

TOXICITÉ AIGUË ET SUBAIGUË DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUES D'*INULA VISCOSA* L. (*DITTRICHIA VISCOSA* L.)

OUAHCHIA Célia^{1*}, CHERIF Hamida-Saida¹, HAMAIDI-CHERGUI Fella¹, MARZEN Loubna¹, DERADJI Samira¹, HEMMA Rym¹, NOUAR Nouria² et SAIDI Fairouz¹

1. Université Blida1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Laboratoire de Biotechnologies, Environnement et Santé. Algérie.

2. CHU BENI MESSOUS. Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique. Algérie.

Reçu le 07/11/2017, Révisé le 18/12/2017, Accepté le 31/12/2017

Résumé

Description du sujet : Beaucoup de travaux se sont intéressés à l'étude des effets thérapeutiques des plantes médicinales. Cependant elles doivent être utilisées avec une grande prudence car elles peuvent être toxiques.

Objectifs : C'est dans ce but que s'inscrit notre travail qui consiste à faire une étude de la toxicité aiguë et subaiguë des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* connue au Nord de l'Algérie sous le nom de Magrammane.

Méthodes : Pour l'étude de la toxicité aiguë, les extraits méthanoliques des feuilles et les fleurs ont été administrés en une seule fois, par voie orale à des souris albinos Swiss aux doses 400 mg/kg et 800mg/kg. Les souris ont été surveillées pendant 14 jours. Dans l'étude de la toxicité subaiguë, les extraits ont été administrés par voie orale à des rats Wistar aux doses 400 mg/kg et 800 mg/kg quotidiennement pendant 28 jours. Leur poids corporel a été surveillé durant la période expérimentale, alors que les paramètres hématologiques, biochimiques du sang et l'étude histo-pathologique des reins et des foies ont été évalués à la fin de l'expérience.

Résultats : Les résultats obtenus ont montré dans l'étude de la toxicité aiguë, qu'aucune des doses n'a entraîné la mort de souris. L'étude de la toxicité subaiguë n'a révélé que peu de changements significatifs dans le bilan biochimique, les ASAT ont diminuées significativement ($p < 0,01$): 116,17 mg/L \pm 1,27 chez les rats traités avec l'EMeOH/F à la dose 800mg/Kg et l'urée a augmentée significativement ($p < 0,01$): 0,50 mg/L \pm 0,05 chez les rats traités avec l'EMeOH/Flr à la dose 800 mg/Kg en comparaison avec les rats témoins. Aucun changement significatif n'a été constaté dans le bilan hématologique. Les organes sont restés intacts.

Conclusion : l'étude de la toxicité des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* n'a pas montré de signes de toxicité aiguë ou subaiguë aux doses étudiées.

Mots clés : Toxicité ; extrait méthanolique ; feuilles ; fleurs ; *Inula viscosa* L.

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF *INULA VISCOSA* L. (*DITTRICHIA VISCOSA* L.) METHANOLIC EXTRACTS

Abstract

Description of the subject: Many studies have investigated the therapeutic effects of medicinal plants. However, they should be used with great caution because they may be toxic.

Objectives: The purpose of this study focuses on the acute and subacute toxicity of *Inula viscosa* L. methanolic extracts, known in North Algeria as Magrammane.

Methods: For the study of acute toxicity, the methanolic extracts of leaves and flowers were orally administered to Swiss albinos mice as single doses of 400 mg/kg and 800 mg/kg. The mice were observed over 14 days. In the sub-chronic toxicity study, the extracts were orally administered at doses of 400 mg/kg et 800 mg/kg to Wistar rats over 28 days. Their body weight was measured throughout the experimental period, while hematological, biochemical parameters and histopathological study of the kidney and liver were evaluated at the end of the experiment.

Results: The results obtained in the acute toxicity study show that none of the doses caused death in the treated mice. The study of sub-chronic toxicity revealed a slightly significant change in the biochemical balance, AST decreased significantly ($p < 0,01$): 116,17mg/Kg \pm 1,27 in groups of rats treated with EMeOH/F at the dose of 800mg/Kg, urea increased significantly ($p < 0,01$): 0,50mg/Kg \pm 0,05 in groups of rats treated with EMeOH/Flr at the dose of 800mg/Kg en compared to control group. No significant change were observed in the hematological balance. The organs studied have also remained intact.

Conclusion: The study of the toxicity of leaves and flowers of *Inula viscosa* L. methanolic extracts showed no acute toxicity or sub-chronic toxicity at the doses studied.

Keywords: Toxicity; methanolic extract; leaves; flowers; *Inula viscosa* L.

*Auteur correspondant: OUAHCHIA Célia; E-mail : ouahchiacelia@yahoo.fr.

INTRODUCTION

Depuis quelques années on constate un regain d'intérêt pour la phytothérapie, en effet de plus en plus de personnes ont recours aux plantes médicinales pour se soigner. [1].

Il convient de souligner que l'utilisation traditionnelle de toute plante à des fins thérapeutiques ne garantit en rien son innocuité [2]. Si les effets pharmacologiques de nombreuses plantes ont été prouvés dans divers laboratoires, leur toxicité est généralement méconnue. Par conséquent, l'évaluation de la toxicité des préparations à base de plantes est importante pour déterminer l'innocuité de ces remèdes [3].

Inula viscosa (L.) Aiton (syn. *Dittrichia viscosa* Greuter) [4], est une plante vivace qui appartient à la famille des *Asteraceae* qui évolue dans la majeure partie du bassin méditerranéen [5, 6]. Cette plante est utilisée depuis des années en médecine traditionnelle pour ses activités anti-inflammatoire, antipyrétique et antiseptique elle est également utilisée pour le traitement du diabète et le traitement de certains troubles gastro-duodénaux [7-15].

Inula viscosa contient certains composés pharmacologiquement actifs, y compris les sesquiterpènes, [11, 16], les azulènes, les lactones, les flavonoïdes et les huiles essentielles [8, 17, 18].

