquement actives du même extrait de la drogue végétale. Les tests réalisés, par administration orale de l'extrait à 10, 100, et 1000 mg/kg pc chez des rats de souche Wistar, conformément aux lignes directrices de l'OCDE 407, n'ont pas mis en évidence d'effets toxiques significatifs ni sur les mensurations corporelles (température et poids), ni sur les éléments figurés du sang, ni sur les activités des transaminases ou sur les fonctions métaboliques glucidique et rénale. Ces résultats suggèrent que, dans l'usage antiasthmatique traditionnel de la crise d'asthme, l'extrait ne contient pas de substances mortelles sur 28 jours. Toutefois, des études de toxicité chronique seraient requises pour attester l'innocuité de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* dans un usage au long cours.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Mots clés: plante antiasthmatique, OCDE 407, paramètres hématologiques, paramètres biochimiques.

Subacute toxicity of *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. (Fabaceae) root bark

ABSTRACT

Dichrostachys cinerea (L.) Wight and Arn. (Fabaceae) root bark, ground with water and administered in nasal instillations, is traditionally used for asthma management in Côte d'Ivoire. An aqueous-alcoholic extract of this part of the plant was previously assessed and antispasmodic property on the smooth musculature of the respiratory tract as well as antioxidant and analgesic properties were highlighted. Current investigations

involved the evaluation of clinical, hematological and biochemical parameters in a subacute toxicity study of pharmacologically active doses of the same plant extract. Experiments led by oral administration of the extract at 10, 100, and 1000 mg/kg b. wt., in accordance with OECD Test Guideline 407, did not show significant toxic effects on body measurements (temperature and weight), nor on figurative elements of the blood, neither on transaminase activities or on carbohydrate moiety and renal metabolic function. These results suggest that, in the traditional anti-asthmatic use for asthma attack, the extract does not contain deadly substances over 28 days. However, further chronic toxicity studies would be required to provide evidence of the safety of *Dichrostachys cinerea* root bark in a long-term use.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Keywords: anti-asthmatic plant, OECD 407, hematological parameters, biochemical parameters.

INTRODUCTION

L'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* triturée avec un peu d'eau, et administrée en instillations nasales, sert à traiter, en médecine traditionnelle ivoirienne, la crise d'asthme (Irié-N'guessan, 2013). Partant des recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé en faveur du développement de la médecine traditionnelle sur la base de preuves d'efficacité, d'innocuité et de qualité contrôlées (OMS, 2002), nous avons précédemment mis en évidence des propriétés antispasmodique (Irié-N'guessan et al., 2011b), antioxydante (Irié-N'guessan et al., 2017) et analgésique (Irié-N'guessan et al., 2018) d'un extrait hydro-éthanolique supposé extraire plus de composés actifs que le solvant aqueux usuel. Aussi, le traitement de la crise d'asthme étant de courte durée, avons-nous également évalué la toxicité aiguë de cet extrait qui a montré des doses minimales toxiques supérieures à 1000 mg/kg pc (Irié-N'guessan et al., 2011a). Cependant, l'usage des plantes médicinales dans la prise en charge des pathologies par la médecine traditionnelle ou populaire inclut rarement des administrations uniques. Il est d'usage que les doses soient répétées. Nous avons alors, au cours des présents travaux, évalué la toxicité subaiguë des doses d'un extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* qui ont montré un intérêt thérapeutique.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

La drogue végétale était constituée par l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*.

Les racines de la plante ont été récoltées le 15 avril 2017 dans des buissons du sud-est de la Côte d'Ivoire, près de Grand-Bassam. Les plantes ont été identifiées par un taxonomiste au Centre National de Floristique d'Abidjan (Côte d'Ivoire), en comparaison avec les spécimens des herbiers du Centre (*Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn., Adjanohoun E. et Aké Assi L. 29, forêt du Banco, Côte d'Ivoire 20 mars 1972). Les écorces ont été prélevées des racines, puis lavées à l'eau distillée, et séchées sous air conditionné (18 °C) sur les paillasses du laboratoire de Pharmacologie de l'UFR SPB de l'Université Félix Houphouët-Boigny, pendant deux semaines. Les écorces sèches obtenues ont été broyées pour obtenir une poudre.

Matériel d'extraction

- Broyeuse (RETSCH type GM300),
- Balance de précision (OHAUS AX523/E),
- Filtre à usage unique diamètre 400 mm (DUMAS),
- Agitateur magnétique (IBX INSTRUMENT S03),
- Barreaux aimantés (ESTUCHE N°170-7),
- Verrerie (LAB-BOX),
- Évaporateur rotatif Rotavapor Heidoph® (RZ 2,5),
- Papier aluminium (MAFRANS).

Solvants d'extraction

- Eau distillée,
- Ethanol 96% (PROLABO).

Extraction hydro-éthanolique douce à froid

Deux cents grammes de poudre de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea*

ont été extraits par macération à froid avec 2 litres d'un mélange équimoléculaire d'éthanol à 96% et d'eau distillée pendant 24 heures. Le filtrat obtenu, après décantation passive et filtration sur coton puis sur du papier filtre, a été évaporé sous pression réduite, à 45 °C, pour obtenir un extrait pulvérulent constituant l'extrait hydro-éthanolique (rendement d'extraction = 9,15%).

Gamme de concentrations

Le mélange de 200 mg d'extrait sec additionné à 20 ml d'eau distillée, nous a permis d'obtenir 20 ml d'une solution-mère concentrée à 100 mg/ml. La dilution de la solution mère au dixième par la méthode de la double dilution en progression géométrique a fourni 2 solutions filles concentrées à 10 et 1 mg/ml, dont l'administration aux animaux d'expérimentation a permis d'obtenir les doses de 1000, 100, 10 mg/kg pc respectivement.

