

ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE ET TOXICOLOGIQUE DE *CASSIA ITALICA*, *MOMORDICA BALSAMINA* ET *OCIMUM GRATISSIMUM*, TROIS PLANTES UTILISÉES CONTRE LA GALE AU SUD-BÉNIN

René DEHOU¹, Victorien DOUGNON^{2*}, Pascal ATCHADE²,
Cyrille ATTAKPA¹, Boris LEGBA², Lamine BABA-MOUSSA³
et Fernand GBAGUIDI⁴

¹Laboratoire de Physiopathologie Cellulaire-Moléculaire et Toxicologie (LPCMT) / Département de Physiologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

²Unité de Recherche en Microbiologie Appliquée et Pharmacologie des substances naturelles, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

³Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Typage en Microbiologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Bénin

⁴Laboratoire National de Pharmacognosie / Centre Béninois de la Recherche Scientifique et Technique, Oganla Porto-Novo, Bénin

* Correspondance, e-mail : victorien88@hotmail.com

RÉSUMÉ

La présente étude est réalisée sur les principales plantes anti-gales utilisées au Sud-Bénin à savoir : *Cassia italica* (Césalpiniacées), *Momordica balsamina* (Cucurbitacées) et *Ocimum gratissimum* (Labiées). L'objet de cette étude a été de caractériser les groupes de substances chimiques contenus dans les drogues végétales et d'évaluer leur toxicité. Les tests phytochimiques réalisés sur ces trois (03) plantes ont révélé que les différentes drogues renferment des stéroïdes, des flavonoïdes, des tanins catéchiques et galliques, des alcaloïdes des anthocyanes, des dérivés quinoniques et des composés réducteurs qui leur confèrent les propriétés antifongiques. Le meilleur rendement des extraits est obtenu avec l'extrait hydroéthanolique. Les résultats de la toxicité larvaire ont révélé que ces plantes ne sont pas cytotoxiques.

Mots-clés : *anti-gales, Cassia italica, Momordica balsamina et Ocimum gratissimum, tests phytochimiques, toxicité.*

ABSTRACT

Phytochemical and Toxicological study of *Cassia italica*, *Momordica balsamina* and *Ocimum gratissimum*, three plants from Southern Benin useful against scabies

This study is carried out on the main anti-scabies plants used in Southern Benin namely : *Cassia italica* (Césalpiniaceae) *Momordica balsamina* (Cucurbitaceae) and *Ocimum gratissimum* (Labiatae). The goal was to characterize the groups of chemicals contained in herbal drugs and evaluate their toxicity. Phytochemical tests on these three (03) plants have shown that various drugs contain steroids, flavonoids, tannins and gallic catechin, alkaloids anthocyanins, quinone derivatives and reducing compounds that gave their antifungal properties. The best performance is obtained with extracts hydroethanolic extract. The results of the larval toxicity revealed that these plants are not toxic.

Keywords : *anti-scabs, Cassia italica, Momordica balsamina and Ocimum gratissimum, phytochemical tests, toxicity.*

I - INTRODUCTION

La gale humaine se définit comme une maladie infectieuse, contagieuse, très prurigineuse et d'expression dermatologique. Elle est la conséquence d'une contamination par un arthropode ; un acarien dénommé *Sarcoptes scabiei* var *hominis*. Longtemps associée à un manque d'hygiène et à la promiscuité, la gale humaine est connue depuis la nuit des temps. C'est une maladie cosmopolite et ubiquitaire. Elle touche un très grand nombre de personnes de toutes les classes sociales et de toutes tranches d'âges. Dans les pays industrialisés, elle se manifeste le plus souvent par des épidémies touchant particulièrement des institutions (hôpitaux, crèche, maternelle). Cependant, elle est endémique dans de nombreux pays sous-développés, des pays subtropicaux et tropicaux, et représente ainsi un véritable problème de santé publique. En effet, cette maladie demeure peu grave et de pronostic très favorable, mais dans certaines situations et conditions précaires, les complications infectieuses sont nombreuses et peuvent entraîner une surmortalité. La prise en charge de la gale humaine est souvent difficile pour la population car en dépit de l'avènement des médicaments génériques, de nombreux traitements demeurent encore financièrement inaccessibles aux populations économiquement démunies. Ces produits reviennent chers aux populations pauvres. De plus, les récives des foyers de cette infection font que les familles négligent parfois la lutte. A ceci s'ajouter l'insuffisance ou l'inexistence des infrastructures sanitaires [1]. Ces populations se tournent