Le but de ce travail est d'étudier la toxicité aiguë et subaiguë des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* L. aux doses 400 mg/ Kg et 800 mg/Kg chez des souris et des rats.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétal

Les feuilles et les fleurs de la plante ont été récoltées respectivement au mois d'Avril et Novembre 2015 dans la région de Tipaza (Wilaya de Tipaza, Algérie). Les échantillons ont été nettoyés, séchés à l'air libre, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les feuilles et/ou les fleurs ont été ensuite réduites en poudre et bien conservées jusqu'à leur utilisation.

2. Extraction

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un appareil : soxhlet, selon la méthode de William [19], la poudre végétale a été épuisée successivement par le n-hexane (fraction apolaire) ($C_6H_{14} \geq 95\%$ puriss, Sigma Aldrich, Allemagne) et le méthanol (fraction polaire) ($CH_4O \geq 99,7\%$ puriss, Sigma Aldrich, Allemagne), les extraits obtenus ont été concentrés à l'évaporateur rotatif (Stuart 300b, U.K.). Le résidu sec est récupéré et pesé pour déterminer le rendement par la suite, il est conservé à 4°C dans des flacons opaques bien fermés jusqu'à leur utilisation.

3. Animaux

Pour l'étude de la toxicité aiguë des souris albinos Swiss des deux sexes pesant chacune entre 20-30g ont été utilisées. Pour l'étude de la toxicité sub-chronique des rats Wistar des deux sexes pesant entre 100-120g ont été utilisés. Ces animaux provenaient tous de l'Institut Pasteur d'Alger, les femelles utilisées étaient nullipares.

Les animaux ont été distribués en groupes de 6 chacun (3 mâles et 3 femelles) par dose et par lot, les femelles et les mâles étaient séparés dans des cages différentes tout au long de l'étude et avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture, à l'exception d'une courte période de jeûn avant l'administration par voie orale des doses d'extraits. Tous les animaux (souris et rats) ont été maintenus sous un cycle lumière / obscurité de 12/12 h, à température ($22 \pm 2^\circ C$) et humidité ($50 \pm 15\%$) constantes.

4. Toxicité aiguë

Le test de toxicité aiguë a été réalisé selon le protocole décrit par Costa-Silva *et al.*, [20], les souris ont été divisées en 5 lots de 6 individus (3 mâles et 3 femelles) et acclimatées pendant une semaine avant de commencer l'expérience. Elles ont été maintenues à jeûn pendant 18 heures avant l'administration des différents extraits méthanoliques :

Le premier lot (témoin) a reçu de l'eau physiologique tandis que les groupes 2 et 3 ont reçu par voie orale en une seule administration l'extrait méthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* (EMeOH/F) aux doses respectives de 400 et 800 mg/kg.

Les groupes 4 et 5 ont reçu par voie orale en une seule fois également l'extrait méthanolique des fleurs d'*Inula viscosa* (EMeOH/Flr) aux mêmes doses. Le changement du comportement général ou la mortalité des souris de chaque lot ont été surveillés durant 14 jours.

5. Toxicité subaiguë

Le test de toxicité subaiguë a été réalisé selon le protocole décrit par Silva *et al.*, et Musa *et al.*, [21, 22], les rats ont été divisés en 5 groupes (de 1 à 5) à raison de 6 rats par lot (3 mâles et 3 femelles) et leurs poids ont été enregistrés avant le début du traitement.

Le premier lot (groupe 1) qui a reçu de l'eau physiologique est utilisé comme lot de référence. Les groupes 2 et 3 ont reçu par voie orale l'EMeOH/F aux doses respectives de 400 et 800 mg/kg. Les groupes 4 et 5 ont également reçu également par voie orale l'EMeOH/Flr aux mêmes doses. Tous les traitements ont été administrés par voie orale une fois par jour pendant 28 jours. Les rats étaient observés à la recherche de signes d'anomalies pendant la période du traitement. En outre, leur poids corporel a été enregistré à la fin de chaque

semaine jusqu'au dernier jour du traitement. À la fin de l'expérimentation, les rats ont été mis à jeûn pendant 16h mais ont eu un accès libre à l'eau. Ils ont ensuite été anesthésiés avec de l'éther par inhalation, après décapitation le sang a été recueilli dans des tubes avec ou sans anticoagulant (éthylène diamine tétra Acétate), pour des études hématologiques et biochimiques. Les rats ont ensuite été disséqués et les organes tels que le cœur, le foie, les poumons, les reins et la rate ont été recueillis et pesés.

6. Mesure des paramètres hématologiques et biochimiques

L'analyse hématologique a été réalisée à l'aide d'un système automatique hématologique (Sysmex KX-21N). L'analyse biochimique du sang a été réalisée après centrifugation à 3000 rotations par minute (rpm) pendant 10 min. Le sérum a été séparé et recueilli pour la réalisation des analyses. Les paramètres ont été déterminés à l'aide d'un automate biochimique (Roche Hitachi 902, Allemagne) avec le kit biochimique Spinreact (Espagne). (Tableau 1).

Tableau 1 : Paramètres hématologiques et biochimiques étudiés

Examens hématologiques	Examens biochimiques
Hématocrite (HCT), Taux d'hémoglobine (Hb), Nombre de Plaquettes (PLT), Numération globulaire (Erythrocytes : GR et Leucocytes : GB), Volume Corpusculaire Moyen (MCV), Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (MCH), Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (MCHC), Lymphocytes (LYM).	Taux de glucose (Gly) Bilan hépatique : Aspartate Amino Transferase (ASAT) Alanine amino transferase (ALAT), Phosphatase alcaline (PA), Triglycérides (TG), Cholestérol totale (Chol.), Bilirubine totale (TB), et l'albumine (ALB). Bilan Rénal : Urée, Acide urique (AU), Créatinine (Créat), Protides (Prot), Albumine (Alb).