Matériel animal

Les animaux de laboratoire ayant servi aux expériences étaient composés de rats de l'espèce *Rattus norvegicus*, de souche Wistar, des deux sexes, dont le poids était compris entre 150 et 200 grammes, et d'âge variant entre 3 à 4 mois.

Matériel d'expérimentation

- Cages de contention pour rats (TECHNIPLAST)
- Balance pour rats (DENVER INSTRUMENT IS-602)
- Flacons en verre de 5 ml (PYREX)
- Seringues 5 et 10 ml (B/BRAUN)
- Sondes de gavage pour rats (VETO-CHIRURGICAL).

Test de toxicité subaiguë

L'étude de la toxicité subaiguë par voie orale, en vue de la recherche de signes cliniques et/ou biologiques d'intoxication, s'est faite conformément aux lignes directrices de l'OCDE 407 (OCDE, 2008) qui recommandent l'utilisation d'au moins 10 rongeurs (de préférence des rats : 5 femelles et 5 mâles) pour chaque dose évaluée. L'expérimentation a été faite sur 40 rats à jeun

pendant 12 heures avec accès libre à l'eau. Les animaux ont été répartis en 4 lots homogènes en poids de 10 rats chacun (5 femelles et 5 mâles) :

- Lot 1 : rats ayant reçu de l'eau distillée sous un volume de 10 ml/kg pc ;
- Lot 2 : rats ayant reçu l'extrait à la dose 10 mg/kg pc ;
- Lot 3 : rats ayant reçu l'extrait à la dose 100 mg/kg pc ;
- Lot 4 : rats ayant reçu l'extrait à la dose 1000 mg/kg pc.

Les animaux ont reçu pendant 28 jours, par gavage, une dose uni-quotidienne selon le lot.

Les mesures de poids et de température corporels ont été effectuées chaque matin avant l'administration des substances.

Les prélèvements sanguins au niveau des vaisseaux sanguins de la conjonctive, en vue du bilan biologique, ont été effectués le premier jour avant toute administration de substance (J0), puis au cours de l'étude à J10, J20, J29 pour les paramètres hématologiques, et J15, J29 pour les paramètres biochimiques.

Dosage des paramètres hématologiques

La numération des éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs et plaquettes) et la mesure du taux d'hémoglobine ont été faites sur l'automate SYSMEX KX-21N.

Le sang veineux a été prélevé sur tube contenant un anticoagulant (EDTA) et analysé dans les 4 heures suivant le prélèvement, ou à défaut conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à l'analyse.

Dans le principe de l'analyse, une quantité précise de sang est mesurée puis mélangée à une quantité définie de diluant dans les chambres de mesure de la vanne d'échantillonnage. L'échantillon reste 10 secondes dans la chambre de mesure GB « globules blancs ». Pendant ce temps d'incubation, les globules rouges sont lysés par le STROMATOLYSER-WH, l'hémoglobine est libérée puis transformée en méthémoglobine rouge, les leucocytes restent intacts. Une partie de l'échantillon de la chambre de mesure GB est introduite dans la cuvette d'écoulement HGB « hémoglobine ».

Dans la chambre de mesure GB, le nombre de leucocytes est déterminé par la méthode de la mesure de la résistance. Dans la cuvette d'écoulement HGB, la concentration en hémoglobine est mesurée par photométrie. Dans la chambre de mesure GR « globules rouges », les nombres de globules rouges et de plaquettes sont déterminés par la méthode de la mesure de la résistance.

Dosage des paramètres biochimiques

Le sang veineux a été prélevé sur tube sec (sans anticoagulant) et analysé après centrifugation pour obtenir le sérum.

Le dosage du glucose sanguin a été fait par la méthode cinétique UV Hexokinase ; le dosage de l'urée sérique par la méthode cinétique UV Uréase-GLDH, en utilisant le kit UREA UV SGMitalia ; la mesure de l'activité alanine aminotransférase par la méthode cinétique UV IFCC optimisée utilisant le kit GPT-ALT LR GSMitalia et l'activité aspartate aminotransférase par la méthode cinétique UV IFCC optimisée utilisant le kit GOT-AST LR GSMitalia ; le dosage de la créatininémie par la méthode colorimétrique de Jaffé utilisant le kit CREATININE LR SGMitalia.

La première absorbance des échantillons a été lue contre le blanc à 340 nm (sauf pour la créatinine : 505 nm) et la seconde absorbance a été lue 30 s après (sauf pour l'urée : 1 min après), à la même longueur d'onde (sauf la glycémie : 409 nm). Les concentrations par les méthodes cinétiques UV ont été calculées par la formule : $[\text{Echantillon}] (\text{mg/dl}) = \frac{\text{ZA Standard} \times [\text{Standard}] (\text{mg/dl})}{\text{ZA Echantillon}}$, ZA étant la variation de l'absorbance entre 2 intervalles de temps. De même la concentration en créatinine dans les échantillons a été calculée par la formule : $[\text{Créatinine}] (\text{mg/dl}) = \frac{\text{ZDO Standard} \times [\text{Standard}] (\text{mg/dl})}{\text{ZDO Echantillon}}$, ZDO étant la variation de densité optique entre 2 intervalles de temps.

Ethique et statistique

Les procédures expérimentales ont été menées après l'approbation des directives éthiques du Comité des ressources animales de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire). Toutes ces procédures étaient en accord strict avec les directives pour les soins

et l'utilisation des animaux de laboratoire et les statuts de l'Union Européenne concernant la manipulation des animaux de laboratoire (86/609 / CEE) (Louhimies, 2002).

