

Évaluation in vitro de l'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase et étude in vivo des effets analgésiques et anti-inflammatoires de *Entada africana* (Guillet & Perr) et *Combretums nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr), deux plantes traditionnellement utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad.

MBAÏHOUGADOBE Séverin^{1,2,3,*}, NSONDE NTANDOU Gelace Fredy², NGAKEGNI-LIMBILI Adolphe Christian², BIANCA Furdui⁴, GOUOLLALY Tsiba², NKOUNKOU LOUMPANGOU Célestine², MAHMOUT Yaya³, OUAMBA Jean-Maurille².

¹ Université de Moundou, BP :206 Moundou/Tchad.

² Unité de chimie du végétale et de la vie, PER-AUF-PMTA, Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien N'gouabi, BP 69, Brazzaville, Congo.

³ Laboratoire de Recherche sur les Substances Naturelles, Faculté des Sciences Exactes et Appliquées, Université de N'djaména, BP 1027, N'djaména-Tchad.

⁴ Département de chimie, physique et environnement, Faculté des sciences et de l'environnement, Université Dunarea de Jos de Galati Roumanie. Str. Domnească nr. 111

Date de réception : 29 Octobre 2023; Date de révision : 03 Janvier 2024; Date d'acceptation : 04 Janvier 2024

Résumé:

Cette étude porte sur l'évaluation du pouvoir inhibiteur de la xanthine oxydase ainsi que sur les activités antalgiques et anti-inflammatoires de *Entada africana* (Guillet & Perr) et de *Combretums nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr). Les tests phytochimiques préliminaires réalisés ont montré que les familles de composés les plus abondants étaient les terpènes/stéroïdes, les flavonoïdes et les tanins. Les extraits des plantes utilisés ont présenté une bonne activité inhibitrice de la XO, une activité antalgique significative, en particulier à des doses plus élevées et activité anti-inflammatoire intéressante. Bien que le paracétamol, utilisé comme contrôle positif, a montré une activité antalgique encore plus puissante et le diclofénac (un médicament anti-inflammatoire) était plus efficace à certaines doses. La présence de ces composés peut avoir des implications pour les activités biologiques et les utilisations potentielles de ces plantes en médecine traditionnelle ou en phytothérapie.

Mots clés: : *Entada africana*, *Combretum nigricans*, xanthine oxydase, analgésique, anti-inflammatoire, Tchad.

In vitro evaluation of the inhibition of xanthine oxidase activity and in vivo study of the analgesic and anti-inflammatory effects of *Entada africana* (Guillet & Perr) and *Combretums nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr), two plants traditionally used in the treatment of gout in Chad.

Abstract :

This study evaluates the xanthine oxidase inhibitory power as well as the analgesic and anti-inflammatory activities of *Entada africana* (Guillet & Perr) and *Combretums nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr). Preliminary phytochemical tests showed that the most abundant families of compounds were terpenes/steroids, flavonoids and tannins. The plant extracts used showed good XO inhibitory activity, significant analgesic activity, particularly at higher doses, and interesting anti-inflammatory activity. Although paracetamol, used as a positive control, showed even more potent analgesic activity, and diclofenac (an anti-inflammatory drug) was more effective at certain doses. The presence of these compounds may have implications for the biological activities and potential uses of these plants in traditional medicine or phytotherapy.

Key_words : *Entada africana*, *Combretums nigricans*, xanthine oxidase, analgesic, anti-inflammatory, Chad.

Introduction

La nature est, et demeure une source intarissable où l'Homme puise nourriture et remèdes pour son bien-être. Ces usages varient en fonction des plantes que l'on a à sa disposition (Mangambu et al., 2012). Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé et leurs subsistances (Salhi et al., 2010).

Selon l'Organisation Mondiale de Santé, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique,

dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% des ingrédients de la médecine traditionnelle. Et selon cette organisation, 80 % de la population africaine a recours à la médecine traditionnelle pour répondre à leurs besoins en matière de soins (OMS, 2014).

Au Tchad, les populations aussi bien urbaines que rurales restent liées à la pharmacopée traditionnelle pour des raisons socio-culturelles, économiques, manque du personnel et de structures sanitaires, mais aussi par de contraintes dues à l'accessibilité des centres de santé et des médicaments pharmaceutiques

(*) Correspondance : Mbaïhougadobé S. ; e-mail : ndse vess@gmail.com; tél. : (+235) 66268094/99243994

L'accumulation excessive d'acide urique dans le corps est associée à des affections telles que la goutte et d'autres affections inflammatoires. La goutte est la plus fréquente des pathologies inflammatoires de l'homme adulte (Nuki, 2006 ; Bardin, 2007). La xanthine oxydase est une enzyme impliquée dans la production d'acide urique.

La prévalence de la goutte, le plus fréquent des rhumatismes-inflammatoires varie selon le pays. Cette prévalence est en augmentation perpétuelle. Selon une étude réalisée par Jing Zhang et coll., de 1990 à 2019, le nombre de cas de goutte chez les personnes âgées de 15 à 39 ans était de 5,21 millions (Jing et al., 2023). Cette prévalence est entre 1 à 2% dans les pays développés et inférieure à 1 % dans les pays d'Amérique latine, asiatique et africains (Eeva, 2022). Au Tchad, de 55 cas de nouveaux cas de goutte notifiés par les services de santé en 2011, l'on dénombre 1706 cas en 2017. Depuis 2017, l'on assiste à une diminution du nombre des cas de goutte. On dénombre 935 cas en 2019 et 595 cas en 2020 (MSP, 2020).

Pour soigner la goutte ou calmer la crise douloureuse due au dépôt de l'acide urique au niveau des articulations, le médecin dispose principalement des inhibiteurs tels que l'allopurinol pour bloquer l'étape finale de la synthèse de l'acide urique et de médicaments analgésiques ou d'anti-inflammatoires. Malheureusement la plupart des inhibiteurs et des anti-inflammatoires possèdent des effets secondaires indésirables. Pour pallier à ces problèmes, l'utilisation des composés isolés de plantes notamment les polyphénols et surtout les flavonoïdes avec de puissantes propriétés antioxydantes susceptibles d'inhiber la formation de radicaux libres et de s'opposer cette oxydation (Bruneton, 2009 ; Cimang et al, 2011). Des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle ont été sélectionnées après une étude ethnobotanique et décrites comme suit.