7. Examen histo-pathologique du foie et rein

Les échantillons des foies et des reins des rats traités avec la dose la plus élevée (800 mg/Kg) ont été fixés dans du formol à 10%, les organes ont subi une série de déshydratation dans des bains d'éthanol, et inclusion dans de la paraffine. Des coupes de 5µm ont été réalisées au microtome puis colorées par l'Hématoxyline et l'Éosine (H&E) et observées au microscope optique (Leica DM1000, Allemagne). Des photos des différentes coupes histologiques ont été prises

à l'aide d'une camera numérique reliée à un logiciel (Microsystem Leica LAS EZ Framework, Allemagne)[23].

8. Analyse statistique

Les résultats de la toxicité sont exprimés en moyenne \pm erreur standard moyenne (\pm SEM). La comparaison des moyennes et des variances a été effectuée à l'aide du logiciel XLSTAT 2016 par le test ANOVA à un seul facteur suivi du test de Tukey.

RÉSULTATS

1. Toxicité aiguë

L'administration orale des extraits EMeOH/F et EMeOH/Flr d'*Inula viscosa* L. n'a pas entraîné la mort de souris dans tous les lots traités. Les observations n'ont révélées aucun signe d'asthénie, de somnolence, d'anorexie, de diarrhée ou de réduction de la mobilité durant la période expérimentale. La dose létale 50 (DL₅₀) est donc supposée être supérieure aux doses testées (Tableau 2).

2. Toxicité subaiguë

2.1. Evolution du poids des rats

Comme le montre la figure (Fig. 1), le poids corporel des rats qui ont reçu les extraits EMeOH/F et EMeOH/Flr aux différentes doses par voie orale pendant 28 jours a continué à augmenter chaque semaine jusqu'au 28^{ème} jour du traitement. Aucune différence significative n'a été observée en comparaison au poids corporel des rats témoins.

Tableau 2 : Résultats de la toxicité aiguës extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L.

	Dose (mg/Kg)	Nombre de souris morte	Symptômes
Témoin	0	0	-
EMeOH/F	400	0	-
	800	0	-
EMeOH/Flr	400	0	-
	800	0	-

EMeOH/F : Extrait Méthanolique des Feuilles ; EMeOH/Flr : Extrait Méthanolique des Fleurs.

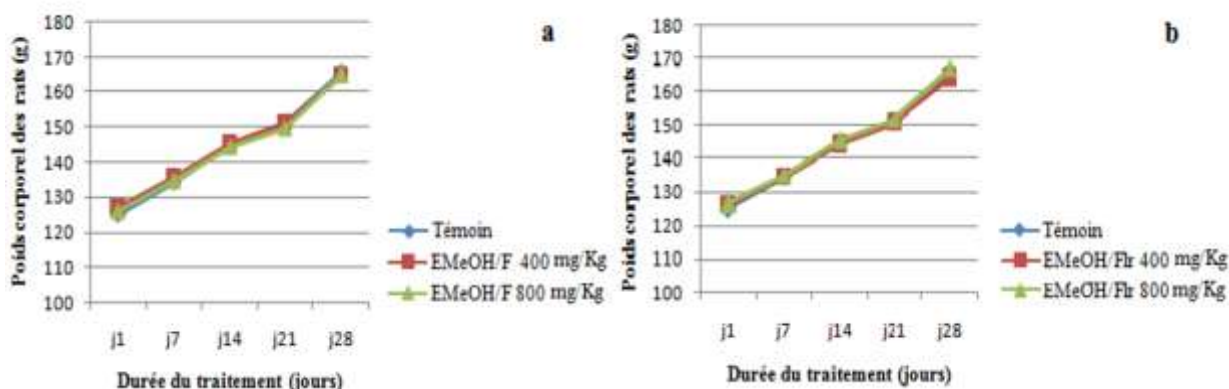


Figure 1 : Évolution du poids corporel des rats en fonction du temps

(a) Rats traités avec l'EMeOH/ F, (b) Rats traités avec l'EMeOH/ Flr

2.2. Poids des organes

L'examen macroscopique des différents organes après 4 semaines de gavage n'a montré aucun changement morphologique des organes des rats traités par l'EMeOH/F et l'EMeOH/Flr d'*Inula viscosa* L. aux doses 400mg/kg et

800mg/kg en comparaison avec les organes des rats non traités que ce soit pour la couleur ou la texture. Aucune différence significative n'a été observée entre le poids des différents organes des rats traités et celui des organes des rats témoins (Tableau 3).

Tableau 3 : Poids des organes des rats non traités et traités par les extraits méthanoliques d'*Inula viscosa*L.

Organes	Poids des organes				
	Témoin	EMeOH/F		EMeOH/Flr	
		Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg	Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg
Foie	5,55 ± 0,07	5,24 ± 0,37	5,26 ± 0,07	5,5 ± 0,14	5,5 ± 0,06
Rein	0,47 ± 0,01	0,45 ± 0,03	0,45 ± 0,04	0,47 ± 0,008	0,46 ± 0,007
Cœur	0,53 ± 0,02	0,48 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,61 ± 0,007	0,47 ± 0,02
Poumon	1,19 ± 0,20	1,05 ± 0,10	1,17 ± 0,02	1,11 ± 0,06	1,08 ± 0,01
Rate	0,64 ± 0,09	0,53 ± 0,05	0,64 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,49 ± 0,08

Les valeurs représentent la moyenne ± SEM ; n = 6 pour chaque groupe. $p > 0,05$ par rapport au groupe témoin.

Les données indiquent le poids des différents organes des rats traités par l'EMeOH/F et l'EMeOH/Flr aux doses 400mg/kg et 800mg/kg.

EMeOH/F : Extrait Méthanolique des Feuilles ; EMeOH/Flr : Extrait Méthanolique des Fleurs.

2.3. Analyses biochimiques et hématologiques

Les extraits EMeOH/F et EMeOH/Flr n'ont entraîné aucun changement significatif dans le taux de la glycémie, des triglycérides, du cholestérol, et de l'albumine dans les lots traités aux doses 400mg/Kg et 800mg/Kg en comparaison avec le lot témoin.

