

Etude pharmacognosique de l'extrait sec du décocté des feuilles de *Holarrhena floribunda*

ODOH Alida Edwige^{1,*}, YÉHÉ Désirée Mariette^{2,3}, SORO Brahim⁴, KONÉ-BAMBA Diéneba¹.

¹Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Laboratoire de Pharmacognosie, Botanique, Biologie Végétale et Cryptogamie, 22 BP 714 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

² Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Département de Chimie Analytique, Bromatologie, Chimie Générale et Minérale, 01 BP V 34, Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire National de la Santé Publique, Service Contrôle des Aliments, 18 BP 2403, Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴ Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, UFR Biosciences, Laboratoire de Biotechnologie, Agriculture et Valorisation des Ressources Biologiques, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 31 Octobre 2022; Date de révision : 27 Novembre 2022; Date d'acceptation : 20 Décembre 2022

Résumé :

Le décocté des feuilles de *Holarrhena floribunda* est un extrait utilisé en médecine traditionnelle africaine pour traiter le diabète et la stérilité féminine. Cependant les standards de qualité de la préparation assurant la reproductibilité de l'efficacité et de la sécurité d'emploi n'ont pas encore été établis. La présente étude a été menée pour s'assurer de la qualité de la préparation de l'extrait sec du décocté aqueux des feuilles séchées de *H. floribunda*. Les caractéristiques pharmacognosiques organoleptiques et microscopiques de la poudre des feuilles séchées de *H. floribunda* ont été évaluées. Les aspects physicochimiques et les constituants chimiques de l'extrait sec ont été caractérisés. Les études microscopiques ont montré la présence d'éléments caractéristiques de la plante tels que ; des poils tecteurs à bout crochu, des poils excréteurs à tête pluricellulaire, des stomates paracytiques, des macles d'oxalate de calcium de grande taille et de forme étoilée. Les teneurs des éléments physicochimiques et phytochimiques majoritaires présents dans l'extrait sec étaient ; la teneur en cendre ($12,34 \pm 0,03$ %), les alcaloïdes totaux ($0,38 \pm 0,012$ %), les polyphénols (68597 ± 3171 µg EAG /g matière sèche), les flavonoïdes ($17,58 \pm 0,379$ %), les tanins $7819,44 \pm 77,3$ µg ETC/mg. Ces résultats préliminaires pourraient contribuer à l'étude de la qualité de la préparation de l'extrait sec aqueux de feuilles séchées de *H. floribunda* afin d'assurer une sécurité et une efficacité thérapeutique.

Mots clés : *Holarrhena floribunda*, décocté, extrait sec, étude pharmacognosique.

Pharmacognostical study of *Holarrhena Floribunda* extract powder preparation

Abstract:

Holarrhena floribunda leaf decoction is an extract used in traditional African medicine to treat diabetes and female infertility. However, the quality standards of the preparation ensuring reproducibility of efficacy and safety of use have not yet been established. The present study was conducted to ensure the quality of preparation of dry extract of aqueous decoctate of dried leaves of *H. floribunda*. The organoleptic and microscopic pharmacognostic characteristics of the dried leaf powder of *H. floribunda* were evaluated. The physicochemical aspects and chemical constituents of the dry extract were characterised. Microscopic studies showed the presence of characteristic elements of the plant such as; tectorial hairs with hooked tips, excretory hairs with multicellular heads, paracytic stomata, large and star-shaped calcium oxalate macles. The contents of the major physicochemical and phytochemical elements present in the dry extract were ash content (12.34 ± 0.03 %), total alkaloids (0.38 ± 0.012 %), polyphenols (68597 ± 3171 µg GAE/g dry matter), flavonoids (17.58 ± 0.379 %), tannins 7819.44 ± 77.3 µg CE/mg. These preliminary results could contribute to the study of the quality of the preparation of aqueous dry extract of dried leaves of *H. floribunda* to ensure safety and therapeutic efficacy.

Key words: *Holarrhena floribunda*, decoction, dry extract, pharmacognostical study.