Les données ont été traitées sur le logiciel Graph Pad Prism® version 7.0., utilisant l'analyse des variances (ANOVA) suivi du test de Wilcoxon au risque α égal 0,05.

RESULTATS

Mensurations corporelles

Il n'a pas été noté de variation du poids des animaux traités avec l'extrait végétal comparativement au lot témoin (Figure 1).

L'administration de l'extrait n'a pas modifié la température corporelle des animaux comparativement au lot témoin (Figure 2).

Paramètres hématologiques

L'administration de l'extrait de *D. cinerea* aux différentes doses, n'a pas influencé le nombre de globules blancs par rapport au témoin (Figure 3).

L'extrait, à la dose de 10 mg/kg pc, a provoqué, durant les dix premiers jours, une légère diminution du nombre de plaquettes. Cette baisse s'est normalisée dès la deuxième semaine d'observation (Figure 4).

L'extrait n'a pas modifié le nombre de globules rouges (Figure 5), ni le taux d'hémoglobine (Figure 6) : nous n'avons pas noté de différence statistiquement significative entre les lots traités par l'extrait aux différentes doses et les lots témoins.

Paramètres biochimiques

L'administration de l'extrait de *D. cinerea* aux différentes doses, n'a pas influencé l'activité des transaminases par rapport au témoin (Figures 7 et 8).

Les courbes de variation de la glycémie ont présenté la même allure dans les lots tests et le lot témoin (Figure 9).

La variation de la concentration sanguine de l'urée est restée dans l'intervalle des valeurs normales pour tous les lots, soit 0,15 à 0,45g/l (Figure 10).

Les valeurs de la créatinine sanguine sont aussi restées normales dans tous les lots, soit 65 à 120 $\mu\text{mol/l}$ (Figure 11).

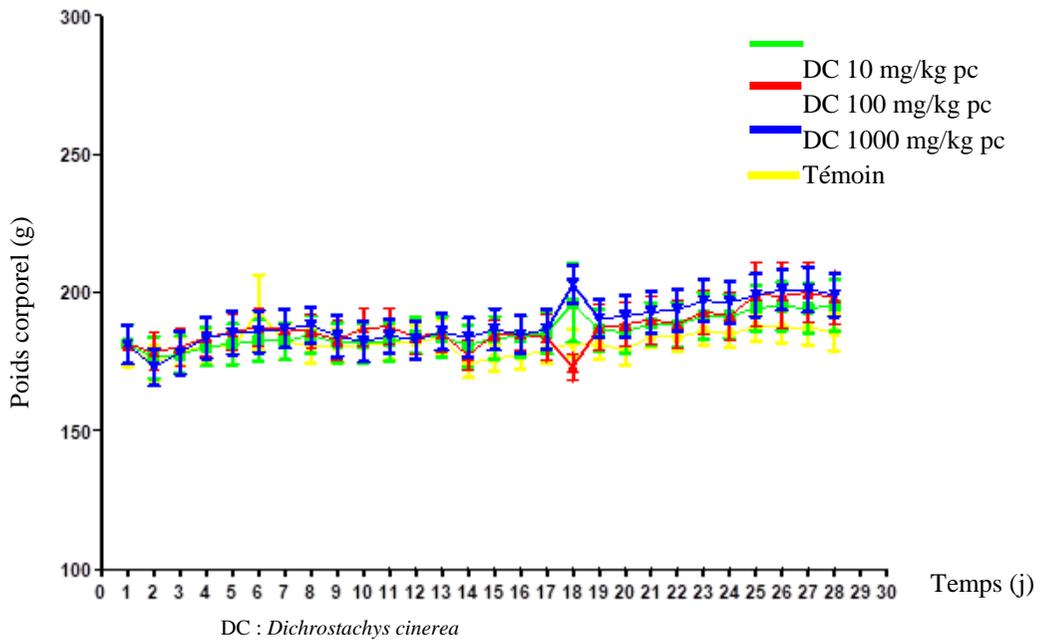


Figure 1: Effet de l'extrait sur le poids corporel des rats.