Concernant le bilan hépatique (ASAT, ALAT, PA), aucune différence significative n'a été observée à l'exception de l'enzyme ASAT qui a diminué significativement ($p < 0,01$) dans le groupe de rats qui a reçu l'extrait MeOH/F à la dose 800mg/Kg en comparaison avec le lot témoin.

Une augmentation significative a été observée pour l'urée ($p < 0,01$) chez les rats du groupe qui a reçu l'extrait EMeOH/Flr à la dose 800mg/Kg. Cependant aucun changement significatif n'a été observé pour le taux de protéines sériques, de la créatinine et de l'acide urique dans tous les groupes traités par les deux extraits aux différentes doses en

comparaison avec le lot témoin (Tableau 4).

L'administration orale des extraits EMeOH/F et EMeOH/Flr quotidiennement pendant 28 jours n'a pas entraîné de changement significatif dans le bilan hématologique (WBC, HGB, RBC, HCT, PLT, MCV, MCH, MCHC et LYM) dans les groupes de rats traités aux différentes doses par rapport au témoin (Tableau 5).

2.4. Examen histopathologique des organes

La comparaison des organes : foie et rein des rats traités aux doses 800 mg/Kg avec ceux du témoin sain montre une architecture hépatique et rénale conservée, sans signe de cytolysse inhérente à une éventuelle toxicité des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs, il n'a pas été constaté de lésion organique ni de fibrose au niveau rénal ou hépatique. Des signes de congestions probablement dus au sacrifice ont été observés à la fois dans les lots traités et le lot témoin (Fig.2 et 3).

Tableau 4 : Paramètres biochimiques des rats traités et non traités par les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* L.

Paramètres	Paramètres biochimiques				
	Témoïn	EMeOH/F		EMeOH/Flr	
		Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg	Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg
Gly (g/L)	1,08±0,06	1,14±0,02	1,19±0,10	1,12±0,06	1,14±0,05
ASAT (UI/L)	131,17±3,14	127,83±2,53	116,17±1,27**	137,5±2,23	138,5±1,51
ALAT (UI/L)	52,83±2,53	53,67±1,94	52,5±2,73	53,83±2,31	54,17±2,13
PA (UI/L)	119±4,08	120,5±1,98	114,83±4,15	118,67±2,72	109,83±1,22
GT (UI/L)	1,83±0,48	1,5±0,34	2,83±0,48	2,33±0,42	3,00±0,37
BT (mg/L)	1,67±0,33	1,68±0,22	2±0,26	1,83±0,40	2,16±0,17
TG (g/L)	0,60±0,05	0,57±0,05	0,56±0,04	0,51±0,03	0,55±0,04
Chol (g/L)	0,67±0,06	0,45±0,01	0,49±0,03	0,46±0,02	0,47±0,03
Urée (mg/L)	0,36±0,02	0,37±0,01	0,33±0,02	0,36±0,03	0,50±0,05**
Créat (mg/L)	5,83±0,31	4,83±0,31	4,83±0,31	5±0,26	6,33±0,42
AU (mg/L)	20,83±0,75	21,5±2,09	22,33±1,20	21,33±1,40	22,67±0,49
Pro (g/L)	74,33±1,67	72,67±1,02	73,83±1,49	72,5±1,48	74±1,46
Albu (g/L)	32,83±1,08	33,33±1,05	32,67±2,29	32,67±1,66	32,33±2,29

Les valeurs représentent : la moyenne ± SEM ; n = 6 pour chaque groupe.

** p<0.01 par rapport au groupe témoin.

EMeOH/F : Extrait Méthanolique des Feuilles ; EMeOH/Flr : Extrait Méthanolique des Fleurs.

Tableau 5 : Paramètres hématologiques des rats traités et non traités par les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs

Paramètres	Paramètres hématologiques				
	Témoïn	EMeOH/F		EMeOH/Flr	
		Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg	Dose 400mg/kg	Dose 800mg/kg
WBC ×10 ³ /μl	7,91±0,55	7,7±0,23	9,05±0,39	7,78±0,48	8,14±0,34
HGB (g/DI)	13,58±0,38	13,35±0,35	13,13±0,48	13,2±0,41	13,73±0,40
RBC ×10 ⁶ /μl	7,52±0,29	7,45±0,2	7,98±0,26	7,28±0,19	8,22±0,30
HCT %	47,95±2,68	53,53±3,64	50,95±1,02	48,93±2,93	51,71±1,39
PLT ×10 ³ /μl	713,33±70,18	727,66±39,68	700,33±37,28	716±24,41	681,66±36,62
MCV fI	58,68±1,77	58,7±1,39	60,26±0,86	58,71±0,91	59,41±0,90
MCH pg	16,63±0,41	16,63±0,47	16,78±0,22	16,76±0,20	16,63±0,24
MCHC g/DI	28,28±0,59	28,25±0,47	29±0,15	28,03±0,33	28,21±0,54
LYM %	81,38±4,83	81,71±4,08	85,68±3,11	78,83±3,5	82,33±3,19

Les valeurs représentent : la moyenne ± SEM ; n = 6 pour chaque groupe ; p>0.05 par rapport au groupe témoin.

EMeOH/F : Extrait Méthanolique des Feuilles ; EMeOH/Flr : Extrait Méthanolique des Fleurs.