Introduction

Holarrhena floribunda (*H floribunda*) est une plante de la famille des Apocynaceae qui pousse en Afrique dans les régions forestières et les savanes du Sénégal au Soudan, et vers le sud jusqu'à la R.D. du Congo et Cabinda (Angola) (Arbonnier, 2009). C'est un arbuste de 10 à 25 mètres de haut au fût élancé de 30 cm de diamètre. L'écorce est lisse ou plus ou moins crevassée, grise ou brune, à tranche granuleuse brun pâle. (Arbonnier, 2009). Plusieurs parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle. Les écorces sont utilisées dans le traitement de la dysenterie

amibienne et les feuilles sont employées dans le traitement des dysménorrhées, l'infertilité, le paludisme (Arbonnier 2000; Bayala, 2006 ; Hoekou et al., 2016). L'infusion ou le macéré des feuilles est utilisé pour traiter le diabète et l'aménorrhée (Kerharo et Bouquet, 1950; Nyunai et Njifutié, 2011). Iwu (2014) a rapporté l'utilisation des racines pour soigner les morsures de serpents et les infections vénériennes. En Côte d'Ivoire, les feuilles auraient des vertus hémostatiques. Les feuilles mélangées à la noix de cola, se consomment pour traiter la

(*) Correspondance : Odoh A. E. ; e-mail : edwigeodoh@yahoo.fr; tél. : (+225) 07 49 67 43 92.

blennorrhagie (Adjanohoun et Ake-Assi, 1979). Les feuilles et les écorces sont réputées antidiarrhéiques et utilisées pour le traitement de l'aménorrhée (Bouquet and Debray, 1974).

Il existe une large tradition africaine de transmission orale de recettes à base de plantes. Plusieurs études expérimentales ont démontré l'efficacité et la sécurité des préparations couramment utilisées par la population (Fotié et al., 2006 ; Yemoa et al., 2014 ; Hoekou et al., 2017). Pour assurer la reproductibilité de l'efficacité et

la sécurité, un contrôle qualité doit s'effectuer aux différentes étapes de la fabrication, sur les matières premières et le produit fini. Cependant, les études qui établissent les standards de qualité de ces extraits sont rares.

Aussi l'objectif de notre étude est d'établir les standards de qualité de la préparation de l'extrait sec aqueux des feuilles de *H floribunda* à travers une étude pharmacognosique de la drogue et de l'extrait.

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé était constitué des feuilles de *H floribunda*. Les feuilles ont été récoltées en mars 2019 à Issia au sud-ouest de la Côte d'Ivoire en Afrique de l'Ouest. La matière première végétale a été authentifiée par comparaison avec les herbiers du Centre National de Floristique (CNF) au numéro de spécimen 281B (ancienne dénomination), UCJ002020 (nouvelle dénomination) de *H floribunda*.

2. Préparation de la drogue

Après nettoyage, les feuilles récoltées ont été découpées et séchées à l'ombre à la température du laboratoire pendant deux semaines. Après séchage, elles ont été rendues en poudre fine grâce à un broyeur électrique. La poudre végétale a été ensuite stockées dans des bocaux à fermeture hermétique puis conservées à l'abri de la chaleur et de l'humidité.

3. Préparation des extraits

Une proportion de 100 g de poudre de feuilles séchées a été porté à ébullition dans un bécher contenant un litre d'eau distillée à l'aide d'un chauffe-ballon thermostaté à 100°C pendant 30 minutes. L'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu, puis filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Wathman 3 mm. Le filtrat recueilli, a été évaporé à l'étuve à 50 °C et la poudre obtenue constitue l'extrait sec de feuilles séchées (EAHf). (Figure 1). Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R = (m \times 100) / M$$

R : rendement d'extraction en pourcentage ;

m : masse en g de l'extrait sec obtenu ;

M : masse en g de la poudre de drogue utilisée.

