



ETUDES PHYTOCHIMIQUES DES FEUILLES DE *RYTIGYNIA CANTHIOIDES* (BENTH.) ROBYNS (RUBIACEAE), UNE PLANTE MEDICINALE ET ALIMENTAIRE UTILISEE AU BENIN

AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO¹ Micheline, TOUKOUROU¹ Fatiou, de SOUZA² Comlan, DICKO³ Mamoudou H., TRAORE³ Alfred S., GBEASSOR² Messanvi

¹Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA), Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01BP4521 Cotonou 01 (Bénin)

²Centre de Recherche et de Formation sur les Plantes Médicinales (CERFOPLAM), Université de Lomé, BP1515, ESTBA (Togo).

³Centre de Recherche des Sciences Biologiques, Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN), UFR-SVT, Université de Ouagadougou (Burkina-Faso), 03BP 7021 Ouagadougou, 03, Burkina-Faso.

*Auteur pour toutes correspondances, BP1515 Lomé, ESTBA (Togo), tél : (228) 221 39 60,

Fax : (228) 221 85 95, Email : csouza@tg.refer.org ou csouzaari@hotmail.com

RESUME

Les études phytochimiques réalisées sur les feuilles de *Rytigynia canthioides* (Benth.) Robyns par rapport aux teneurs en substances organiques et minérales et à la présence des principes actifs ont donné des résultats satisfaisants. Nos résultats ont révélé que *Rytigynia canthioides* contient des protéines, des lipides, des sucres et des polyphénols avec des teneurs qui varient de 0,09% à 20,75 %. Les teneurs en calcium, en magnésium, en phosphore et en sodium sont respectivement égales à 4,08 % ; 6,57 % ; 3,88 % ; 0,6 %. Le fer et le zinc se trouvent pratiquement sous la forme de traces. Le screening des principes actifs a révélé la présence des alcaloïdes, des anthocyanes, des flavonoïdes, des traces de saponosides, des tannins et polyphénols, des triterpènes et stéroïdes. Les anthraquinones et les coumarines sont absents de la plante.

Les résultats de cette étude phytochimique a permis de noter que les feuilles de *Rytigynia canthioides* sont riches en protéines, en magnésium et en phosphore et contiennent des molécules biologiques. Ces observations justifient en partie l'utilisation au Bénin des feuilles de *Rytigynia canthioides* en alimentaire et en médecine traditionnelle.

Mots Clés : *Rytigynia canthioides* (Benth.) Robyns – Etudes phytochimiques.

SUMMARY

Phytochemical studies carried out on the leaves of *Rytigynia canthioides* (Benth.) Robyns with regard to the content of organic and mineral substances and the presence of active principles have given satisfactory results. Our results revealed that *Rytigynia canthioides* contain proteins, lipids, sugar and polyphenols with the contents varying from 0.09 % to 20.75 %. The calcium, magnesium, phosphorus and sodium contents are respectively equal to 4.08 % ; 6.57 % ; 3.88 % ; 0.6%. Only traces of iron and zinc are identified. The active principles screening has shown the presence of alkaloids, anthocyanes, flavonoids, traces of saponosids, tannins and polyphenols, triterpenes and steroids. The anthraquinones and coumarines are absent from the plant.

The result of phytochemical study helped notice that the leaves of *Rytigynia canthioides* are very rich in proteins, calcium and phosphorus and contain biological molecules. These observations justify the use of the leaves of *Rytigynia canthioides* in dietary and in traditional medicine in Benin.

Keywords : *Rytigynia canthioides* (Benth.) Robyns – Phytochemical studies.

INTRODUCTION

Rytigynia canthioides (Benth.) Robyns est une plante dont les feuilles sont très utilisées au Bénin et dans la sous région dans le traitement traditionnel du paludisme, de diverses fièvres, de diabète, de la constipation, de l'insuffisances psychiques, contre les fatigues généralisées et le traitement des maladies obscures [1 ; 2 ; 3 ; 4]. Certains utilisent les décoctés des feuilles de la plante de même que les jeunes feuilles en sauce dans les cas

de déficits alimentaires [2]. Le présent travail étudie la composition biochimique et minérale et caractérise les principes actifs en vue de vérifier les propriétés alimentaires et pharmacologiques attribuées à la plante.