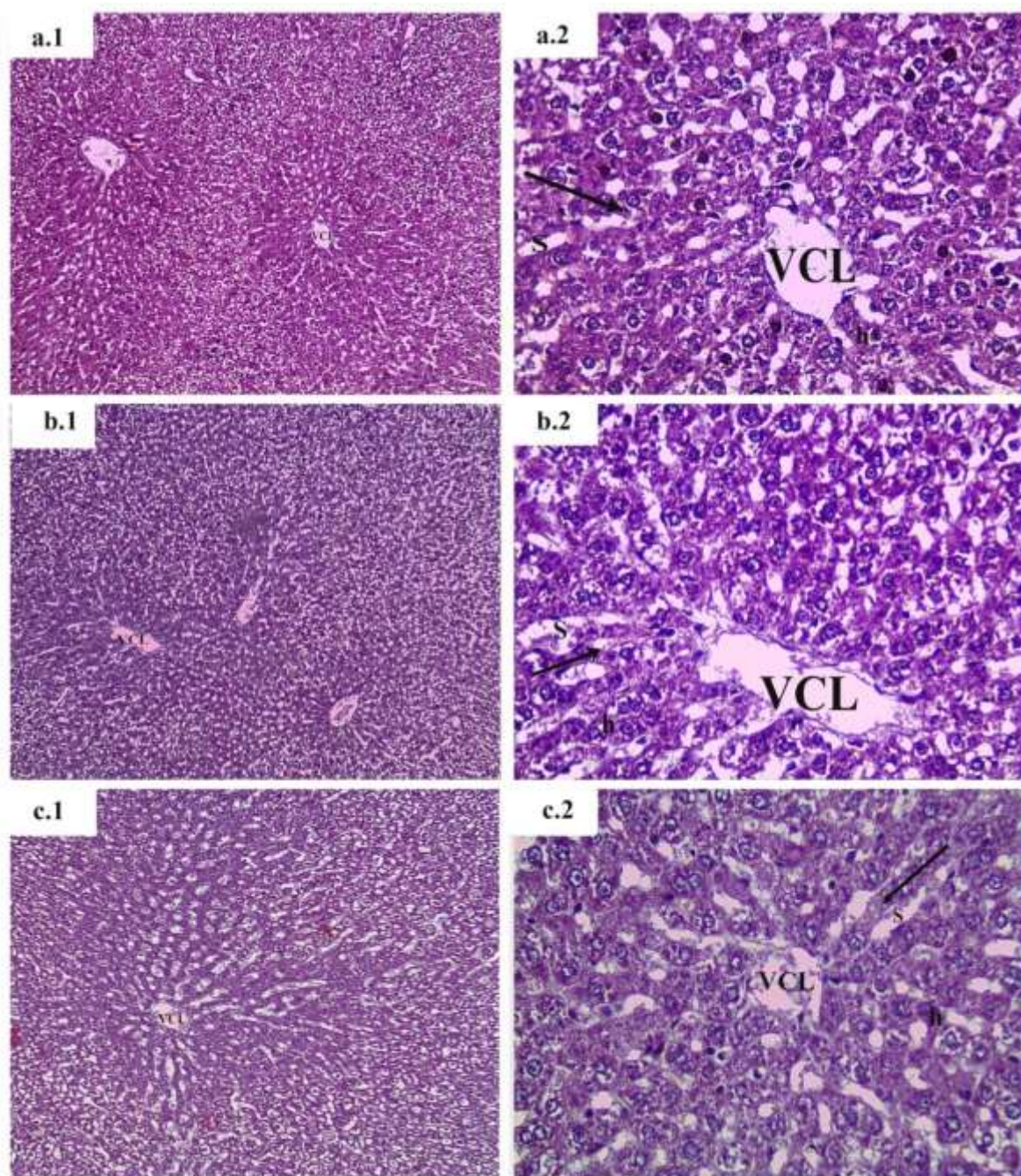


Figure 2 : Histologie du foie des rats témoins (**a.1** : GX10 ; **a.2** : GX40), des rats traités EMeOH/ F à la dose 800mg/Kg (**b.1** : GX10 ; **b.2** : GX40), des rats traités EMeOH/ Flr à la dose 800mg/Kg (**c.1** : GX10 ; **c.2** : GX40).

VCL : Veine Centrolobulaire ; Lames d'hépatocytes en disposition radiaire autour de la veine centrolobulaire (flèche) ; h :hépatocyte ; S : Sinusoïde (a.2 ; b.2 ; c.2) ; Coloration H&E .