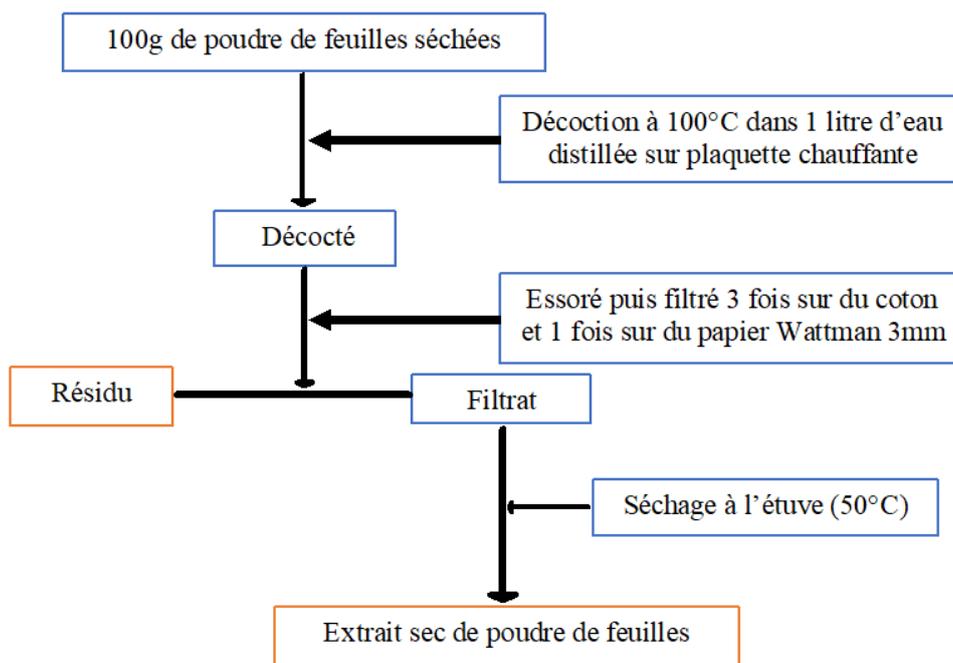


Figure 1 : Schéma de préparation de l'extrait sec aqueux de feuilles de *H floribunda*

4. Évaluation botanique de la drogue

4.1. Détermination des caractères organoleptiques

Les caractères appréciés ont été l'aspect général, la couleur, l'odeur et la saveur.

4.2. Détermination des caractères micrographiques

Une petite quantité de poudre fine de feuilles séchées a été mélangée à quelques gouttes de potasse alcoolique à 5 % sur une lame porte-objet, puis recouverte de lamelle. Les éléments caractéristiques de la poudre de feuille ont été observés au microscope optique avec l'objectif X10.

5. Détermination des caractères physicochimiques de l'extrait

La teneur en eau, la teneur en cendres et le pH de l'extrait EAHf ont été les caractères physicochimiques évalués selon les Normes ISO (Norme, 2009 ; Norme, 2007).

5.1. Détermination de la teneur en eau ou l'humidité

Dans une capsule ont été introduite cinq grammes (5 g) de poudre d'extrait. La capsule a ensuite été placée dans une étuve pendant 1 heure à une température de 130°C. À la fin de la période de séchage, la capsule a été retirée de l'étuve et laissée à refroidir au dessiccateur pendant 30 mn, puis pesée à 1 mg près.

La teneur en eau est exprimée en (%) obtenue par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

Avec m₀: masse en g de la prise d'essai ;

m₁ : masse en g de la prise d'essai et du creuset après étuvage ;

m₂ : masse en g de la prise d'essai et du creuset avant étuvage.

5.2. Détermination de la teneur en cendres

Cette La teneur en cendres des extraits de plante est déterminée par incinération de cinq grammes (5 g) d'une prise d'essai d'extrait contenue dans une capsule, au moyen d'un four à une température de 550°C pendant 24 heures et pesée du résidu obtenu après refroidissement au dessiccateur pendant 15 min.

La teneur en cendres des extraits exprimée en (%) est donnée par la relation ci-dessous :

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec m₀ : masse en g des capsules vides ;

m₁ : masse en g des capsules vides et des prises d'essai ;

m₂ : masse en g des capsules vides et des prises d'essai après incinération.

5.3. Détermination du pH

Pendant 30 minutes, dix grammes (10 g) de poudre d'extrait de plante ont été macérés dans 75 ml d'eau distillée. Le filtrat a été soumis à analyse au moyen du pH-mètre. Les valeurs de pH de chaque extrait sont données après lecture au pH-mètre sans unité.

6. Détermination des caractères phytochimiques de l'extrait

6.1. Quantification des phénols

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par une méthode spectrophotométrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Wood et al, 2002).

Un volume de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) a été ajouté à 0,5 ml d'extrait. Le mélange a été maintenu pendant deux minutes dans l'obscurité à température ambiante, puis deux millilitres (2 ml) de solution de carbonate de calcium (75 g.L⁻¹) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été placé pendant 15 minutes au bain-marie à 50 °C, puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à 760 nm, avec de l'eau distillée comme blanc.

La quantification des polyphénols totaux est faite en fonction d'une droite d'étalonnage linéaire (y=0,0232x -0,0002) réalisée par un extrait d'étalon l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (µg EAG/g MS) de la plante en poudre.

La teneur en polyphénols totaux (Q) est calculée selon l'équation :

$$Q = (V \times C \times d) / m \text{ (en } \mu\text{g EAG/g matière sèche)}$$

Avec V : volume final de l'extrait (ml) ;

C : concentration de l'extrait (µg/ml) ;

d : dilution ;

m : masse de matière sèche du matériel végétal hydrolysé (g).

6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode de Hariri et al (1991) modifiée.

Une solution aqueuse (2 ml) dilués au 1/10ème de chaque extrait a été et mélangée à 100 µL de réactif de Neu. L'absorbance a été lue à 404 nm et comparée à celle du quercétol pris comme standard (0,05 mg/ml), traité dans les mêmes conditions et avec la même quantité de réactif.