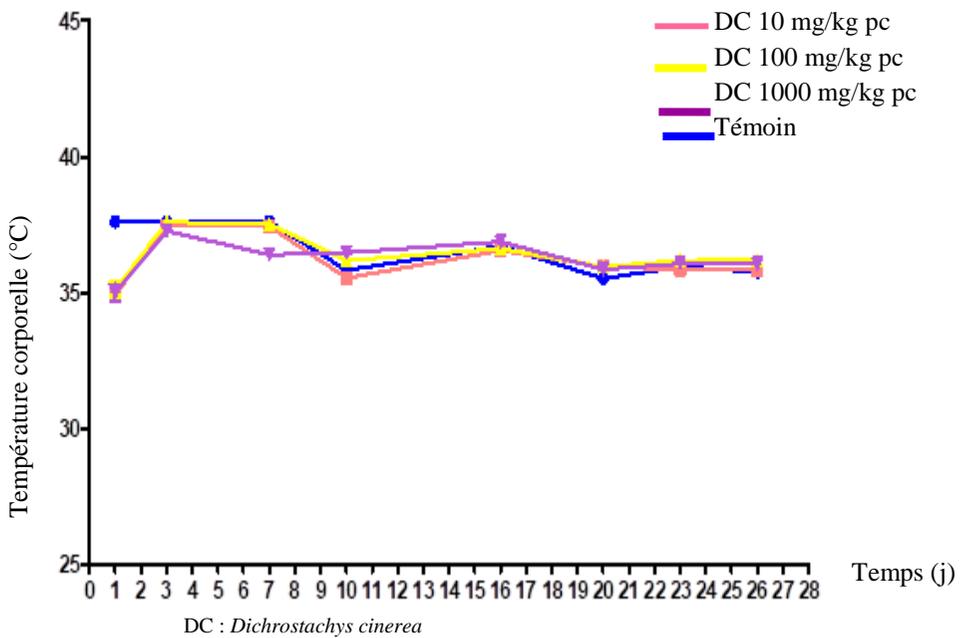
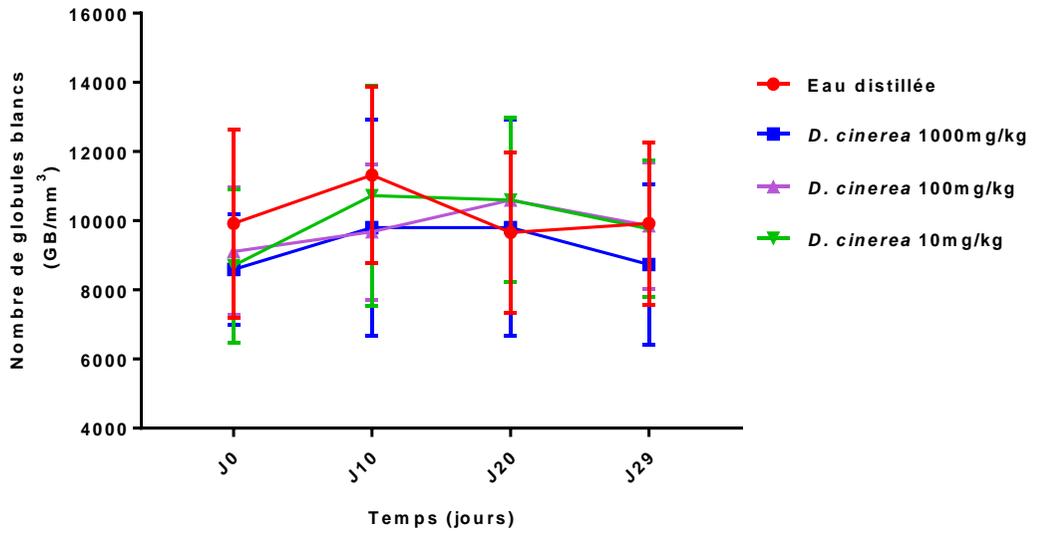
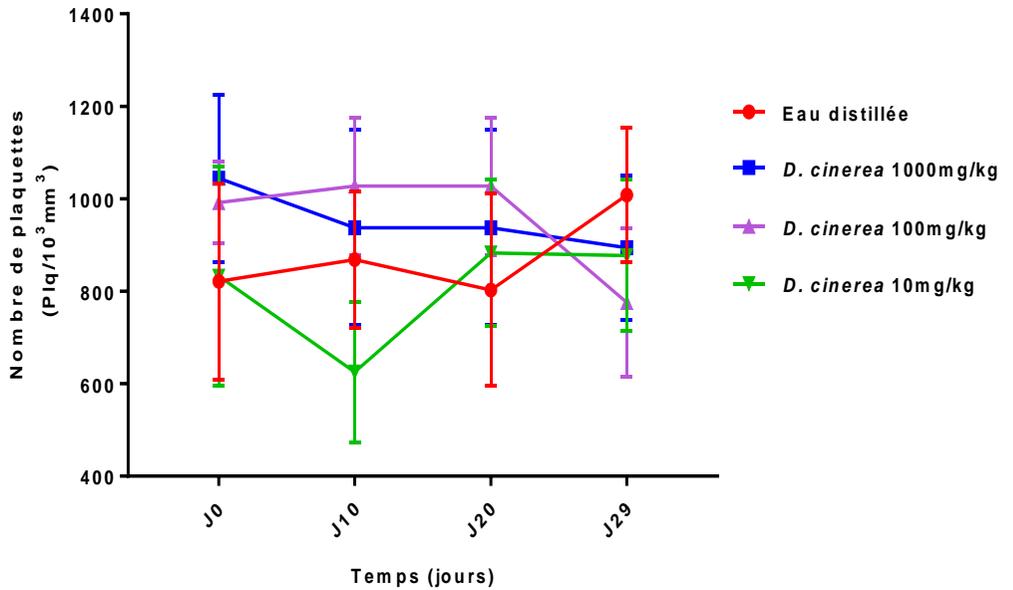


Figure 2 : Effet de l'extrait sur la température corporelle des rats.



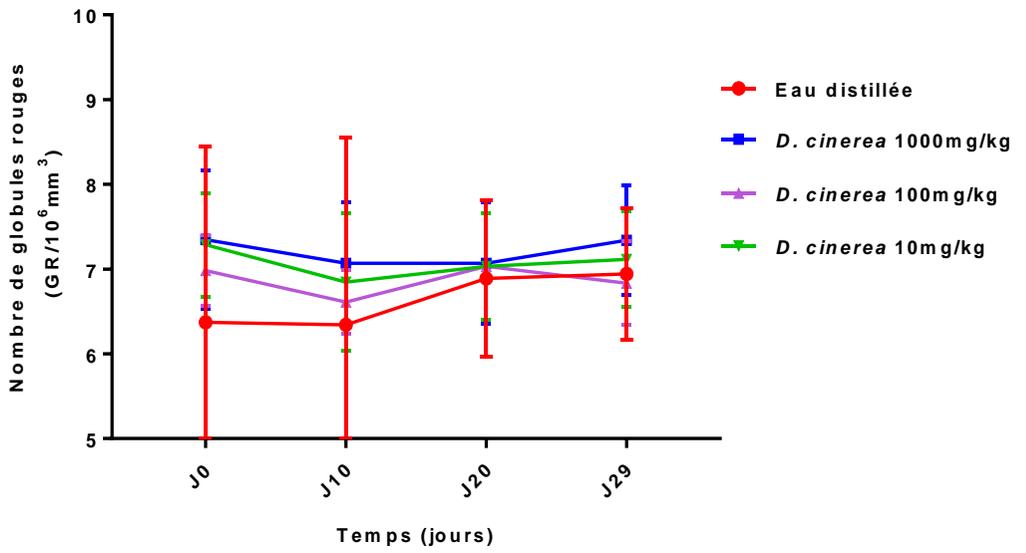
GB : globules blancs ou leucocytes

Figure 3 : Effet de l'extrait sur le nombre de leucocytes des rats.