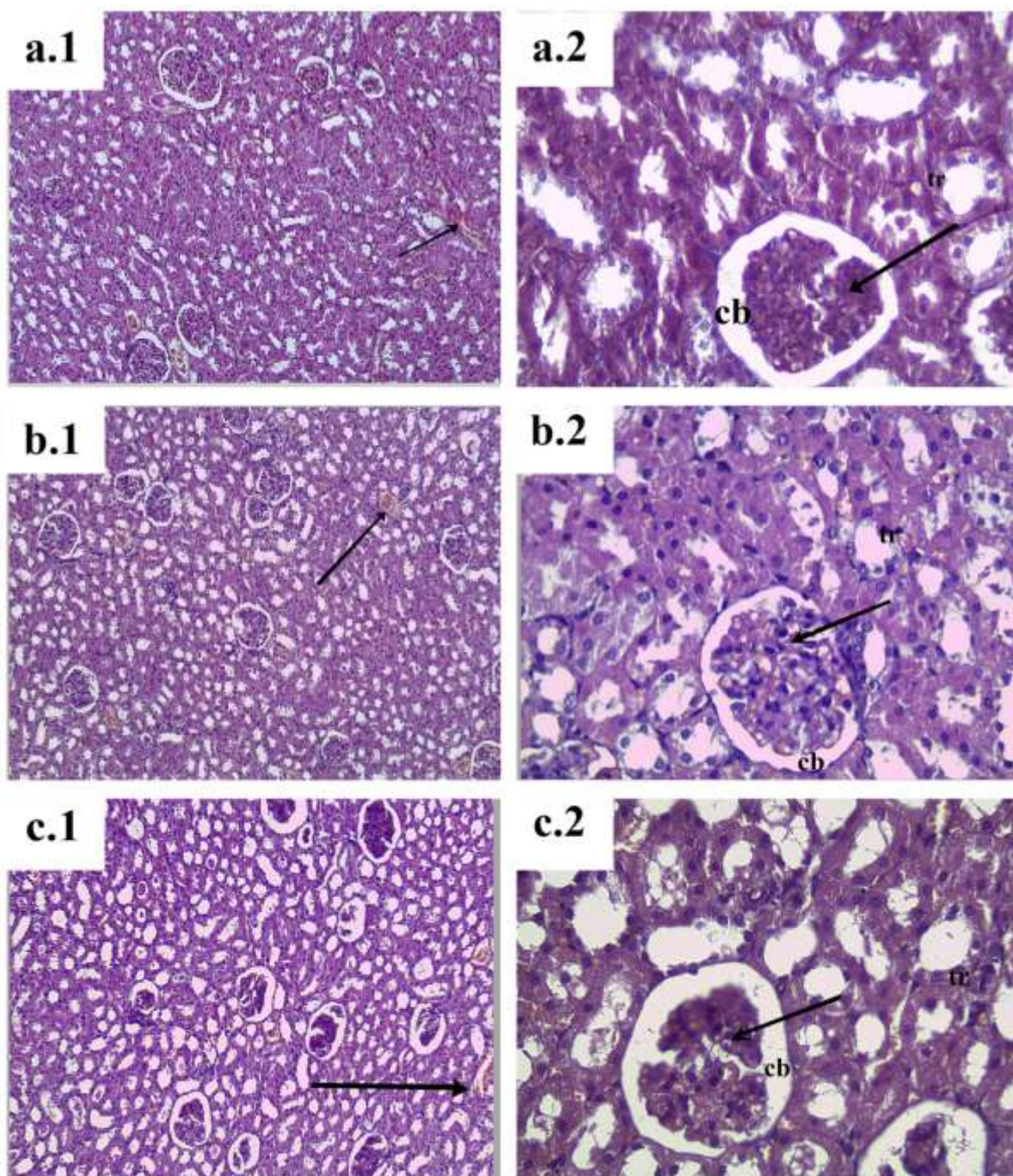


Figure 3 : Histologie du rein des rats témoins (**a.1** : GX10 ; **a.2** : GX40), des rats traités EMeOH/ F à la dose 800mg/Kg (**b.1** : GX10 ; **b.2** : GX40), des rats traités EMeOH/ Flr à la dose 800mg/Kg (**c.1** : GX10; **c.2** : GX40).

Congestion (flèche : a.1 ; b.1 ; c.1) ; Parenchyme rénal : glomérule (flèche : a.2 ; b.2 ; c.2) ; tr : tube rénal (a.2 ; b.2 ; c.2) ; cb : chambre ou espace de bowman; Coloration H&E

DISCUSSION

Bien que les plantes médicinales ont de nombreuses activités biologiques, on connaît très peu le potentiel toxique de ses substances bioactives [24]. *Inula viscosa* L. est une plante largement répandue dans la majeure partie des pays méditerranéens. Elle est utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour ses nombreux effets thérapeutiques [25].

La présente étude montre que les extraits MeOH/F et MeOH/Flr d'*Inula viscosa* L. n'ont entraîné ni la mort ni de changements de comportement des souris qui ont reçu par voie orale en une seule administration les extraits aux doses 400mg/Kg et 800mg/Kg.

Étant donné qu'aucun effet toxique n'a été observé au cours de l'étude de la toxicité aiguë, une étude supplémentaire a été menée pour évaluer la toxicité sub-chronique des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L. durant une expérimentation de 28 jours chez le rat.

Les modifications du poids corporel ont été utilisées comme indicateur des effets indésirables des médicaments, des produits chimiques et des substances bioactives [26,27]. Étant donné qu'aucun changement significatif du poids corporel n'a été observé chez les rats des groupes traités par rapport au témoin après un traitement quotidien durant 28 jours, on suggère que l'administration orale et sub-chronique des extraits n'a pas d'effet sur la croissance normale des rats. Une perte d'appétit entraîne souvent une perte de poids due à des perturbations dans le métabolisme des glucides, des protéines ou des graisses [28, 29, 30, 31].

De même, aucun changement significatif n'a été observé dans le poids des organes : le cœur, le foie, la rate, les reins et les poumons, suggérant que l'administration des extraits méthanoliques d'*Inula viscosa* L. n'a eu aucun effet sur leur croissance normale. Le poids relatif des organes est considéré comme étant un indicateur relativement sensible dans les études de toxicité [32].

Les hépatocytes ont pour rôle la neutralisation des toxines, qu'elles proviennent de l'intérieur ou de l'extérieur de l'organisme (détoxification), alors que le rein a pour rôle l'épuration du sang et l'élimination des déchets [33]. L'analyse de la fonction du foie et du rein est donc très importante dans l'évaluation de la toxicité des médicaments et des extraits végétaux car ils sont nécessaires à la survie d'un organisme [34]. Ainsi des

analyses hématologiques et biochimiques ont été effectuées pour évaluer les éventuelles altérations des fonctions hépatiques et rénales provoquées par l'ingestion des extraits. L'augmentation des niveaux d'ASAT et d'ALAT dans le sang est due à leur libération suite à l'endommagement des cellules hépatiques [35, 36, 37, 38, 39].

L'administration sub-chronique d'EMeOH/F à la dose 800 mg/Kg a entraîné une diminution significative des niveaux de l'enzyme ASAT chez les rats traités. Ces observations peuvent suggérer que l'EMeOH/F d'*Inula viscosa* aurait des effets hépatoprotecteurs surtout qu'aucun changement n'a été observé dans l'étude histo-pathologique. Selon Atsamo *et al.*; Gome *et al.*; Luka *et al.*; Da Silva *et al.*; Adewale *et al.* [3, 40, 41, 42, 43], une diminution des enzymes hépatiques ASAT et/ou ALAT et/ou PA pourrait indiquer un effet hépatoprotecteur de la plante, ce qui pourrait expliquer les résultats obtenus.

Un dysfonctionnement rénal peut être évalué par des mesures simultanées de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique [27, 44, 45, 46]. Dans la présente étude, les changements dans les niveaux plasmatiques de l'urée des rats traités par l'EMeOH/Flr à la dose 800mg/Kg ne peuvent à eux seuls indiquer une altération de la fonction rénale étant donné qu'aucune différence significative n'a été retrouvée entre les taux de créatinine et d'acide urique des rats traités et ceux des rats témoins. D'autant plus que l'étude histologique n'a montré aucune altération de la structure rénale.

