

# EVALUATION DE LA TOXICITÉ AIGUË DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FEUILLES DE *THUNBERGIA ATACORENSIS*, UNE ESPÈCE NOUVELLE

*Aké-Assi Emma*

*N'guessan Koffi*

Université Félix Houphouët-Boigny, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de  
Botanique; Institut Botanique Aké-Assi d'Andokoi, Côte-d'Ivoire

*Kouassi Akossoua Faustine*

Centre National de Floristique de l'U.F.R. Biosciences, Université Félix  
Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire

---

## Abstract

*Thunbergia atacorensis* is a new plant species, discovered in gallery forest of Atacora Province in Benin (West Africa). This beautiful shrub can be used as ornamental. Before introducing the plant in human environment, it will be necessary to know its toxicological parameters. This work was aimed to evaluate, in mice, the acute toxicity at different doses of the aqueous decoction of the plant leaves in order to prevent intoxication. The acute toxicity of leaves aqueous decoction from the plant was assessed after a process which consisted in giving orally, to mice, the crude decoction for increasing doses ranging from 900 to 4500 mg/kg of body weight (b.w.). The use of the plant extract, through oral route (or), at different doses, causes some clinical signs (agitations, poor appetite, motor difficulties and dyspnea). The results made it possible to obtain the dose at bordering on solubility which squares with the Letal Dose of 100% or LD<sub>100</sub> (4500 mg/kg/b.w./or). The Tolerated Maximal Dose or TMD was evaluated at 900 mg/kg/b.w./or. The plant extract, administered orally, provided slight toxicity, with a LD<sub>50</sub> of 1720.25 mg/kg/b.w./or. Thus, the experimentally found Letal Dose of 50% can justify the domestication of the plant as ornamental.

---

**Keywords:** Côte d'Ivoire, TMD, LD<sub>50</sub>, LD<sub>100</sub>, Ornamental plant, *Thunbergia atacorensis*

---

## Résumé

*Thunbergia atacorensis* est une nouvelle espèce de plante découverte dans les galeries forestières de la Province de l'Atacora, au Bénin, en Afrique de l'Ouest. Cette belle plante arbustive peut être utilisée comme ornementale. Cependant, avant l'introduction de la plante dans l'environnement humain, il serait nécessaire de connaître ses paramètres toxicologiques, pour une surveillance de posologie, dans le but d'éviter des cas d'intoxication. Ainsi cette étude a été conduite, afin de déterminer les paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux des feuilles de la plante. La toxicité aiguë a été évaluée, en administrant par voie orale à des souris, des doses croissantes d'extrait brut aqueux, allant de 900 à 4500 mg/kg de poids corporel. L'administration orale de l'extrait, à différentes doses, a entraîné quelques signes cliniques, notamment des agitations, des difficultés motrices, un manque d'appétit, et la dyspnée. Les résultats ont permis d'obtenir la dose à la limite de la solubilité qui correspond à la dose létale 100% ou DL<sub>100</sub> (4500 mg/kg/b.w./or). La dose maximale tolérée ou DMT a été évaluée à 900 mg/kg/vo). L'extrait de la plante, administré oralement, entraîne une toxicité légère avec une dose létale pour 50 % ou DL<sub>50</sub> de 1720,25 mg/kg/vo) et la dose létale 100 % ou DL<sub>100</sub> (7500 mg/kg/vo). Ainsi, ces données expérimentales montrent que *Thunbergia atacorensis* est une plante qui admet un seuil de toxicité. Toutefois, la DL<sub>50</sub> trouvée peut justifier la domestication de la plante comme ornementale.

