



Article Original

Screening Phytochimique, Activité Cicatrisante et Toxicité Aigüe de la Sève des Racines de *Musanga Cecropioides* et de l'Extrait Aqueux de la Plante Entière *Acmella Caulirhiza* sur des Rats de la Souche Wistar

*Phytochemical screening, healing activity and acute toxicity of the sap of the roots of *Musanga cecropioides* and the aqueous extract of the whole plant *Acmella caulirhiza* in Wistar rats*

Azame Tatiana Leonce¹, Tembe Fokunang Estella¹, Njinkio Nono Borgia¹, Ngoupayo Joseph², Fokunang Charles Ntungwen¹

¹ Laboratoire d'études précliniques sur les animaux et recherche pharmacotoxicologique, Département de Pharmacotoxicologie et Pharmacocinétique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun.

² Département de Pharmacognosie et Chimie Pharmacocinétique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé 1, Cameroun.

Auteur correspondant :

Professeur Fokunang Charles
Département de pharmacotoxicologie et pharmacocinétique, Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I
BP: 13386 Yaoundé -Cameroun
E-mail:

charlesfokunang@yahoo.co.uk

Tel: (+237) 670 90 24 46

Mots clés: *Acmella caulirhiza*;
Musanga cecropioides;
Cicatrisation; Toxicité aigüe.

Keywords: *Acmella caulirhiza*;
Musanga cecropioides; Wound healing; Acute toxicity.

RÉSUMÉ

Introduction. La peau, est un organe complexe dont la fonction première est la protection de l'organisme contre les agressions extérieures. La perturbation de son intégrité, entraîne une plaie. Malgré le progrès en matière de soins des plaies, celles-ci restent un problème de santé publique dont l'incidence va augmenter avec l'évolution des pathologies comme le diabète et l'obésité. *Musanga cecropioides*, appartient à la famille des Moracées et est fréquemment retrouvé dans les forêts tropicales d'Afrique. **Objectifs.** Le but de cette étude était d'évaluer l'activité de cicatrisation des plaies et la sécurité de la sève des racines de *Musanga cecropioides* et de l'extrait aqueux de la plante entière *Acmella caulirhiza*. **Méthodologie.** Nous avons d'abord effectué un criblage qualitatif des 2 usines à l'aide de procédures standard avec des concentrations d'usine de 1%. Pour évaluer l'activité de guérison, nous avons eu huit groupes de six rats avec des plaies induites sur sept groupes, après l'anesthésie, puis le rasage et la coupe des lambeaux de peau après avoir placé un carré de 2,5 cm de longueur et de largeur. Pendant 21 jours, trois doses de notre extrait aqueux (125 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg, plus 3 ml de sève) sous forme de pâte ont été administrées sur les plaies après nettoyage à la sève comme traitement pour certains groupes. Lmesitran a été utilisé comme contrôle positif. L'activité cicatrisante était évaluée par l'apparence, la vitesse de contraction, la réduction de la surface de la plaie et une analyse des coupes histologiques des plaies était faite tous les quatre jours. La toxicité orale aiguë de nos deux usines a été évaluée conformément à la ligne directrice 420 de l'OCDE. **Résultats.** Le criblage de la plante entière *Acmella.c* a révélé: la présence de coumarines, de mucilages et de polyphénols. Celle de *Musanga c* a révélé la présence de saponosides et de polyphénols. En ce qui concerne l'évaluation de l'activité cicatrisante, les groupes ayant reçu le traitement à base de plantes (groupe huit), présentaient moins de plaies enflammées que les témoins. Les plaies traitées avec les plantes présentaient une meilleure évolution avec des valeurs significatives au jour 16 avec $p < 0,05$ et 21. Nous avons observé une augmentation non significative du poids corporel des rats, aucune perte d'appétit et aucun décès n'ont été enregistré. La DL50 n'a pas été déterminée pour les deux plantes à 5000 mg/kg. pour *Acmella.c* et 3 ml/100g pour *Musanga.c*. **Conclusion.** L'utilisation de *Musanga.c* et *Acmella.c* entraîne une légère accélération du processus cicatriciel. Ceci confirme l'activité cicatrisante des deux plantes qui leur est attribuée en médecine traditionnelle. Malgré la bonne tolérance constatée chez les rats, les plantes doivent être utilisées avec précaution.

ABSTRACT

Introduction. The skin is a complex organ whose main functions is the protection of the body against external aggressions. The disruption of its integrity causes a wound. Despite progress in wound care, wounds remain classified as public health problems, the incidence of which will increase with the development of certain diseases such as diabetes and obesity. *Musanga cecropioides*, belongs to the family Moraceae and is frequently found in the tropical forests of Africa. The aim of this study was to evaluate the wound healing activity and safety of *Musanga cecropioides* roots sap and the aqueous extract of the whole plant *Acmella caulirhiza*. **Methodology.** We first carried out a qualitative screening of our two plants using standard procedures in with plant concentrations at 1%. Then the healing activity itself was evaluated. For this, we had eight groups of six rats with wounds induced on seven groups, after anesthesia, then shaving and cutting skin flaps after placing a square of 2.5 cm length and width. For 21 days three doses of our aqueous extract (125mg/kg, 250mg/kg, 500mg/kg, plus 3 mL of sap) in the form of paste were administered on the

wounds after cleaning with the sap as treatment for certain groups. Lmesitran was used as a positive control. We evaluated the appearance, rate of contraction, reduction of wound surface, and a histological analysis of sections of the wounds was made every 4 days. Acute oral toxicity of our plants has been assessed according to OECD Guideline 420. **Results.** Screening of the whole plant *Acmella.c* revealed: the presence of coumarins, mucilages, and polyphenols. That of *Musanga.c* revealed the presence of saponosides and polyphenols. Evaluation of the appearance of wounds showed that the groups that received the plant-based treatment (group eight) had less inflamed wounds as compared to the control. Wounds treated with the plants showed better evolution with significant values on day 16 with $p < 0.05$ and 21. We observed a non-significant increase in body weight of rats, no loss of appetite and no deaths. The LD50 was not determined for both plants at 5000 mg/kg for *Acmella.c* and 3MI/100g for *Musanga.c*. **Conclusion.** The use of *Musanga.c* and *Acmella.c* resulted in a slight acceleration of the wound healing process. This suggests that both plants have a healing activity completely consistent with their recognized efficacy in traditional medicine. Although both plants were well tolerated by rats, they will have to be used with caution.