Le pourcentage des flavonoïdes totaux a été calculé en équivalent quercétol selon la formule suivante :

$$F = (0,05 \times A_{ext} / A_q) \times 100 \times d / C_{ext} \text{ (en \%)}$$

Avec A : absorption de l'extrait ;

A_{ext} : absorption du quercétol ;

C_q : concentration de l'extrait (mg/ml) ;

d : dilution.

6.3. Dosage des Tanins condensés

Le dosage des tanins condensés s’est fait par la méthode au FeCl₃ (Broadhurst et al., 1978; Heilmer et al., 2006).

À 400 µL de chaque échantillons (0.5 mg/ml), 1,5 ml de la solution de vanilline (4% dans MeOH) et 0,8 ml de HCl concentré ont été ajoutés. Le mélange a été incubé durant 15 min et l’absorbance a été lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés ont été déduites à partir des gammes d’étalonnage établies avec la catéchine (0- 150µg/ml) et exprimées en microgramme d’équivalent catéchine par milligramme (µgETC/mg).

6.4. Dosage des alcaloïdes

Les alcaloïdes totaux présent ont été déterminés par des méthodes titrimétriques acide-base utilisant le rouge de méthyle comme indicateur (Debnath et al., 2015).

Dans un bécher, 25 mg d’extraits ont été dissous à 10 ml (V1) de HCl à 0,1 N (C1). À cette solution, 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle ont été ajoutées, entraînant ainsi un changement de coloration du milieu (rose). Le mélange réactionnel a été titré avec une solution de NaOH (0,1 N) jusqu’au virage de la couleur au jaune pâle. Le point de neutralisation a été déterminé. Cette opération a été répétée trois fois. La quantité totale d’alcaloïdes a été calculée en considérant l’équivalent 1 ml de HCl à 0,1 N ≡ 0,0162 g d’alcaloïde.

Résultats

1. Caractères organoleptiques et microscopiques des poudres

La poudre de feuilles séchées de *H. floribunda* était de couleur vert kaki (Figure 2) et de saveur aigre (Tableau I) tandis que la poudre d’extrait sec aqueux était de couleur marron et de saveur amer. La poudre de feuilles séchées de *H. floribunda* contenait d’une part des éléments tissulaires caractéristiques ; des fragments d’épiderme chlorophyllien avec des chloroplastes, des poils tecteurs à bout crochu, des poils excréteurs à tête pluricellulaire, des stomates paracytiques, du parenchyme avec des inclusions de sable, des vaisseaux de bois

spiralés, des fragments de fibre, des vaisseaux ponctués et d’autres part des cristaux ; des prismes d’oxalate de calcium et des macles d’oxalate de calcium de grande taille et de forme étoilée (Figure 3).

2. Caractères Physicochimiques de l’extrait

Les analyses physico-chimiques de l’extrait sec des feuilles de *H. floribunda* sont présentées dans le tableau II. Les constantes physiques comme le rendement, le pH, la teneur en cendre étaient respectivement de 17,70± 0,56 %, 5,26 ± 0,01, 12,34 ± 0,03 %. La teneur en eau de l’extrait était de 4,10 ± 0,00 % (Tableau II).



Poudre de feuilles



Extrait sec EAHf

Figure 2 : Aspects macroscopiques de la drogue et de l’extrait sec de *H. floribunda*

Tableau I : Caractères organoleptiques de *H. floribunda*

Poudre	Couleur	Goût	Odeur
Drogue de <i>H floribunda</i>	Vert kaki	Aigre	Caractéristique faible
Extrait EAHf	Marron	Amère aigre	Aromatique faible