---

**Mots clés:** Côte d'Ivoire, DMT, DL<sub>50</sub>, DL<sub>100</sub>, Plante ornementale, *Thunbergia atacorensis*

## Introduction

En Côte d'Ivoire, la forêt tropicale humide est soumise, depuis quelques décennies, à une activité anthropique sans précédent (Koné, 2012). Les forêts, sources de matières premières indispensables à la vie quotidienne, reculent, se modifient, s'amenuisent et se meurent. Cela représente une véritable menace sur le patrimoine de la flore et particulièrement sur celle des plantes ornementales, qui décorent, embellissent ou agrémentent le cadre de vie de l'homme (Aké-Assi, 2002). Des études antérieures sur les plantes ornementales ivoiriennes ont montré que seulement 23% des plantes natives du patrimoine ivoirien, participent à cet embellissement (Aké-Assi E, 2002). La domestication s'avère une alternative pour protéger les espèces de plantes menacées de disparition et constitue un moyen de sauvegarde de la flore (Aké-Assi E. *et al.*, 2007) et d'enrichissement de l'horticulture africaine par notre propre patrimoine végétal. Toutefois, toute domestication c'est-à-dire toute introduction volontaire ou non d'espèces végétales par l'homme dans un milieu répond à des enjeux aussi bien économiques, esthétiques que

scientifiques (Kouadio, 2009). C'est dans ce même ordre que pour ses qualités ornementales et pour l'intérêt scientifique, que l'étude de *Thunbergia atacorensis* Akoègninou & Lisowski (Acanthaceae), une espèce nouvellement découverte au Bénin, en Afrique de l'Ouest, dans une galerie forestière de la province de l'Atacora, a été réalisée. Pour lever tout obstacle à la domestication de la plante, diverses études portant sur la dynamique de croissance, la phénologie, la toxicologie, la phytochimie, ont dû être menées pour comprendre le comportement de la plante et favoriser son intégration (Aké-Assi E, 2015). C'est dans ce même ordre d'idée que cette étude a été conduite. La présente étude est orientée vers la découverte des paramètres toxicologiques, en vue d'éviter une intoxication, au contact de cette plante ou lors de son ingestion.

## **Matériel Et Méthodes D'étude**

### **Matériel d'étude**

#### **Matériel végétal**

Le matériel végétal est représenté par les feuilles de *Thunbergia atacorensis* (figure 1), collectées fraîchement, durant le mois de juin 2013, en pleine saison des pluies, dans une parcelle expérimentale aménagée au jardin botanique du Centre National de Floristique (C.N.F.), à l'U.F.R. Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire).



Figure 1: Vue de *Thunbergia atacorensis* (Acanthaceae). Suffrutex à port dressé,

#### **Animaux utilisés pour l'évaluation de la toxicité aiguë**

Pour mener cette étude de la toxicité aiguë, soixante (60) souris (*Mus musculus*, Muridae) de race SWISS ont été utilisées. On comptait autant de mâles que de femelles. Les animaux en provenance de l'Institut Pasteur d'Adiopodoumé (Abidjan, Côte d'Ivoire), étaient âgés de 4 à 6 semaines et

pesaient entre 13 et 26 grammes de poids corporel. Ils ont été placés dans des cages métalliques aérées contenant des litières de copeaux de bois régulièrement renouvelées puis acclimatés aux conditions de l'animalerie pendant trois jours avant le traitement. Ils étaient nourris à partir des granulés de la société IVOGRAIN.

## **Méthodes**

### **Préparation de l'extrait brut aqueux**

Les feuilles fraîches de *Thunbergia atacorensis* (980 g), récoltées et rincées, en mélange avec 6 litres d'eau distillée, ont été soumises à une décoction pendant 45 minutes. La mixture a été d'abord essorée dans un carré de tissu propre, filtrée successivement deux fois sur du coton hydrophile puis sur papier Wattman 3 mm. Le volume du filtrat (environ 3 l) a été évaporé au rotavapor puis à l'étuve à 60°C. Au bout de deux jours, les cristaux obtenus ont été pulvérisés, grâce à un mortier et un pilon en porcelaine. La poudre fine recueillie (34,4722 g) a constitué l'extrait total sec que nous avons conservé, au réfrigérateur, dans un bocal stérile en verre, hermétiquement fermé.