INTRODUCTION

La peau, est un organe complexe ayant cinq fonctions essentielles dont la première est la protection de l'organisme contre les agressions extérieures [1]. La perturbation de son intégrité, entraîne une plaie. Malgré le progrès en matière de soins des plaies, celles-ci restent classées parmi les problèmes de santé publique [2] dont l'incidence va augmenter avec l'évolution de certaines maladies comme le diabète et l'obésité [3,4]. D'autres parts, elles sont sources de gênes sociales et un fardeau financier [4] autant pour les pays industrialisés qu'en voies de développement où les infrastructures sanitaires sont insuffisantes et la grande majorité de la population essentiellement rurale et démunie. Ces populations n'ayant pas souvent accès aux soins de santé primaires, aux médicaments modernes et aux moyens logistiques leur permettant de braver la distance, elles se trouvent donc contrainte de recourir à la médecine traditionnelle. A ce sujet, d'après l'OMS, près de 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle. Celle-ci utilise les plantes à l'état brut comme matière première ce qui permet de venir à bout de nombreux problèmes de santé que peuvent rencontrer les populations y compris les plaies. Fort de ce constat, nous nous sommes proposés d'étudier deux plantes dont *Musanga cecropioides* et *Acmella caulirhiza*.

Musanga cecropioides, appartient à la famille des Moracées [5] et est fréquemment retrouvé dans les forêts tropicales d'Afrique et répandu depuis la Guinée jusqu'au Bassin du Congo (République démocratique du Congo, Angola, Cameroun, Cote d'Ivoire, Gabon, l'Ethiopie, Ghana, Liberia, Nigeria, Sierra Leone, Soudan, Togo, Ouganda) [6]. C'est un arbre dioïque à feuilles persistantes au tronc droit de 18-30 m de hauteur. Les propriétés chimiques de la plante ont été rapportées par plusieurs auteurs comme Kamanyi et al en 1992 et Trease & Evans en 2001. De ce fait il en découle que cette plante est riche en plusieurs métabolites secondaires de répartition variable en fonction des différentes parties [8]. La sève des racines : contient des saponosides, des tanins, des triterpènes, des galactogènes, des minéraux (Calcium, Potassium, Zinc, Cuivre, Magnésium, Fer, Manganèse, Cadmium, Sodium et du Phosphore) mais pas

d'alcaloïdes. On y retrouve également un taux légèrement bas de la dose toxique d'oxalate et une infime portion de métaux lourds [7,8]. Les feuilles contiennent certaines flavones tels que l'Isovitexine et la vitexine, flavanol tel que la catéchine, tannin tel que la procyanidine et l'acide chlorogénique, on y retrouve également des coumarines, phénols, peu de saponosides, des triterpènes, des tannins galliques, peu d'alcaloïdes, des anthraquinones, et des hétérosides cardiotoniques [8,9]. L'écorce du tronc: contient des flavonoïdes, des coumarines, phénols, peu de saponosides, des triterpènes, des tannins galliques, peu d'alcaloïdes, des anthraquinones, peu de sucres réducteurs, de l'acide kalaique et des hétérosides cardiotoniques. On y retrouve également de l'acide kalaique. [8,9].

Traditionnellement les feuilles sont utilisées pour le traitement des dysménorrhées, comme antitussif et expectorant l'écorce est attachée aux plaies pour leur guérison, sa décoction est prise pour traiter l'hypertension artérielle, la constipation, le diabète, les douleurs lors de l'accouchement ; les écorces des racines sont consommées avec de la cola pour traiter la toux et son infusion est utilisée pour pallier aux maux de dents. La sève des tiges : est utilisée comme galactagogue au Cameroun et pour traiter les dysménorrhées [10, 11]. La sève des racines: est utilisée pour traiter les spasmes abdominaux, la diarrhée, les gonorrhées, les douleurs et infections pulmonaires, les affections de la peau, les œdèmes, la trypanosomiase, l'otite, le rhumatisme. La plante est également utilisée dans le traitement de: la lèpre, des escarres, du paludisme et de la jaunisse. De même que comme aphrodisiaque, antihelminthe et comme contraceptif.

Plusieurs recherches ont démontré certains effets pharmacologiques attachés à l'utilisation de *Musanga cecropioides*, parmi lesquelles : l'activité anti-nociceptive (Analgésique) et anti-inflammatoire, l'effet ocytocique de son eau, l'activité antimicrobienne de la sève des racines (antihelminthique, antifongique, antibactérienne), les activités utérotonique, antidiabétique, hypoglycémiant, hypotensive des feuilles et de l'écorce ont été rapportées, l'activité antioxydante; l'évaluation de la toxicité de l'extrait aqueux de l'écorce, l'évaluation de l'activité antidiarrhéique de l'extrait éthanolique de l'écorce et l'évaluation de l'activité hépatoprotectrice.

Acmella caulirhiza appartient à la famille des Moracées Asteracée [13] et possède environ 60 espèces distribuées dans les zones tropicales et sub-tropicales principalement dans trois continents dont l'Afrique, l'Amérique et l'Asie. Les principales classes phytochimiques que l'on retrouve dans la plante sont: les alcaloïdes (le Spilanthol ou N-isobutyl-2,6,8- decatriénamide le plus abondant); les flavonoïdes (Quercetine-3 R glucoside, quercetine-3 R rhamnoglucoside, Apigénine-7glucoside, Apigénine-7-néohesperidoside) les triterpènes et les stérols (alphaAmyrine, beta Amyrine, beta sitostérol et le Stigmastérol); les acides gras (les acides hexadecanoïques et tetradecanoïques); les coumarines (scopulerine); les phénols (les acides vanilique, trans-ferulique et isoferulique); les glycosides, les tannins, les anthraquinones, les saponosides, les hétérosides cardiotoniques, les sesquiterpènes et les phytostérols [16]. L'Objectif du travail était d'évaluer l'effet cicatrisant de la sève des racines de *Musanga cecropioides* et de l'extrait aqueux de la plante entière *Acmella caulirhiza* sur des plaies induites chez les rats de la souche Wistar

METHODOLOGIE.