Combretums nigricans (Lepr. ex Guill. & Perr), est un petit arbre à feuilles lancéolées à écailles et

domaties sur la face inférieure ; fleurs à réceptacle en coupe, pétales très petits, blancs et ciliés ; fruit de 2 cm à 4 ailes. Savanes boisées, souvent sur cuirasse ou sol gravillonnaire. Espèce soudanienne, au Tchad, on le rencontre vers le sud-ouest. Toute la plante est utilisée pour son action purgative et diurétique. En application externe, la poudre de la racine associée à du beurre de karité a des propriétés anti-inflammatoires. L'écorce est utilisée contre les céphalées, les coliques, les troubles intestinaux, les rhumatismes et névralgies (Arbonnier, 2000 et Pierre Bonnet et al., 2008). Des composés de type terpénique ont été identifiés et isolés de cette plante (Jossang et al. 1996 ; Simon et al., 2003 ; Amadou, 2013).

Entada africana (Guillet & Perr) est un arbuste ou petit arbre de 3-6 m, feuilles à 4-9 paires de pinnules et 6-24 paires de folioles, folioles de 10 mm de large et 3 cm de long, elliptiques à oblongues. C'est une plante des savanes arbustives à boisées. Elle se trouve au sud et dans les régions du Guera et du ouaddai. (Jean et Chatelain 2019). *E. africana* est une plante à propriétés polyvalentes, dont les diverses parties servent à confectionner des médicaments pour le traitement des hépatites. Les écorces interviennent dans la préparation de remèdes contre les angines et autres affections bucco-pharyngées (Kerharo et Adam, 1974 ; Adjanohoun et al., 1981). Les flavones isolés de l'écorce de la racine ont une forte activité antioxydante mais présentent une activité inhibitrice moins forte sur la xanthine oxydase (Paola et al., 2005).

Ce travail a pour but de réaliser une étude in vitro de l'effet des extraits des écorces du tronc de *Entada africana* (Guillet & Perr) et des écorces du tronc de *Combretums nigricans* (Lepr. ex Guill. & Perr) sur l'activité catalytique de la xanthine oxydase et d'effectuer une étude in vivo des effets analgésiques et anti-inflammatoires des deux plantes traditionnellement utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad.

Matériel et Méthodes

1. Préparation des extraits

Les extraits utilisés pour réaliser cette activité ont été obtenus par ultra-son. L'appareil utilisé est du type BANDELIN SONOREX DIGITEC. Deux solvants ont servi à cette extraction, l'eau et le méthanol. Le solvant et le matériel végétal sec sont mélangés dans les proportions 1/10. Les

proportions de matériel végétal et de solvants ainsi que les conditions d'extraction sont rassemblées dans le Tableau I ci-après.

Au terme de l'extraction, les solutions obtenues sont filtrées sous vide. Les solvants sont éliminés à l'aide de l'évaporateur rotatif (ROTAVAPOR R-215 BUCHI).

Tableau I : Valeurs des grandeurs utilisées pour l'extraction aux ultra-sons.

Solvant	Volume de solvant (ml)	Masse de l'échantillon (g)	Température du bain (°C)	Temps d'extraction (min)
H ₂ O	150	15	80	30
MeOH	100	10	25	30

Quatre (4) extraits sont recueillis et les masses déterminées. Ce sont :

- Extrait aqueux des écorces du tronc de *Entada africana* noté HEA ;
- Extrait méthanolique des écorces du tronc de *Entada africana* noté MEA ;
- Extrait aqueux des écorces du tronc de *Combretums nigricans* noté HCN ;
- Extrait méthanolique des écorces du tronc de *Combretums nigricans* noté MCN.

2. Criblage chimique

L'analyse phytochimique sommaire basée sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifique à chaque classe des principes actifs a été réalisée suivant le protocole utilisé par

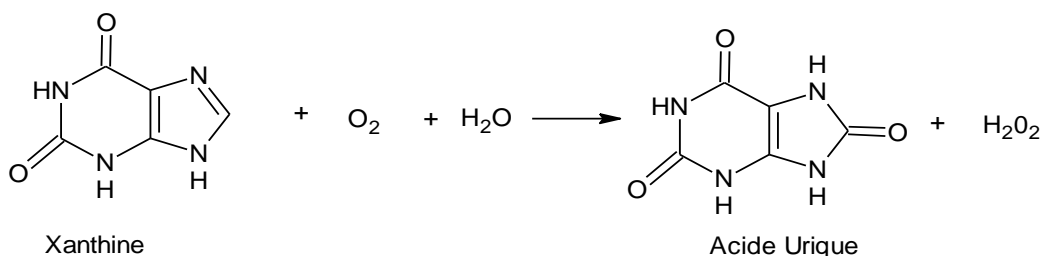
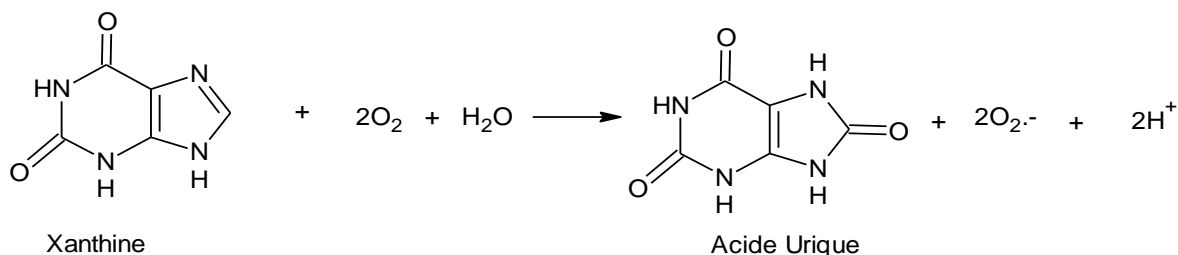
Gouollaly (2010). Tout changement de couleur ou formation de précipité est utilisé comme indicateur d'une réponse positive à ces tests.

3. Criblage biologique

3.1. Test de réduction de l'acide urique

▪ Principe

Pour réduire l'excès d'acide urique dans l'organisme, l'enzyme, la xanthine oxydase intervient en catalysant l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique. Durant cette oxydation, l'oxygène moléculaire agit comme accepteur d'électrons produisant des radicaux superoxydes et du peroxyde d'hydrogène selon les réactions suivantes (Terada *et al.*, 1990).