### **Doses évaluées**

La concentration maximale, qui correspond à une concentration à la limite de la solubilité de l'extrait, a été recherchée. Trois (3) g d'extrait total ont été dissout dans 20 ml d'eau distillée, ce qui correspond à une concentration maximale de 150 mg/ml. Cette concentration a permis de mener l'étude de la toxicité aiguë. A partir de cette solution mère, des dilutions successives sont préparées au 1/2, 1/3, 1/4 et au 1/5. Cela a permis d'obtenir, à partir de la solution mère, une gamme de concentrations de 75 ; 50 ; 37,5 et 30 mg/ml. Après avoir soumis les animaux à un jeûne de 12 heures, la solution mère (150 mg/ml) a été administrée, par gavage, à l'aide d'une canule d'intubation comportant un embout légèrement recourbé. Le gavage a été fait avec un volume de 0,6 ml pour 20 grammes de poids corporel. La dose d'extrait à administrer est ensuite exprimée en mg/kg/vo de poids corporel (tableau I). Dans l'ensemble, des volumes de 0,39 à 0,75 ml ont été administrés aux animaux, en fonction de leur poids corporel. Les différentes concentrations obtenues : 150 ; 75 ; 50 ; 37,5 et 30 mg/ml correspondent aux doses respectives de 4500 ; 2250 ; 1500 ; 1125 et 900 mg/kg/vo de poids corporel.

### **Conditionnement et constitution des lots de souris pour l'évaluation de la toxicité aiguë**

Les animaux (souris) ont été maintenus à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacognosie de l'U.F.R. Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, à l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire) et placés dans des

cages métalliques aérées contenant des litières de copeaux de bois régulièrement renouvelées. Ils ont été acclimatés aux conditions de l'animalerie pendant sept jours avant le traitement et nourris à partir des granulés de la société IVOGRAIN. Avant traitement, les animaux ont été soumis à un jeûne de 12 heures. Ils ont été répartis en six lots de 10 de la façon suivante :

- lot 01 : souris témoins recevant de l'eau distillée (groupe de contrôle)
- lot 02 : souris traitées avec l'extrait à 150 mg/ml
- lot 03 : souris traitées avec l'extrait à 75 mg/ml
- lot 04 : souris traitées avec l'extrait à 50 mg/ml
- lot 05 : souris traitées avec l'extrait à 37,5 mg/ml
- lot 06 : souris traitées avec l'extrait à 30 mg/ml.

### **Observation des troubles symptomatiques**

Après le gavage de l'extrait, les animaux sont replacés dans leurs cages métalliques où ils pouvaient avoir accès aux granulés à nouveau. Ils ont été observés aussitôt puis toutes les 30 minutes, pendant huit heures, le premier jour et une fois par jour, durant 48 heures. Pendant cette période, les troubles symptomatiques (agitation, manque d'appétit, difficultés motrices et dyspnée) ont été notés, chez les animaux des lots constitués.

### **Evaluation des paramètres toxicologiques**

#### **Détermination de la DMTet de la DL<sub>100</sub>**

Après administration de l'extrait, aux différentes concentrations (150 ; 75 ; 50 ; 37,5 et 30 mg/ml) correspondant aux doses de 4500, 2250, 1500, 1125 et 900 mg/kg/p.c./vo, les animaux morts étaient comptés dans chaque lot, durant 48 heures. Cette expérimentation sur la toxicité aiguë a été conduite dans le but de déterminer les paramètres toxicologiques que sont la dose létale 50% (DL<sub>50</sub>), dose qui tue 50% des animaux, la dose létale 100% (DL<sub>100</sub>), dose qui tue tous les animaux et la dose maximale tolérée (DMT) qui représente la dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque l'extrait est administré.