donc vers les plantes pour y rechercher des remèdes pour se soigner. Les hommes ont toujours eu recours aux plantes médicinales pour résoudre certains problèmes de santé [2]. De ce fait, l'Organisation mondiale de la Santé a encouragé la recherche sur les plantes médicinales depuis 1978 afin d'améliorer, sécuriser et réduire le coût des produits médicaux [3]. Pas moins de 170.000 molécules bioactives ont été, à ce jour, identifiées à partir de plantes [3]. Les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments [4]. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique [5]. Ainsi on ignorait tout de la composition chimique des médicaments utilisés tous les jours par de nombreuses populations, pour les soins de santé. L'exploitation de l'héritage phytothérapeutique ne peut demeurer statique et se limiter à la seule collecte de recettes traditionnelles [6]. Il s'avère donc opportun de développer des études qui puissent explorer de nouveaux domaines de connaissances qui ne se réfèrent pas seulement aux formes d'ordonnancement des connaissances naturelles, mais également à l'étude des composés chimiques des plantes [7].

Quelques travaux dans la sous-région ont déjà amorcé la phytochimie des espèces médicinales utilisées dans diverses régions [8 - 12]. [13] a réalisé d'importants travaux d'ordre pharmacologique et phytochimique sur des plantes médicinales de la Côte-d'Ivoire. Des essais biologiques ont été menés sur 104 espèces de plantes médicinales. Une évaluation des activités antibactérienne, antifongique, antipaludique, antitrypanosome, a été faite ; la cytotoxicité a été étudiée. Concernant les investigations phytochimiques, l'auteur a recherché les principes bioactifs des plantes étudiées ; cinq (05) isoflavonoïdes prénulés ont été isolés parmi lesquels la vogéline A, la vogéline B et la vogéline C, n'avaient jamais été décrites. Des études antérieures ont révélé que *Ficus platyphylla* possède des propriétés antibactériennes, anti-nociceptives, anti-inflammatoires, est des activités gastro-intestinales chez les rongeurs [14 - 16]. Ainsi, c'est dans l'optique de valoriser les plantes médicinales anti-gales en s'appuyant sur la médecine traditionnelle que nous inscrivons les études menées sur *Cassia italica*, *Momordica balsamina* et *Ocimum gratissimum*. Il s'agira de caractériser les groupes chimiques afin d'expliquer les effets thérapeutiques des plantes utilisées contre la gale et d'évaluer leur toxicité larvaire.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel

- *Matériel végétal*

Le matériel végétal est représenté par diverses drogues (feuilles et partie aérienne) qui ont été pulvérisées et utilisées pour la préparation des extraits éthérique, méthanolique et aqueux.

Tableau 1 : Liste des plantes étudiées, les parties utilisées et le lieu de récolte

Pantes utilisées	Familles	Parties utilisées	Formes utilisées	Lieu de récolte
<i>Cassia italica</i>	Césalpiniacées	Feuilles	Décoction	Pahou (OUIDAH)
<i>Momordica balsamina</i>	Cucurbitacées	Partie aérienne	Décoction	Sèdjè-Dénou(ZE)
<i>Ocimum gratissimum</i>	Labiées	Feuilles	Décoction	Sèdjè-Dénou(ZE)

- *Solvants*

L'éther de pétrole, le méthanol, l'eau distillée ont été utilisés pour les extractions.

- *Réactifs*

Divers réactifs ont été utilisés pour le screening phytochimique. La recherche des tanins catéchiques a été possible grâce au réactif de Stiasny et à l'acétate de sodium. Pour la caractérisation des tanins galliques, nous avons utilisé le réactif de Stiasny, l'acétate de sodium et du chlorure ferrique. L'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré ont été nécessaires pour la recherche des stéroïdes et polyterpènes. L'alcool chlorhydrique dilué 2 fois, les copeaux de magnésium et l'alcool isoamylique ont été utilisés pour rechercher les flavonoïdes. La solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 % a permis la caractérisation des polyphénols. Le réactif de Bornstraëgen, le chloroforme, l'ammoniaque dilué 2 fois et l'acide chlorhydrique ont permis de rechercher les substances quinoniques. Nous avons caractérisé les alcaloïdes à partir de l'alcool à 60°, du réactif de Burchard (réactif iodo-ioduré) et du réactif de Dragendorff (réactif à l'iodobismuthate de potassium).