MATERIEL ET METHODES

Produits chimiques et réactifs

Le réactif Folin-ciocalteu est de Sigma chemical company ® et l'acide gallique (acide 3,4,5-

trihydroxybenzoïque) est de Aldrich®. Les autres produits sont de Merck®.

Matériel végétal

Les feuilles de *Rytigynia canthioides* ont été récoltées dans une zone endémique palustre au Bénin (Pahou/Ouidah) en mars 2002 avec prélèvement d'herbier pour l'identification et pour la conservation à l'herbarium. L'identification botanique a été effectuée au Département de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey – Calavi (Bénin) et un échantillon a été déposé pour la conservation à l'herbarium au Laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA) dudit Département.

Méthodes d'analyse

Traitement préliminaire

Le matériel végétal est transféré au laboratoire dans des sachets à usage unique adaptés aux collectes des plantes alimentaires et médicinales. Après triage, les feuilles ont été lavées à l'eau distillée stérile puis séchées sur du papier filtre au laboratoire à 26°C avant d'être réduites en poudre semi – fine et fine à l'aide d'un moulinex®. Les échantillons pulvérisés sont conservés dans des sachets pour être utilisés dans les différentes analyses.

Préparation des extraits alcooliques lyophilisés

150 g de poudre de *Rytigynia canthioides* ont été incubés avec 2 litres d'éthanol à 90° pendant 24 h. La suspension est agitée fréquemment avant d'être filtrée sur du papier filtre Whatman N°1, puis évaporée au rotavapor® à 60°C à une vitesse de 120 tours/min. Le concentré est congelé et lyophilisé.

Détermination des teneurs en protéines totales

Les protéines totales des feuilles pulvérisées ont été dosées par la méthode de KJELDALH Ba 4c-87 [5] et selon les techniques de la pharmacopée africaine [6]. Une minéralisation à chaud à 450°C pendant 5 h a été réalisée en présence d'acide sulfurique et d'un comprimé de catalyseur de digestion (Kjeltabs ck : 3,5 g de sulfates de potassium et 0,4 g de sulfates de cuivre CuSO₄, 5H₂O). Cette étape a été suivie d'un dosage acide – base de la solution de sulfate d'ammonium obtenue. Ensuite, après une distillation du mélange, un titrage avec une solution d'acide sulfurique a été effectué. Un témoin a été réalisé dans les mêmes conditions.

Les teneurs sont exprimées par la conversion de la teneur en azote total en teneurs de protéines totales par application du coefficient de conversion égale à 6,25.

Détermination des teneurs en matières grasses

Elle a été faite selon la méthode d'extraction par le SOXHLET Aa 4 – 38 [5] en utilisant l'éther de pétrole comme un solvant à reflux. L'analyse a porté sur 5 g de poudre végétale placée dans des cartouches de SOXHLET. Ensuite, le SOXHLET a été monté entre un ballon contenant 300 ml d'éther de pétrole et relié à un système de réfrigération. L'ensemble de ce système est connecté à un cryostat qui permet la condensation des vapeurs destinées à entraîner les lipides. Après 4 h d'extraction à 100°C, les matières grasses ont été obtenues par évaporation du solvant au rotavapor® dans les mêmes conditions que précédemment. Les teneurs en matières grasses sont exprimées en % g/g de matières sèches.

Détermination des teneurs en sucres totaux

L'étude a porté sur des décoctés et des extraits alcooliques. Ainsi, 5 g de poudre végétale ont été introduits dans 200 ml d'eau distillée, la suspension est maintenue à l'ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement, les décoctés ont été soumis à une centrifugation de 9000 tours/min à 4°C pendant 10 min. De même, 5 g de matériel végétal ont été incubés dans 200 ml d'éthanol à 90° pendant 18 h puis la suspension est centrifugée comme précédemment. Les sucres ont été dosés en appliquant les techniques de la méthode de dosage direct avec du phénol [7].