D'après Gregg et Voigt; Mukinda *et al.*, [47, 48], l'analyse des paramètres sanguins est pertinente car elle donne des informations sur la fonction hématopoïétique (évaluation des cellules de la lignée myéloïde), sur l'apparition d'allergies (études des globules blancs) et sur les effets intravasculaires comme l'hémolyse. Le bilan hématologique n'a montré aucune différence significative entre les rats traités et les rats témoins.

CONCLUSION

L'administration par voie orale des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs d'*Inula viscosa* L. n'a pas montré de toxicité aiguë chez les souris aux doses étudiées.

L'étude de la toxicité subaiguë chez les rats n'a pas montré de toxicité de l'extrait méthanolique des feuilles aux doses administrées. Concernant l'extrait méthanolique des fleurs il serait intéressant de prolonger la durée d'administration de cette extrait afin d'observer d'éventuels effets sur le rein.

L'étude histologique des organes (foies et reins) à la dose 800mg/Kg n'a pas montré de signe de toxicité des extraits méthanoliques. Toutefois il serait judicieux d'étudier la toxicité chronique de ces extraits à des doses plus élevées ainsi que la toxicité des extraits aqueux et des extraits apolaires (n-hexane).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. WHO. (2007). WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines With Reference to Contaminants and Residues. World Health Organization, Geneva, 105 p.
- [2]. Ukwuani, A. N., Abubakar, M. G., Hassan, S.W. & Agaie, B.M. (2012). Toxicological studies of hydromethanolic leaves extract of *Grewia crenata*. *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, 4: 245–249.
- [3]. Atsamo, A.D., Ngudefack, T.B., Datté, J.Y. & Kamanyi, A. (2011). Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 134: 697–702.
- [4]. Brullo, S. & De Marco, G. (2000). Taxonomical revision of the genus *Dittrichia* (Asteraceae). *Portugaliae Acta Biology*, 19: 341-354.
- [5]. Al-Eisawi, D. (1998). Field guide to wild flowers in Jordan and neighbouring countries. *Jordan Foundation Press, Amman*, Jordan, 296 p.
- [6]. Al-Dissi, N.M., Salhab, A.S. & Al-Hajj, H.A. (2001). Effects of *inula viscosa* leaf extract on abortion and implantation in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 117–121.
- [7]. Barbetti, P., Chiappini, I., Fardella, G. & Menghini, A. (1985). A new eudesmane acid from *Dittrichia (Inula) viscosa*. *Planta Medica*, 51(5): 471.
- [8]. Yaniv, Z., Dafni, A., Friedman, L. & Palevitch, D. (1987). Plants used for the treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*, 19: 145–151.
- [9]. Lauro, L. & Rolih, C. (1990). Observations and research on an extract of *Inula viscosa*. *Bollettione della Societa Italiana di Biologia Sperimentale*, 66: 829-834.
- [10]. Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M., Faidi, Y.R., Salem, K. & Al-Nuri, M.A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60:265–71.
- [11]. Fontana, G., LaRocca, S., Passannanti, S. & Paternostro, M. (2007). Sesquiterpene compounds from *Inula viscosa*. *Natural Product Research*, 2: 824–827.
- [12]. Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A. & Lemhadri, A. (2007). The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco. L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytotherapie*, 5: 194–203.
- [13]. Hernandez, V., Manez, S., Recio, M.C., Giner, R.M. & Rios, J.L. (2005). Anti-inflammatory profile of dehydrocostic acid, a novel sesquiterpene acid with pharmacophoric conjugated diene. *European Journal of Pharmaceutical Science*. 26, 162-169.
- [14]. Manez, S., Hernandez, V., Giner, R.M., Rios, J.L. & Recio, M.C. (2007). Inhibition of pro-inflammatory enzymes by inuviscolide, a sesquiterpene lactone from *Inula viscosa*. *Fitoterapia*. 78, 329-331.
- [15]. Amin, S., Kaloo, Z.A., Singh, S. & Altaf, T. (2013). Medicinal importance of Genus *Inula*-a review. *International Journal of Current Research and Review*, 05 (02):20-26.
- [16]. Marongiu, B., Piras, A., Pani, F., Porcedda, S. & Ballero, M. (2003). Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 505–509.
- [17]. Hernández, V., Recio, M.C., Mánéz, S., Giner, R.M. & Ríos, J.-L. (2007). Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism. *Life Sciences*. 81, 480-488.