1. Préparation des extraits et animaux

L'étude a été faite avec 40 rats de la souche Wistar pour la toxicité aiguë tous provenant de l'animalerie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I. Ceux-ci, étaient gardés dans des cages en plastique ayant un couvercle en acier inoxydable, contenant de la litière. Ils ont été mis sous une alternance de 12h de lumière et d'obscurité, à une température ambiante comprise entre 20-25°C, un taux humidité relative de 60 à 70% et recevaient breuvage et nutriment fait par l'animalerie.

Notre étude a été réalisée à l'aide de la poudre de la plante entière d'*Acmella caulirhiza* et de la sève obtenue par incision des racines de l'arbre *Musanga cecropioides* qui ont été récoltées au Sud Cameroun dans le département du Dja et Lobo, d'Août à Octobre (pluies) puis de Novembre en Décembre 2017 (sècheresse). Après la récolte, a suivi le séchage à l'air ambiant dans un séchoir pendant une semaine, pour la plante entière *Acmella caulirhiza* qui a été pulvérisée par la suite afin d'obtenir une poudre qui pesait 571g tandis que la sève des racines de *Musanga cecropioides* a été gardé directement dans un réfrigérateur.

Extraction

Obtention de l'extrait aqueux la plante *Acmella caulirhiza*: nous avons utilisé la macération à l'eau à 10%. Après 72h, le contenu de chaque erlenmeyer a été filtré avec du papier Watman n°2 et séché à l'étuve à 50°C pendant quatre jours. Notre rendement a été évalué selon la formule suivante:

$$\text{Rdt} = (\text{M.F}) / (\text{M.I}) \times 100$$

Rdt = Rendement; M.F = masse finale ; M.I = masse initiale.

Pour la sève des racines de la plante *Musanga cecropioides*: elle a été conservée dans un réfrigérateur et utilisé directement lors des travaux.

Screening qualitatif et quantitatif

Pour ce qui est de l'extrait hydraulique d'*Acmella.c*: nous avons prélevé et pesé 1g de notre extrait, que nous avons dissous dans de l'eau distillée à l'aide d'un agitateur magnétique. Ce mélange a été filtré puis, en fonction du nombre de métabolites secondaires recherchés, dans vingt tubes à essai a été versé 1 à 2ml de notre extrait filtré et les réactifs en fonction du métabolite recherché.

En ce qui concerne la sève de *Musanga.c* elle a été filtrée, puis 1 à 2ml de sève a été versé dans vingt tubes à essai en fonction du nombre de métabolites secondaires recherchés et les réactifs en fonction du métabolite recherché (alcaloïdes, composés phénoliques des terpenoïdes, les stérols, des coumarines, des flavonoïdes, des tanins et des Saponosides).

Test de cicatrisation in vivo

Ce test consiste à induire des plaies sur le dos des animaux préalablement anesthésiés puis à les traiter avec notre extrait aqueux et notre sève.

L'observation des animaux a été effectuée pendant 21 jours. Tout en respectant les conditions de préparation des animaux présentées ci-dessus nutriments et eau [22], 48 rats de la souche Wistar ayant un poids moyen de 177g ont été divisé en huit groupes de six rats chacun et acclimatés pendant trois jours dans des cages individuelles étiquetées en fonction du traitement qu'ils recevront.

2. Induction des plaies

A l'exception du groupe 1, les autres groupes de rats ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intrapéritonéale de 0,25ml du mélange Kétamine/Diazépam (50mg/ml)/(10mg/2ml) [23]. Une fois les rats anesthésiés, ils ont été placé en décubitus ventral sur la paillasse. Ils y étaient maintenus à l'aide du scotch transparent à l'extrémité des membres supérieurs et inférieurs. Les poils de leurs régions cervicales ont été rasés tout en prenant soin d'éviter les lésions cutanées. La peau a été ensuite désinfectée à l'aide de l'alcool chirurgical de 70° et d'une solution antiseptique à base de povidone iodée [24]. Avant l'excision, la profondeur de l'anesthésie a été évaluée par la disparition des différents réflexes, la disparition des mouvements volontaires, ainsi que la disparition des réponses lors de stimulation douloureuse, comme le pincement des espaces interdigitales, ou de la base de la queue. Un gabarit a été utilisé (carré confectionné de large de 2,5 cm de longueur et de largeur) pour marquer le dos de l'animal. Ensuite, sur le lieu de l'excision marqué ; une excision dermique profonde du lambeau de peau a été faite [25]. Après la réalisation des plaies, celles-ci étaient traitées selon le groupe auquel chaque rat appartenait. Puis, ceux-ci étaient placés dans une cage individuelle, dans un endroit calme et chaud et laissé rétablir de l'anesthésie. Les plaies n'ont pas été protégées par un pansement.

Traitement par groupes

Groupe 1: contrôle sain sans plaie,

Groupe 2: contrôle négatifs: rats avec des plaies sans traitement,

Groupe 3: contrôle positif: rats avec des plaies traitées avec du L-MESITRAN,

Groupe 4: rats avec des plaies traitées avec une

compresse imbibée de 3 ml de la sève des racines de M.c,
Groupe 5: rats avec des plaies traitées avec 500 mg/kg de l'extrait total d'A.c,

Groupe 6: rats avec des plaies traitées avec 125 mg/kg d'extrait total d'A.c après avoir nettoyé la plaie avec une compresse imbibée de 3 ml de sève de M.c

Groupe 7: rats avec des plaies traitées avec 250 mg/kg d'extrait total d'A.c après avoir nettoyé la plaie avec une compresse imbibée de 3 ml de sève de M.c et le

Groupe 8: rats avec des plaies traitées avec 500 mg/kg d'extrait total d'A.c après avoir nettoyé la plaie avec une compresse imbibée de 3 ml sève de M.c.

Évaluation de l'évolution de la cicatrisation

Dans l'optique d'évaluer l'évolution de la cicatrisation, des tissus de granulation ont été prélevés au jour 4, 8, 12, 16 et 21 [26] afin d'évaluer la présence des cellules inflammatoires, du collagène, des fibroblastes et l'angiogenèse. Ceci s'est fait sous anesthésie des rats, et le prélèvement des croûtes couvrant toute la surface de la plaie à l'aide d'une pince. Les échantillons ont par la suite été pesés afin d'avoir la masse humide puis séchés à l'étuve à 50°C enveloppés dans du papier aluminium pendant 24 h et repesés afin d'avoir la masse sèche [27]. Un seul échantillon par groupe a été fixé dans du formol 10 % jusqu'à analyse histologique. Tous les pots ont été identifiés (groupes, et jour de prélèvement).