Ainsi, 1 ml de solution de phénol à 5 % a été ajouté à des concentrations croissantes de solution standard de glucose à 0,1 %. Ensuite, 2 ml d'acide sulfurique concentré ont été additionnés, puis les tubes ont été portés au bain – marie pendant 5 minutes avant d'être incubés 30 minutes à l'obscurité. Les mesures d'absorbance ont été effectuées à 492 nm. Les décoctés et les extraits alcooliques des feuilles de *Rytigynia canthioides* ont été soumis à l'analyse comme dans le cas de la réalisation de l'étalon.

L'expression des teneurs en sucres totaux est obtenue à partir de l'équivalence du standard par gramme de poudre végétale (g/g).

Détermination des teneurs en polyphénols

Les teneurs en phénols totaux des décoctés et des extraits alcooliques ont été déterminées en utilisant la méthode de FOLIN – CIOCALTEU [8] modifiée par DICKO et al.,

2002 [9]. Ainsi, 10 ou 25 µl de surnagent selon la nature des extraits (aqueux ou alcooliques) ont été dilués avec de l'eau distillée stérile et le volume est porté à 250 µl. Puis, à ce mélange a été ajouté 625 µl de réactif FOLIN – CIOCALTEU (50 %). Après 5 minutes d'incubation, 625 µl de carbonate de sodium à 20 % (p/v) ont été additionnés et le volume est porté à 5 ml. Un blanc a été préparé avec la poudre végétale en remplacement du réactif avec de l'eau. De même, un étalon a été réalisé avec des concentrations croissantes d'acide gallique à 0,1 mg/ml (standard). Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 760 nm contre le blanc. L'expression des résultats est obtenue à partir de l'équivalence du standard (acide gallique) par gramme de poudre (g/g).

Détermination de la composition minérale

La teneur en cendres a été déterminée par une procédure améliorée d'incinération au four à 450°C, 923, 03 AOAC [10]. Les techniques décrites par MULTON en 1991[11] et celles mentionnées dans la monographie de la pharmacopée africaine [6] ont servi de supports pour le dosage du calcium, du magnésium, du sodium, du phosphore, du fer et du zinc.

A l'exception du phosphore dont le dosage a été réalisé au spectrophotomètre à 882 nm (visible spectrophotometer M20), tous les cations majeurs et les métaux traces ont été dosés par spectrophotomètre de flamme (Atomic Absorption spectrometer, M201 PERKIN ELMER), après reprise de 0,5 g du résidu de calcination (105°C) par 5 ml du mélange de destruction composé de 65 % d'acide nitrique et d'acide sulfurique concentré. Un blanc a été réalisé dans chaque cas sans l'échantillon de *Rytigynia canthioides*. Les teneurs en cendres sont exprimées en g % ms. Celles des minéraux sont exprimées en mg/100 g ms.

Screening phytochimique

Cette partie a été réalisée en utilisant comme support les techniques rapportées par d'autres chercheurs [12 ; 13 ; 6]. Cette caractérisation est basée sur les propriétés qu'ont les composés organiques d'induire des changements visibles du milieu lorsqu'ils sont traités dans des conditions bien définies. Ainsi, à partir des extraits alcooliques (éthanol 90°) lyophilisés non hydrolysés et hydrolysés, nous avons effectué la caractérisation en utilisant des réactifs spécifiques.

Pour cette mise en évidence divers réactifs ont été préparés : pour les alcaloïdes (réactif de MAYER et de DRAGENDORFF), pour les anthraquinones ou anthracénosides (réactif de

BORNTRAGER), pour les anthocyanes (variation de pH), pour les flavonoïdes (réactif de SHIBATA), pour les saponosides (test de mouse), pour les tannins et polyphénols (test au FeCl₃ 1 %), pour les triterpènes et stéroïdes (réactif de LIEBERMANN-BURCHARD) et pour les coumarines (fluorescence à la lumière UV365).

Ce criblage chimique a été confirmé par chromatographie en couche mince sur gel de silice à partir des extraits lyophilisés en appliquant des conditions expérimentales par l'utilisation d'une phase stationnaire constituée d'une plaque silicagel, 20×20 cm/Polygram SILG) et d'une phase mobile composée de n-butanol/acétone/acide/acétique/eau (35 : 35 : 10 : 20) et des révélateurs : AlCl₃ 5 % et acide sulfurique/éthanol (80 : 20).

