

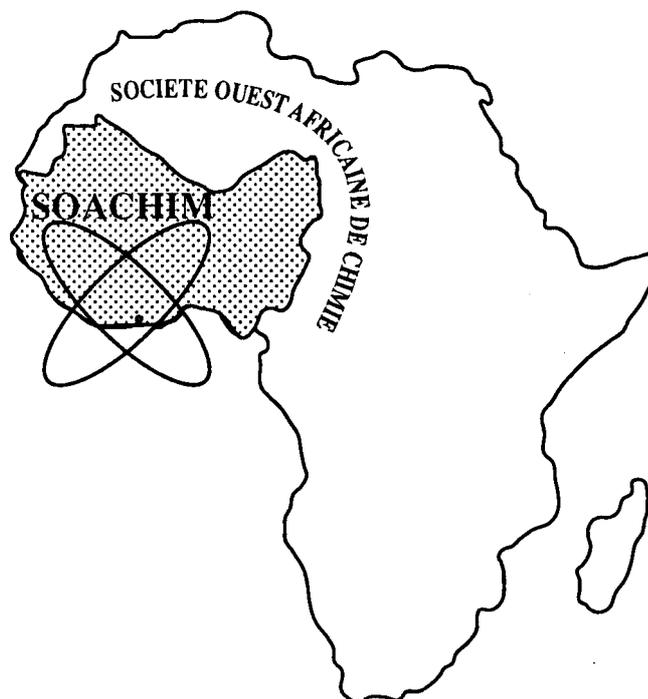
# *Standardisation de la poudre des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* en vue la production d'un phytomédicament anti-drépanocytaire pédiatrique*

**Jean Claude W. Ouédraogo, Félix B. Kini,  
Lazare Belemnaba, Sylvain Ouédraogo,  
Innocent Pierre Guissou**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*

*J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(2015), 040 : 24 - 30

20<sup>ème</sup> Année, Décembre 2015



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

## Standardisation de la poudre des écorces de racine de *Zanthoxylum zanthoxyloides* en vue la production d'un phytomédicament anti-drépanocytaire pédiatrique

Jean Claude W. Ouédraogo<sup>1\*</sup>, Félix B. Kini<sup>1</sup>, Lazare Belemnaba<sup>1</sup>, Sylvin Ouédraogo<sup>1</sup>,  
Innocent Pierre Guissou<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Département Médecine Pharmacopée Traditionnelles et Pharmacie, Institut de Recherche en Sciences de la Santé (MEPHATRA-PH /IRSS), 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso

<sup>2</sup>Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie/Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (UFR/SDS), Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

(Reçu le 23/10/2015 – Accepté après corrections le 24/04/ 2016)

**Résumé :** Ce travail a été entrepris dans le but de standardiser la récolte de la matière première constituée par les écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, en vue de la production d'un phytomédicament anti-drépanocytaire pédiatrique. Les échantillons ont été récoltés dans sept (07) localités différentes à l'Ouest du Burkina Faso : une récolte en saison sèche et une autre en saison pluvieuse, dans le but de déterminer le site et la saison où les principes actifs sont les plus abondants. Les paramètres investigués ont été la couleur des poudres, les propriétés organoleptiques, la perte à la dessiccation, les rendements par extractions successives, l'empreinte digitale par la chromatographie sur couche mince et la teneur en acide vanillique pris comme traceur chimique, par dosage densitométrique.

Les résultats obtenus montrent une homogénéité pour la couleur, les propriétés organoleptiques, la perte à la dessiccation et l'empreinte digitale par CCM. Toutefois, les rendements par extractions successives et le dosage densitométrique ont révélé de différences significatives selon le site de récolte et la saison. La teneur en acide vanillique la plus élevée est de 1,59% tandis que la plus faible teneur est de 0,40% par rapport à la matière première sèche.

**Mots clés :** Drépanocytose; *Zanthoxylum zanthoxyloides*; écorces de racines; standardisation

## Standardization of bark root powder of *Zanthoxylum zanthoxyloides* for the production of pediatric phytomedicine against Sickle Cell Disease

**Abstract:** This work was undertaken to standardize the collection of the raw material which consists of bark root of *Zanthoxylum zanthoxyloides*, for the production of a pediatric anti-sickle cell disease phytomedicine. The samples were collected in seven (07) different sites in the western of Burkina Faso: one collection during dry season and another one during rainy season, in order to determine the site and season where the active principles are most abundant. The investigated parameters were the color of the powders, the organoleptic properties, the loss on drying, the extractive value of successive extractions, the fingerprint by Thin Layer Chromatography and the vanillic acid content used as the chemical marker, by densitometric quantification.