L'aspect macroscopique des plaies a été également évalué dans les différents groupes tous les deux jours à l'aide d'un score d'évaluation mis sur pied par Qiu C en 2003 [28] afin d'évaluer L'inflammation en recherchant la présence de tuméfaction, rougeur et d'exsudat. Une note de 0 à 3 a été attribué pour déterminer chaque paramètre (dimension, tuméfaction, exsudat, rougeur) puis les quatre notes ont été additionnées. Un score de 0 indiquerait une meilleure évolution de la plaie et un score maximal de 12 indiquerait le pire.

La fermeture ou contraction de la plaie quant à elle a été évaluée dans les différents groupes tous les deux jours par mesure à l'aide d'une règle graduée des dimensions des plaies dans le sens de la longueur et de la largeur. La formule suivante a été utilisée pour déterminer le taux de contraction de chaque plaie [29]

Taux de contraction = (surface J0 – surface Jn/surface J0) X 100

Surface = longueur mesurée X largeur mesurée de la plaie

Ensuite, les moyennes de toutes ces données et les écart-types ont été calculés. Les moyennes ont été analysées en utilisant L'analyse de la variance (ANOVA). Une valeur de p<0.05 était considérée comme significative.

3. Toxicité aigüe: par voie orale

30 rats adultes et sains de la souche Wistar répartis en 6 groupes de 5 rats chacun dont 10 (5 mâles et 5 femelles) pour les tests ont été pris par plantes et 10 rats (5 mâles et 5 femelles) pour les groupes témoins. Ceux-ci ont été placés dans des cages individuelles (six cages de cinq rats), et acclimatés à une température du local expérimental réglée à 20°C (±3°C) et le taux d'humidité compris entre 50 et 60. Ils ont été également mis sous une alternance de 12 heures de lumière et d'obscurité et nourris. 18 à 24h avant l'essai, ils ont été mis à jeun tout en recevant uniquement de l'eau. Le jour du test, les rats ont été pesés et ont reçu les doses à des volumes calculés en fonction de leur poids de la manière suivante: les groupes tests femelles et mâles de chaque plante ont reçu chacun la dose de 5000 mg/Kg pour ce qui est d'Acmella.c et de 3 ml/g pour Musanga.c. Les témoins quant à eux ont reçu de l'eau distillée à la dose de 10 mg/kg. Après administration des différentes doses les animaux ont été observés pendant: 15, 30 et 60 minutes afin de déceler des signes éventuels de toxicité puis quotidiennement pendant 14 jours. A la fin de l'observation des nutriments pesés à l'avance et 300 ml d'eau ont été donnés aux rats. Les paramètres observés pendant les 14 jours étaient les suivants : le poids (diminution ou augmentation), la salivation, la prise alimentaire (l'appétit augmente ou diminue), la prise hydrique, l'attitude et les positions adoptées par les rats (agitation, calme), la survenue d'une mort et d'autres comportements (grattage, nettoyage). Après les 14 jours, les rats ont été sacrifiés et 11 organes (testicules, ovaires, cœur, poumons, rate, reins, surrénales et le cerveau) ont été prélevés et pesés. Puis le foie et les reins après pesage ont été conservé dans du formol à 10% pour un examen histopathologique afin d'évaluer les différences structurales des tissus des témoins et de ceux sur traitement de même que le dosage de certains paramètres biochimiques a été fait à l'aide d'un spectrophotomètre afin d'évaluer l'impact de ces plantes sur les reins et le foie (les protéines totales et la créatinine pour les reins; les transaminases pour le foie).

RESULTATS

Le rendement de l'extraction de la plante était de **15,79%**, de couleur noire et un aspect pateux et cristallin.

Screening phytochimique

Les réactions en tubes ont révélées la présence de certains groupes chimiques notés dans le Tableau I. Ce tableau montre que la plante *Acmella.c* était riche en polyphénols, mucilages et coumarines. Tandis que *Musanga.c* avait un taux élevé en polyphénols et saponosides.

Tableau I: Composition phytochimique de la plante entière *Acmella.c* et de la sève *Musanga.c*

	Alcaloïdes	Polyphénols	Saponosides	Mucilages	Coumarines	Flavonoïdes	Tanins	Stéroïdes
A.c	-	++	-	++	++	-	-	-
M.c	-	++	++	-	-	-	-	-

+++ : Réaction très positive,

++ : Réaction moyennement positive

- : Réaction negative

Activité anti cicatrisation in vivo

Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique a été évalué par un score d'évaluation Qiu C. Le Tableau II présente la comparaison des moyennes des scores de l'aspect des plaies au jour 4, 8, 12, 16 et 21. L'analyse des résultats révélait une

amélioration de l'aspect des plaies par une diminution de la tuméfaction, des exsudats et de la rougeur, se traduisant par une diminution non significative avec une p-value > 0,05 des paramètres ci-dessus cités. Le plus grand rendement était obtenu avec le mélange constitué de la plante à la dose de 500 mg/kg et la sève.

Tableau II: Évaluation de l'aspect des plaies au cours du traitement

Jours	4	8	12	16	21
Control négatif	11,25 ± 0,96	9,25 ± 4,27	10,75 ± 2,36	6,75 ± 2,87	1,00 ± 0,20
Control positif	11,00 ± 2,00	8,00 ± 5,42	9,00 ± 1,41	6,75 ± 1,50	1,00 ± 0,71
Sève de M. c	10,50 ± 2,38	7,25 ± 3,10	10,00 ± 2,83	7,25 ± 3,20	2,00 ± 0,27
A.c 500 mg/kg	10,75 ± 2,50	8,00 ± 3,16	9,25 ± 2,36	7,00 ± 1,63	3,67 ± 1,41
A.c 125 mg/kg + Sève	12,25 ± 0,50	7,25 ± 2,06	8,25 ± 3,30	4,75 ± 2,50	2,00 ± 1,41
A.c 250 mg/kg + Sève	11,25 ± 0,96	8,00 ± 2,45	9,00 ± 2,58	4,50 ± 2,38	1,67 ± 0,71
A.c 500 mg/kg + Sève	11,25 ± 1,50	7,00 ± 3,37	5,50 ± 2,52	4,00 ± 2,58	0,67 ± 0,07

Surface des plaies

L'évolution des dimensions des surfaces des plaies durant toute la période d'expérimentation, leurs moyennes et écart-type ont calculé et représenté dans le Tableau III. D'une façon générale, nous avons constaté une réduction des surfaces moyennes des plaies dans les sept groupes

mais, de façon inégale avec des taux élevés au jour 12 et au jour 21 dans les groupes prenant le mélange des deux plantes. Les mesures relevées ont été mentionnées, au jour 4, 8, 12, 16 et 21 ensuite les moyennes des surfaces et les écart-types ont été calculés.