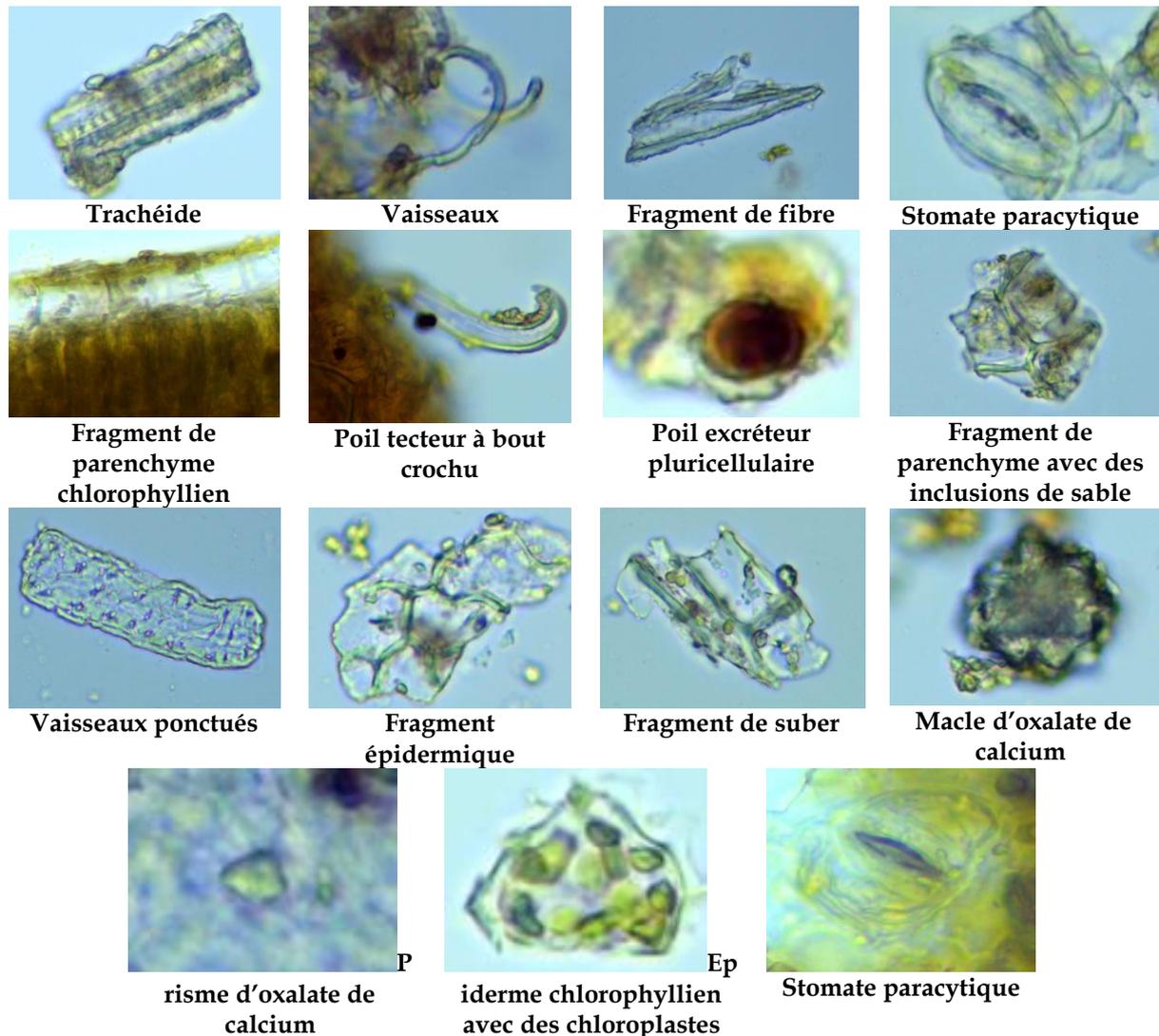


Figure 3: Eléments tissulaires microscopiques identifiés de la poudre des feuilles de *H. floribunda* (Montage : KOH) (G x 400) : fragment d'épiderme, poil tecteur à bout crochu, poil excréteur à tête pluricellulaire, stomate paracytique, parenchyme palissadique chlorophyllien, parenchyme avec des inclusions de sable, vaisseaux de bois spiralés, fragment de fibre, vaisseaux ponctués, suber, cristaux en macles d'oxalate de calcium de grande taille et de forme étoilée et des prismes d'oxalate de calcium.

Tableau II : Caractères physicochimiques de l'extrait EAHf

Paramètres	EAHf
Rendement % (Moyenne ± Ecart-type)	17,70± 0,56
Teneur en eau % (Moyenne ± Ecart-type)	4,10 ± 0,00
Teneur en cendres % (Moyenne ± Ecart-type)	12,34 ± 0,03
pH (Moyenne ± Ecart-type)	5,26 ± 0,01

3. Caractères Phytochimiques de l'extrait

- Comportement des animaux

Au Le tableau III résume le criblage phytochimique quantitatif de l'extrait sec des feuilles séchées de *H. floribunda*. L'extrait sec des feuilles séchées de *H. floribunda* contenait

0,38±0,012% d'alcaloïdes totaux, 68597±3171 µg EAG /g matière sèche de polyphénols, 17,58±0,379 % de flavonoïdes et 7819,44±77,3 µg ETC/mg de tanins.