The results show homogeneity for color, organoleptic properties, loss on drying and TLC fingerprinting. However, the extractive value of successive extractions and the densitometric quantification revealed significant differences according to the site and harvest season. The highest content of vanillic acid is 1.59%, while the lowest content is 0.40%, relative to the dried raw material.

**Keywords:** *Zanthoxylum zanthoxyloides*; bark root; standardization; Sickle Cell Disease

---

\* Auteur de toute correspondance; Tel: (+226)70998511; E-mail: ouedraclaude@yahoo.fr

## 1. Introduction

La drépanocytose est une maladie génétique caractérisée par la présence de l'hémoglobine S (Hb S) dans les globules rouges. C'est la première hémoglobinopathie au monde et l'Afrique est le continent le plus touché<sup>[1, 2]</sup>. Elle est classée parmi les maladies prioritaires dans plusieurs pays d'Afrique dont le Burkina Faso, où 37,66% de la population était porteuse d'hémoglobine S en 1982<sup>[3]</sup>. Les médicaments conventionnels étant le plus souvent inaccessibles financièrement par un grand nombre de malades, les recettes médicamenteuses des pharmacopées traditionnelles sont l'alternative pour soulager ou prévenir les douleurs atroces caractérisant l'anémie falciforme. Les écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Rutaceae) [Syn. *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae)] sont utilisées traditionnellement contre les crises drépanocytaires<sup>[4, 5]</sup> et connues pour leurs propriétés antifalcémiantes<sup>[6]</sup>. Un phytomédicament anti drépanocytair (FACA<sup>®</sup>) a été développé à partir des écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* en association avec celles de *Calotropis procera* Ait. R.B.r. (Asclepiadaceae) après plusieurs études pharmacologiques et toxicologiques<sup>[4, 7, 8, 9, 10, 11]</sup>; mais ce phytomédicament n'est destiné qu'aux adultes. Pourtant, des études ont montré que près de 80% d'enfants atteints par la drépanocytose meurent avant leur cinquième anniversaire s'ils ne sont pas médicalement suivis<sup>[12, 13]</sup>.

Il est à noter que l'un des grands challenges pour la médecine traditionnelle est le contrôle de qualité, l'efficacité et l'efficience de ces recettes. Ainsi, tout le processus de production d'un phytomédicament doit être standardisé, pour garantir son efficacité et son innocuité<sup>[14, 15]</sup>.

La production de métabolites secondaires par les plantes d'une même espèce est influencée par divers facteurs environnementaux, notamment la texture du sol, la pluviométrie, de même que les conditions de récoltes et de conditionnement<sup>[16]</sup>. De ce fait, l'absence de traceur chimique aura un impact négatif sur la qualité des matières premières et des phytomédicaments qui en découleront.

En vue de la production d'un FACA sirop standardisé, il était nécessaire de standardiser d'abord les récoltes des deux matières premières végétales entrant dans sa fabrication.

Dans le présent travail qui constitue une première partie, nous nous sommes intéressés aux écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides*.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par les écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides*, récoltées dans l'Ouest du Burkina Faso sur 7 sites différents. Les sites appartiennent tous à des écosystèmes terrestres qui diffèrent les uns des autres par leur caractère écologique. Le matériel végétal a été identifié par Dr Moussa TRAORE, botaniste et responsable de l'Antenne Régionale des Semences Forestières de l'Ouest (ARSF) basée à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). Les récoltes ont été effectuées sur 2 périodes différentes, à savoir en Juin 2013 (saison pluvieuse) pour la première récolte et en Décembre 2013 (saison sèche) pour la deuxième récolte. Les échantillons prélevés ont été séchés à l'ombre à la température ambiante. Ils ont ensuite été pulvérisés à l'aide d'un broyeur à lames de marque *Gladiator Est 1931 Type BNI Mach 40461 1083*. Par la suite, les poudres ont été tamisées à l'aide d'un appareil de type *Retsch 5657 HAAN W. GERMANY* comportant une série de 7 tamis superposés, dont les mailles varient de 0,9 à 0,1 mm. Pour que chaque drogue pulvérisée présente une surface de contact uniforme avec les solvants extracteurs, les poudres des tamis de maille 0,5 à 0,1 mm ont été rassemblées pour la suite des analyses.