Pq : plaquettes sanguines

Figure 4 : Effet de l'extrait sur le nombre de plaquettes sanguines des rats.



GR : globules rouges ou hématies

Figure 5 : Effet de l'extrait sur le nombre d'hématies des rats.

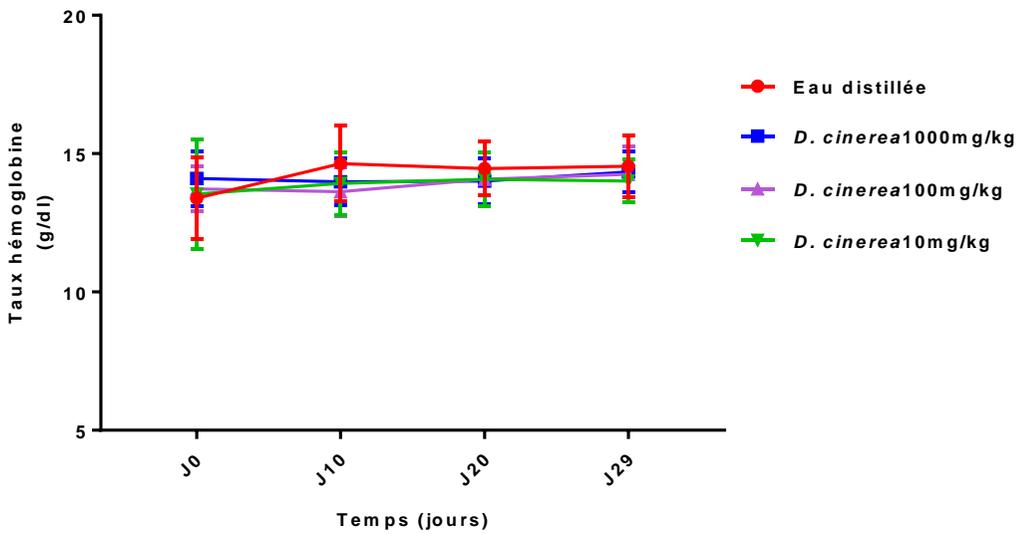
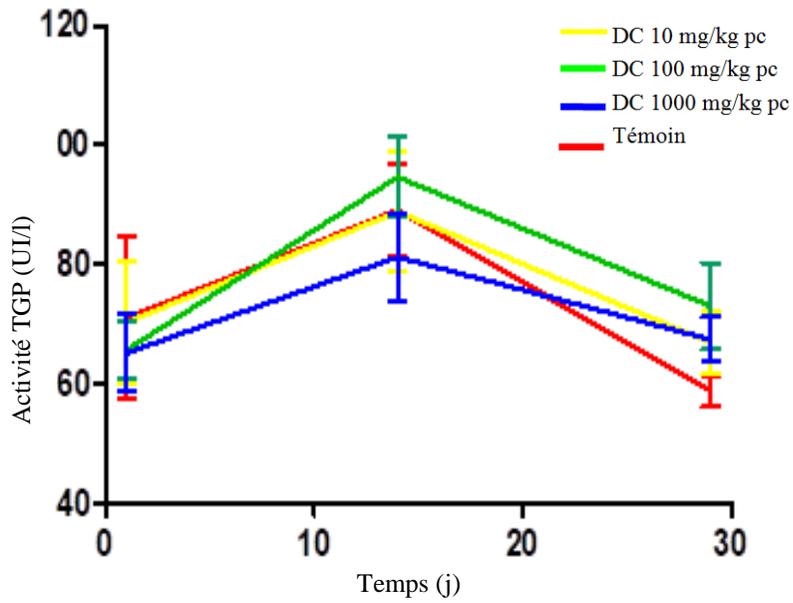
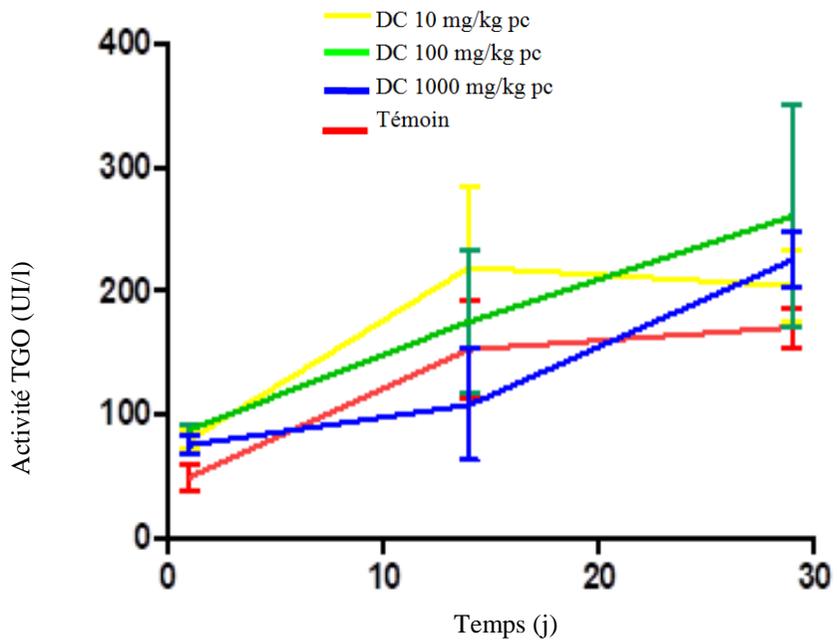


Figure 6 : Effet de l'extrait sur le taux d'hémoglobine des rats.