II-2. Méthodes

- *Criblage phytochimique*

Les différentes analyses chimiques ont été effectuées au laboratoire de pharmacognosie et des huiles essentielles de l'Université d'Abomey-Calavi. Le criblage phytochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Il a été effectué sur les drogues végétales sèches selon la méthodologie décrite par [17].

- *Obtention des extraits*

Cinquante grammes (50 g) de poudre de chaque plante ont été macérés avec 500 mL de solvant [eau-éthanol : 4/6, v / v (HE) et du dichlorométhane

(DCM)], pendant 72 heures. Le mélange a été filtré trois fois successivement avec du coton hydrophile puis le filtrat a été évaporé à sec à 40 ° C en utilisant un évaporateur rotatif (Heidolph efficace de Laborota 4000) couplé à un refroidisseur d'eau (300 Julabo FL) pour obtenir des extraits bruts.

- *Test de cytotoxicité larvaire*

Il a été réalisé sur le modèle *Artemia salina* suivant la méthode utilisée par [18, 19]. Elle a été proposée dans la littérature comme une méthode de dosage biologique simple pour l'évaluation de la toxicité préliminaire des produits naturels actifs. Les œufs d'*Artemia salina* ont été incubés dans l'eau de mer jusqu'à l'éclosion des jeunes larves (48 heures). Des séries de dilutions d'ordre 2 de chaque extrait ont été réalisées de manière à avoir une échelle croissante de concentration. Seize (16) larves ont été prises dans 1 mL d'eau de mer puis introduites dans chaque dilution d'extraits. Toutes les dilutions et la solution de contrôle ne contenant pas de substance active ont été laissées sous agitation pendant 24 heures. Le Comptage au microscope du nombre de larves mortes dans chaque solution a permis d'évaluer la cytotoxicité larvaire de l'extrait. Dans le cas, où il y avait la mort dans le milieu de contrôle, les données ont été corrigées par la **Formule** d'Abbott :

$$\% \text{ Mort} = \frac{\text{test} - \text{contrôle}}{\text{contrôle}} \times 100 \quad (1)$$

Les données (dose-réponse) sont transformées par logarithme et la CL50 ont été déterminées par régression linéaire.

- *Traitement des données*

Les données ont été saisies avec le logiciel SPSS 12.0 et ont été soumises à diverses analyses.

III - RÉSULTATS

III-1. Composition chimique des plantes testées

Les résultats de l'analyse phytochimique effectuée sur les différentes drogues végétales des trois (03) plantes d'étude révèlent douze (12) groupes de composés chimiques (**Tableau 2**). Il s'agit des alcaloïdes, des tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, anthocyanes, dérivés quinoniques, triterpènes, stéroïdes, mucilages, coumarines, composés réducteurs et anthracéniques libres.

Tableau 2 : Résultats du criblage phytochimique

Composés chimiques	<i>Cassia italica</i>	<i>Momordica balsamina</i>	<i>Ocimum gratissimum</i>
Alcaloïdes	++	-	+
Tanins catéchiques	+	+	+
Tanins galliques	++	++	++
Flavonoïdes	+	+	+
Anthocyanes	+	++	++
Leucoanthocyanes	-	-	-
Dérivés quinoniques	++	-	+
Saponosides	-	-	-
Triterpènes	-	+	-
Stéroïdes	+	+	+
Dérivés cyanogéniques	-	-	-
Mucilages	-	++	-
Coumarines	+	-	-
Composés réducteurs	-	++	+
Anthracéniques Libres	+	-	-
Anthracéniques Combinés	-	-	-
O-Hétérosides	-	-	-
C-Hétérosides	-	-	-
Hétérosides cardiotoniques	-	-	-

++ : réaction fortement positive ; + : réaction positive ; - : réaction négative

L'analyse des résultats de ce **Tableau 2** nous révèle la richesse des échantillons des matières végétales en composé phytochimique (douze groupes de composés chimiques). D'un test à l'autre, nous notons que les trois (03) matières végétales contiennent toutes les tanins catéchiques, les tanins galliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et les stéroïdes. Les alcaloïdes et dérivés quinoniques sont présents dans toutes les matières végétales, sauf chez *Momordica balsamina*. Bien plus, la plante *Momordica balsamina* contient elle seule en dehors des autres composés qu'elle renferme, des mucilages alors que la plante *Cassia italica* contient les anthracéniques Libres. Nous avons aussi remarqué l'absence de saponosides, dérivés cyanogéniques, anthracéniques combinés, O-hétérosides, C-hétérosides et hétérosides cardiotoniques dans les trois différentes matières végétales.