Par conséquent, le système xanthine/xanthine oxydase est considéré comme une source biologique importante de radicaux superoxydes.

▪ Protocole

Les réactifs utilisés pour cette étude sont préparés à différentes concentrations dans une solution tampon de pH 7,5. Pour obtenir une concentration de 0,25 unité/mL de Xanthine oxydase, 155 µL de l'enzyme (4,6 unités/0,57 mL) sont dilués jusqu'à atteindre 5000 µL. Concernant la xanthine, elle est préparée en dissolvant 2,28 mg dans 400 µL de NaOH à 0,1M, suivis de l'ajout de la solution tampon à pH 7,5. Les extraits méthanoliques et aqueux de plantes sont préparés à une concentration de 1 mg/mL dans du DMSO à 1%, puis sont dilués avec la solution tampon. L'allopurinol est également préparé à une concentration similaire à celle des extraits de

plantes dans la solution tampon. Les solutions mères à une concentration de 1 mg/mL sont utilisées comme base pour les dilutions à différentes concentrations. Les extraits des plantes à 1 mg/mL ont été dilués pour obtenir des concentrations de 50, 100 et 200 µg/mL, tandis que l'allopurinol a été dilué pour atteindre des concentrations de 30 et 50 µg/mL. Ainsi pour chaque plante, on aura six (6) solutions (trois (3) pour les extraits aqueux et trois (3) pour les extraits méthanoliques et deux (2) solutions pour l'allopurinol notée ALL1 et ALL2.

Le mélange réactionnel de volume total 250 µL comprend l'extrait végétal (aux concentrations de 50, 100 et 200 µg/mL) ou de l'allopurinol (aux concentrations de 30 et 50 µg/mL), la solution de tampon phosphatée pH = 7,5 et la solution de la

xanthine oxydase. Les différents volumes de réactifs utilisés sont consignés dans le Tableau II.

Tableau II : volumes (µL) et concentrations (µg/mL) des réactifs utilisés.

Nom échantillons et sa concentration	Volumes de réactifs (µL)				
	Extrait végétale (Ci= 1mg/mL)	Xanthine oxydase (Ci= 0,25 unité/mL)	Allopurinol (Ci=1mg/mL)	Tampon pH 7.5	Xanthine (Ci=0.6mM)
Extrait aqueux ou MeOH (Concentration finale 200 µg/mL)	50	25	-	50	125
Extrait aqueux ou MeOH (Concentration finale 100 µg/mL)	25	25	-	75	125
Extrait aqueux ou MeOH (Concentration finale 50 µg/mL)	12.5	25	-	87.5	125
ALL1 (allopurinol 50 µg/mL)	-	25	7.5	92,5	125
ALL2 (allopurinol 30 µg/mL)	-	25	12.5	87,5	125
Négatif contrôle	-	25	-	100	125

Après une incubation à la température de 25°C pendant 3 minutes, du mélange réactionnel, la réaction est déclenchée par l'ajout au mélange de la solution de xanthine. L'activité inhibitrice de la XO a été évaluée par la mesure de l'absorbance à 295 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Kong et al., 2000 ; Sahgal et al., 2009 ; Karmella et al., 2011 ; Thiombiano et al., 2014).

La lecture de l'absorbance à 295 nm à l'aide d'un spectrophotomètre toutes les 30 s pendant 3 min. contre le blanc qui ne contient pas la solution d'enzyme. Le pourcentage de l'activité inhibitrice de la XO est déterminé à partir de la courbe d'absorbance en fonction du temps (s).

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'activité de la xanthine oxydase des extraits de plantes à différentes concentrations à différents solvants et de l'allopurinol est calculé suivant l'équation :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{V_{O_{\text{contrôle}}} - V_{O_{\text{échantillons}}}}{V_{O_{\text{contrôle}}}} \times 100$$

$V_{O_{\text{contrôle}}}$: activité de la XO sans les extraits et/ou l'allopurinol,

$V_{O_{\text{échantillons}}}$: activité de la XO en présence des échantillons et/ou l'allopurinol.

Plus le pourcentage d'inhibition est élevé, plus le composé est efficace pour inhiber l'enzyme.

3.2. Tests biologiques in vivo

Les tests in vivo visent à évaluer les effets des extraits et composés de références sur des modèles animaux pour simuler les conditions physiologiques et pathologiques chez les humains. Les tests des propriétés analgésique et anti-inflammatoire des extraits ont été réalisés.

- Propriété analgésique

L'activité antalgique est évaluée en utilisant le test dit de « KOSTER » avec une légère modification (Nsonde et al., 2010)

▪ Principe

Le test consiste à vérifier l'action inhibitrice des extraits, comparée à celle du paracétamol, sur la douleur provoquée chez les souris par l'injection intra-péritonéale (I.P) d'une solution diluée d'acide acétique 0,6%. L'injection de l'acide acétique provoque chez la souris une douleur aiguë qui se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et une torsion de la musculature dorso-abdominale. La paroi abdominale est parcourue de contractures : c'est le "writhing test".

▪ Protocole

Les souris sont réparties en lots homogènes de 5. Le premier lot considéré comme témoin reçoit de l'eau distillée à la dose de 0,5 mL/100g et un deuxième lot reçoit un antalgique, le paracétamol à la dose de 100 mg/kg de poids vif. Les trois autres lots reçoivent les extraits aqueux des plantes par voie orale aux doses de 200, 400 et 800 mg/kg. Trente (30) min après l'administration des extraits, on injecte (10mL/kg) aux souris de l'acide acétique à 0,6% par voie intra péritonéale. Pour chaque souris, le nombre de crampes juste après l'injection est comptée durant quinze (15) min.

L'activité antalgique est exprimée en pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité par les diverses doses des extraits, du paracétamol et de l'eau.

Le pourcentage d'inhibition de la douleur est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{M_{\text{témoins}} - M_{\text{groupe traité}}}{M_{\text{témoins}}} \times 100$$

Où, *M* représente le nombre de crampus.

- Propriétés anti-inflammatoires

▪ **Principe**

Le principe consiste à vérifier que les substances potentiellement anti-inflammatoires ont effectivement le pouvoir de réduire ou de supprimer l'inflammation produite par l'injection d'un agent phobogène sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du rat. Chacun de ces agents phobogènes aurait pour avantage de mettre en jeu de façon préférentielle un des mécanismes causals de l'œdème.

