

ACTIVITÉS ANTIOXYDANTES *IN VITRO* DES FEUILLES DE *CRATAEVA ADANSONII*

Kplolali Y. S. AHAMA¹, Marie-Luce Akossiwoa QUASHIE^{1*},
Innocent AGBONON³ et Kossi KOUMAGLO²

¹Laboratoire de Physiologie et Biotechnologies végétales, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515, Lomé, Togo.

²Laboratoire des Extraits Végétaux et Arômes Naturels, Faculté des Sciences, Université de Lomé, Togo.

³Laboratoire de Physiologie Animale et de Pharmacologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, Togo.

(Reçu le 05 Septembre 2010, accepté le 14 Décembre 2010)

* Correspondance et tirés à part, e-mail : aquashie@tg.refer.org

RÉSUMÉ

Crataeva adansonii DC de la famille des Capparidaceae est une plante médicinale utilisée par les tradithérapeutes au Togo, pour le traitement d'abcès, de plaies, d'infections bactériennes et de rhumatismes ; susceptible de posséder des propriétés antioxydantes du fait des multiples vertus de réparation que possède la plante [1-3]. L'étude des activités antioxydantes de *Crataeva adansonii* est faite par deux tests *in vitro*, le test au 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazile (DPPH) et le test du Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) ; ces derniers sont appliquées sur les extraits hydro-alcooliques de feuilles récoltées en fonction de leur âge et en fonction des heures de récolte dans la journée.

Les résultats obtenus permettent d'affirmer que les feuilles de *Crataeva adansonii* possèdent des propriétés antioxydantes et que ces dernières varient à la fois avec l'âge de la feuille récoltée mais également selon l'heure de récolte des feuilles. Ainsi les feuilles les plus jeunes sont les plus antioxydantes quelque soit l'heure de la récolte. C'est à midi que sont relevées les activités antioxydantes les plus fortes, notamment chez les feuilles les plus jeunes où on retrouve à 12H une activité de 98,02% à 200µmol/l par le test DPPH. Le test FRAP confirme les résultats obtenus par le test DPPH.

Mots-clés : *Crataeva adansonii*, Activités antioxydantes, Tests DPPH et FRAP, Feuilles.

ABSTRACT**Antioxydant activities *in vitro* of the sheets of *Crataeva adansonii***

Crataeva adansonii DC of the family of Cappariaceae is a medicinal plant used by the tradithérapeuts in Togo, for the treatment of abscess, wounds, bacterial infections and rheumatism; likely to have antioxydant properties because of the multiple virtues of repair which the plant has [1-3]. The study of the antioxydant activities of *Crataeva adansonii* is made by two *in vitro* tests, the first test which is made with 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazile (DPPH) and the second, the Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP); those tests are applied to the hydro-alcoholic extracts of leaves collected according to their age and the hours of harvest in the course of the day.

We can affirm with the results obtained that the sheets of *Crataeva adansonii* have antioxydant properties and they vary at the same time with the age of the collected leaves but also according to the hour of harvest. Thus the youngest leaves are more antioxydant than the others at any time of the day. It is at midday that are raised the antioxydant activities strongest, in particular at the youngest leaves where one finds with 12:00 an activity of 98,02% with 200 μ mol/l by test DPPH. Test FRAP confirms the results obtained by test DPPH.

Keywords : *Crataeva adansonii*, antioxydant activities, tests DPPH and FRAP, leaves.

I - INTRODUCTION

Les effets nuisibles du stress oxydatif sur la santé humaine sont devenus un grave problème de santé publique. Les radicaux libres, tels que les ions superoxydes, les peroxydes d'hydrogène et hydroxyle, et l'oxygène singulet, sont produits en plus grande quantité que les antioxydants lors du stress oxydatif dans l'organisme et ce déséquilibre est donc à l'origine de dommages cellulaires et de maladies chroniques [4-7]. Les antioxydants, seules molécules pouvant protéger l'organisme vivant des dommages causés par les radicaux libres, peuvent prévenir la plupart des affections chroniques comme la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'artériosclérose, la polyarthrite chronique ou encore les cancers [6,7]. Une des solutions est de compléter le régime alimentaire avec des composés antioxydants ; ainsi les formulations à base d'antioxydants sont considérées depuis les trois dernières années comme les moyens de prévention contre les affections chroniques. Ce qui intensifie les recherches sur de nouvelles molécules antioxydantes naturelles issues de plantes [7]. *Crataeva adansonii* D.C. [syn. *Crataeva religiosa* var. *nurvala* Hook and Forst. est une plante médicinale dont les feuilles sont très utilisées dans la