Table III : Détermination quantitative de composés phytochimiques de l'extrait EAHf

Paramètres	EAHf
Polyphénols (µg EAG/g matière sèche)	68597±3171
Flavonoïdes (%)	17,581±0,379
Tanins (µg ETC/mg)	7819,444±77,3
Alcaloïdes (%)	0,38±0,012

Discussion

Le L'Extrait sec des feuilles de *H. floribunda* a été produit à partir de la poudre de feuilles séchées de *H. floribunda*, par une décoction réalisée selon la pharmacopée française et OUA (OUA, 1998; Ph.Eur, 2019), avec dix parties d'eau V/V pour 1 partie de drogue, puis une évaporation à sec jusqu'à obtenir une poudre sèche. La standardisation de cette préparation passe par le contrôle qualité des matières premières et le contrôle qualité du produit fini. La matière première ayant servi à la préparation de l'extrait était la poudre de feuilles séchées de *H. floribunda*. La poudre de *H. floribunda* était de couleur vert kaki habituelle pour une feuille séchée et de saveur aigre pouvant être due à la présence de tanin (Gnangoran et al., 2012). L'observation microscopique de cette poudre de feuilles séchées a révélé la présence d'éléments tissulaires et des cristaux caractéristiques permettant de la distinguer des autres espèces de plante et donc de l'identifier. Le produit fini ou extrait sec était de couleur marron brunâtre et de saveur très amère pouvant être dû à la concentration en alcaloïdes.

Les constantes physiques jouent un rôle primordial dans la caractérisation du produit fini ou extrait sec de décocté de feuilles de *H. floribunda*. Le rendement obtenu de l'extrait était de 17,70± 0,56% par rapport à la matière première. En utilisant la même matière première et les mêmes conditions de préparation, le rendement devrait être invariable. D'autres études réalisées sur des feuilles de *H. floribunda* mais avec des conditions légèrement différentes de préparation montrent des rendements légèrement différents. En recherchant l'activité antimicrobienne, Millogo a trouvé un rendement de 23,54% pour une solution du décocté des feuilles de *H. floribunda* diluée au 1/12ème et une décoction de 10mn (Millogo, 1992). L'extrait lyophilisé du macéré aqueux au 1/10ème des feuilles de *Holarrhena floribunda*, une poudre jaune, d'odeur piquante avait un rendement de 26 % (Bayala et al., 2006), tandis que le rendement du macéré à l'éthanol 70 % dilué au

1/10ème révélait un rendement de 16,45% (Hoekou et al., 2017).

Le rapport drogue-extrait est une autre manière d'exprimer le rendement. Il est de [5,4-5,8 :1] pour l'extrait. Ce rapport est fréquemment utilisé pour calculer les doses à administrer d'un extrait donné à partir de la dose prescrite pour la drogue (Morel, 2008). Ainsi, le rapport DER [5,4-5,8 :1] signifie que pour obtenir 1g d'extrait sec, il faut 5,4 à 5,8 g de poudre de feuilles séchées de feuilles. Mais aussi ce rapport signifie également que la dose de 1g d'extrait correspond à une dose 5,4 à 5,8g de drogue et produit le même effet thérapeutique. Les constantes physiques sont caractéristiques de l'extrait et leur modification est le signal d'une dégradation ou adultération de l'extrait. La teneur en cendre de l'extrait sec était de 12,34 ± 0,03%. Ce pourcentage serait plus élevé en cas d'adultération par ajout de sable par exemple. La teneur en eau des extraits était de 4,10 ± 0,00%. Cette valeur était inférieure à 5% comme l'exige la pharmacopée (OUA, 1998). Le taux d'humidité inférieur à 5% empêche la multiplication bactérienne et la prolifération des moisissures qui peuvent détériorer l'extrait. Cependant, les conditions physiques jouent un rôle secondaire dans l'identification de l'extrait car ne garantissent pas une absence de changement de la composition chimique responsable de l'activité pharmacologique de l'extrait (Ph.Eur, 2007). Aussi la détection et surtout la quantification de métabolites secondaires présents dans l'extrait sont un bon marqueur de qualité. Les métabolites détectés dans l'extrait sec aqueux de feuilles séchées de *H. floribunda* dans une étude antérieure étaient les alcaloïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les coumarines, les stérols, les saponosides, les quinones et les tanins catéchiques (Odoh et al., 2021). Des études réalisées sur le macéré aqueux, l'extrait éthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles révélaient la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de coumarines, de tanins, de stérols de polyphénols et une absence de quinones (Tamboura et al., 2004; Gnangoran et al., 2012; N'guessan et al., 2015). Les métabolites

secondaires majoritaires de l'extrait étaient les alcaloïdes totaux ($0,38 \pm 0,012\%$), les polyphénols ($68597 \pm 3171 \mu\text{g EAG /g}$ matière sèche), les flavonoïdes ($17,58 \pm 0,379 \%$), les tanins $7819,44 \pm 77,3 \mu\text{g ETC/mg}$. Les polyphénols et les flavonoïdes sont une bonne source d'antioxydants naturels pour l'homme. Les alcaloïdes sont des composés azotés qui jouent un rôle dans la protection des plantes contre les