Pour ce travail, l'inflammation est induite par la carragénine. L'injection de 0,05ml de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du rat entraîne l'apparition d'un œdème de la région métatarsienne marquée par une augmentation du volume de la patte. L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème (Winter *et al.*, 1963).

▪ **Protocole**

Les rats sont répartis en lots non homogènes de 4. Le premier lot témoin, reçoit de l'eau distillée à la dose de 0,5 mL/100 g de poids vif. Le deuxième lot reçoit un anti-inflammatoire, du Voltarène, à la

dose de 5 mg de matière active (diclofénac) par kg de poids vif. Les deux autres reçoivent les extraits aqueux des plantes à la dose de 200 et 400mg/kg. Les produits sont administrés par voie orale. Le volume de l'œdème est mesuré à l'aide d'un plétysmomètre UGO BASIL 71.40 aux intervalles de temps de trente (30) min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h et 24h après l'injection de carragénine (Nsonde *et al.*, 2010). Le volume de l'œdème est déterminé en calculant la différence du volume de la patte au temps *t* (*v_t*) par rapport au volume initial (*v₀*):

$$V = V_t - V_0$$

Où, *V_t* est le volume de la patte à l'instant *t* ;
V₀ est le volume de la patte avant l'injection.

L'activité anti-inflammatoire est évaluée en comparant les volumes de l'œdème des groupes traités à celui du témoin à un temps *t*. Les traitements ayant montré une différence significative ont été considérés comme actifs à cet instant.

4. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne (*M*) dans chaque groupe ± déviation standard (ENS) et traités avec les logiciels Origin Pro 9 et Microsoft Excel 2013. Le test *t* de Student est appliqué, le seuil de signification étant fixé à 0,05.

Résultats et Discussion

1. Extraction aux ultra-sons

Les masses, les rendements, les couleurs ainsi que les aspects des extraits sont rassemblés dans le Tableau IV et le graphique suivant.

Les rendements obtenus montrent que sur les deux plantes, l'extraction du dépend du solvant et du matériel végétal.

Tableau III : Masses, rendements et aspect des résidus de l'extraction aux ultra-sons

Matériel végétal	Solvant d'extraction	Masse de résidu (g)	Rendement (%)	Couleur	Aspect
CN	H ₂ O	2,076	13,84	marron	solide
	MeOH	0,933	9,33	rouge	solide
EA	H ₂ O	0,438	2,92	rouge	solide
	MeOH	0,261	2,61	rouge	solide

2. Identification des grandes familles chimiques par screening chimique

Les résultats du screening chimique réalisé sur les divers organes de plantes sont reportés dans le Tableau III.

Ce travail a consisté à mettre en évidence sept (7) familles chimiques. Ce sont : les alcaloïdes, les composés réducteurs, les flavonoïdes, les quinones, les saponosides, les tanins et les triterpènes/stéroïdes.

Tableau IV: Criblage phytochimique de l'écorce de tronc de *C. nigricans* et *E. africana*

Matériel végétal	Groupes chimiques				
	Terpènes/stéroïls	Fl av	Tanins	U o	Alcaloïdes

Plantes	Organes	Libermann	Salkowski		Galliques	Catéchiques		Mayer	Dragendorff	Wagner		
CN	ET	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
E.A	ET	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-

Légende : Précipité ou coloration : réaction + ; pas de réaction : -. CN : *Combretum nigricans*, EA : *Entada africana*,

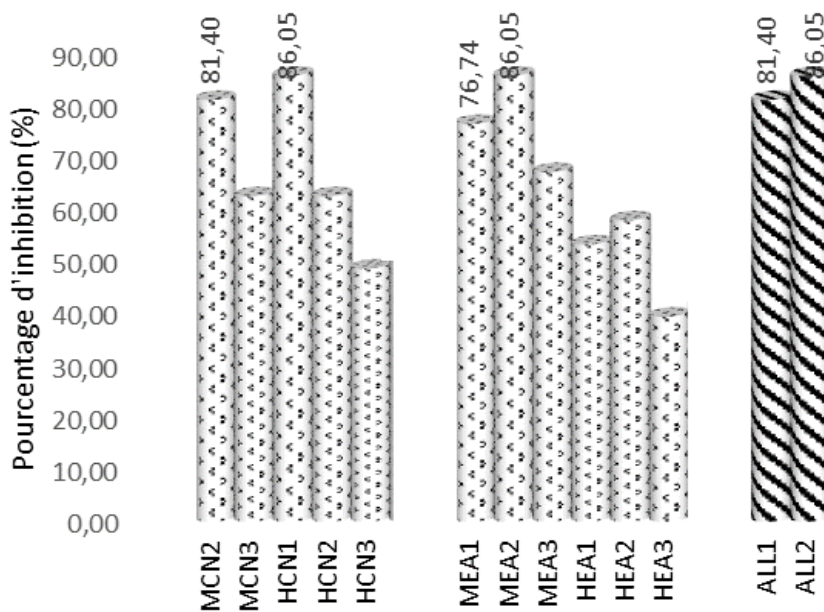
Les résultats indiquent que les deux plantes, CN et E.A, contiennent une variété de composés chimiques, y compris des terpènes/stérols, flavonoïdes, tanins, composés réducteurs, saponosides et quinones. Il ressort du tableau que les familles de composés les abondants sont : les terpènes/stérol, les flavonoïdes, les tannins. Les résultats des tests de mise en évidence des quinones et des composés réducteurs se sont avérés négatifs avec les extraits des autres plantes. Mbailougadobe et al. (2017) ont confirmé par chromatographie sur Couche Mince la présence des polyphénols, flavonoïdes (Mbailougadobé, et

al. 2017). La présence de ces composés peut avoir des implications pour les activités biologiques et les utilisations potentielles de ces plantes en médecine traditionnelle ou en phytothérapie.

3. Criblage biologique

3.1. Activité réductrice de l'acide urique

Le pourcentage d'inhibition de la XO est déterminé à partir de la courbe d'absorbance en fonction du temps (s). Les résultats de cette activité sont représentés à la figure 1, donnant le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de chaque extrait de plantes.



Echantillons des plantes et de l'allopurinol à différentes concentrations

Figure 1 : Inhibition de la xanthine.