Tableau III: Surface des plaies au cours du traitement (en cm²)

Jours	4	8	12	16	21
Contrôle négatif	8,84 ± 3,03	3,87 ± 0,55	2,03 ± 0,87	1,19 ± 0,08	0,27 ± 0,03
Contrôle positif	8,86 ± 2,83	2,06 ± 0,63	1,70 ± 0,71	1,14 ± 0,58	0,15 ± 0,13
Sève M.c	7,04 ± 0,44	2,34 ± 0,09	1,43 ± 0,44	1,14 ± 0,58	0,18 ± 0,08
A.c 500 mg/kg	6,98 ± 0,63	2,25 ± 0,38	1,29 ± 0,55	0,52 ± 0,30	0,17 ± 0,09
A.c 125 mg/kg + sève	6,33 ± 1,60	2,15 ± 0,50	1,01 ± 0,48	0,46 ± 0,26	0,19 ± 0,08
A.c 250 mg/kg + sève	7,52 ± 1,68	2,37 ± 0,63	0,99 ± 0,18	0,41 ± 0,13	0,17 ± 0,09
A.c500 mg/kg + sève	6,65 ± 1,74	2,05 ± 0,34	0,92 ± 0,41	0,29 ± 0,02	0,13 ± 0,10

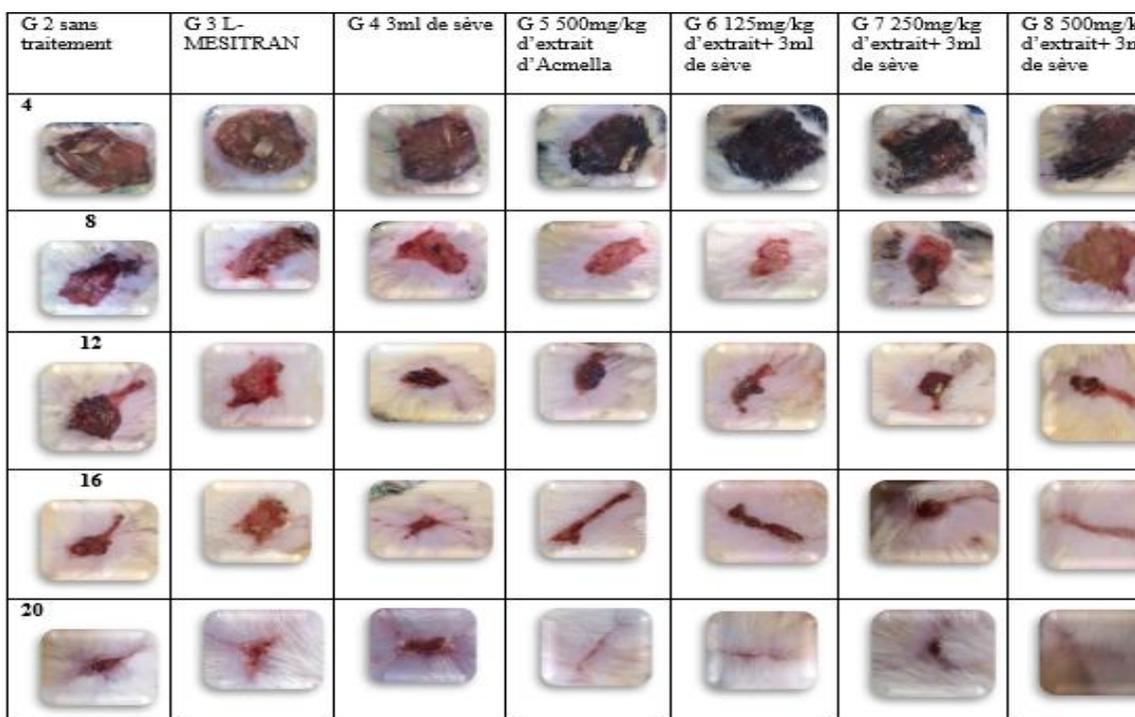
Pourcentage de contraction

L'analyse des variations des pourcentages de contraction, montraient une élévation de l'activité cicatrisante non significative des plantes et les différentes combinaisons, ainsi que le groupe contrôle positif du quatrième et douzième jour avec une p-value > 0,05 (Tableau IV et Figure 1). Au seizième jour, on observait une augmentation de l'activité cicatrisante significative de la

sève et des différentes combinaisons de la plante et de la sève, avec une p-value < 0,05 pour la sève et une p-value < 0,01 pour la plante et différentes compositions. Une élévation significative de l'activité cicatrisante est observée au jour 21 pour la sève de *Musanga.c* et une élévation non significative pour les autres groupes d'études (Figure 1).