### 2.2. Méthodes de l'étude

Les paramètres qui ont été investigués pour la standardisation sont : les caractéristiques physiques et organoleptiques, la perte à la dessiccation, les empreintes digitales par la chromatographie sur couche mince (CCM) et le dosage densitométrique.

#### 2.2.1. Examen physique et organoleptique

Les paramètres physiques et organoleptiques évalués sont : la couleur, l'odeur et la saveur.

#### 2.2.2. Perte à la dessiccation

Une prise d'essai de poudre de 1 g a été mise dans un verre de montre et séchée dans une étuve à 105 °C pendant 2 h. Après refroidissement la prise d'essai étuvée est pesée et la masse obtenue est notée. L'étuvage est répété jusqu'à obtention d'une masse constante. Le taux d'humidité est calculé à l'aide de la formule:

$$THR = \frac{P_0 - P}{P} \times 100$$

THR = Taux d'humidité résiduel (perte à la dessiccation)

Po = masse initiale de la poudre végétale

P = masse finale de la poudre végétale après étuvage

### 2.2.3. Rendement d'extraction.

Deux (2) g de poudre de chaque échantillon a été extrait avec du n-hexane (50 mL) par macération pendant 30 min, suivie d'une sonication pendant 30 min. Le mélange est ensuite filtré à l'aide de papier wattman. Le marc est une nouvelle fois extrait avec 50 mL d'hexane par sonication pendant 30 min puis filtré. Les deux extraits sont réunis et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour donner des extraits secs. Le marc issu de l'extraction avec le n-hexane est séché et extrait successivement avec du chloroforme et du méthanol selon la même procédure que l'extraction au n-hexane. Les extraits secs obtenus sont pesés avec une balance de précision et les rendements d'extractions évalués.

### 2.2.4. Empreinte digitale par la chromatographie sur couche mince

L'empreinte digitale a été établie avec des extraits obtenus en mélangeant 5 g de poudre de chaque échantillon à 75 mL de méthanol, suivi d'une sonication pendant 30 min. Les extraits sont ensuite filtrés sur du coton et séchés à l'aide d'un évaporateur rotatif. Chaque échantillon a été solubilisé dans du méthanol à la concentration de 10 mg/mL et 10 µL ont été déposés sur une plaque aluminium à gel de silice 60F<sub>254</sub> à l'aide d'un système de dépôt automatique. L'intérieur de la cuve conventionnelle en verre (*Camag*), contenant la phase mobile souhaitée a été saturé pendant 30 min. La plaque chromatographique est ensuite plongée dans la cuve, suivi du développement du chromatogramme sur un parcours de 8 cm. La plaque a par la suite été visualisée en utilisant un système *Camag TLC Visualizer*, connecté à un PC muni du logiciel *WinCATS*.

### 2.2.5. Dosage densitométrique

L'acide vanillique utilisé pour la quantification a été obtenu de *SIGMA-ALDRICH (Fluka Analytical)*. Le dosage densitométrique a été réalisé à l'aide d'un densitomètre *Shimadzu CS-930 Dual-Wavelength TLC scanner*, en fixant la longueur d'onde à 267 nm. La quantification de l'acide vanillique a porté sur les extraits méthanoliques obtenus lors de l'extraction successive avec les solvants de polarité croissante. En effet, c'est dans ces extraits que se trouvent les principes actifs

isolés dont les structures comportent l'acide vanillique<sup>[6, 9]</sup>. Le dosage a été effectué à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide vanillique dans du méthanol (0,5 mg/mL). Les extraits méthanoliques ont été solubilisés dans du méthanol à la concentration de 10 mg/mL et 10 µL sont déposés sur des plaques HPTLC de gel de silice 60F<sub>254</sub> 20×10 cm, avec support en verre. Le chromatogramme est par la suite développé dans une cuve en verre (*Camag*) dont l'intérieur est préalablement saturé pendant 30 min avec le système de solvant Toluène - Formiate d'éthyle - Acide formique (4:3:1). Après le développement du chromatogramme, les absorbances des spots correspondants à ceux de l'acide vanillique sont lues et rapportées à la courbe d'étalonnage pour déterminer la concentration en acide vanillique dans l'extrait considéré.

### 2.3. Analyses statistiques

Toutes les données ont été exprimées en moyenne ± écart à la moyenne. Le logiciel de test statistique *PRISM 5* a été employé pour déterminer des différences significatives entre les valeurs moyennes des taux d'acide vanillique. Les groupes ont été considérés significativement différents quand  $P < 0,05$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Examen physique et organoleptique

Les poudres des écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* obtenues après le broyage et tamisage sont très fines, de couleur jaune, d'odeur faible et de saveur piquant.