- MEA1, (extrait au méthanol, de *C. nigricans*, de *E. africana*, à la concentration de 200 µg/mL),
- MCN2, MEA2, (extrait au méthanol de *C. nigricans*, de *E. africana*, à la concentration de 100 µg/mL),
- MCN3, MEA3, (extrait au méthanol de *C. nigricans*, de *E. africana* à la concentration de 50 µg/mL),
- HCN1, HEA1, (extrait aqueux de *C. nigricans*, de *E. africana* à la concentration de 200 µg/mL),
- HCN2, HEA2 (extrait aqueux de *C. nigricans*, de *E. africana* à la concentration de 100 µg/mL),
- HCN3, HEA3 (extrait aqueux de *C. nigricans*, de *E. africana* à la concentration de 50 µg/mL).
- ALL1 : allopurinol de concentration 30 µg/mL,
- ALL2 : allopurinol de concentration 50 µg/mL.

Ces résultats montrent l'efficacité des extraits de *C. nigricans*, *E. africana* et de l'allopurinol dans l'inhibition de l'enzyme xanthine oxydase, un mécanisme important pour réduire la production

d'acide urique. Tous les extraits ont une inhibition de plus de 40%. Pour les deux plantes, l'extrait au méthanol inhibe plus la XO. Cette inhibition est aussi fonction de la concentration. La plus forte

valeur étant celle de l'extrait méthanolique de *E. africana* à la concentration de 100 µg/mL, de l'extrait aqueux de *C. nigricans* (200 µg/mL). Deux autres extraits ont des pourcentages proches de celle de l'allopurinol : ce sont les échantillons MCN2 (81,40%), MEA1 (76, 74%). L'allopurinol, qui est un médicament couramment utilisé pour traiter la goutte en inhibant la xanthine oxydase, montre une forte activité inhibitrice avec des pourcentages d'inhibition de 86,06 % à 50 µg/mL et 81,40 % à 30 µg/mL.

Ces résultats indiquent que les extraits de *C. nigricans*, *E. africana*, et l'allopurinol présentent une forte activité inhibitrice de la xanthine oxydase. Cela suggère un potentiel pour ces extraits de plantes dans le traitement de conditions liées à l'accumulation d'acide urique, telles que la goutte. Ce qui s'expliquerait par la présence des métabolites des plantes. Les études antérieures ont montré que les flavonoïdes, les tanins aussi bien que les coumarines sont de bons inhibiteurs de la XO (Hatano et al., 1990 ; Chang et al., 1993 ; Chang and Chiang, 1995). Les flavonoïdes lutéoléines et apigénines inhibent

efficacement la XO (Noro et al., 1983 ; Cos et al., 1998). Ces familles de métabolites secondaires sont mises en évidence dans les extraits de plantes par des réactions colorimétriques dans ce travail et par CCM (Mbailougadobé et al., 2017).

Sur la base de ces résultats, nous concluons que l'utilisation de ces plantes dans le traitement de la goutte au Tchad est appropriée. Néanmoins, il convient de réaliser les études cliniques pour certifier les effets.

3.2. Tests biologiques in vivo

La douleur et l'inflammation sont deux maux qui accompagnent les crises de goutte. Afin de vérifier les effets inhibiteurs de divers extraits des espèces étudiées, les activités antalgiques et anti-inflammatoires ont été testées sur les souris et les rats.

- Propriété analgésique

Les contractions abdominales (crampes) induites par l'injection d'acide acétique ont été utilisées pour évaluer l'effet analgésique des extraits. Les résultats de ce criblage pharmacologique ainsi que le pourcentage d'inhibition des contractions sont donnés dans le tableau V.

Tableau V : nombres de crampes et le pourcentage d'inhibition de l'activité analgésique

	Dose (mg/kg)	Nombre de crampes	% d'inhibition
Eau	0,5ml/100g	32,8±1,2	/
<i>C. nigricans</i>	200	16,2±5,13 (ns)	53,45
	400	6,2±3,023***	82,18
	800	4±1,76***	79,88
<i>E. africana</i>	200	9,6±3,55**	72,41
	400	4,4±2,4***	87,35
	800	11,2±4,84**	67,81
Paracétamol	100	1±0,77***	97,13

Les résultats montrent que les plantes *C. nigricans* et *E. africana* présentent une activité analgésique significative, surtout à des doses plus élevées (400 mg/kg et 800 mg/kg) ($P < 0,001$). A la dose de 400 mg/kg, les pourcentages d'inhibition sont respectivement de 82,18 pour *C. nigricans*, et 87,35 pour *E. africana* (tableau IX). L'extrait de *E. africana* montre déjà une activité significative à la dose de 200 mg/kg à $P < 0,01$. L'inhibition de la douleur, mesurée en pourcentage, est également notable pour ces deux plantes, dépassant même les 80 % d'inhibition à la dose de 400 mg/kg. Ces plantes montrent un potentiel analgésique intéressant. Par rapport au groupe de contrôle (eau), le paracétamol à la dose de 100 mg/kg a une activité analgésique encore plus puissante, avec une inhibition de la douleur de 97,13 %.

La douleur provoquée par l'injection de l'acide acétique est due à la libération de sérotonine,

d'histamine, de bradykinine et des prostaglandines. Ces médiateurs chimiques stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Frederico et al., 2009 ; Rajahamsa et al., 2013 ; Ouédraogo et al., 2017).

Les plantes *C. nigricans* et *E. africana* montrent un potentiel prometteur en tant qu'agents analgésiques, bien que le paracétamol reste l'agent analgésique le plus puissant dans cette étude.

- Propriétés anti-inflammatoires

Les résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux des plantes sont présentés dans le Tableau VI montrant l'évolution de l'œdème en fonction du temps.

Les résultats montrent que le volume de l'œdème pour tous les lots reste important dans les cinq premières heures après l'injection de carragénine.

Ce volume est moins élevé chez le lot traité au diclofénac.