Tableau IV: Pourcentages de contraction des plaies au cours du traitement

Jours	4	8	12	16	21
Control Négatif	14,49 ±2,21	52,67 ±26,48	70,71 ±9,87	79,98±10,03	94,41±2,56
Control positif	12,86±1,61	75,74±4,77	84,03±5,75	89,59±5,07	98,03±2,49
Sève de M.c	29,55±7,94	75,40±3,77	85,97±4,46	92,61±2,44*	98,35±0,63*
A.c 500 mg/kg	33,46±4,24	78,13±4,82	88,43±4,53	94,76±3,20**	98,23±0,91
A.c 125 mg/kg + Sève M.c	22,51±12,23	70,16±8,44	86,07±7,90	93,84±3,68**	97,44±1,48
A.c 250 mg/kg + Sève M.c	22,28±12,89	76,73±4,31	89,86±1,69	95,74±1,42**	98,12±1,30
A.c 500 mg/kg + Sève M.c	24,45±1,91	73,16±10,89	88,89±6,18	96,23±1,33**	98,57±1,13



Toxicité aigüe

Cinétique de l'évolution pondérale des animaux

Les valeurs obtenues pour le gain de poids entre les groupes d'animaux étaient de 55,60 ± 6,54 g pour le groupe contrôle mâle, 62,40 ± 17,56 g pour le groupe test mâle, 41,00 ± 6,56 g pour le groupe contrôle femelle et de 56,20 ± 6,26 g pour le groupe test femelle, soit une augmentation non significative du poids des animaux des groupes tests vis-à-vis des groupes contrôles avec une *p-value* > 0,05. la plante n'affecte donc pas l'évolution pondérale des animaux.

Évaluation des paramètres zootechniques

Pour la prise alimentaire, les valeurs obtenues étaient de 156,46 ± 52,17 g pour le groupe contrôle négatif, 186,31 ± 14,53 g pour le groupe test mâle, 184,54 ± 11,63 g pour le

groupe contrôle femelle et 160,46 ± 68,47 g pour le groupe test femelle avec une *p-value* > 0,05.

En ce qui concerne la prise hydrique, les valeurs obtenues étaient de 169,38 ± 44,78 ml pour le groupe contrôle mâle, 153,38 ± 22,31 ml pour le groupe test mâle, 119,46 ± 17,57 ml pour le groupe contrôle femelle et 133,92 ± 36,70 ml pour le groupe test femelle et une *p-value* > 0,05.

Poids des organes

Les résultats obtenus ne révélait de modifications significatives du poids des organes entre les groupes d'études avec une *p-value* > 0,05. Les valeurs étaient présentées en termes de moyenne ± écart-type (n=5) (Tableau V), la différence entre les organes est supposée significative pour une valeur-*p* < 0,05

Tableau V: Poids des organes

Organes		Contrôle mâle	Test mâle	Contrôle femelle	Test femelle
Foie		4,24 ± 0,19	3,85 ± 1,12	3,95 ± 1,19	3,92 ± 1,09
Cerveau		0,86 ± 0,07	0,76 ± 0,04	0,97 ± 0,26	0,93 ± 0,26
Poumons		0,91 ± 0,21	0,62 ± 0,23	0,69 ± 0,24	0,61 ± 0,22
Pancréas		1,08 ± 0,38	0,67 ± 0,32	0,67 ± 0,36	0,60 ± 0,29
Cœur		0,30 ± 0,03	0,31 ± 0,08	0,32 ± 0,08	0,31 ± 0,08
Reins	Gauche	0,35 ± 0,04	0,32 ± 0,09	0,34 ± 0,09	0,35 ± 0,09
	Droit	0,35 ± 0,04	0,34 ± 0,09	0,35 ± 0,09	0,36 ± 0,0
Surrénales	Gauche	0,01 ± 0,002	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,006
	Droit	0,01 ± 0,005	0,01 ± 0,004	0,01 ± 0,005	0,02 ± 0,005
Testicules/Ovaires	Gauche	0,95 ± 0,11	0,93 ± 0,45	0,48 ± 0,03	0,45 ± 0,03
	Droit	0,97 ± 0,10	0,92 ± 0,46	0,49 ± 0,03	0,45 ± 0,03

Dosage biochimique

L'analyse des résultats a révélé une diminution non significative de la concentration protéique chez les animaux ayant reçu la plante, avec une p-value > 0,05.

Une augmentation non significative de l'activité de la créatinine dans le groupe test mâle, et une diminution non significative dans le groupe test femelle avec une p-value > 0,05.

Une augmentation significative de l'activité de l'ALAT chez les groupes ayant reçu la plante à la dose de 5000 mg/kg, avec une p-value < 0,05 pour le groupe test mâle et une p-value < 0,01 pour le groupe test femelle. Cependant on observe une diminution non significative de l'activité de l'ASAT chez les groupes test comparé aux groupes contrôle, avec une p-value > 0,05 (Tableau VI).

Tableau VI: Résultats biochimiques d'Acmella.c

Paramètres	Contrôle mâle	Test mâle	Contrôle femelle	Test femelle
Protéines totales (mg/dl)	114,74 ± 26,62	104,11 ± 3,34	114,21 ± 19,10	104,37 ± 7,88
Créatinine (UI/L)	92,61 ± 14,58	108,69 ± 1,52	143,12 ± 14,58	120,98 ± 14,42
ALAT (UI/L)	18,74 ± 9,64	50,05 ± 8,58*	10,83 ± 1,04	49,88 ± 9,78**
ASAT (UI/L)	30,73 ± 21,91	19,73 ± 2,5	36,67 ± 28,51	18,40 ± 1,90

DISCUSSION

Une étude phytochimique a été réalisée pour la détermination des groupes chimiques par des réactions en tubes et il a révélé pour ce qui est de la plante entière *Acmella.c*: la présence modérée de coumarines, de mucillages, et de polyphénols comparé aux résultats de Jespher Nyaboke Onyango et al., 2017 [31] qui ont révélé la présence des flavonoides, terpenoides, coumarines et stérols et de Latifou Lagnika et al 2016 [32] qui ont révélé la présence des tannins, saponosides et coumarines. L'étude phytochimique de *Musanga.c* a révélé la présence de saponosides et de polyphénols comparé aux résultats de Uwah en 2013[33] qui a révélé la présence de tannins et d'oxalate. Cette différence de résultats peut être due à la nature du solvant d'extraction, la période de récolte, la composition du sol et l'âge de la plante récoltée.

La richesse de ces plantes en métabolites secondaires justifie leur grande efficacité en usage thérapeutique traditionnel. Les polyphénols retrouvés dans ces deux plantes, sont connus pour leurs propriétés antibactériennes, antiseptiques, antioxydantes, anti-inflammatoires et antiallergiques d'après les travaux de Mihaela Georgescu, en 2016 [34]. Il a été également démontré que les coumarines possèdent des propriétés anti-aggrégant plaquétaires, anti-inflammatoires, antimicrobien et analgésique. Par ailleurs, les saponosides sont connus pour leur effet anti-inflammatoire et anti-œdémateux d'après les travaux d'Ikegami et al 2006 [35]. Enfin, Les mucilages quant à eux, considérés comme des constituants cellulaires normaux sont très recherchés pour leurs propriétés laxatives et cicatrisantes. Ces deux plantes ont fait l'objet de plusieurs études scientifiques, et les utilisations traditionnelles recueillies au niveau de la littérature et lors des enquêtes ethno-botaniques révèlent les différentes propriétés dont ces groupes chimiques isolés pourraient être responsables.