Ainsi, 10 µl des extraits dilués dans du méthanol-eau ont été déposés sur la plaque avec un microseringue. Les plaques sont examinées à la lumière ultraviolette à 254 et 365 nm après séchage à l'étuve à 100°.

Les R_f (rapports frontaux) sont déterminés à partir de l'expression du rapport de la distance parcourue par une molécule X sur l'adsorbant et celle parcourue par le front du solvant, toutes deux mesurées à partir du point de dépôt. Dans tous les cas les essais ont été répétés 3 fois.

RESULTATS ET DISCUSSION

Etude Biochimique

L'analyse des résultats du dosage biochimique des feuilles de *Rytigynia canthioides* (tableau I) a permis de noter que les teneurs en protéines totales représentent 17,92 % ; celles des lipides sont de 6,2 % ; les sucres totaux correspondent à 20,75 % et 12,26 % respectivement pour les extraits aqueux et alcooliques ; les phénols totaux sont dans les proportions de 0,2 % et 0,09 % dans les deux types d'extraits. La faible teneur des composés phénoliques de la plante dénote que leur influence sur la biodisponibilité des protéines sera moindre [14 ; 15]. Les valeurs des teneurs en protéines se rapprochent de celles obtenues par d'autres chercheurs sur des céréales [16 ; 17].

Sur le plan alimentaire les protéines constituent une source en azote et en acide aminé essentiel tel que : la lysine, la thréonine, la méthionine et la cystéine [13]. Par ailleurs, des études ont révélé les propriétés thérapeutiques antivirales des protéines issues de plantes médicinales [18].

Tableau I : Composition biochimique des feuilles de *Rytigynia canthioides* (Rubiaceae)

Nom scientifique	%	%	% Sucres	% Sucres	% Phénols	% Phénols
	Protéines	Lipides	(aqueux)	(éthanol)	(aqueux)	(éthanol)
<i>Rytigynia canthioides</i>	17,92± 0,91	6,2± 0,02	20,75±1,75	12,26±0,46	0,2±0,02	0,09±0,01

Tout ceci, nous amène à proposer qu'une étude plus approfondie des protéines contenues dans les feuilles de *Rytigynia canthioides* permettront de mieux se prononcer sur la nature de ces dernières. Cette étude qui renseigne sur la teneur en matières grasses des feuilles de *Rytigynia canthioides* donne une idée sur la durée de conservation des phyto-médicaments incluant la plante car certaines teneurs des matières grasses pourraient provoquer le rancissement. L'ensemble des résultats des dosages permet de déduire que les feuilles de *Rytigynia canthioides* peuvent servir de complément alimentaire. Cette étude de dosage biochimique sur la plante constitue la toute première.

Etude minérale

Le tableau II illustre les résultats de l'étude des teneurs en minéraux des feuilles de *Rytigynia canthioides*. Par rapport aux minéraux le taux de cendres totales est de 8,5 %. La teneur en calcium correspond à 4,08 % ; le magnésium représente 6,57 % ; la teneur en sodium est de 0,6 % ; le phosphore représente 3,88 %. Le fer et le zinc sont sous la forme de traces. Les teneurs des minéraux majeurs recherchés sont dans l'ensemble égales à 15,13 %. Cette teneur non négligeable en minéraux peut expliquer en grande partie l'engouement des phytothérapeutes béninois à utiliser les feuilles de *Rytigynia canthioides* dans les cas d'insuffisances psychiques [1].

Tableau II : Composition minérale des feuilles de *Rytigynia canthioides* (Rubiaceae)

Nom scientifique	%	%	%	%	%	%	%
	Cendres	Calcium	Magnésium	Sodium	Phosphore	Fer	Zinc
<i>Rytigynia canthioides</i>	8,5 ± 0,01	4,08 ± 0,04	6,57±0,07	0,6±0,02	3,88 ±0,09	≤0,2ppm	