### 3.2. Perte à la dessiccation

Les résultats de la perte à la dessiccation (THR) des poudres sont représentés sur la figure 1. Cette figure indique que les pertes à la dessiccation des diverses poudres varient entre 9,1 et 5%. Ces valeurs étant inférieures à 10, l'on peut dire que les poudres sont sèches et peuvent être conservées sur une longue période sans le développement de moisissures ou de levures<sup>[17]</sup>. De manière générale, l'on constate que les pertes à la dessiccation de la première récolte (Juin) sont plus élevées que celle de la deuxième récolte (Décembre). Cela peut s'expliquer par le fait que les premières pluies de la saison des pluies du mois de juin ont rendu les racines plus riches en eau.

### 3.3. Rendement d'extraction

Les extractions successives des poudres végétales avec l'hexane, le chloroforme et le méthanol ont donné des extraits huileux de couleur jaune que nous avons récupérés dans des piluliers ouverts pendant 24 h dans une étuve ventilée afin d'éliminer les traces de solvant. Les rendements d'extractions sont représentés en histogramme sur la figure 2.

Cette figure montre que le rendement de l'extraction au méthanol est le plus élevé dans tous les échantillons. Il est suivi de celui à l'hexane et enfin de celui au chloroforme. Les échantillons Ts1 et Tm1 font exception ; dans ces échantillons de la première récolte, le rendement d'extraction au chloroforme est le plus élevé, suivi de celui au méthanol. Le rendement d'extraction le plus élevé est celui au méthanol de Nm2 (20,66%) et le plus

bas rendement est celui au chloroforme de Fr2 (1,24%). Le rendement élevé des extraits méthanoliques est certainement dû à l'abondance de composés polaires dans ces extraits. En effet, la littérature rapporte que *Zanthoxylum zanthoxyloides* contient de nombreux métabolites secondaires, à savoir des acides phénols (dérivés de l'acide vanillique), des flavonoïdes, des alcaloïdes, des coumarines, des lignanes, des glucosides, des stérols et triterpènes, des acides gras, des tanins, des composés réducteurs [7, 18,19].

### 3.4. Empreinte digitale par la chromatographie sur couche mince

Pour l'établissement de l'empreinte digitale, le système de solvant utilisé est : Toluène - formiate d'éthyle - acide formique (4:3:1).

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 3 et dans le tableau 1.

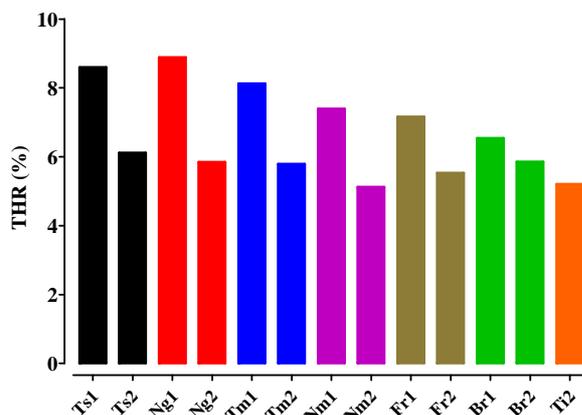


Figure 1 : Histogramme des pertes à la dessiccation (Ts, Ng, Tm, Nm, Fr, Br et Ti représente les différents sites de récoltes ; 1: 1<sup>ère</sup> récolte ; 2: 2<sup>ème</sup> récolte)