- *Les rendements à l'extraction*

Le **Tableau 3** ci-dessous renseigne sur le rendement des différentes extractions faites. Le rendement varie de 4,81 à 7,97 pour l'extrait hydro-éthanoïque et de 1,40 à 2,09 pour l'extrait dichlorométhanique. Ceci nous permet de dire que le meilleur rendement (plus que double) est obtenu avec l'extrait hydroéthanolique.

Tableau 3 : Rendements des différents extraits obtenus

Type d'extrait		Rendement (en %)
Extrait hydro-éthanoïque	1	7,97
	2	8,63
	3	4,81
Extrait dichlorométhanique	1	1,75
	2	1,40
	3	2,09

1 = *Cassia italica* ; 2 = *Momordica balsamina* ; 3 = *Ocimum gratissimum*

- *Cytotoxicité larvaire des extraits*

Les concentrations létales moyennes (CL₅₀) obtenues pour les extraits sont présentées dans le tableau IV.

Tableau 4 : Valeurs des LC50 des différents échantillons soumis au test de toxicité larvaire

Type d'extrait	CL ₅₀
hydro-éthanoïque de <i>Cassia italica</i>	2,15
hydro-éthanoïque de <i>Momordica balsamina</i>	2,25
hydro-éthanoïque d' <i>Ocimum gratissimum</i>	1,46
dichlorométhanique de <i>Cassia italica</i>	2,46
dichlorométhanique de <i>Momordica balsamina</i>	5,20
dichlorométhanique de <i>Ocimum gratissimum</i>	4,18

Les concentrations létales moyennes (CL₅₀) varient de 1,46 à 5,20 mg/mL. Pour apprécier la toxicité à partir des valeurs de CL₅₀, nous nous sommes conformés au tableau (**Tableau 5**) de correspondance établie par [20].

Tableau 5 : Correspondance entre CL₅₀ et toxicité

CL ₅₀	Toxicité
CL ₅₀ ≥ 100 µg/mL ou 0,1mg/mL	-
100 µg/mL > CL ₅₀ ≥ 50 µg/mL ou 0,05 mg/mL	+
50 µg/mL > CL ₅₀ ≥ 10 µg/mL ou 0,01mg/mL	++
CL ₅₀ < 10 µg/mL	+++

- : non toxique ; + : faible toxicité ; ++ : toxicité modérée ; +++ : forte toxicité

L'analyse des valeurs de LC₅₀ nous permet de dire que les échantillons des matières végétales étudiées ne présentent pas de toxicité à la dose étudiée, car les concentrations létales moyennes (CL₅₀) obtenues sont toutes supérieures à la limite fixée (0,1 mg/mL).

IV - DISCUSSION

IV-1. Étude phytochimique

La richesse des trois (03) matières végétales en composés chimiques actifs comme les tanins catéchiques, les tanins galliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et les stéroïdes pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de ces trois (03) plantes pour soigner la gale. Sur la base des études antérieures, les différents composés chimiques (les tanins catéchiques, les tanins galliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et les stéroïdes, les alcaloïdes et dérivés quinoniques, des mucilages, anthracéniques libres) pourraient être à l'origine des activités antifongiques [14, 15]. L'effet antimicrobien (anti-gale) de ces plantes serait le fait de ces composés chimiques. La présence de tanins et d'alcaloïdes révélés par les tests phytochimiques pourrait responsables des activités antifongiques [21]. Il a été rapporté que les tanins présentent une activité antibactérienne et des activités anticryptococques (levures), antivirales, anti-inflammatoires, anti-hypertensives, antimutagène, immunostimulantes, anti tumorales et anti-diarrhéiques relativement élevées [22 - 25]. La présence des tanins (catéchiques et galliques) dans ces trois plantes justifierait l'utilisation de ces plantes par les populations pour combattre la gale.