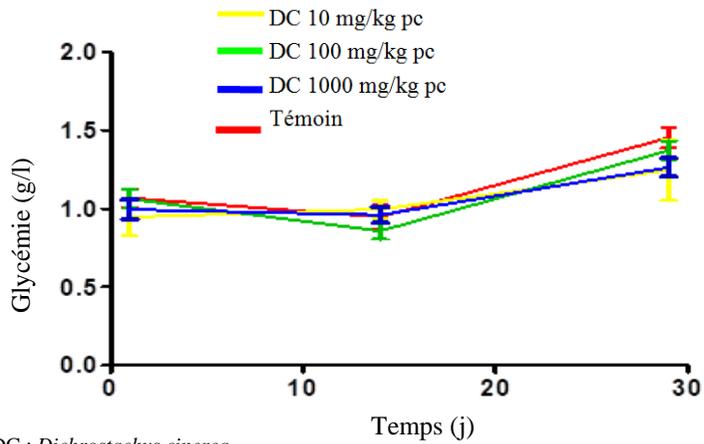
DC : *Dichrostachys cinerea*

Figure 7 : Effet de l'extrait sur l'activité alanine aminotransférase (ALAT) ou TGP.



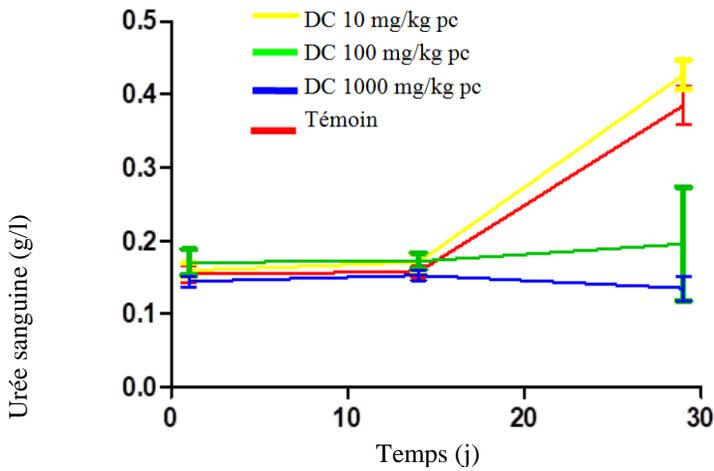
DC : *Dichrostachys cinerea*

Figure 8: Effet de l'extrait sur l'activité aspartame aminotransférase (ASAT) ou TGO.



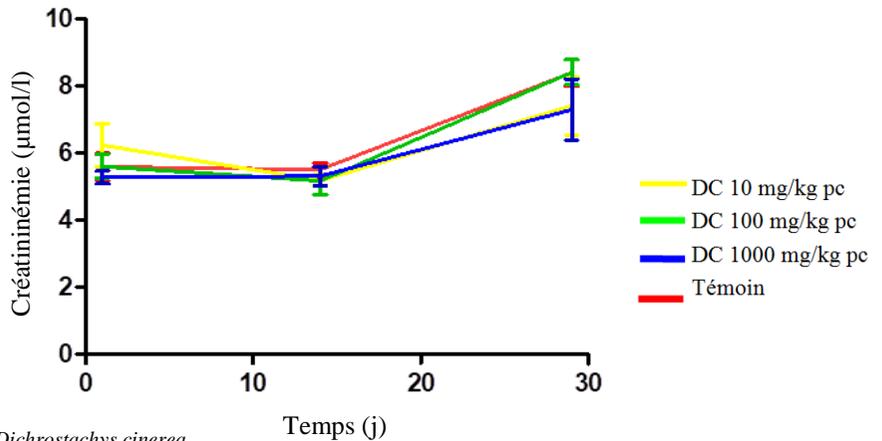
DC : *Dichrostachys cinerea*

Figure 9 : Effet de l'extrait sur la glycémie basale des rats.



DC : *Dichrostachys cinerea*

Figure 10 : Effet de l'extrait sur l'urée sanguine des rats.



DC : *Dichrostachys cinerea*

Figure 11: Effet de l'extrait sur la créatinine sanguine des rats.

DISCUSSION

L'évaluation des signes d'intoxication clinique et/ou biologique liés à un usage répété de plantes médicinales s'avère judicieuse, d'autant plus que l'usage aigu des plantes médicinales est plutôt rare en médecine traditionnelle. En effet, les plantes comestibles ne sont pas totalement dénuées de toxicité, à l'instar de *Borassus flabellifer*, couramment consommée au Sri Lanka mais douée de neurotoxicité chez le rat (Keerthi et al., 2009). Ainsi, l'usage clinique d'une substance présentant un intérêt thérapeutique est toujours précédé d'un test de toxicité (aiguë, subaiguë, sub-chronique et chronique) afin d'établir le risque encouru lors de son administration (Fané, 2002). L'étude de la toxicité aiguë constitue la première étape des investigations d'innocuité. Cette étape avait montré des doses minimales toxiques supérieures à 1000 mg/kg pc d'un extrait hydro-éthanolique de *Dichrostachys cinerea* (Irié-N'guessan et al., 2011a) à l'instar d'une dose létale 50% supérieure à 1200 mg/kg pc d'une combinaison de plantes médicinales d'usage antipaludique (Kunyima et al., 2018).