Dans les conditions naturelles, la contraction est la principale voie de cicatrisation. L'étude planimétrique autorise donc une évaluation quantitative directe par le calcul de la surface de la plaie, de son évolution dans le temps et par déduction une appréciation de la qualité du tissu de granulation d'après les travaux de Farahaniet Kloth en 2008 [36]. L'aspect visuel des plaies est évalué

par un score émis par Qiu C en 2003, et l'analyse histologique permet le suivi des phénomènes sur un plan microscopique. L'évaluation de l'aspect macroscopique des plaies qui apparaissent moins enflammées avec l'évolution des jours, suggère que la plante est capable de moduler la réponse inflammatoire. Les travaux de Bahramikia et Yazdanparast en 2012 [37] rapportent aussi que l'accélération du processus cicatriciel peut être liée au pouvoir anti-inflammatoire par la formation de complexes neutralisant de nombreux agents irritants. La réponse inflammatoire étant stimulée par la présence de bactéries, virus ou des champignons d'après de White et Cutting en 2008 [38], il est probable que l'activité anti-microbienne des deux plantes contribue à son activité anti-inflammatoire. Uwah et al 2013 [33] ont mis en évidence une remarquable activité antibactérienne de la sève de *Musanga.c* contre les bactéries Gram positive et Gram négative de même qu'une activité anti-fongique et de Shefali Arora et al., 2011 [39] pour *Acmella.c*. Ces propriétés anti-inflammatoires et anti-bactériennes sont à l'origine d'une atténuation voire une disparition rapide des signes de l'inflammation, à savoir rougeur, chaleur, œdème, exsudation et douleur d'après les travaux d'Alahtavakoli en 2010 [40].

Quant à la diminution des surfaces des plaies, les groupes ayant reçu le traitement à base de plante, plus spécifiquement le groupe huit avaient des surfaces plus réduites que les groupes témoin et le contrôle positif. Pour ce qui est du taux de contraction des plaies, celles traitées avec nos plantes ont montrées une meilleure évolution avec des valeurs significatives au jour 16 avec une P<0,05. Par ailleurs au jour 21, elles se sont contractées respectivement de 94.41% pour le groupe témoin (Groupe 2), 98.03% pour le groupe traité avec le L-mesitran (Groupe 3), 98.35% pour le groupe traité avec 3 ml de sève de *Musanga.c* (Groupe 4), 98.23% pour le groupe traité avec 500 mg/kg d'extrait aqueux d'*Acmella.c* (Groupe 5), 97,44% pour le groupe traité avec 125 mg/kg d'extrait d'*Acmella.c* plus 3 ml de sève de *Musanga.c* (Groupe 6), 98,12% pour le groupe traité avec 250 mg/kg d'extrait d'*Acmella.c* plus 3 ml de sève de *Musanga.c* (Groupe 7) et 98,57% pour le groupe traité avec 500 mg/kg d'extrait d'*Acmella.c* plus 3 ml de sève de *Musanga.c* (Groupe 8). Ce taux de contraction pourrait

s'expliquer par la présence de myofibroblastes dont le groupe huit semble en être plus fourni résultats en accord avec ceux de Yamane et al., 2016 [41]. L'activité cicatrisante de nos deux plantes peut également être liée à son activité antioxydante en détruisant les radicaux libres au sein de la plaie. Cette haute activité antioxydante est liée aux différentes composantes principalement les polyphénols et les coumarines. Et le retard de cicatrisation des plaies traitées par le L-mésitran par rapport aux autres groupes peut s'expliquer par un taux élevé de vitamine E lors des traitements.

Les différentes parties d'*Acmella caulirhiza* et *Musanga cecropioides* sont utilisées à des fins thérapeutiques par nos populations sans qu'aucun signe toxique apparent ne soit rapporté. L'évaluation scientifique de cette réputation requière l'étude de l'impact de ces plantes sur l'organisme à court, moyen ou long terme. D'où l'étude entreprise de la toxicité aigüe par voie orale. Après administration de la dose unique de 5000 mg/kg d'extrait aqueux d'*Acmella.c* et de 3 ml pour 100 g de poids corporel de *Musanga.c*, les rats ont été observés pendant une heure au cours de laquelle aucuns signes anormaux n'ont été observés. Tout au long et à la fin des quatorze jours, nous avons observé une augmentation non significative du poids corporels des rats, aucune perte d'appétit liée directement ou indirectement aux effets de l'extrait et aucune mort n'a été enregistrée.

En ce qui concerne les dosages biochimiques d'*Acmella.c* nous avons observé: une diminution non significative du taux de protéines, une augmentation non significative de l'activité de la créatinine dans le groupe test mâle, et une diminution non significative dans le groupe test femelle, pour ce qui est du taux d'ALAT il était significativement élevé, et l'ASAT non significativement basse. Ces résultats sont légèrement en accords, avec les travaux de Latifou Lagnika effectués sur l'extrait aqueux des feuilles de la plante en 2016 [32] qui révèle une augmentation du taux sanguin de la créatinine, une baisse de l'ASAT et de l'ALAT à la dose de 2000 mg/kg. Pour ce qui est de *Musanga.c*: nous avons observé une augmentation non significative du taux d'ALAT par rapport à l'ASAT qui est relativement basse, une créatinine élevée pour les deux sexes et des protéines totales élevées uniquement chez les mâles. Ces résultats sont en accords avec les travaux de Adeneye et al effectués sur l'extrait aqueux de l'écorce du tronc de la plante en 2006 [42] qui révèle également une augmentation du taux sanguin de la créatinine à la dose de 3000 mg/kg.