Les groupes chimiques identifiés

Le tableau III regroupe les différents résultats de la caractérisation des feuilles de *Rytigynia canthioides*. L'analyse qualitative effectuée sur les feuilles de *Rytigynia canthioides* a montré la présence de divers composés. La plante contient des alcaloïdes, des anthocyanes, des flavonoïdes, des traces de saponosides, des tannins et polyphénols, des triterpènes et stéroïdes. Les anthracénosides (anthraquinones) et les coumarines sont absents. Nos observations corroborent ceux d'autres chercheurs [4] surtout en ce qui concerne la caractérisation des feuilles de *Rytigynia canthioides* par rapport aux alcaloïdes, aux anthraquinones et aux tannins. Mentionnons que ces auteurs [4] ont noté une absence des sa-

ponosides dans l'espèce nigériane contrairement à nos résultats. Les résultats du criblage phytochimique par la méthode de chromatographie sur gel de silice ont permis de noter 5 spots de différents Rf et couleurs. Les résultats de cette étude chromatographique confirment l'existence de plusieurs composés chimiques précédemment mis en évidence lors des études de caractérisation chimique. Les propriétés biologiques des principes actifs présents dans les feuilles de *Rytigynia canthioides* ont été rapportées par plusieurs auteurs [19 ; 20 ; 13 ; 21 ; 22 ; 23 ; 24]. Tout ceci explique en partie l'utilisation des feuilles de *Rytigynia canthioides* à des fins thérapeutiques.

Tableau III : Screenig chimique des feuilles de *Rytigynia canthioides* (Rubiaceae)

Composés phytochimiques	Réactions mises en œuvre	Résultats	Remarques
Alcaloïdes	DRAGENDORFF	Précipité rouge	++
	MAYER	Précipité blanc crémeux	++
Anthocyanes	Variation de pH	Coloration légèrement jaune	+
Anthraquinones	BORINTRAGER	Pas de changement de couleur	-
Coumarine	Fluorescence à UV365	Pas de changement de couleur	-
Flavonoïdes	SHIBATA	Coloration légèrement orange	+
Saponosides	Test de mousse	Présence de mousse (~0,6 mm)	±
Tannins et polyphénols	Test au FeCl ₃ 1%	Coloration vert noirâtre	+
Triterpènes et stéroïdes	LIEBERMANN-BURCHARD	Apparition d'un anneau rouge brun	++

Notes : ++ = abondant ; + = faible quantité ; ± = traces ; - = absent.

CONCLUSION

Les résultats de nos études phytochimiques ont révélé que les feuilles de *Rytigynia canthioides* contiennent des protéines en fortes teneurs (17,92 %), des sucres (12,26% et 20,75 %) et une faible teneur en matières grasses (6,2 %) et des constituants de premières utilités tels que le calcium (4,08 %), le magnésium (6,57 %), le phosphore (3,88 %), le sodium (0,6 %) et des principes actifs dont les propriétés biologiques ont été prouvées par plusieurs auteurs. Tout ceci explique l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Rytigynia canthioides* à des fins alimentaire et thérapeutique. Les teneurs en composés organiques et des minéraux retrouvés dans les feuilles de *Rytigynia canthioides* n'étant pas négligeables, elles peuvent contribuer à un apport en éléments nutritifs aussi bien chez les enfants que chez l'homme adulte, si ces derniers se trouvent à l'état libre.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les professionnels de la médecine traditionnelle contactés, Monsieur Honoré KPAVODE, Chef du Département de la Biologie Végétale de l'Université d'Abomey-Calavi (Bénin) et ses collaborateurs pour l'identification de la plante et le Professeur Sita GUIINKO de l'Université de Ouagadougou et ses collaborateurs et le Dr Aly SAVADOGO du Centre de Recherche des Sciences Biologiques, Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN) de l'Université de Ouagadougou (Burkina-Faso) pour sa collaboration technique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] - AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO M. Evaluation de la qualité hygiénique - Etudes phytochimique et pharmacologique de quelques plantes de la médecine traditionnelle béninoise. Thèse unique de l'Université de Lomé, Togo, N° 041ULR/DASS, (2004), 198 p.
- [2] - AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO M. Evaluation de la qualité hygiénique et des activités cytotoxique, antivirale et antimicrobienne de six plantes médicinales. Mémoire de D.E.A., N° 115 UBR/DAAS, Université du Bénin, Lomé, (2000), 94 p.
- [3] - BRUNEL J.F., HIEKPO P., SCHOLZ H. Flore analytique du Togo. Phanérogames. GTZ. Ed. Eschborn, (1984), pp 243-431.
- [4] - ODEBIYI O.O., SOFOWORA E.A. Phytochemical screening of Nigerian medicinal plants II. Lloydia, (1978), 41 : 234-246.
- [5] - AMERICAN OIL CHEMIST'S SOCIETY (AOCS). Official methods and recommended practices, (1990), 4 th. Ed.
- [6] - PHARMACOPEE AFRICAINE. Méthodes générales d'analyses. Volumes 2, 1^{ère} édition, OUA/CSTR, Lagos, Nigeria, (1988), 264 p.
- [7] - DUBOIS M.M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A., SMITH F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., (1956), 28 : 350-356.
- [8] - SINGLETON V.L., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTOS R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FOLIN - CIICALTEU reagent. Methods Enzymol, (1999), 299 : 152-177.
- [9] - DICKO M.H., HILHORST R., GRUPPEN H., TRORE A.S., LAANE C., VAN BERKEL W.J.H., VORAGEN A.G.J. Comparison of content in phenolic compounds, polyphenol, oxidase and peroxidase in grains of fifty *Sorghum* varieties from Burkina Faso. Journal Agricultural Food Chemistry, (2002), 50 (13) : 3780-3788.