pharmacopée africaine et indienne [8-10]. Son pouvoir analgésique, bactéricide, fongicide et sa composition chimique intéressante [1, 11] ; font la part belle à une large possibilité d'activités antioxydantes démontrées [12, 13]. La possibilité d'évaluer les propriétés antioxydantes de *Crataeva adansonii* à partir de tests biologiques a été utilisée car, en ce qui concerne plus particulièrement le Togo, il est important aujourd'hui, de tirer des enseignements de la pharmacopée traditionnelle, en testant les principes actifs des plantes médicinales usitées pour disposer de ressources fiables et performantes tout en préservant la biodiversité.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel végétal

Les feuilles de *Crataeva adansonii* sont authentifiées par le laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale de l'Université de Lomé au Togo.

Les échantillons sont collectés tout au long de la saison sèche. L'échantillonnage s'est fait selon deux critères distincts ; l'âge des feuilles sur le pied-mère (feuille nouvelle; feuille jeune et feuille mature) et le moment de la récolte des échantillons dans une journée c'est-à-dire à 7 heures, 12 heures et 17 heures. L'identification systématique des âges des lots de feuilles à récolter s'est basée sur un modèle confectionné par la mesure moyenne de la distance séparant la base de la feuille de l'apex mais aussi sur les différences manifestes de pigmentation des feuilles liée à l'âge.

II-2. Méthodes

II-2-1. Extraction

Les paramètres âge des feuilles et moment de récolte des feuilles de *Crataeva adansonii* conduisent à la formation de neuf lots distincts. Les feuilles de chaque lot sont soigneusement lavées puis mises à sécher à l'air libre à 25°C pendant 72 heures. Elles sont ensuite broyées et pesées. 50g de poudre sont prélevés de chaque lot et sont macérés dans 500 ml d'un mélange éthanol et eau (à raison de 5g de matière pour 50ml du mélange) durant 72 heures. L'extrait alcoolique de chaque échantillon prélevé est filtré après les 72 heures et ensuite évaporé. On obtient alors les extraits bruts alcooliques. L'évaluation des propriétés antioxydantes des feuilles est effectuée sur les extraits bruts alcooliques obtenus.

II-2-2. Evaluation de l'activité antioxydante par le test 1, 1 Diphényl 2 Pycril Hydrazile (DPPH) *in vitro*.

L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Crataeva adansonii* est mesurée à partir de la diminution de l'absorbance de la solution méthanoïque de DPPH [14]. A partir de chaque solution mère d'extrait de 100mg/L, une

gamme de dilution d'extraits bruts est préparée. La solution de DPPH est préparée à une concentration de 100 $\mu\text{mol/L}$ dans du méthanol. Le mélange réactionnel est fait avec 1,500 mL de la solution de DPPH et 250 μL de chacune des dilutions d'extraits. Après 10 minutes d'incubation, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de 517nm. Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration a permis de déterminer la concentration correspondant à 50% d'inhibition (IC50).

II-2-3. Evaluation de l'activité antioxydante par le test Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) in vitro.

Le Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) utilise un mélange de trois solutions : 25 ml de tampon acétate de concentration 300mmol/L, de 2,5mL de solution de Complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ- Fe^{3+}) et de 2,5 mL de chlorure de fer à 20 mmol/L [15]. Le mélange réactionnel est constitué de 1500 μl du réactif de FRAP, de 150 μL d'eau distillée et de 50 μL d'extrait de *Crataeva adansonii* (1000ppm). Le temps d'incubation est de 5minutes à l'obscurité. L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Crataeva adansonii* est mesurée à partir de la diminution de l'absorbance du complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ- Fe^{3+}) à 593nm.

II-2-4. Analyses statistiques

Les données sont analysées avec le logiciel Statistica, version 6.0, 1998 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Les différences significatives sont révélées après une analyse de variances (ANOVA) univariées. Le classement des moyennes en groupes homogènes par ordre croissant est effectué selon le test de Tukey. Les différences sont considérées significatives à $P < 5\%$. Les moyennes affectées de la même lettre ne sont pas significativement différentes.