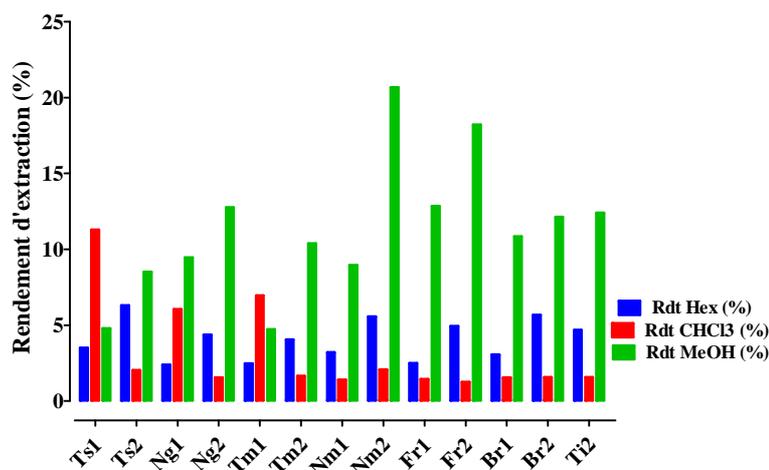
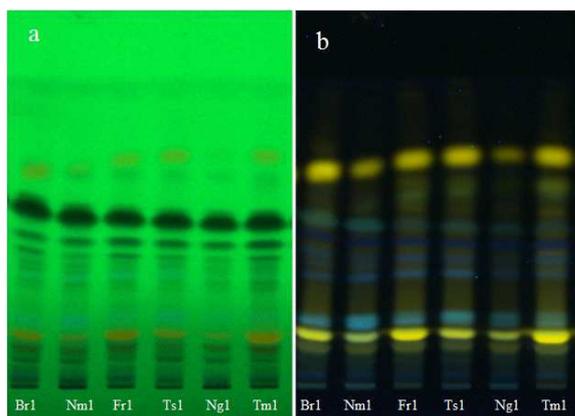


Figure 2 : histogramme des rendements d'extractions de *Zanthoxylum zanthoxyloides*



**Figure 3:** Empreinte digitale des extraits au méthanol ; Eluant: Toluène - formiate d'éthyle - acide formique (4:3:1); (a): observation à  $\lambda = 254$  nm ; (b) : observation à  $\lambda = 366$  nm

**Tableau I :** Rapport frontaux (Rf) des taches majeures de l'empreinte digitale et leur coloration

Rf des taches majeures	Couleur	Révélation
0,02	Brune	Lampe UV à $\lambda = 254$ nm
0,09	Brune	
0,13	Brune	
0,17	Jaunâtre	
0,23	Bleue-claire	
0,43	Brune	
0,49	Brune	
0,55	Brune	
0,70	Brune	
0,86	Jaunâtre	
0,04	Bleue	Lampe UV à $\lambda = 366$ nm
0,13	Jaune sombre	
0,17	Jaune fluorescente	
0,23	Bleue fluorescente	
0,38	Bleue claire	
0,43	Bleue claire	
0,48	Bleue foncée	
0,53	Bleue fluorescente	
0,65	Jaune sombre	
0,78	Jaune fluorescente	

Le tableau 1 donne les caractéristiques des taches majeures observées sur les chromatogrammes de la figure 3. Dix (10) bandes principales ont été observées sous lumière ultraviolette aussi bien à la longueur d'onde de 254 nm qu'à celle de 366 nm. Les Rf des bandes observées à 254 nm sont : 0,02 ; 0,09 ; 0,13 ; 0,17 ; 0,23 ; 0,43 ; 0,49 ; 0,55 ; 0,70 ; 0,86. La tache majoritaire (la plus intense) est celle dont le Rf est 0,55 ; elle est de couleur brune et est homogène dans les différents échantillons.

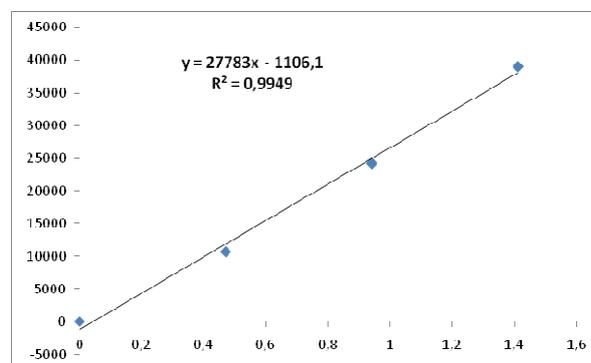
A la longueur d'onde de 366 nm, les Rf des bandes principales sont : 0,04 ; 0,13 ; 0,17 ; 0,23 ; 0,38 ; 0,43 ; 0,48 ; 0,53 ; 0,65 ; 0,78. A cette longueur d'onde, la tache majoritaire est celle dont le Rf est 0,78 ; elle présente une coloration jaune

fluorescente. La tache de Rf 0,17 est également intense et présente une fluorescence jaune. Ces deux taches sont assez homogènes dans tous les échantillons mais leur intensité est faible dans les échantillons Nm1 et Ng1. Selon les données de la littérature, les résultats obtenus par la CCM peuvent être utilisés pour les analyses de routines des poudres de *Zanthoxylum Zanthoxyloides* lors des futures récoltes pour vérifier leur qualité [20, 21, 22].