Pour *C. nigricans*, le volume de l'œdème a diminué à partir de la quatrième heure mais pas de manière significative ($P < 0,05$). A partir de la 4^{ème} heure, presque tous les extraits administrés par voie intragastrique réduisent l'œdème. Les différences par rapport au lot témoin sont significatives : pour *C. nigricans*, *E. africana* et le diclofénac à $P < 0,01$. Dans l'ensemble, les résultats indiquent que tant *C. nigricans* que *E. africana* ont une activité anti-inflammatoire intéressante, bien que le diclofénac soit plus efficace à certaines doses. Cela suggère que ces plantes pourraient avoir un potentiel dans le traitement des affections inflammatoires. L'effet est plus prononcé à la 6^{ème} heure, avec des diminutions notables du volume d'œdème. On observe les mêmes effets après 24h. L'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques provoquant une inflammation qui constitue un processus de défense de l'organisme évoluant parfois en maladie. Cette réponse inflammatoire s'opère en trois phases : la première à environ une heure, est due à la libération de l'histamine. La sérotonine est libérée au cours de la deuxième phase (1,5 à 3 heures) et la bradykinine est libérée à la troisième phase. Au-delà de la troisième heure, la biosynthèse des prostaglandines intervient (Reanmongkol et al., 2009 ; Rajahamsa et al., 2013 ; Ouédraogo et al., 2017). Les extraits des plantes sélectionnées réduisent de manière significative le volume des œdèmes à partir de la quatrième heure suivant l'injection de la carragénine. Ces résultats révèlent que ces extraits agiraient sur les trois phases de l'inflammation ; ce qui dénote qu'ils interfèreraient aussi bien avec le système histamine/sérotonine, le système bradykinine qu'avec le système des prostaglandines.

Des travaux antérieurs ont montré l'activité antalgique, anti-inflammatoire et anti-oxydante de certaines de ces plantes. Ces résultats fournissent donc la raison pour laquelle ces plantes sont utilisées dans le traitement de la goutte.

L'extrait méthanolique des feuilles de *E. africana* a montré une bonne activité oxydante dans le test

DPPH avec une CI50 de $0,47 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ et contient une teneur en composés phénoliques de $34,67 \pm 1,10 \text{ mg GAE/g}$ (Simplice et al., 2011). Ce même extrait à la dose de 200 mg/kg de poids corporel de l'animal a montré une inhibition significative ($p < 0,01, 0,05$) de l'inflammation et a réduit le nombre de crampes abdominales induit par l'acide acétique (58.62%–65.51%) aussi efficacement que le diclofénac (Ifeoma et al., 2014). La présence des métabolites secondaires mis en évidence dans les extraits de plantes peut expliquer les résultats obtenus lors des études biologiques conduites aussi bien in vitro que in vivo.

Toutes les plantes étudiées contiennent des saponosides, vaste groupe d'hétérosides reconnu pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-œdémateuse et antalgique. Les triterpènes montrent ces mêmes effets (Bruneton, 2009). Quant aux coumarines, elles ont le pouvoir de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Leur activité antioxydante est similaire à celle signalée pour les flavonoïdes (Anderson et al., 1996). L'activité antalgique périphérique des coumarines a aussi été démontrée (Tolo, 2002).

Les flavonoïdes constituent une classe de composés largement répandue dans le règne végétal. Les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont largement étudiées ainsi que leur activité inhibitrice de la xanthine oxydase. Ils ont une action inhibitrice très efficace sur un grand nombre de molécules oxydantes et divers radicaux libres impliqués dans le développement de nombreuses maladies.

Les flavonoïdes présentent un large spectre d'activités, parmi lesquelles des effets anti-inflammatoires et anti-oxydants (Middleton et al., 2000 ; Kim et al., 2004 ; Cushine et Lamb, 2005 ; Bruneton 2009). Le potentiel anti-inflammatoire et antioxydant dépend également du profil d'hydroxylation des cycles A et B. Diverses études ont montré que l'activité antioxydante et l'inhibition de la xanthine oxydase sont liées. Une relation entre la structure du flavonoïde et son activité sur la XO d'une part et les radicaux libres d'autre part a aussi été montrée dans ces études.

Tableau VI : Evolution de l'œdème de la patte ($m \pm \text{SEM}$) chez les différents lots de rats en présence d'un prétraitement anti-inflammatoire.

Volume	
24	
1,590±0,80	
0,087±0,079**	
0,193±0,108**	
0,283±0,195**	
0,325±0,213**	
0,263±0,197**	

Produits	Dose	0,5	1	2	3	4	5	6
Eau	0,5 mL/Kg	0,315±0,36	0,828±1,07	0,995±1,03	1,437±0,80	1,723±0,63	2,085±0,54	2,01±0,43
Diclofénac	5	0,575±0,328	0,752±0,361	0,737±0,360	0,747±0,457	0,787±0,568*	0,817±0,644*	0,667±0,544**
<i>C. nigricans</i>	200	0,530±0,363	0,925±0,489	0,748±0,528	0,968±0,347	0,943±0,466*	1,043±0,755*	0,575±0,386**
	400	0,430±0,147	0,615±0,097	0,945±0,533	0,998±0,626	1,268±1,060	0,943±0,616*	0,680±0,498**
<i>E. africana</i>	200	0,455±0,388	0,543±0,472	0,993±0,632	1,365±1,162	1,298±1,135	0,960±0,920*	0,638±0,509**
	400	0,515±0,438	0,670±0,393	0,755±0,327	0,968±0,291	1,003±0,344*	1,113±0,621*	0,778±0,435**

Les groupes hydroxyyles en C-5 et C-7 ainsi que la double liaison C2=C3 sont importants (Hanasaki *et al.*, 1994 ; Bravo, 1998 ; Cos, *et al.*, 1998 ; Paola *et al.*, 2005). Les résultats montrent que le volume de l'œdème pour tous les lots reste important dans les cinq premières heures après l'injection de carragénine. Ce volume est moins élevé chez le lot traité au diclofénac. Pour *C. nigricans*, le volume de l'œdème a diminué à partir de la quatrième heure mais pas de manière significative (P < 0,05).

A partir de la 4ème heure, presque tous les extraits administrés par voie intragastrique réduisent l'œdème. Les différences par rapport au lot témoin sont significatives : pour *C. nigricans*, *E. africana* et le diclofénac à P < 0,01. Dans l'ensemble, les résultats indiquent que tant *C. nigricans* que *E. africana* ont une activité anti-inflammatoire intéressante, bien que le diclofénac soit plus efficace à certaines doses. Cela suggère que ces plantes pourraient avoir un potentiel dans le traitement des affections inflammatoires. L'effet est plus prononcé à la 6e heure, avec des diminutions notables du volume d'œdème. On observe les mêmes effets après 24h.