Les effets toxiques d'une substance constituent la résultante d'interactions biochimiques entre la substance et/ou ses métabolites et les structures de l'organisme auquel elle est administrée, justifiant probablement l'évaluation quasi constante de paramètres biochimiques et hématologiques lors d'étude de toxicité (Koné et al., 2009).

L'étude de la toxicité subaiguë, par administration orale répétée chez l'animal, permet de mesurer les effets néfastes cumulatifs de la consommation de la drogue sur les constantes biologiques, après une imprégnation de l'organisme dans une période de temps (généralement 28 jours).

Les études de toxicité des médicaments à base de plantes sont régies par les principes directeurs édictés par l'Organisation Mondiale de la Santé. Ces principes évoquent l'espèce animale appartenant au moins aux rongeurs des deux sexes (mâle et femelle). Par

ailleurs, il est recommandé de prévoir des groupes d'animaux pour au moins trois niveaux de dose différents, avec en outre un groupe témoin d'animaux d'expérience chez lequel on n'administre que le solvant. Aussi, pour une utilisation clinique en prise unique ou répétée de moins d'une semaine comme c'est le cas de la prise en charge de la crise d'asthme, la durée d'administration de la substance expérimentale serait-elle de 2 semaines à 1 mois (OMS, 2000).

L'administration orale répétée, pendant 28 jours, de l'extrait aux doses de 10, 100, 1000 mg/kg pc, n'a occasionné aucun décès chez les 40 rats initialement sélectionnés. La température et le poids corporels n'ont pas subi de variation significative sous *D. cinerea*. Toutefois, les courbes de poids des lots traités par l'extrait sont restées au-dessus de celle du lot témoin n'ayant reçu que le solvant. Cela pourrait être lié à une stimulation de l'appétit par l'extrait si l'on se réfère à la prise de poids lors du gavage d'animaux d'étude pendant 26 jours avec un extrait aqueux de *Senna alata* (Pième et al., 2006). Au cours des investigations que nous avons menées, il n'y a pas eu de différence statistique entre les rats mâles et femelles concernant l'évolution du poids corporel, contrairement à Etame et al. (2017) qui ont mis en évidence, après administrations pendant 28 jours de doses répétées d'un extrait alcoolique des graines de *Carica papaya*, une importante croissance pondérale chez les rats à la dose 200 mg/kg et chez les rattes à une dose plus élevée de 400 mg/kg.

L'analyse hématologique n'a révélé aucune modification significative des paramètres mesurés chez les rats traités (leucocytes, plaquettes, globules rouges, hémoglobine). Cependant on a noté au cours des dix premiers jours une légère baisse du nombre de plaquettes dans le lot ayant reçu la dose de 10 mg/kg pc de l'extrait, suivie d'une normalisation la deuxième semaine d'observation. Cette modification n'étant pas significative, nous déduisons d'une absence

de substances hématotoxiques dans l'extrait hydro-éthanolique de l'écorce de racines de *D. cinerea* sur 28 jours aux doses actives *in vitro* et *ex vivo*. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Koné et al. (2009) qui ont noté qu'un extrait aqueux de *Sacoglottis gabonensis* était atoxique à toutes les doses testées sur les paramètres hématologiques évalués, ainsi que sur les paramètres biochimiques. Au contraire, Gomé et al. (2011) ont montré que si l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* n'a pas exercé d'effet toxique sur les paramètres biochimiques, il a induit des effets hémolytiques à la dose quotidienne de 1200 mg/kg pc sur 28 jours.

L'analyse biochimique n'a révélé aucune modification significative des paramètres mesurés chez les rats traités, de façon similaire au décocté d'*Argemone mexicana*, une plante à usage antipaludique au Mali (Sanogo et al., 2008). La glycémie n'ayant pas connu d'anomalie, l'extrait n'aurait pas d'effets morbides sur le métabolisme du glucose aux doses étudiées ; les activités TGP et TGP n'ayant pas été augmentées, l'extrait ne serait pas hépatotoxique aux doses étudiées, tant l'élévation de l'activité des transaminases traduit une cytolysse hépatique (Clark et al., 2003) ; l'urée et la créatinine sanguines n'ayant pas été augmentées chez les rats traités avec l'extrait végétal, *D. cinerea* n'aurait pas d'effets délétère sur le fonctionnement rénal aux doses étudiées, puisque l'urée et la créatinine restent les constantes biologiques usuelles pour l'évaluation de la fonction rénale (Canaud, 2008).

Par ailleurs, si l'on recherche la toxicité des plantes pour optimiser leurs usages en thérapeutique, certains effets toxiques pourraient être bénéfiques à des activités de subsistance de l'Homme. Ainsi l'ichtyotoxicité avérée du macéré de feuilles *Balanites aegyptiaca* pourrait en faire un piscicide dans les aménagements piscicoles (Kabré et al., 2011).

Conclusion

Notre étude avait pour objectif de déterminer les signes d'intoxication clinique, hématologique et/ou biochimique liés à un usage répété de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* dans la prise en charge thérapeutique de l'asthme.

L'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* ne contient pas, aux doses pharmacologiquement actives, de substances mortelles ni toxiques pour les paramètres hématologiques et biochimiques étudiés sur 28 jours en administrations uni-quotidiennes répétées. Toutefois, des études de toxicité chronique seraient requises pour attester l'innocuité de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* dans un usage au long cours.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

KEE, KBDK, SLK et ATLD ont participé à l'élaboration du protocole et au traitement des données. AAA et ND ont collecté les données hématologiques et biochimiques respectivement. NGK-S a examiné le document et apporté son expertise scientifique. AGI-N a conçu l'étude, supervisé tout le travail et la rédaction de l'article.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre National de Floristique d'Abidjan de l'identification botanique, et le Centre Hospitalier et Universitaire de Cocody du plateau technique mis à leur disposition.