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne [26]. Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont également considérés comme de très bons agents antimicrobiens [27]. De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des flavonoïdes [28 - 30]. L'activité antifongique des flavonoïdes est aussi établie, une étude faite sur *Dianthus caryophyllus* a montré l'efficacité de flavonoïde glycoside, sur des souches fongiques [31]. Bien plus, les alcaloïdes qui sont des substances organiques azotées et basiques douées de propriétés physiologiques ont une grande importance thérapeutique. Le principal alcaloïde est la conessine qui a des propriétés importantes telles qu'activité antiamibienne, activités antibactériennes, antifongiques et propriété antimycobactérienne contre toutes sortes d'agents pathogènes humains in-vitro [32]. On pourrait donc déduire une certaine compatibilité entre les propriétés des groupes chimiques trouvés et les objectifs thérapeutiques recherchés dans les traitements traditionnels. Ces résultats justifient l'utilisation de ces plantes dans le traitement traditionnel de la gale.

- *Toxicité larvaire des extraits*

Les résultats du test de toxicité larvaire de cette étude ont révélé que les extraits des matières végétales mise en évidence ne présentent pas de toxicité à la dose appliquée. Le caractère non toxique de ces échantillons prouvé par le test général de toxicité, vient appuyer les résultats de screening phytochimique qui ont montré l'absence dans ces échantillons, des hétérosides cardiotoniques et des dérivés cyanogéniques qui sont généralement des composés toxiques [33]. En considérant la corrélation entre la cytotoxicité sur les larves de crevettes et sur les cellules 9 PS et 9 KB (carcinome nasopharyngien humain) d'une part [34], les cellules A-549 du carcinome pulmonaire et les cellules HT-29 du côlon d'autre part [35], on peut dire sous réserve de poursuivre les investigations, que les espèces végétales testées ne présentent pas d'activité cytotoxique. A priori il est rarement rapporté des cas de cytotoxicité des drogues végétales qui font objet d'intenses utilisations par les populations depuis plusieurs années. A titre illustratif, dans les études de [36 - 39], il n'a pas été rapporté de cytotoxicité par rapport aux larves de *Artemia salina*, pour toutes les drogues testées. Toutefois, il peut être intéressant, comme le souligne [39] de rappeler que la non-toxicité des organes végétatifs pris individuellement n'est pas synonyme de celle des recettes dans lesquelles ces organes sont utilisés sachant que certaines recettes sont plurispécifiques faisant intervenir plus d'un organe. Cette considération de non-cytotoxicité doit donc toujours être contextualisée.

V - CONCLUSION

L'étude phytochimique des extraits de *Cassia italica*, de *Momordica balsamina* et de *Ocimum gratissimum* a révélé la présence des principaux groupes de composés chimiques actifs tels que : alcaloïdes, tanins catéchiques, tanins galliques, flavonoïdes, anthocyanes, dérivés quinoniques, triterpènes, stéroïdes, mucilages, coumarines, composés réducteurs et anthracéniques libres. Les effets thérapeutiques sont induits par ces divers composés chimiques qui constituent la base scientifique de l'utilisation thérapeutique traditionnelle des plantes étudiées contre la gale. Ces extraits bioactifs sont donc de bons candidats pour l'enrichissement de l'arsenal thérapeutique contre la gale.