L'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques provoquant une inflammation qui constitue un processus de défense de l'organisme évoluant parfois en maladie. Cette réponse inflammatoire s'opère en trois phases : la première à environ une heure, est due à la libération de l'histamine. La sérotonine est libérée au cours de la deuxième phase (1,5 à 3 heures) et la bradykinine est libérée à la troisième phase. Au-delà de la troisième heure, la biosynthèse des prostaglandines intervient (Reanmongkol *et al.*, 2009 ; Rajahamsa *et al.*, 2013 ; Ouédraogo *et al.*, 2017). Les extraits des plantes sélectionnées réduisent de manière significative le volume des œdèmes à partir de la quatrième heure suivant l'injection de la carragénine. Ces résultats révèlent que ces extraits agiraient sur les trois phases de l'inflammation ; ce qui dénote qu'ils interféreraient aussi bien avec le système histamine/sérotonine, le système bradykinine qu'avec le système des prostaglandines.

Des travaux antérieurs ont montré l'activité antalgique, anti-inflammatoire et anti-oxydante de certaines de ces plantes. Ces résultats fournissent donc la raison pour laquelle ces plantes sont utilisées dans le traitement de la goutte.

L'extrait méthanolique des feuilles de *E. africana* a montré une bonne activité oxydante dans le test DPPH avec une CI50 de 0,47± 0.01 µg/mL et contient une teneur en composés phénoliques de 34.67 ± 1.10 mg GAE/g (Simplice *et al.*, 2011). Ce même extrait à la dose de 200 mg/kg de poids corporel de l'animal a montré une inhibition significative (p<0.01, 0.05) de l'inflammation et a réduit le nombre de crampes abdominales induit par l'acide acétique (58.62%–65.51%) aussi efficacement que le diclofénac (Ifeoma *et al.*, 2014). La présence des métabolites secondaires mis en évidence dans les extraits de plantes peut expliquer les résultats obtenus lors des études

biologiques conduites aussi bien in vitro que in vivo.

Toutes les plantes étudiées contiennent des saponosides, vaste groupe d'hétérosides reconnu pour leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-œdémateuse et antalgique. Les triterpènes montrent ces mêmes effets (Bruneton, 2009). Quant aux coumarines, elles ont le pouvoir de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Leur activité antioxydante est similaire à celle signalée pour les flavonoïdes (Anderson *et al.*, 1996). L'activité antalgique périphérique des coumarines a aussi été démontrée (Tolo, 2002).

Les flavonoïdes constituent une classe de composés largement répandue dans le règne végétal. Les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont largement étudiées ainsi que leur activité inhibitrice de la xanthine oxydase. Ils ont une action inhibitrice très efficace sur un grand

Conclusion

Les résultats de cette étude mettent en évidence des composés chimiques intéressants dans les extraits de *C. nigricans* (CN) et *E. africana* (EA), y compris des terpènes/stéroïdes, des flavonoïdes, des tanins, des composés réducteurs, des saponosides et des quinones. Ces composés ont montré des activités inhibitrices significatives de l'enzyme xanthine oxydase, suggérant un potentiel pour ces extraits de plantes dans le traitement de la goutte. De plus, des tests in vivo ont révélé des activités analgésiques et anti-inflammatoires prometteuses pour CN et EA, bien que le paracétamol reste l'agent analgésique le plus puissant dans cette étude. Les extraits de plantes ont montré une capacité à réduire l'œdème dans un modèle animal d'inflammation, indiquant qu'ils pourraient interférer avec les

Références

Adjanohoun, E.J., Ahyi, M.R.A., Aké Assi, L., Dan Dicko, L., Daouda, H., Delmas, M., de Souza, S., Garba, M., Guinko, S., Kayonga, A., N'Golo, D., Raynal, J. & Saadou, M., 1985. Médecine traditionnelle et pharmacopée - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France. 250 p.

Anderson C.M., Halleberg A., et Hogberg T., 1996. Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 28 : 65-180.

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

Bardin T., 2007. Epidémiologie de la goutte. *Revue du Rhumatisme*, 74 : 147-149.

nombre de molécules oxydantes et divers radicaux libres impliqués dans le développement de nombreuses maladies. Les flavonoïdes présentent un large spectre d'activités, parmi lesquelles des effets anti-inflammatoires et anti-oxydants (Middleton *et al.*, 2000 ; Kim *et al.*, 2004 ; Cushine et Lamb, 2005 ; Bruneton 2009).

Le potentiel anti-inflammatoire et antioxydant dépend également du profil d'hydroxylation des cycles A et B. Diverses études ont montré que l'activité antioxydante et l'inhibition de la xanthine oxydase sont liées. Une relation entre la structure du flavonoïde et son activité sur la XO d'une part et les radicaux libres d'autre part a aussi été montrée dans ces études. Les groupes hydroxyles en C-5 et C-7 ainsi que la double liaison C2=C3 sont importants (Hanasaki *et al.*, 1994 ; Bravo, 1998 ; Cos, *et al.*, 1998 ; Paola *et al.*, 2005).

mécanismes inflammatoires liés à la libération de médiateurs chimiques.

Ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle de ces plantes dans le traitement de la goutte et suggèrent qu'elles pourraient être une source précieuse de composés anti-goutteux. Dans l'ensemble, ces résultats offrent des perspectives encourageantes pour le développement de traitements potentiels de la goutte à partir de ces plantes médicinales, mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces bénéfices et comprendre les mécanismes sous-jacents.

Remerciements

Projet d'Appui à l'Enseignement Supérieur au Tchad et Agence Universitaire de la Francophonie (Bourse Eugen Ionescu).

Bravo L., 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56 : 317-333.

Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème Ed revue et augmentée. Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1269 p.

Chang W.S., Chiang H.C., 1995. Structure activity of coumarins in xanthine oxidase inhibition. *Anticancer Research* 15, 1969-1974.

Chang W.S., Lee Y.J., Lu F.J., Chiang H.C., 1993. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticancer Research*, 13: 2165-2170.

Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van-Poel B., Pieters L., Vlietinck A.J., Vanden Berghe D., 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine

- oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61: 71-76.
- Cushine T.P.T. and Lamb A.J., 2005.** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.
- Eeva M.C., 2022.** Évaluation de la prise en charge et des connaissances de la goutte chez des patients polynésiens, à travers l'exemple d'une pharmacie de faa'a. Thèse de Pharmacie, Université de Bordeaux. 102p.
- Gouollaly T., 2010.** Etude phytochimique et évaluation des activités antifongiques, anticancéreuses et antioxydantes des extraits de *lippia multiflora* moldenke domestique. Thèse de Doctorat, Université Marien Ngouabi. 223 p.
- Hanasaki Y., Ogawa S., Fukui S., 1994.** The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids *Free Radical Biology and Medicine* : 845-850.
- Hatano T., Yasuhara T., Yoshihara R., Agata I., Noro T., Okuda T., 1990.** Effects of interaction of tannins with coexisting substances. Inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38: 1224-1229.
- Ifeoma C.E., Lalasoanirina R., Salawu A.O., Martins E., 2013.** Analgesic, anti-inflammatory, and heme biomineralization inhibitory properties of *Entada africana* ethanol leaf extract with antiplasmodial activity against *Plasmodium falciparum*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25(2): 217-223.
- Jean C., et Cyrille C., 2019.** Flore illustrée du Tchad. Édité par Conservatoire et Jardin botanique de la Ville de Genève, Coopération Suisse au Tchad et Université de N'Djaména et la Coopération Suisse. Genève. ISBN : 978-2-8277-0212-1. 774P.
- Jossang A., Seuleiman M., Maidou E., Bodo B., 1996.** Pentacyclic triterpenes from *Combretum nigricans*. *Phytochemistry*, 41(2), 591-594.
- Zhang J., Jin C., Ma B., Sun H., Chen Y., Zhong Y., Han C., Liu T., Li Y., 2023.** Global, regional and national burdens of gout in the young population from 1990 to 2019: a population-based study. *RMD Open*; 9:e003025. doi:10.1136/rmdopen-2023-003025.
- Karmella L. A. and Christine L., C.o-H., 2011.** Xanthine oxidase inhibition of selected Philippine medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(2): 289-292.
- Kerarho J., Adam J.G., 1974.** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Paris, Vigot frères Ed. 138 p.
- Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., Kong S.S., 2004.** Antiinflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96: 229-254.
- Kong L.D., Cai Y., Huang W.W., Cheng C.H.K., Tan R.X., 2020.** Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 73 (1-2): 199-207. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00305-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00305-6).
- Mangambu M.J.D., Diggelen R.V., Mwangi J.C., Ntahoba Y.H., Malaisse F., Robbrecht T.E., 2012.** Étude ethnobotanique, évaluation des risques d'extinction et stratégies de conservation aux alentours du Parc National de Kaluzi Biega (RD Congo). *Revue internationale de géologie, de géographie et d'écologie tropicales*, 36 : 137-158.
- Mbaïhougadobé S., Ngakegni-Limbili A.C., Gouollaly T., Koane J.N., Ngaïssona P., Nkounkou Loumpangou C, Mahmoud Y., Ouamba J-M., 2017.** Evaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad». *Revue CAMES Série Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines*, 18(2) : 28-35.
- Middleton E. J.R0, Kandaswami C. and Heoradies T.C.; 2000,** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52 : 673-751.
- Ministère de la Santé Publique-Tchad, 2022.** Annuaire des statistiques sanitaires, Tome A, 34ème édition, année 2020.
- Noro T., Oda Y., Miyase T., Ueno A., Fukushima S., 1983.** Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31: 3984-3987.
- Nsonde N. G.F., Banzouzi J.T Mbatchia B., Elion-Itoua R.D.G., Etou-Ossibia A.W., Ramosd S., Benoit-Vicale F., Abenaa A.A., Ouamba. J.M., 2010.** Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cassia siamea* Lam. Stem bark extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 127: 108-111.
- Nuki G., 2006.** Gout. *Medicine*, 34(10) : 417- 423.
- Organisation Mondiale de la Santé, 2014.** Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. 76p.
- Ouédraogo N, M.L., Sawadogo RW., A. Tibiri A., Hay A.-E., Koudou J., Dijoux M.-G., Guissou I.P., 2017.** Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*, 10: 286-292. <https://doi.org/10.1007/s10298-012-0732-z>.
- Paola M., Alessandra B., Cosimo P., Nunziatina De T., 2005.** Structure_antioxydant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chemistry*, 92 : 349-355.
- Pierre B., Michel A., Pierre G., 2008.** Ligneux du Sahel. Outil graphique d'identification V.1.0. Quae, Centre Technique de coopération agricole et rurale.
- Rajahamsa L.A.K., Deepak K.S., Kesava R.T.K.V., Pranav K.A.V.R., Sreenivas R.G.R. and Potbhare M.S., 2013.** Multi-model confirmatory evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Putranjiva varoxburghii* wall. *IJBAR*, 04(12) : 921-932.
- Reanmongkol W., Noppapan T., Subhadhirasakul S., 2009.** Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *Journal of Natural Medicines*, 63(3): 290-296.
- Sahgal G., Ramanathan S., Sasidharan S., Mordi M.N., Ismail S., Mansor S.M., 2009.** In Vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules* 6, 14(11): 4476-85. doi: 10.3390/molecules14114476.
- Salhi S., Fadli M., Zidane L. & Douira A., 2010.** Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales

de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31: 133-146. doi:10.5209/rev_LAZA.2010.v31.9.

Simon G., Dewelle J., Nacoulma O., Guissou P., Kiss R., Daloze D., Braekman J.C., 2003. Cytotoxic pentacyclic triterpenes from *Combretum nigricans*. *Fitoterapia*, 74(4): 339-44. doi: 10.1016/s0367-326x(03)00046-7.

Karou S.D., Tchacondo T., Ouattara L., Anani K., Savadogo A., Agbonon A., Attaia M.B., De Souza C., Sakly M., Simpore J., 2011. Antimicrobial, antiplasmodial, haemolytic and antioxidant activities of crude extracts from three selected Togolese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(10): 808-813. Doi : 10.1016/S1995-7645(11)60199-5.

Terada L.S., Leff J.A. et Repine J.E., 1990. Measurement of xanthine oxidase in biological tissues. *Méthodes in Enzymology*, 186: 651-656.

Thiombiano A.M.E., Adama H., Jean B.M., Bayala B., Nabère O., Samson G., Roland M.N.T., Moussa C., Martin K., Millogo F., Nacoulma O.G., 2014. In vitro antioxidant, lipoxygenase and xanthine oxidase inhibitory activity of fractions and macerate from *Pandiaka angustifolia* (Vahl) Hepper. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(01): 009-013.

Tolo A.D., 2002. Etude des activités biologiques et de la toxicité des écorces de racine de *Securidaca longepedunculata* Fres (Polygalaceae). Thèse Pharmacie, Bamako, 110 p.

Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W., 1963. Carragenine-induced edema in ind-paw of rat as an assay for anti-inflammatory drug. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 141: 369-373.