#### **Détermination de la dose létale 50% (LD<sub>50</sub>)**

La dose létale 50% (LD<sub>50</sub>) a été déterminée à partir de la formule de **Karber et Berhens (1935)**. Elle se calcule de la façon suivante :

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\Sigma (a \times b)}{n}$$

$DL_{50}$  : Dose létale 50% ;  $DL_{100}$  : Dose létale 100% ; a : moyenne de la somme des morts entre deux doses successives ; b : différence entre deux doses successives ; n : moyenne du nombre d'animaux utilisés par lot. Le tableau II ci-après permet d'apprécier la toxicité par rapport à la  $DL_{50}$ .

## Résultats

### Signes cliniques notés après gavage de l'extrait

Quelques instants après gavage de l'extrait des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, à des doses allant de 900 à 4500 mg/kg/vo, un manque d'appétit, des difficultés motrices ainsi que la dyspnée ont été notés. Une courte période d'agitation de 3 minutes a été suivie de somnolence et d'étirement. Une vingtaine de minutes plus tard, tous les animaux ont repris leur habitude normale. Des modifications relatives à l'aspect général des souris (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche) n'ont pas été observées durant ces deux jours d'observation. En résumé, des modifications de comportement ont été observées, en comparaison au groupe de contrôle. Cette expérience montre que l'extrait de la plante semble exercer, à différentes doses, un effet stressant sur les souris.

### Effet de gavage de l'extrait sur la mortalité des souris

Durant ces investigations sur les souris, différents signes de toxicité ont été notés (tableau I). L'extrait des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, administré à des doses allant de 900 à 4500 mg/kg/vo, a provoqué la mort des souris, selon les lots constitués. On observe une augmentation de la mortalité des animaux au fur et à mesure que la dose augmente. On note donc un effet dose-dépendant.

Tableau I : Taux de mortalité des souris après gavage de l'extrait de *Thunbergia atacorensis*

Lots constitués	Taux de mortalité par lot					
	1	2	3	4	5	6
Substance donnée en gavage	Eau distillée	Extrait	Extrait	Extrait	Extrait	Extrait
Concentration (mg/ml)	0,6 ml/20g	150	75	50	37,5	30
Dose correspondante (mg/kg p.c./vo)	30 ml/kg	4500	2250	1500	1125	900
Nombre de souris par lot	10	10	10	10	10	10
Nombre de souris mortes, 48 h après gavage de l'extrait	0	10	9	5	2	0
Mortalité (%)	0	100	90	50	20	0

## Détermination des paramètres toxicologiques

La plus forte dose tuant tous les animaux ou dose létale 100% (DL<sub>100</sub>) est de 4500 mg/kg/vo et la dose maximale tolérée (DMT), dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque l'extrait est administré, s'élève à 900 mg/kg/vo. Dans l'application numérique de la formule de **Karber et Berhens (1935)**, le calcul de la DL<sub>50</sub> de l'extrait, donne la valeur de 1720,25 mg/kg/vo. Selon l'échelle de toxicité de **Hodge et Sterner (1943)**, cette valeur de la DL<sub>50</sub> (1720,25 mg/kg/vo) sur 48 heures d'observation indique que l'extrait aqueux des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, administré par voie orale (VO), est légèrement toxique, chez les souris, dans les conditions de cette étude (Tableau II).

Tableau II : Classe de toxicité, selon l'échelle de toxicité de **Hodge et Sterner (1943)**

Indice ou classe de toxicité	Terme couramment utilisé	Paramètre toxicologique (DL <sub>50</sub> )
1	Extrêmement toxique	DL <sub>50</sub> ≤ 1 mg/kg
2	Hautement toxique	1 mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 50 mg/kg
3	Modérément toxique	50 mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 500 mg/kg
4	Légèrement toxique	500mg/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 5 g/kg
5	Presque toxique	5 g/kg ≤ DL <sub>50</sub> ≤ 15 g/kg
6	Relativement inoffensif	DL <sub>50</sub> ≥ 15 g/kg