III - RÉSULTATS

III-1. Influence de l'âge des feuilles sur les activités antioxydantes.

III-1-1. Test DPPH in vitro.

En ce qui concerne les résultats obtenus, l'utilisation du test DPPH a permis de démontrer que les extraits hydro-alcooliques de tous les types de feuilles de *Crataeva adansonii* montrent un réel pouvoir antioxydant qui augmente en corrélation avec la concentration des extraits (**Figure 1**). Les résultats de ce test, montrent également que l'âge des feuilles a un impact certain sur la

production des antioxydants. Quel que soit le moment de récolte, les extraits de feuilles, montrent un pouvoir antioxydant qui diminue nettement avec l'âge (**Figure 1**). Pour les feuilles récoltées le matin, à une concentration de 200 $\mu\text{mol}/\ell$, l'extrait des feuilles nouvelles a un pouvoir antioxydant de 76,88%, tandis que les extraits de feuilles jeunes et matures, à la même concentration, ont un pouvoir antioxydant significativement inférieur soit respectivement, 56,74% et 63,34% respectivement (**Figure 2**). Lorsque la récolte est effectuée à midi, toujours à une concentration de 200 $\mu\text{mol}/\ell$, l'extrait de feuilles nouvelles a un pouvoir antioxydant extrêmement important de 98,02% pratiquement le double des extrait hydro-alcooliques de feuilles jeunes de 53,68% et matures de 50%. Les extraits de feuilles récoltées à 17h donnent des résultats similaires. L'extrait de feuilles nouvelles a un pouvoir antioxydant plus important que le double de celui de l'extrait des feuilles jeunes soit 80% contre 35% à une concentration de 200 $\mu\text{mol}/\ell$ (<0,001). Ce pouvoir, à la même concentration, est plus de quatre fois plus élevé que celui de l'extrait de feuilles matures soit 80% contre 18% (**Figure 2**).

L'analyse statistique des pourcentages d'inhibition des extrais hydro-alcooliques révèle que l'âge a bien un impact sur les activités antioxydantes des feuilles de *Crataeva adansonii*. Les différences statistiques, entre les pouvoirs antioxydants en fonction de l'âge des feuilles, nouvelles, jeunes et matures, sont significatives au seuil de 1%. Les feuilles de *Crataeva adansonii* ont montré des propriétés antioxydantes en étroite corrélation avec l'âge des feuilles. Les plus jeunes feuilles dénommées ici feuilles nouvelles ont un pouvoir antioxydant très important qui va diminuer au fur et à mesure que les feuilles croissent et se développent.

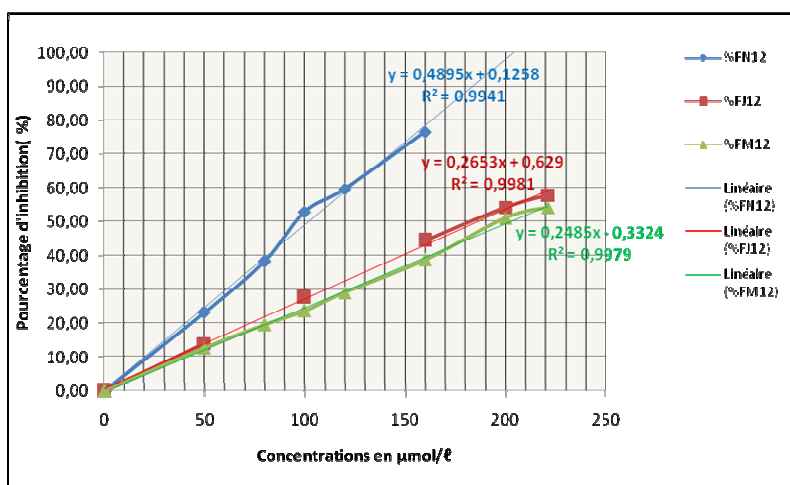


Figure 1 : Comparaison des pourcentages d'inhibition des feuilles des 3 âges récoltées à 12h. FN : feuilles nouvelles, FJ : feuilles jeunes, FM : feuilles matures. 12 : 12heures