- [10] - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL Chemists, (AOAC). Officinal methods of analysis chemists, (1990), 15th, 2 AOAC Arlington, Virginia. USA.
- [11] - MULTON J.L. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Analyse des constituants alimentaires. Volumes 4, 2^{ème} édition entièrement revue, Paris, Technique et documentation. Lavoisier, (1991), 450 p.
- [12] - PENGE ON'OKOKO J., MARINI D. Etude chimique, pharmacologique et toxicologique d'*Olax subscorpioidea oliver* (Olacaceae). Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines, (1996), 10 (1) : 25 –34.
- [13] - BRUNETON J. Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Et. Tech. Doc., 2^e éd., Paris, (1993), 915 p.
- [14] - MAKKAR H.P.S., SINGH B., DAWRA R.K. Tannin-nutrient interaction. A review. Int. J. Sci. Anim., (1987), 2 : 127-140.
- [15] - COUSSIN B.W., TANKSLEY T.D., KNABE D.A., ZEBROWSKA T. Nutrient digestibility and performance of pigs fed sorghums varying in tannin concentration. J. Anim. Sci., (1981), 53 : 1524-1527.
- [16] - ABDALLA A.A., EL TINAY A.H., MOHAMED B.E., ABDALLA A. H. Proxymate composition, starch, phytate and mineral contents of 10 pearl millet genotypes. Food Chemistry, (1998), 63 (3) : 243-246.
- [17] - SUBRAMANIAN V., JAMBUNATHAN R., RAMAIOH C.D. Physical and chemical characteristics of pearl millet grains and their relationship to roti quality. Journal of Food science, (1988), 51 (4) : 1005.
- [18] - ANDERSON L.A. , PHILLIPSON J.D. Mistletoe - The magic herb. Pharm. J., (1982), 229 : 437-439.
- [19] - BICKII J., NDJIFOTIE N. *In vitro* antimalarial activity of limonoids from *Khaya grandifolia* (Meliaceae). Journal of Ethnopharmacology, (2000), 69 : 27-33.
- [20] - ARVOUET– GRAND A., VENNAT B., POURRAT A., LEGRET P. Standardisation d'un extrait de *Propolis* et identification des principaux constituants. J. Pham. Belg, (1994), 49 (6) : 462-468.
- [21] – SCHÖPKE T., HILLER K. Triterpenoids saponins. IV. Pharmazie, (1990) 45 : 313-342.
- [22] - Barnabas C. G. G., Nagarajan S. Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Fitoterapia, (1988), 59 : 508.
- [23] - BADER G., BINDER K., HILLER K., ZIEGLER-BOHME H. Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Pharmazie, (1987), 42 : 140-141.
- [24] - UWAFO AO., OKORIE DA., BABABUMI EA. Mutagenicity of chamuvaritin : a benzylhydrochalcone isolated from a medicinal plant. Cancer letter, (1979), 8 (1) : 87-92.