REFERENCES

- Canaud B. 2008. Élévation de la créatininémie: orientation diagnostique. *Rev. Prat.*, **58**(16): 1837-1846. PMID:19143158.

- Clark J, Brancati F, Diehl A. 2003. The prevalence and etiology of elevated aminotransferase levels in the United States. *Am. J. Gastroenterol.*, **98**: 960-967. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07486.x.
- Etame Loe G, Yinyang J, Okalla Ebongue C, Makondo BV, Ngaba GP, Mpondo Mpondo E, Dibong SD. 2017. Étude de la toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait au vin des graines de *Carica papaya* Linn. *J. Appl. Biosci.*, **120**: 12077-12085. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/jab.v120i1.10>.
- Fané S. 2002. Etude de la toxicité de certaines plantes vendues sur le marché du district de Bamako. Thèse de Doctorat, Université de Bamako, Bamako, 130 p.
- Gomé MB, Kouakou K, Touré A, Traoré F. 2011. Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(5): 1777-1789. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i5.1>.
- Irié-N'guessan AG, Kablan BJ, Kouakou-Siransy NG, Leblais V, Champy P. 2011. Evaluation de la toxicité de cinq plantes antiasthmatiques de la médecine traditionnelle ivoirienne. *Int. J. Biol. Chem. Sc.*, **5**(3): 1316-1319. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i3.72285>.
- Irié-N'guessan AG. 2013. Rôle des ions potassium et de l'épithélium dans la relaxation du muscle lisse trachéal: application à la propriété antispasmodique de cinq plantes antiasthmatiques issues de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan ; 193 p.
- Irié-N'guessan AG, Kouakou SL, Effo KE, Adepo AA, Kouakou-Siransy NG. 2017. Anti-inflammatory and antioxidant potential of *Dichrostachys cinerea* root bark, an Ivorian anti-asthmatic herbal. *Int. J. Pharmacol. Res.*, **7**(12): 248-254. DOI: <https://doi.org/10.7439/ijpr>.
- Irié-N'guessan AG, Kouakou SL, Koua KBD, Effo KE, Djadji ATL, Diarrassouba N, Kouakou-Siransy NG. 2018. Anticonvulsant and Analgesic Assessment of *Dichrostachys cinerea* Root Bark, an Ivorian Anti-Asthmatic Herbal, in Mice. *J. Pharmacol. Clin. Res.*, **6**(4): 1-6. DOI: 10.19080/JPCR.2018.06.555687.
- Irié-N'guessan G, Champy P, Kouakou Siransy G, Koffi A, Kablan BJ. 2011. Tracheal relaxation of five Ivorian anti asthmatic plants: Role of epithelium and K⁺ channels in the effect of the aqueous-alcoholic extract of *Dichrostachys cinerea* root bark. *J. Ethnopharmacol.*, **138**(2): 432-438. DOI: <doi:10.1016/j.jep.2011.09.016>.
- Kabré AT, Bamba D, Bouda S. 2011. Etude préliminaire de l'ichtyotoxicité des feuilles et tourteau de *Balanites aegyptiaca* et de tourteau de thé (*Camellia sp*) en vue de leurs utilisations comme piscicide d'aménagement des étangs piscicoles. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(6): 2236-2249. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i6.6>.
- Keerthi AAP, Jansz ER, Ekanayake S, Premakumara GAS. 2009. The synergistic neurotoxins of palmyrah (*Borassus flabellifer* L.) flour. *Int. J. Biol. Chem. Sc.*, **3**(2): 255-265. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v3i2.44488>.
- Koné M, Bléyééré NM, Yapo AP, Vangah MO, Ehilé EE. 2009. Evaluation de la toxicité d'un extrait aqueux de *Sacoglottis gabonensis* (Baille) Urban (Humiriaceae) chez les rongeurs, une plante utilisée dans le traitement de l'ulcère de Buruli en Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **3**(6): 1286-1296. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v3i6.53147>.

- Kunyima PK, Muganza DM, Maloueki U, Mwabonkolo MM, Lami JN, Mbomba ANB, Memvanga PB. 2018. Antimalarial efficacy and toxicity evaluation of 80% ethanol extracts from the stem bark of *Enantia olivacea*, *Garcinia punctata* and *Massularia acuminata*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12(5): 2093-2100. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.11>
- Louhimies S. 2002. Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Altern. Laboratory Animals: Atla*, 30(2): 217-219. PMID: 12513679.
- Organisation Mondiale de la Santé. 2000. Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js4929f/4.3.html/2001/WHO_EDM_TRM_2001.1.pdf. Genève, 87 p.
- Organisation Mondiale de la Santé. 2002. Stratégie de l'Organisation Mondiale de la Santé pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Disponible sur http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js2298f/5.3.html/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf. Genève, 74 p.
- Organisation pour la Coopération Economique et le Développement. 2008. Repeated Dose Oral Toxicity Test Method. OECD Guidelines for testing of chemicals, Paris, 327 p.
- Pième CA, Penlap VN, Nkegoum B. 2006. Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Cesalpiniaceae). *Afr. J. Biotechnol.*, 5(3): 283-289. DOI: 10.5897/AJB.
- Sanogo R, Djimdé A, Guirou C, Doumbia L, Maiga A, Doumbo O., Diallo D. 2008. Etude de la toxicité sub -chronique du décocté d'*Argemone mexicana* L. *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, 15: 26-31.