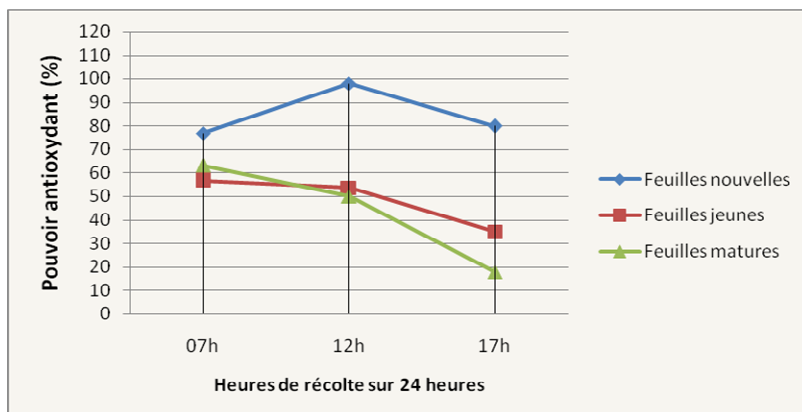


Figure 2 : Test DPPH : Activités antioxydantes des feuilles de *Crataeva adansonii*

III-1-2. Test FRAP *in vitro*.

Les extraits des feuilles nouvelles enregistrent les plus fortes concentrations équivalentes, traduisant un pouvoir antioxydant élevé (**Figure 3**). Les concentrations équivalentes en Fe^{2+} diminuent significativement lorsque les extraits proviennent des feuilles de plus en plus âgées, confirmant ainsi les résultats obtenus avec le test DPPH, les extraits de feuilles nouvelles sont plus antioxydantes que ceux des feuilles jeunes et ceux de feuilles matures (signification inférieure au seuil de 0,001).

III-2. Influence de l'heure de la récolte des feuilles sur les activités antioxydantes.

III-2-1. Test DPPH *in vitro*.

Les extraits de feuilles nouvelles ont des pouvoirs antioxydants élevés quand elles sont récoltées à 12h, à $200\mu\text{mol/L}$, le rapport est significativement différent au seuil de 1% entre le pouvoir antioxydant d'extraits de feuilles récoltées à 12h, plus de 95% et celui d'extraits de feuilles récoltées à 07h et à 17h (**Figure 3**). Les pouvoirs antioxydants des extraits de feuilles nouvelles récoltées à 07h ou à 17h sont statistiquement équivalents (**Figure 2**). Les extraits de feuilles jeunes ont montré que les pouvoirs antioxydants obtenus sont assez élevés mais restent les mêmes quel que soit le moment de la récolte (7h, 12h ou 17h) (**Figure 2**).

En ce qui concerne les extraits de feuilles matures, ils ont des pouvoirs antioxydants moyens mais équivalents quand les feuilles sont récoltées à 07h

ou à 12h comme c'est le cas pour les feuilles jeunes, cependant contrairement à ces dernières, les feuilles matures récoltées à 17 heures ont le plus bas taux de production d'antioxydants. L'extrait de feuilles matures cueillies à 17h donne par contre un pouvoir antioxydant 30 à 40% plus faible que celui de l'extrait des feuilles récoltées le matin ou à midi. En prenant les résultats obtenus dans leur globalité, on observe que l'heure de la récolte des feuilles a également un impact indéniable sur l'activité antioxydante des feuilles de *Crataeva adansonii*. Le pouvoir antioxydant des feuilles nouvelles déjà important en début de journée à 07h puisqu'il est de 80% augmente dans la matinée jusqu'à midi où il est maximal (près de 100%) ; entre midi et 17h, le pouvoir antioxydant des feuilles nouvelles va maintenant décroître pour retrouver le taux qu'il avait en début de journée. Il y a donc au cours des 10 heures d'expérimentation, une fluctuation en hausse et en baisse de 20% (**Figure 2**). Les feuilles jeunes et les feuilles matures ont en début de journée un pouvoir antioxydant très proche de la moyenne, une baisse non significative va le faire devenir moyen après 5 heures, c'est-à-dire en milieu de matinée. L'effet du moment de récolte va être significatif à 17h où les pouvoirs antioxydants des feuilles matures vont chuter de près de 60% par rapport à ceux du matin et du midi. En effet, le pouvoir antioxydant des extraits de feuilles permet de remarquer de façon significative, une augmentation du pouvoir antioxydant lorsque les récoltes sont effectuées à 12h particulièrement sauf en ce qui concerne particulièrement les feuilles jeunes dont la production ne varie pas tout au long des 10 heures d'expérimentation.