## Discussion

L'administration de l'extrait des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, par voie orale, à différentes doses, cause des signes cliniques dans les lots constitués. L'extrait semble stressant. Son effet est comparable aux extraits des feuilles des espèces suivantes : *Boerhavia diffusa*, *Chrysophyllum cainito*, *Stachytarpheta indica* (N'Guessan *et al.*, 2012; N'Guessan *et al.*, 2011; Hobou *et al.*, 2011). L'effet de *Thunbergia atacorensis* rappelle ce que l'on a observé aux Caraïbes (des douleurs abdominales, une diminution de l'activité motrice), lorsque des doses de 800 à 1000 mg/kg de *Terminalia catappa*, ont été administrées aux rats (**A.C.C.T., 1989**). Par contre, le décocté des graines de *Picralima nitida*, n'a présenté aucun signe stressant sur des souris. Ces différences sur les signes cliniques semblent être liées soit à l'espèce végétale ou même aux différentes parties de la plante.

L'extrait aqueux des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, administré à des doses allant de 900 à 4500 mg/kg/vo, a provoqué la mort des souris, selon les lots constitués. Il y a donc effet dose-réponse de l'extrait aqueux brut. La dose maximale tolérée ou DMT est la dose qui ne tue aucun animal. Sa valeur est de 900 mg/kg/vo. La dose qui provoquerait 50% de mortalité des souris est de 1720,25 mg/kg/vo. Selon l'échelle de toxicité de **Hodge et**

**Sterner (1943)**, ce résultat de la DL<sub>50</sub> sur 48 heures d'observation, indique que l'extrait aqueux des feuilles de *Thunbergia atacorensis*, administré par voie orale (VO), est légèrement toxique, chez les souris, dans les conditions de cette étude. Dans leur étude de la toxicité aiguë de *Mareya micrantha* chez les souris, **Doumbia et al. (2007)** montrent un effet dose-réponse de l'extrait aqueux et indiquent que la dose de 1000 mg/kg/vi entraîne la mort de toutes les souris. Il est à indiquer que les feuilles de *Boerhavia diffusa*, *Chrysophyllum cainito* et celles de *Stachytarpheta indica*, exercent, également, un effet dose-réponse sur la mortalité des souris (N'Guessanet al., 2012; N'Guessanet al., 2011; Hobouet al., 2011). L'effet dose-réponse signalé dans ces différentes études, à quelques exceptions près, se rapprochent de nos résultats. Cependant, les valeurs des paramètres toxicologiques ne sont pas les mêmes, en passant d'une espèce de plante à l'autre. Des valeurs très élevées ont été obtenues avec *Stachytarpheta indica* (DMT: 9000 mg/kg/vo; DL<sub>50</sub>: 19837.5 mg/kg/vo et DL<sub>100</sub>: 45000 mg/kg/vo). Avec *Boerhavia diffusa*, les paramètres toxicologiques se présentent comme suit: DMT (1200 mg/kg b.w./vo); DL<sub>50</sub> (2749,4 mg/kg b.w./vo) et DL<sub>100</sub> (6000 mg/kg b.w./vo). On a obtenu, avec *Chrysophyllum cainito*, les valeurs suivantes: DMT (468.75 mg/kg/vo); DL<sub>50</sub> (2578.125 mg/kg/vo) et DL<sub>100</sub> (7500 mg/kg/vo). Les investigations conduites avec *Picralima nitida* montrent que l'extrait des grains de la plante n'exerce aucun effet léthal sur des souris exposées à des doses de 600 to 3000 mg/kg b.w./vo (Koffi et al., 2014).

A quelques exceptions près, les valeurs relatives à *Boerhavia diffusa* et *Chrysophyllum cainito*, sont comparables à celles de *Thunbergia atacorensis*. La toxicité n'est pas la même, en passant d'une espèce de plante à l'autre. Elle est aussi fonction du mode d'administration de l'extrait.