RÉFÉRENCES

- [1] - P. ZERBO, J. MILLOGO-RASOLODIMBY, O. G. NACOULMA OUEDRAOGO, P.V. DAMME, Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso : cas des Sanan. *Bois et Forêts des Tropiques*, 307 (2011) 41 - 53
- [2] - S. D. DIBONG, P.B. MVOGO, OTTOU, D. VANDI, R. C NDJIB, F. MONKAM TCHAMAHA, & M.E MPONDO. Ethnobotanique des plantes médicinales anti hémorroïdaires des marchés et villages du Centre et du Littoral Cameroun. *J. Appl. Biosci.*, 96 (2015) 9072 - 9093
- [3] - OMS, Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève, (2002) 65 p.
- [4] - J. G. FOUCHE, A. MARQUET, A. HAMBUECKERS, Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman, (2000) 89 - 100
- [5] - O. G. NACOULMA-OUÉDRAOGO, Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. Thèse de doctorat d'État, Faculté des sciences et techniques, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, tome 1, 320 p., tome 2, (1996) 285 p.
- [6] - M. VANHAELLEN, Evolutions potentielles de l'héritage phytothérapeutique traditionnel. *SOMA*, 1 (2002) 73 - 81
- [7] - J. L. POUSET, Politiques nationales : place des médicaments traditionnels en Afrique. *Méd. Trop.*, 66 (2006) 606 - 609
- [8] - R. O. KOUAME, K. COFFI, N. GUESSEND, Y. SERI, G. KOUKOUA, M. DOSSO, T. N. YAO, G. FIGUEREDO ET J.-C CHALCHAT, Activités antibactériennes des huiles Essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes rendus de Chimie*, 7 (2004) 1081 - 1086
- [9] - G. N. ZIRIHI, P. GRELLIER, F. GUEDE-GUINA, B. BODO et M., LENGU, Isolation, Characterisation and antiplasmodial activity of steroidal alkaloids from *Funtumia elastica* (Preuss) Stapf. *Biorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15 (2005) 2637 - 2640
- [10] - Y. A. BEKRO, J. A. M. BEKRO, B. B. BOUA, B. F. H. TRA et E. E. EHILE, 2007, Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat.*, Vol. 4 (2) (2007) 217 - 225
- [11] - G. N ZIRIHI, J. Y. DATTE, K. M. KRA-ADOU et P. GRELLIER, Phytochemical and pharmacological studies of the alcoholic extract (MFA) of *Fagara macrophylla* (Oliv.) Engl. (Rutaceae): the chemical structure of the sssactive compound inducing antipaludic activity, *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2 (4) (2007) 205 - 210
- [12] - K. N'GUESSAN, K. BEUGRE, N. Z. GUEDE, T. DOSSAHOVA, L. AKE-ASSI, Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). *Sciences & Nature*, Vol. 6, N°1 (2009) 1 - 15 p.
- [13] - A. KAMANZI. Plantes médicinales de Côte d'Ivoire : investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. Thèse de Doctorat d'État, Université de Cocody Abidjan, UFR Biosciences, N° d'ordre : 363 (2002) 176 p.

- [14] - S. AMOS, L. BINDA, B. CHINDO, P. AKAH AND M. ABDULRAHMAN. Evaluation of methanolic extract of *Ficus platyphylla* on gastrointestinal activity. *Ind. J. Exp. Biol.*, 39 (2001) 63 - 67
- [15] - S. AMOS, B. CHINDO, I. EDMOND, P. AKAH, C. WAMBEBE AND K. GAMANIEL, Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Ficus platyphylla* extract in mice and rats. *J. Herbs Spices Med. Plant*, 9 (2002) 47 - 53
- [16] - D. KUBMARAWA, M.E KHAN, A.M PUNAH, M. HASSAN, Phytochemical and antimicrobial screening of *Ficus platyphylla* against human/animal pathogens. *Pacific J. Sci. Technol.*, 10 (1) (2009) 382 - 386
- [17] - D. J. P. HOUGHTON, A. RAMAN. Laboratory handbook for the fractionation of natural. *Extracts. Science*, (1998) 199 p.
- [18] - H. W. DJENGUE, A. DANSI, M.F. ASSOGBA, H. AHISSOU, A. ADJATIN, M. DANSI, & D. J. GBENOU, Phytochemical screening and toxicity of *Lippia multiflora* Moldenke, a minor aromatic leafy vegetable consumed in Benin. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.*, 4 (5) (2017) 77 - 84
- [19] - A. SAKIRIGUI, DS. S KPOVIESSI SALOMÉ, F. GBAGUIDI, C. KOSSOUOH, J. BERO, J. QUETIN-LECLERCQ, M. MOUDACHIROU, J. POUPAERT, C. G ACCROMBESSI, Selective trypanocide activity of some substituted thiosemicarbazones of citral from benin cymbopogon citratus essential oil and their toxicity against *Artemia salina* Leach. *Ijrras*, 12 (3) (2012) 454 - 462
- [20] - M. MOUSSEUX, Test de toxicité sur larves d'*Artemia salina* : entretien d'un élevage de balanes. Nouméa, Centre Universitaire de Nouvelle Calédonie, (1995) 20 p.
- [21] - K. A. GBOGBO, A. AGBAN, A. Y. WOEGAN, E. K. AMANA, Y. P. HOEKOU, K. BATAWILA, Evaluation de l'activité antimicrobienne de *Momordica charantia* (cucurbitaceae), *Psidium guajava* (myrtaceae) et *Pteleopsis suberosa* (Combretaceae). *ESJ*, Vol. 9, N°36 (2013)
- [22] - H. KOLODZIEJ, O. KAYSER, K. P. LATTE AND D. Ferreira, Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution broth method. *Planta Med.*, 65 (1999) 444 - 446
- [23] - J. BRUNETON, Les tanins. Ed. Médicales internationales, Paris, (1999) 369 - 404
- [24] - K. S. FELDMAN, K. SAHASRABUDHE, R. S. SMITH, W. J. SCHEUCHENZUBER, Immunostimulation by plant polyphenols. A relationship between tumor necrosis factor-alpha production and tannin structure. *Biorganic and medical chemistry letters*, 9 (7) (1999) 985 - 990 p.
- [25] - T. YOSHIDA, T. CHOU, T. SHINGU, T. OKUDA, Oenothins D, F and G, hydrolysable tannin dimers from *Oenothera laciniata*. *Phytochemistry*, 40 (1995) 555 - 561
- [26] - T. P. TIM KUSHNIE, A. J LAMB, Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26 (2005) 343 - 356
- [27] - J. B HARBORNE, C. A WILLIAMS, Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55 (2000) 481 - 504