En conclusion, les heures les plus chaudes de la journée constituent des sources de stimulation des feuilles de *Crataeva adansonii* et notamment, des feuilles nouvelles dont les extraits contiennent des molécules antioxydantes actives et abondantes, responsables de l'inactivation de la DPPH. Au début de leur spécialisation, les feuilles nouvelles de *Crataeva adansonii* sont très réactives, ce qui expliquerait les forts pouvoirs antioxydants enregistrés. Au fur et à mesure de leur différenciation et de leur spécialisation, la production d'antioxydants devient moyenne avec une chute enregistrée à la fin de la journée. L'analyse des résultats nous permet de conclure que l'extrait de feuilles nouvelles cueillies à 12h est significativement le plus antioxydant au seuil de 1%.

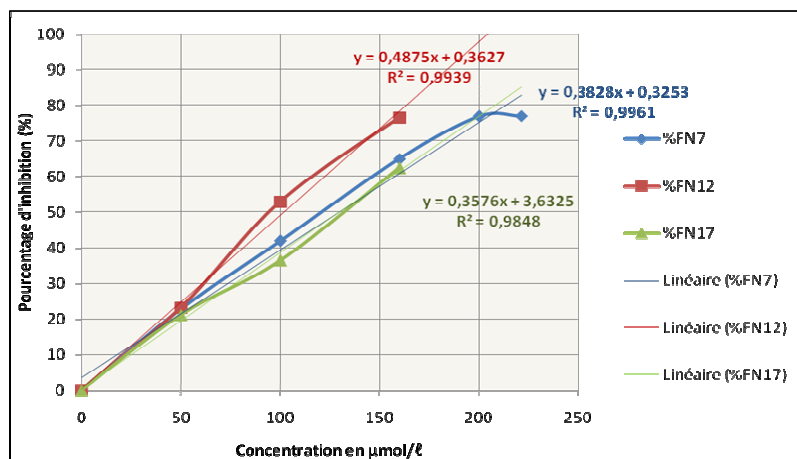


Figure 3 : Test DPPH : Comparaison des pourcentages d'inhibition des feuilles nouvelles en fonction du moment de récolte dans la journée
 FN : feuilles nouvelles. 7 : 07 heures, 12 : 12 heures, 17 : 17 heures

III-2-2. Test FRAP *in vitro*.

Le pouvoir antioxydant des extraits de feuilles augmente lorsque le moment de la récolte est dans les heures les plus chaudes de la journée à 12h particulièrement. Les extraits de feuilles nouvelles montrent une forte activité antioxydante lorsqu'elles sont cueillies à 12h. En effet, la concentration équivalente en Fe^{2+} de l'extrait de feuilles nouvelles cueillies à 12h, est la plus forte (**Figure 4**). La grande réactivité des feuilles nouvelles ajoutée au stress qu'est la lumière intense, confère à l'extrait de ces feuilles, un important pouvoir antioxydant, la réduction du complexe réactif est donc très importante.

Le même comportement est observé pour les extraits de feuilles jeunes et matures. Ces extraits indiquent des concentrations plus fortes quand les feuilles sont cueillies à 12h (**Figure 4**). Il faut noter cependant qu'une analyse des concentrations équivalentes des extraits de feuilles jeunes, montre que le facteur « moment de récolte » n'influe pas sur le pouvoir antioxydant de ces dernières. En effet, qu'elles soient cueillies à 07, à 12 ou à 17h, le pouvoir antioxydant de ces extraits reste le même, leur différence n'étant pas significative. En ce qui concerne les feuilles matures, les conclusions sont les mêmes, il n'y a pas de différences du pouvoir antioxydant de ces extraits dans la journée. Le facteur moment de récolte influe essentiellement sur les feuilles nouvelles, ces dernières enregistrent un fort pouvoir antioxydant tout au long des 10 heures et ont un pouvoir maximal à 12h.