Conclusion

Cette étude a montré que l'extrait sec du décocté des feuilles séchées de *H. floribunda* est une poudre de couleur marron, de saveur amère et s'est avérée être riche en polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et tanins. Ces différents constituants présents en abondance dans la décoction justifieraient l'utilisation de cette plante

Références

Adjanohoun E., Ake-Assi L., 1979. Contribution Au Recensement Des Plantes Médicinales de Cote d'Ivoire. Abidjan, Côte d'Ivoire: Centre National de floristique (CNF), 359p.

Arbonnier M., 2009. Arbres, Arbustes et Lianes Des Zones Sèches d'Afrique de l'Ouest. Quae, Paris, France, 574p.

Arbonnier M., 2000. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. 2ème éd. CIRAD-MNHN, 541p.

Badmus J.A., Ekpo O.E., Hussein A.A., Meyer M., Hiss D.C., 2019. Cytotoxic and Cell Cycle Arrest Properties of Two Steroidal Alkaloids Isolated from *Holarrhena Floribunda* (G. Don) T. Durand & Schinz Leaves. *BMC Complement Altern Med*, **19**: 112.

Bayala B., Hamidou H.T., Pellicer- Rubio M.T., Zongo D., Traoré A., Ouédraogo L., Malpoux B and Sawadogo L., 2006. Effets oestrogéniques du Macéré aqueux des feuilles de *Holarrhena Floribunda* (G. Don) Dur & Schinz chez la rate ovariectomisée. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, **10**(3): 173-80.

Bouquet A., Debray M., 1974. Plantes Médicinales de Côte-d'Ivoire. Editions de l'Office et de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, Paris, 232p.

Broadhurst R.B., Jones W.T., 1978. Analysis of Condensed Tannins Using Acidified Vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **29**(9), 788-94.

Debnath B., Uddin M.J., Patari P., Das M., Maiti D., Manna K., 2015. Estimation of Alkaloids and Phenolics of Five Edible Cucurbitaceous Plants and Their Antibacterial Activity. *Int J Pharm Pharm Sci*, **12**(7): 223-27.

Fotie J., Bohle D.S., Leimanis M.L., Georges E., Rukunga G., Nkengfack A.E., 2006. Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Holarrhena floribunda*. *J. Nat. Prod.*, **69**(1): 62-67.

Gnangoran B.N., N'Guessan B.B., Amoateng P., Dosso K., Yapo A.P., Ehile E.E., 2012. Hypoglycaemic Activity of Ethanolic Leaf Extract and Fractions of

agents pathogènes et sont largement utilisés comme produits pharmaceutiques. De nombreuses études ont montré le rôle des alcaloïdes des feuilles de *H. floribunda* étaient responsables de leurs effets thérapeutiques anticancéreuses, antidiabétiques, antitrypanosomiase (Nnadi et al., 2017; Ullah Jan et al., 2018; Badmus et al., 2019).

dans la médecine traditionnelle. Les résultats sur les paramètres botaniques, physicochimiques et phytochimiques de la poudre des feuilles séchées de *H. floribunda* constitue des informations préliminaires pour appréhender la qualité et l'utilisation en toute sécurité des médicaments à base de plantes.

Holarrhena Floribunda (Apocynaceae). *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, **1**(3), 46-54.

Hariri E.B., Sallé G., Andary C., 1991. Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to Mistletoe (*Viscum Album* L.). *Protoplasma*, **162**: 20-26.

Heilmer D., Vignadini P., Dini M.G., Vincieri F.F., Romani A., 2006. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae Edible Varieties. *Food Chemistry*, **99**: 464-69.

Hoekou Y.P., Tchacondo T., Karou S.D., Koudouvo K., Atakpama W., Pissang P., Gbogbo A.K., Woegan A.Y., Batawila K., Akpagana K., Gbeassor M., 2016. Ethnobotanical Study of Latex Plants in the Maritime Region of Togo. *Phcog. Res*, **8**(2): 128-134.