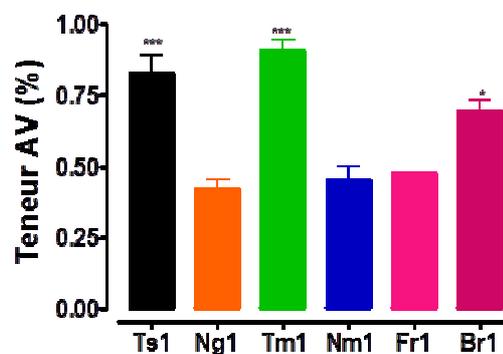
### 3.5. Dosage densitométrique

Des études antérieures ont montré que les principes actifs dans les écorces de racine de *Zanthoxylum Zanthoxyloides* contre la drépanocytose sont des dérivés de l'acide vanillique [6, 9]. Fort de cela, l'analyse photodensitométrique a été faite en prenant l'acide vanillique comme référence. Sa teneur a été évaluée dans les extraits méthanoliques obtenus suite à l'extraction successive avec les solvants de polarité croissante (Hexane, Chloroforme et Méthanol).

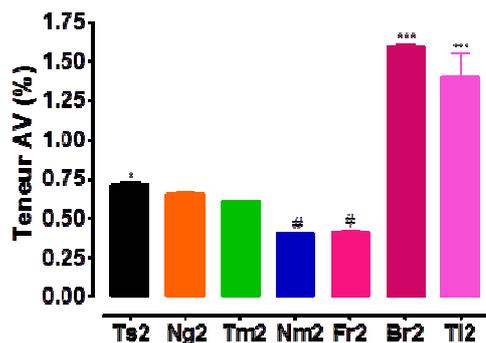
La courbe de calibration de l'acide vanillique (Figure 4) obtenue, a pour équation:  $y = 27783x - 1106,1$  ( $R^2 = 0,9949$ ). Cette courbe a servi au dosage de l'acide vanillique dans les échantillons et les résultats ont été représentés en histogramme (Figure 5 – 7).



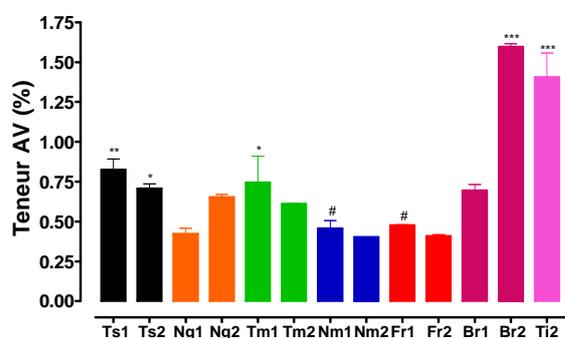
**Figure 4 :** courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide vanillique à diverses concentrations



**Figure 5:** Teneur en acide vanillique en fonction du site pour la période 1 (n=3, \*p<0.05 versus Fr1)



**Figure 6:** Teneur en acide vanillique en fonction du site pour la période 2 (n=3, \*p<0,05 versus Fr2 ; #p<0,05 versus Ts2)



**Figure 7:** Teneur en acide vanillique en fonction du site pour la période 1/2 (n=3, \*p<0.05 versus Fr2 ; #p<0.05 versus Ts1)

Les résultats montrent que la teneur en acide vanillique varie en fonction du site de récolte et de la période. Pour la première période, les analyses statistiques ont été réalisées en prenant la teneur en acide vanillique de Fr1 comme référence. La figure 5 indique que les sites Tm1 et Ts1 sont les plus riches en acide vanillique avec des taux respectifs de 0,90 et 0,82% de la matière sèche. Ces deux sites sont suivis de Br1 avec un taux de 0,69%. Les sites Ng1 et Nm1 ne présentent pas de différence significative avec Fr1.

En ce qui concerne la deuxième période, c'est le site Fr2 qui a également été considéré comme site de référence. Les résultats de l'analyse statistique (Fig. 6) montrent que Br2 et Ti2 présentent des différences très significatives avec Fr2 avec des taux respectifs de 1,59 et 1,40%. Le site Ts2 présente également une différence significative avec Fr2. Quant à Ng2, Tm2 et Nm2, ils ne présentent pas de différence significative avec Fr2. Lorsque la teneur en acide vanillique de Ts2 est prise comme référence, seuls Nm2 et Fr2 présentent une différence significative avec celle-ci. Pour l'ensemble des deux périodes de récoltes, lorsque la

teneur en acide vanillique de Fr2 est considérée comme la référence (Fig. 7), Br2 et Ti2 présentent une différence très significative avec Fr2, suivi de Ts1 et enfin Tm1 et Ts2. Les autres sites ne présentent pas de différence significative.