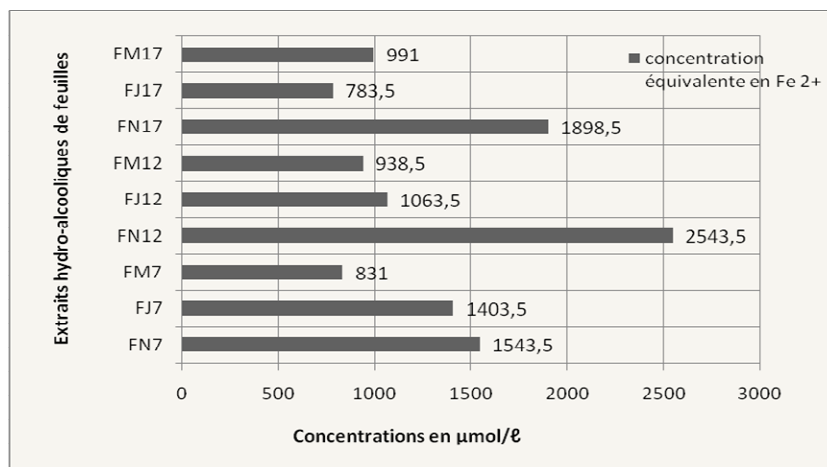


Figure 4 : Test FRAP : Concentrations équivalentes traduisant le pouvoir antioxydant des extraits de feuilles de *Crataeva adansonii*
 FN : feuilles nouvelles, FJ : feuilles jeunes, FM : feuilles matures.
 7 : 07 heures, 12 : 12 heures, 17 : 17 heures

IV - DISCUSSION

Les plantes médicinales usitées dans les pharmacopées traditionnelles possèdent en général des propriétés antioxydantes [16-20]. Nos travaux ont permis de préciser dans le cas de *Crataeva adansonii*, que ce sont les feuilles les plus jeunes, précisément celles qui se trouvent à l'apex des tiges feuillées qui ont le plus fort pouvoir antioxydant. La plante, tout comme tout être vivant, consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, les feuilles, en particulier qui sont le siège des réactions chloroplastiques, enregistrent une forte consommation d'oxygène et produisent donc par conséquent des radicaux libres. Dans le souci, de protéger les cellules foliaires des radicaux libres, le jeune végétal produit des anti-radicalaires, notamment des antioxydants, ce qui explique l'importance de ces molécules pour les jeunes pousses [21, 22]. Des travaux récents [23] montrent que les pouvoirs antioxydants varient selon le stade de croissance foliaire chez certaines espèces de caféier, les extraits bruts foliaires des très jeunes feuilles de ces espèces contiennent 3 fois plus d'antioxydants que les extraits de feuilles matures. Les très jeunes feuilles de *Crataeva adansonii* sont, seulement 9 à 7 fois moins antioxydant que la quercétine ; molécule de référence et elles sont deux à six fois plus antioxydantes que les feuilles matures. Les activités antioxydantes constatées sont dues à une production des métabolites secondaires par la plante, l'analyse chimique des feuilles de

Crataeva adansonii confirment l'existence de propriétés antioxydantes révélées par les tests DPPH et FRAP utilisés dans nos travaux [24]. Des travaux récents confirment également que *Crataeva religiosa* produit des triterpénoïdes comme le triacétate de phragmatine et le lupéol [20], ce dernier étant connu pour avoir des propriétés antioxydantes par une activation des enzymes antioxydantes [25]. Des molécules à fort potentiel antioxydant telle que la rutine, la quercétine, l'isoquercétine et des flavonoïdes ont également été isolées des feuilles et leur présence ici, justifient nos résultats [24, 26].

Dans la physiologie de la plante, la lumière a une place importante car elle est un des facteurs environnementaux qui agit non seulement comme source d'énergie par son intensité et sa durée pour la plante, mais aussi comme une source externe de stimulation influençant la croissance, le développement et également la synthèse de substances bioactives [27]. *Crataeva adansonii* réagit, elle aussi, selon l'intensité lumineuse ; ce qui se traduit dans les variations du pouvoir antioxydant enregistré au cours de la journée. En effet, plus l'intensité lumineuse du soleil dans la journée est forte, plus le pouvoir antioxydant de feuilles est important. Il ya donc un flux de production de substances à propriétés antioxydantes dans la jeune feuille lorsque l'intensité lumineuse est maximale. Les travaux de Zhou et Singh [28] montrent que le taux d'anthocyanes dans le fruit de *Vaccinium macrocarpon Ait* présente des valeurs variant selon que les fruits sont pris la nuit ou exposés à la lumière naturelle ou encore éclairés par des rayons au rouge ou au rouge lointain.