Hoekou Y.P., Tchadjobo T., Karou S.D., Yerbanga R.S., Achoribo E., Da O., Atakpama W., Batawila K., 2017. Therapeutic potentials of ethanolic extract of leaves of *Holarrhena Floribunda* (G. Don) Dur. and Schinz (Apocynaceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **14**(2): 227-233.

Iwu M.M., 2014. Handbook of African Medicinal Plants. CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 2nd ed., 506p.

Kerharo J., Bouquet A., 1950. Plantes médicinales et toxiques de la Côte d'Ivoire-Haute-Volta. Ministère de la Santé Publique, 301p.

Millogo H., 1992. Contribution à l'étude chimique et microbiologique de *Holarrhena Floribunda*. (G. Don) Dur. et Schinz (Apocynaceae): Étude de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes et leur évaluation toxicopharmacologique. Thèse de Doctorat de 3è cycle, spécialité: Sciences Biologiques Appliquées. Université de Ouagadougou, 117p.

Morel J.-M., 2008. Traité Pratique de Phytothérapie: Remèdes d'hier Pour Médecin de Demain. Editions Jacques Granger. 618p.

N'guessan B.B., Boua N.G., Sarkodie J.A., Dosso K., Akwo-Kretchy I., Amoateng P., Asiedu-Gyekye I., Owusu D.O., Nyarko A., Yapo A.P., 2015. Alternative to conventional diabetic management: the

- antihyperglycaemic potential of an éthyl acetate fraction extract of *Holarrhena Floribunda*. *European Journal of Medicinal Plants*, **8**(4): 175–89.
- Nnadi C.O., Nwodo N.J., Kaiser M., Brun R., Schmidt T.J., 2017.** Steroid Alkaloids from *Holarrhena Africana* with Strong Activity against *Trypanosoma Brucei* Rhodesiense. *Molecules* (Basel, Switzerland). <https://doi.org/10.3390/molecules22071129>.
- Norme internationale ISO 712, 2009.** Céréales et produits céréaliers. Détermination de la teneur en eau. Méthode de référence, 17 p.
- Norme internationale ISO 2171, 2007.** Céréales, légumineuses et produits dérivés-Dosage du taux de cendres par incinération. 4ed., 11 p.
- Nyunaí N., Njifutié N., 2011.** *Picralima nitida* (Stapf) T.Durand & H.Durand. Edited by G.H. Schmelzer and A. Gurib-Fakim. Wageningen, Netherlands: PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale).
- Odoh A.E., Kablan L.C., Tuo-Kouassi A.N., Adiko N.M., Akoubet O.A., Fofié Y., Koné-Bamba D., 2021.** Criblage phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante du décocté des feuilles de *Holarrhena floribunda* (Apocynaceae). *Afrique biomédicale*, **26**(1): 102-109.
- OUA. Organisation de l'unité africaine/commission scientifique technique et de la recherche (OUA/CSTR), 1998.** Pharmacopée africaine. Méthodes générales d'analyses. Première Ed., Lagos, Nigéria, 254p.
- Ph Eur. 2007.** Guide Pour l'élaboration Des Monographies de Drogues Végétales et Préparations à Base de Drogues Végétales. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. EDQM., 23p
- Ph Eur., 2019.** Pharmacopée Européenne (10ème Édn). Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. EDQM.
- Tamboura H.H., Bayala B., Lompo M., Guissou I.P., Sawadogo L., 2004.** Ecological distribution, morphological characteristics and acute toxicity of aqueous extracts of *Holarrhena Floribunda* (G. Don) Durand & Schinz, *Leptadenia hastata* (Pers.) Decne and *Cassia sieberiana* (DC) used by veterinary healers In. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **2**(1): 13–24.
- Ullah Jan N., Ali A., Ahmad B., Iqbal N., Adhikari A., Rehman-Inayat-U., Ali A., Ali S., Jahan A., Ali H., Ali I., Ullah A., Musharraf S.G., 2018.** Evaluation of antidiabetic potential of steroidal alkaloid of *Sarcococca saligna*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **100**: 461–66.
- Wood J.E., Senthilmohan S.T., Peskin A.V., 2002.** Antioxidant Activity of Procyanidincontaining Plant Extracts at Different PHs. *Food Chemistry*, **77**, 155–61.
- Yemoa A., Gbenou J., Affolabi D., Moudachirou M., Bigot A., Anagonou S., Portaels F., Martin A., Quetin-Leclercq J., 2015.** Beninese medicinal plants as a source of antimycobacterial agents: bioguided fractionation and in vitro activity of alkaloids isolated from *Holarrhena floribunda* used in traditional treatment of Buruli Ulcer. *Bio Med Res. Int.* Article ID 835767, 5 p. doi:10.1155/2015/835767.