## Conclusion

Le décocté aqueux de *Thunbergia atacorensis* (Acanthaceae), administré par voie orale, exerce un effet dose-réponse. Les caractéristiques toxicologiques obtenues dans les conditions expérimentales sont : dose maximale tolérée ou DMT (900 mg/kg/vo); dose létale pour 50% ou DL<sub>50</sub> (1720,25 mg/kg/vo) et dose létale 100% ou DL<sub>100</sub> (4500 mg/kg/vo). L'extrait de la plante n'est pas une substance toxique sans seuil. Il admet un seuil de toxicité avec une DL<sub>50</sub> qui indique que la toxicité est légère, ce qui est rassurant pour la domestication de la plante pour un usage ornemental.

## References:

- A.C.C.T., 1989. Vers une pharmacopée caraïbe. Edition de l'A.C.C.T., 476 p.
- Aké-Assi, E., 2002. Contribution à l'étude des plantes ornementales cultivées dans les régions d'Abidjan et de San-Pédro, en Côte d'Ivoire.



Doctorat de 3<sup>ème</sup> Cycle, U.F.R. Biosciences, Université de Cocody-Abidjan, Volume 1, 291p.

Aké-Assi, E., 2015. Etude taxinomique des plantes à potentialité décorative de la flore du Sud de la Côte d'Ivoire et essai de domestication de *Thunbergia atacorensis* Akoègninou & Lisowski (Acanthaceae), une espèce nouvellement introduite. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Université Félix Houphouët-Boigny, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique, 216 p.

Aké-Assi E., Chatelain C., Aké-Assi L. & Traoré D., 2007.- *Thunbergia erecta* (Benth.) T. Anders. (Acanthaceae) : L'histoire de sa découverte en Côte d'Ivoire et le paradoxe d'une expansion horticole. *Annales de Botaniques de l'Afrique de l'Ouest* ISN : 1726 – 1546.

Doumbia I., Djaman A. J., Bahi C. & Guédé-Guina F., 2007. Evaluation de la toxicité de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) chez la souris. *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest*, **00 (5)** : pp. 79-86.

Hodge H.C. & Sterner J.H., 1943.- Determination of substances acute toxicity by LDB50B. *Amer. Industrial Hyg. Assoc.* 10: 93.

Karber C., Brehrens B. Wiesind Reihenversuche fur biologische Auswertungen am Zweckmässigst en Anzuordnen? *Arch. Exp. Path. Pharm.*, 1935 ; 177 : 379-388.

N'Guessan K., Fofié N. B.Y., Coulibaly K., et Koné D., 2012. Évaluation de la toxicité aiguë de *Boerhavia diffusa* chez la souris. *Agronomie Africaine* XXIV (1) : 1-6 (2012).

Hobou D.A.R.D, Fofié N.B.Y., N'guessan K. et Koné D., 2011. Évaluation de la toxicité de *Stachytarpheta indica* chez la souris. *Journal des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*, 2011, 12 (1) : 6-12.

N'Guessan K., Soro K., Coulibaly K., 2011. Évaluation de la toxicité de *Chrysophyllum cainito* chez la souris. *Bioterre, Rev. Int. Sci de la Terre*, Vol. 11 2011 : 7-17.

Karber C., Brehrens B. 1935. Wiesind Reihenversuche fur biologische Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen? *Arch. Exp. Path. Pharm.*, 177 : 379-388.

Koffi NG, Emma AA, Stéphane DK., 2014. Evaluation of *Picralima nitida* acute toxicity in the mouse. *International Journal of Research in Pharmacy and Science*, 2014, 4 (3): 18-22.

Koné KHC, 2012. Étude écologique et phytosociologique des peuplements monospécifiques à haut rendement ligneux de *Tectona grandis* L. (Teck) dans les forêts classées de Sangoué et de Rasso, en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique, 212p.