La capacité que détiennent les feuilles de *Crataeva adansonii* est due à la présence de polyphénols dont la biosynthèse est dépendante de la lumière. En effet, la voie de l'acide shikimique (mode principal de la formation du noyau aromatique des composés phénoliques) utilise comme principal enzyme, la phénylalanine ammonia-lyase (PAL). Cet enzyme présente chez les plantes supérieures, désamine la phénylalanine en acide *trans* cinnamique, molécule précurseure de la majorité des composés aromatiques qui sont doués de propriétés antioxydantes. La synthèse de cet enzyme-clé est activée par un phytochrome [29, 30]. C'est aussi le cas de la chalcone synthase (CHS) et de l'anthocyanine synthase (AS) qui sont les enzymes-clés de la biosynthèse des flavonoïdes et des anthocyanes, dont les expressions sont régulées par les facteurs environnementaux que sont la lumière et la température [28]. Si la lumière est source de stimulation pour la plante, elle est aussi source de stress ; elle doit donc face aux rayons lumineux, se protéger de la radiation solaire ultraviolette. Cette protection se réalise dans les parties aériennes essentiellement par la biosynthèse de différents composés dont les composés phénoliques qui sont d'excellents antioxydants. Ainsi certains composés aromatiques jouent le rôle de filtre UV, tels que les flavonoïdes, ce qui

explique également une augmentation du pouvoir antioxydant d'extraits végétaux à des heures chaudes de la journée traduisant une accumulation des composés phénoliques [31, 32].

V - CONCLUSION

Les tests *in vitro* DPPH et FRAP nous ont permis de confirmer les remarquables potentialités en terme d'antioxydants des feuilles d'un petit arbre que l'on retrouve de façon familière dans les formulations des tradithérapeutes locaux au Togo. Toutes les parties de cet arbre sont utilisées en général et bien qu'ayant été démontré ailleurs, ces propriétés se devaient d'être confirmées pour des arbres poussant en Afrique. Dans le cas des activités antioxydantes des feuilles, le résultat le plus original concerne la production importante de molécules antioxydantes par feuilles les plus jeunes tout au long de la journée. Le test FRAP nous a permis de confirmer et d'affiner les résultats obtenus avec le test DPPH. Les deux tests nous permettent d'affirmer la présence d'une activité antioxydante importante et avérée dans les feuilles de *Crataeva adansonii* ; cette activité est fonction de l'âge des feuilles et du moment de la récolte lorsqu'on s'adresse aux feuilles les plus jeunes appelées ici feuilles nouvelles.

RÉFÉRENCES

- [1] - G.H. AYNILIAN, N.R. FARNSWORTH and G. J. PERSINOS, *J. Phytochemistry*.11 (1972) 2885-2886.
- [2] - S. SABUJ, K.M. SAGAR, K.P. PRASANA, T. SHYAMLANDU, M. SATYAR, E. POLURI and K.D. SASHI, *J. Pharmaceutical/ Drug Research*.65 (2008) 245-247.
- [3] - M. MUHAMMED and P. LAKSHMI, *Phytopharmaceuticals* (2007) 3-6.
- [4] - O.L. ARUOMA, *J. Am. Oil Chem.*, 75(1998)199–212.
- [5] - D.J. LEFER and D.N. GRANGER, *Am. J. Med.*, 109 (2000) 315–323.
- [6] - M. GERBER, M.C. BOUTRON-RUAULT, S. HERCBERG, E. RIBOLI, A. SCALBERT and M.H. SIESS, *Bull. Cancer*, 89 (2002) 293–312.
- [7] - T.P.A. DEVASAGAYAM, J.C. TILAK, K.K. BOLOOR, K.S. SANE, S.S. GHASKADBI and R.D. LELE, *J. Assoc. Phys. India* 52 (2004) 794-804
- [8] - Y. SENGHOR, 1974: *Flore illustrée du SENEGAL*. Dakar. 211 p.
- [9] - E.J. ADJANOHOUN, M.R.A. AHYI, L. AKE ASSI, K. AKPAGANA, P. CHIBON, A. EL HADJI, J. EYEME, M. GARBA, J.-N. GASSITA et M. M.GBEASSOR, in "*Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo*". ACCT (1986) 876-886.