- [28] - H. HARAGUCHI, K. TANIMOTO, Y. TAMURA, K. MIZUTANI & T. KINOSHITA, Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, Vol. 48, (1998) 125 - 129 p.
- [29] - M. IINUMA, H. TSUCHIYA, M. SATO, J. YOKOYAMA, M. OHYAMA, Y. OHKAWA, TANAKA, T., FUJIWARA, S. & FUJII, T., Flavanones with potent antibacterial activity against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46 (1994) 892 - 895
- [30] - E. INIESTA-SANMARTIN, F. A. TOMAS-BARBERAN, A. GUIRADO, F. TOMAS-LORENTE, Antibacterial flavonoids from *Helichrysum picardii* and *H. italicum*. *Planta Med.*, 56 (1990) 648 - 649
- [31] - F. GALEOTTI, E. BARILE, P. CURIR, M. DOLCI and LANZOTTI, Flavonoids from carnation and their antifungal activity. *Phytochemistry letters*, 1 (2008) 144 p.
- [32] - K. P. BOGNE, B. V. PENLAP, D. LONTSI, F. X. ETOA, Antibacterial activities of the extracts and conessine from *Holarrhena floribunda* G. Don. (Apocynaceae). *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 16 (4) (2007) 352 - 35
- [33] - A. G HOUNGBEME, C. GANDONOU, B. YEHOUENOU, S. D. S KPOVIESSI, D. SOHOUNHLOUE, M. MOUDACHIROU and F. A GBAGUIDI, Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV/AIDS. *Int J Pharm Sci Res*, 5 (5) (2014) 1739 - 1745
- [34] - M. PELKA, C. DANZL, W. DISTLER and A. PETSCHERT, A new screening test toxicity testing of dental materials. *J Dent* 28, (2000) 341 - 345
- [35] - J. L CARBALLO, Z. L. HERNANDEZ-INDA, P. PÉREZ and M. D. GARCIA-GRÁVALOS, A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*, 2 (2002) 17 - 21
- [36] - C. F. ONZO, A. ADJATIN, F. ASSOGBA, H. A. NDTOUNGOU, H. W. DJENGUE, P. AZOKPOTA, A. DANSI & J. GBENOU, Potentiel de domestication des espèces de feuilles végétales utilisées comme emballages alimentaires au Bénin. *IJIAS*, 18 (2) (2016) 539 - 550
- [37] - B. LEGBA, V. DOUGNON, J. ATEGBO, G. HOUNMANOU, E. HOUNSA, J. AGBANKPE, H. BANKOLE, J. DOUGNON, L. BABA-MOUSSA. Exploration of the antibacterial and chemical potentials of some plants of the Benin pharmacopoeia. *Microbiologia Medica*, 32 (4) (2018) 6 998
- [38] - M. S. NOUNAGNON, D. DAH-NOUVLESSOUNON, C. N'TCHA, B. LEGBA, F. BABA-MOUSSA, A. ADJANOHOON, et al., Phytochemistry and biological activities of *Crateva adansonii* extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10 (2018) 62 - 7, doi:10.22159/ijpps.2018v10i9.27197
- [39] - V. HOUMENOU, A. ADJATIN, F. ASSOGBA, J. GBENOU, A. AKOEGNINO. Etude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin. *European Scientific Journal*, (2018) 14, doi:10.19044/esj.2018.v14n6p156