Si nous observons les résultats d'un même site sur les deux périodes de récolte, c'est dans le site Br qu'une différence significative est observée entre la première et la deuxième récolte. La deuxième récolte a une teneur 2 fois plus élevée que la première.

Parmi tous les sites de récoltes et les périodes, c'est Br2 et Ti2 qui ont les meilleurs taux en acide vanillique avec des teneurs respectifs de 1,6 et 1,4% par rapport à la matière première sèche.

Les teneurs les plus faibles ont été observées à Ng, Nm et Fr avec des valeurs comprises entre 0,54 et 0,32%.

En somme, les sites de Br et Ti présentent les meilleurs taux en acide vanillique pour les récoltes du mois de Décembre (2<sup>ème</sup> récolte). Ces sites et cette période devront être privilégiés pour les récoltes des racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* en vue de la production du phytomédicament FACA sirop pédiatrique. Mais si pour des contraintes les récoltes devront se faire à la première période (Juin) les sites à privilégier sont Tm et Ts et à défaut, le site de Br.

Dans la littérature des études similaires ont été menées. Une étude a été menée pour déterminer les variations des concentrations en principes actifs dans les parties aériennes de *Saxifraga rotundifolia* en fonction de son origine, et également de définir le stade optimal de récolte en fonction de la teneur en acides phénylpropénoïques, en flavonols et flavones glycosylés. Les auteurs de cette étude ont trouvé une teneur maximale en myricitrine de 1,3% de matière sèche lors de la formation des graines par la plante [23]. Une autre étude a consisté à évaluer les teneurs en sennosides (principes actifs) du *Cassia italica* dans différentes parties de la plante. Elle a trouvé que les folioles et les fleurs présentaient des teneurs élevées de 1 et 1,7% de sennosides par rapport à la matière première sèche ; de plus, la période la plus propice pour la récolte des folioles est la pleine floraison [24]. Tous ces résultats sont comparables à ceux de la présente étude.

#### 4. Conclusion

Cette étude a permis de dégager des paramètres pour une standardisation de la récolte de la matière première de l'une des plantes entrant dans la composition du FACA sirop pédiatrique. Le dosage

densitométrique de la teneur en acide vanillique en fonction du site et de la période de récolte a permis de déterminer que c'est la deuxième période de récolte (Décembre) sur les sites de Br et Ti qui présente les meilleurs taux en acide vanillique. Cette période et ces sites devront donc être privilégiés pour les récoltes des écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Rutaceae) pour la production du phytomédicament antidrépanocytaire pédiatrique à savoir le FACA sirop.

## 5. Remerciements / Acknowledgments

Les auteurs remercient l'UEMOA pour avoir financé une partie de ce travail à travers le PACER-II

The authors gratefully acknowledge Professor Kamlesh K Bhutani (National Institute of Pharmaceutical Education and Research S.A.S. Nagar Sector 67, S.A.S. Nagar –Mohali, India) for the TLC fingerprinting.

## 6. Références

[1] Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bulletin of World Health Organization (2008) 86, 480 – 487

[2] WHO (2006). Sick cell disease and other haemoglobin disorders. August 2006, WHO, Geneva, Fact sheet N°308

[3] Broussal G, Nacoulma O, Sawadogo A. Hémoglobinoses et drépanocytose en Haute-Volta. Editions Presses Africaines (1982), 86 pages

[4] Ouattara A. Approche thérapeutique de la maladie drépanocytaire. Etude préliminaire comparé du traitement par une présentation Galénique Moderne de deux plantes médicinales : *Fagara xanthoxyloides* Lam., *Calotropis procera* Ait., Et d'un médicament usuel de référence : La Dihydroergotoxine. Au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou. Thèse méd. Ouagadougou (1991), 72p

[5] Fatima CHAAIB KOURI. Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae). Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne (2004), 200p

[6] Ouattara B, Angenot L, Guissou IP, Fondou P, Dubois J, Frederich M, Jansen O, Van Heugen JC, Wauters JN and Tits M. LC/MS/NMR analysis of isomeric divanilloylquinic acids from the root bark of *Fagara zanthoxyloides* Lam. Phytochemistry (2004) 65, 1145-1151