- [10] - INDIAN HERBAL PHARMACOPOEIA, *Regional Research Laboratory & Indian Drug Manufacturers' Association (India)*, Vol. I, (1998) 56-63.
- [11] - A. BERGERET, *L'arbre nourricier en pays sahélien* - Ministère de la Coopération et du Développement. Paris (1990) 237 p.
- [12] - M. DIALLO, *Thèse de Docteur en Pharmacie*, Université de Bamako, (2005) 230 p.
- [13] - A. KUMARI and P. KAKKAR, *Biomed Environ Sci.*, 21(1) (2008) 24–29.
- [14] - A. OZCELIK, J. H. LEE and D. B. MIN, *Journal of Food Science*, 68 (2003) 487-490.
- [15] - F. F BENZIE, and J. J. STRAIN, *Analytical Biochemistry*, 239 (1996) 70-76.
- [16] - E. SPERONI and P. SCARTEZZINI, *J. Ethnopharmacol.*, 71 (2000) 23–43.
- [17] - Y. ROLLAND, *OCL*, 11 (2004) 419-423.
- [18] - A. MATKOWSKI, *A Review. Biotechnol. Adv.*, 26(6) (2008) 548–560.
- [19] - S.S. ALI, N. KASOJU, A. LUTHRA, A. SINGH, H. SHARANABASAVA, A. SAHU and U. BORA, *Food Res. Int.*, 41 (2008) 1–15.
- [20] - D. KRISHNAIAH, R. SARBATLY, R. NITHYANANDAM, *Food and Bioproducts Processing*, (2010)1-17.
- [21] - F.AVLESSI, J. DANGOU, V.D. WOTTO, G.A. ALITONOU, D.K. SOHOUNHLOUE et C. MENUT, *J. Chimie*, 7 (2004) 1057-1061.
- [22] - N. MARCON, S. MAYOR et A.F. GROGG, *Poster HES-SO Valais, Institute Life Technologies*, CH-1950 Sion, Switzerland.
- [23] - P. TALAMOND, L. MONDOLOT, A. GARGADENNEC, A. de KOCHKO, S. HAMON, A. FRUCHIER et C. CAMPA, *Acta Botanica Gallica*, 155 (2008) 513 - 519.
- [24] - M. GAGANDEEP and S.B. KALIDHAR, *In. J. Ph. Sc.*, 68 (2006) 804-806.
- [25] - M. SALEEM *et al.*, *Pharmacol. Res.*, 43(2) (2001) 127-134.
- [26] - G. PATIL, S. P. KOLI, D. A. PATIL and N. CHANDRA, *Int. J. of Pharma. and Bio. Sciences*, 1(2) (2010) 1-14.
- [27] - A. URBONAVIČIŪT, P. PINHO, G. SAMUOLIEN, P. DUCHOVSKIS, P. VITTA, A. STONKUS, G. TAMULAITIS, A. ŽUKAUSKAS and L. HALONEN, *Sodininkyst Ir.*, 26 (4) (2007) 309-316.
- [28] - 28-Y. ZHOU and B. R. SINGH, *J. Biomedicin and Biotech.*, (2004) 1-5
- [29] - J.L. GUIGNARD, L. L.COSSON et M. HENRY, "*Abregé de phytochimie*". Ed. Masson. Paris. (1985)
- [30] - M.J. DEL BANO, J. LORENTE, J. CASTILLO, O. BENAVENTE-GARCIA, J.A. RIO, A. ORTUNO, K.W. QUIRIN and D. GERARD, *J. Agric. Food Chem.*, 51(15) (2003) 4247–4253.
- [31] - K. A. NAVIN and A. MADHOOLIKA, *J. Bot.* 76(1998)1290–1294.
- [32] - 3H. SIES, *Eur. J. Biochem.*, 215(1993) 213–219.