- [18]. Cafarchia, C., De Laurentis, N., Milillo, M.A., Losacco, V. & Puccini, V. (2002). Antifungal activity of essential oils from leaves and flowers of *Inula viscosa* (Asteraceae) by Apulian region. *Parassitologia*, 44: 153–156.
- [19]. William B.J. (2007). The original of soxhlet extractor. *Journal of Chemical Education*, 84: 1913-1915.
- [20]. Costa-Silva, J.H., Lima, C.R., Silva, E.J.R., Araujo, A.V., Fraga, M.C.C.A., Ribeiro, A., Arruda, A.C., Lafayette, S.S.L. & Wanderley, A.G. (2008). Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliceae) seed oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 495–500.
- [21]. Silva, E.J.R., Gonçalves, E.S., Aguiar, F., Evencio, L.B., Lyra, M.M.A., Coelho, M.C.O.C., Fraga, M.C.C.A. & Wanderley, A.G. (2007). Toxicological studies on hydroalcohol extract of *Calendula officinalis* L. *Phytotherapy Research*, 21: 332–336.
- [22]. Musa, A.H., Kumar Vata, P., Gebru, G., Mekonnen, Y., Debella, A., Makonnen. (2016). Biochemical and hematological study on butznol fraction of leaves of *Moringa Stenopetala* in Experimental rats. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 6(5): 2319-4219.
- [23]. Mcmanus, J.G.A. & Mowry, R.W. (1984). Staining Methods: Histological and Histochemical; Harper and Row: New York, NY, USA, 1009 p.
- [24]. Rosidah, Yam, M.F., Sadikun, A., Ahmad, M., Akowuah, G.A. & Asmawi. M. Z. (2009). Toxicology evaluation of standardized methanol extract of *Gynura procumbens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 123:244–249.
- [25]. Susplugas, C., Balansard, G. & Julien, J. (1980). Evidence of anthelmintic action of aerial part from *Inula viscosa* Ait. *Herba Hung*, 19: 19-33.
- [26]. Theo, S., Stirling, D., Thomas, S., Hoberman, A., Kiorpes, A. & Khetani V. (2002). A 90-day oral gavage toxicity study of D-methylphenidate and D,L-methylphenidate in sprague-Dawly rats. *Toxicology*, 179:183-196.
- [27]. Hilaly, J.E., Israili, Z.H. & Lyouss, B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 43–50.
- [28]. Klaassen, C. D., Casarett, L.J. & Doull, J. (2001). Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, McGraw-Hill Press, New York, NY, USA, 1236 p.
- [29]. Ezeonwumelu, J.O. C., Julius, A.K., Muhoho, C. N., Ajayi, A.M., Oyewale, A. A., Tanayen, J. K., Balogun, S.O., Ibrahim, A., Adzu, A., Adiukwu, C.P., Oloro, J., Kiplagat, D.M., Goji, A.D.T., Okoruwa, A.G., Onchweri, A.N. & Reddy, P.M. K. (2011). Biochemical and histological studies of aqueous extract of *Bidens pilosaleaves* from Ugandan Rift Valley in Rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(6): 302–309.
- [30]. Chokshi, D. (2007). Subchronic oral toxicity of a standardized white kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) extract in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 45 (1): 32–40.
- [31]. Tahraoui, A., Israili, Z.H. & Lyoussi, B. (2010). Acute and sub-chronic toxicity of lyophilzed aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132:48-55.
- [32]. Kluwe, W. M. (1981). Renal function tests as indicators of kidney injury in subacute toxicity studies, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 57 (3): 414–424.
- [33]. Lullmann-Rauch, R. (2008). Histologie. de Boeck Supérieur, Bruxelles, Belgique. 704p.
- [34]. Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W. & Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245:194–205.
- [35]. Wolf, P.L., Williams, D., Tsudaka, T. & Acosta, L. (1972). Methods and Techniques in Clinical Chemistry. John Wiley & Sons, USA, 516 p.
- [36]. Burger, C., Fischer, D.R., Cordenunzi, D.A., Batschauer, A.P.B., Filho, V.C. & Soares, A.R.S. (2005). Acute and subacute toxicity of the hydroalcoholic extract from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae) in mice. *Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 8: 370–373.

- [36]. Ramaiah, S.K. (2011). Preclinical safety assessment: current gaps, challenges, and approaches in identifying translatable biomarkers of drug-induced liver injury. *Clinics in Laboratory Medicine*, 31 (1): 161–172.
- [37]. Ahmada, M., Lima, C.P., Akowvuaahb, G.A., Ismaila, N.N. Hashima, M.A., Hora, S.Y., Anga, L.F. & Yama, M.F. (2013). Safety assessment of standardized methanol extract of *Cinnamomum burmanni*. *Phytomedicine*, 20: 1124-1130.
- [38]. Aïssatou, D.S., Ngatchic Metsagang, J.T., Dongmo Sokeng, C. & Nijintang, Y. (2017). Anthihyperlipidemic and hypolipidemic properties of *Tacca leontopetaloides* (L.) Kuntze (Discoreales : Discoraceae) tuber's aqueous extracts in the rats. *Brizilian Journal of Biological Sciences*, 4(7): 67-80.
- [39]. Gome, A.M.B., Kouakou, K., Toure, A., & Traore, F. (2011). Étude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora foetida* Linn. (Passifloraceae) chez les rats et les souris. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(5): 1777-1789.
- [40]. Luka, J., Badau, S.J., Mbaya, A.W., Gadzama, J.J. & Kumshe, H.A. (2014). Acute toxicity study and effect of prolonged administration (28 days) of crude ethanolic root extract of *Diospyros mespiliformis* Hochst (Ebenaceae) on clinical, haematological and biochemical parameters of albino rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 153 (1), 268–273.
- [41]. Da Silva, A.R.H., Reginato, F.Z., Guex, C.G., Figueredo, K.C., Araldi, I.C.D.C., De Freitas, R.B., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Melazzo De Andrade Mazzanti, C., Hübscher, G.H. & Bauermann, L.D.F. (2015). Acute and sub-chronic (28 days) oral toxicity evaluation of tincture *Baccharis trimera* (Less) Backer in male and female rodent animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 74:170-177.
- [42]. Adewale, O.B., Onasanya, A., Anadozie, S.O., Abu, M.F., Akintan, I.A., Ogbole, C.J., Olayide, I.I., Afolabi, O.B., Jaiyesimi, K.F., Ajiboye, B.O. & Fadaka, A.O. (2016). Evaluation of acute and subacute toxicity of aqueous extract of *Crassocephalum rubens* leaves in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 188: 153–158.
- [43]. Serge, B. (1985). Révision accélérée en biochimie clinique. Paris : Maloine, 384 p.
- [44]. Davis, M. E. & Breddt, N. D. (1994). Renal methods for toxicity, in Hayes AWC (ed) Principles and Methods of Toxicology, 3rd ed Raven Press, New York, NY, USA, 871 p.
- [45]. Gowda, S., Desai, P.B., Kulkarni, S.S., Hull, V.V., Math, A.A.K. & Vernekar, S.N. (2010). Markers of renal function tests. *The American Journal of Medical Sciences*, 2 (4): 170–173.
- [46]. Gregg, L.V. & Voigt, D.V.M. (2000). Hematology techniques and concepts for veterinary technicians. USA: Iowa State University Press, p 95-101.
- [47]. Mukinda, J.T. & Syce, J.A. (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 138–144.