[7] Ouattara A, Guissou IP, Sawadogo A and Sawadogo M. Etude comparée du traitement de la crise drépanocytaire par une présentation galénique moderne de deux plantes médicinales (*Fagara xanthoxyloides* Lam et *Calotropis procera* Ait) et un médicament usuel de référence (Dihydroergotoxine = Hydergine) chez les enfants de 5 à 15 ans à l'hôpital de Ouagadougou. Pharmacie d'Afrique (1995) 68, 19-27

[8] Guissou IP, Sawadogo M, Sawadogo A., Ouattara A. Etude de l'efficacité antidrépanocytaire de gélules FACA chez les enfants en milieu hospitalier de Ouagadougou (CHN-YO) ; *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, (1995) 1, 29-36

[9] Ouattara B, Jansen O, Angenot L, Guissou IP, Frederich M, Fondou P and Tits M. Antisickling properties of

divanilloylquinic acids isolated from *Fagara zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). Phytomedicine (2009) 16, 125–129

[10] Ouédraogo GG, Ouédraogo M, Lamien-Sanou A, Lompo M, Gombri-Lompo OM and Guissou PI. Acute and Subchronic Toxicity Studies of Roots Barks Extracts of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br Used in the Treatment of Sick Cell Disease in Burkina Faso. British Journal of Pharmacology and Toxicology (2013) 4(5), 194-200.

[11] Ouédraogo GG, Moukha S, Mobio TA, Ouédraogo M, Guissou PI and Creppy EE. Cytotoxicity assessment of aqueous extract from root barks of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. in human intestinal Caco-2 and mouse neuroblastoma Neuro-2a cell lines. Journal of Applied Pharmaceutical Science (2014) 4 (04), 001-007

[12] Lubert STRYER, Jeremy M. BERG, John L. TYMOCZKO, LaBiochimie, 5<sup>ème</sup> édition 1997, Flammarion: Paris

[13] Weatherall D, Akinyanju O, Fucharoen S, Olivieri N and Musgrove P, 2006. Inherited Disorders of Hemoglobin. In: Disease Control Priorities in developing countries. Jamison D T, Breman J G, Measham A R, Alleyne G and Claeson et al., (Eds). The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank Group, Washington, DC, USA, ISBN-13: 978-0-821-361 79-5, 663 – 680

[14] Cordell GA. Phytochemistry and traditional medicine – A revolution in process. Phytochemistry Letters(2011)4, 391–398

[15] Wickramasinghe M. BANDARANAYAKE. Quality control, screening, toxicity and regulations of herbal drugs (2006) 25-57. In: Iqbal AHMAD, Farrukh AQIL, Mohammad OWAIS. Modern Phytomedicine: Turning medicinal plants into drugs. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. 394 p.

[16] Sahoo N, Manchikanti P, Dey S. Herbal drugs: standards and regulation. Fitoterapia (2010) 81(6), 462 – 471

[17] Pharmacopée Européenne (2007). *Guide pour l'élaboration des monographies de drogues végétales et préparations à base de drogues végétales*. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé. Conseil de l'Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France.

[18] Odebiyi OO, Sofowora EA. Antimicrobial alkaloids from a Nigerian chewing stick (*Fagara zanthoxyloides*). Planta Medica (1979) 36, 204 – 207

[19] Okogun JI, Essien EM. Effect of the root extract of *Fagara zanthoxyloides* on blood coagulation. *Thrombos Haemostas* (1976) 36, 525 – 531

[20] Katekhaye SD, Bhutani KK. Standardization of Polyherbal Ayurvedic Formulation :Ayaskrti. Indian Journal of Traditional Knowledge (2011) 10(4), 589 – 593

[21] Gupta M, Bisht D, Pandey MM, Ojha SK, Khatoon S, Rastogi S and Rawat Ajay KS. Standardization of *Ashwagandhadhi lehya* – An important Ayurvedic formulation of *Withania somnifera*. Indian Journal of Traditional Knowledge (2011) 10(4), 594 – 598

[22] Rehana Banu H, Nagarajan N. TLC and HPTLC fingerprinting of leaf extracts of *Wedelia chinensis* (Osbeck) Merrill. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry (2014) 2(6), 29 – 33

[23] Bastian C, Grogg AF, Carron CA et Vouillamoz J. *Saxifraga rotundifolia* L.: détermination du stade de récolte en fonction de la phénologie et de la phytochimie. Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture (2009) 41 (6), 363 – 367

[24] Dame C, Duez P, Hanocq M, Lejoly J, Molle L et Zéba B. Essai de culture du *Cassia italica* au Burkina Faso : évolutions des teneurs en sennosides au cours de la croissance. TROPICULTURA (1985) 3(2), 58 – 64