Les organes prélevés à la fin du traitement (reins, foie, cœur, poumons, testicules, ovaires, surrénales rate), n'ont connu aucune variation significative de leur poids ni de leur structure histologique démontré par aucune différence entre les différentes coupes. Ces résultats d'*Acmella.c*

suggèrent qu'elle serait susceptible d'entraîner une malnutrition légère due à la baisse de la valeur protéique et une cytolysé hépatique par l'augmentation de l'ALAT et serait sans effet sur les autres organes en occurrence les muscles et le cœur. Quant à la sève de *Musanga.c*, elle affecterait le foie et les reins. Aucune mort n'ayant été enregistrée la dose létale LD50 n'a pas été estimée pour les deux plantes dosées à 5000 mg/kg pour *Acmella.c* et 3 mL Pour *Musanga.c*.

Musanga.c et *Acmella.c* sont très utilisés dans nos localités, et ce travail présente des résultats d'une expérimentation réalisée pour évaluer les effets cicatrisants de ces plantes. Afin d'atteindre notre but, nous avons réalisé un screening phytochimique qui nous a révélé la présence de polyphénols, des coumarines et mucilages pour ce qui est d'*Acmella.c* et de polyphénols et saponosides pour ce qui est de *Musanga.c*. Par la suite, nous avons réalisé le test de cicatrisation proprement dit en utilisant trois doses pour le traitement (125 mg/kg, 250 mg/kg, et 500 mg/kg plus 3 ml/100g de sève). Les résultats obtenus étaient tout à fait intéressant quant à la qualité de la cicatrisation des plaies cutanées, qui semblait meilleure chez les sujets ayant reçu un traitement à base des deux plantes. Les signes de l'inflammation dans les plaies traitées avec elles, sont moins marqués qu'au niveau des plaies traitées avec le médicament de référence et les témoins qui présentent une inflammation persistante jusqu'au seizième jour.

CONCLUSION

Les deux plantes ont une activité cicatrisante, en accord avec l'efficacité qui leur est reconnue dans la médecine traditionnelle et elles agiraient en synergie. Cette activité cicatrisante s'expliquerait par la présence de métabolites secondaires tels que les polyphénols et les coumarines riches par leurs propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydantes. Quant au test de toxicité aigüe, il suggère qu'*Acmella.c* entraînerait une cytolysé hépatique et une atteinte rénale, de même que pour la sève des racines de *Musanga.c*. Bien que n'ayant entraîné aucune mort, les plantes doivent toutefois être utilisées avec précaution.

Remerciements

- Université de Yaoundé I, Cameroun;
- Département de pharmacotoxicologie de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales, Université de Yaoundé I, Cameroun;
- Laboratoire d'études pré-cliniques sur les animaux et recherche pharmacotoxicologique de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicale de l'Université de Yaoundé I, Cameroun.

RÉFÉRENCES

- [1]. Boutonnat D.J. Histologie étude des tissus. Chapitre 9 : La peau. 2008 ; 1-50.
- [2]. FDA Executive Summary Classification of Wound Dressings Combined with Drugs. 2016; 1.
- [3]. Gould L.J, Fulton. Wound Healing in Older Adults. 2016; 34–36.
- [4]. Begay C. Wound Healing Model. American Indian Health Management Policy. 2012 ; 1-10.
- [5]. Ressources végétales de l'Afrique tropicale (PROTA). 2017 ; 1-6.

- [6].Sowemimo.A, Okwuchuku.E, Samuel F.M, Ayoola.O, Mutiat.I. *Musanga cecropioides* leaf extract exhibits anti-inflammatory and anti-nociceptive activities in animal models. Brazilian J Pharmacogn. Sociedade Brasileira de Farmacognosia. 2015 ;25(5) :506–512.
- [7].Uwah A.F, Otitoju.O, Ndem.J. I, Peter A.I. Chemical composition and antimicrobial activities of adventitious root sap of *Musanga cecropioides*. Der Pharm Lett. 2013 ;5(2) :13–16.
- [8].Kadiri A.B and Ajayi G.O. Phyto-anatomical characteristics of the west African *Musanga cercropioides* M. *Smithii* R.Br. (Moraceae) ; indian journal of science and technology 2009 ;2(7): 1-7.
- [9].Tchouya G.R.F, Nantia E.A. Phytochemical analysis, antioxidant evaluation and total phenolic content of the leaves and stem bark of *Musanga cecropioides* R . Br. ex Tedlie (Cecropiaceae), growing in Gabon. Journal of Pharmacogny Phytochemistry. 2015 ;3(5) :192–195.
- [10].Adeneye A.A, Ajagbonna O.P, Ayodele O.W. Hypoglycemic and antidiabetic activities on the stem bark aqueous and ethanol extracts of *Musanga cecropioides* in normal and alloxan-induced diabetic rats. Fitoterapia. 2007 ;78(7–8):502–505.
- [11].Adejuwon Adewale Adeneye.Protective activity of Stem Bark aqueous extract of *Musanga cercropioides* in carbon tetrachloride and Acetaminophène induced acute hepatotoxicity in rats. African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medecine.2009 ;6(2) :131-138.
- [12].Owolabi, Ayinde, Nworgu, Ogbonna. Antidiarrheal evaluation of the ethanol extract of *Musanga cecropioides* stem bark. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. 2010 ;32(6) :407-411.
- [13].Srinath.J, Lakshmi.T. Therapeutic potential of *Spilanthes acmella* - A dental note. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 2014 ;25(1) :151–153.
- [14].Pandey.V, Agrawal.V. Efficient micropropagation protocol of *Spilanthes acmella*L. Possessing strong antimalarial activity. 2009 ;491–499.
- [15].Makan Négué Diarra. Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *Spilanthes oleracea*JJacq. (Asteraceae) 2002-2003 ; 1-50.
- [16].Vikas sharma, Jente boonen, Nagendras.chauhan, Mayank thakur, Bart de Spiegeleer and V.K. Dixit.*Spilanthes acmella* ethanolic flower extract: LC-MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. 2011; 1- 23.
- [17].Barbas L.A.L, Stringheta G.R, Garcia.L, Figueiredo M.R.C, Sampaio L.A. Jambu, *Spilanthes acmella* as a novel anaesthetic for juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*: Secondary stress responses during recovery. Aquaculture. Elsevier B.V. 2016 ;70–75.
- [18].Singh.M, Chaturvedi.R. Screening and quantification of an antiseptic alkylamide, spilanthol from in vitro cell and tissue cultures of *Spilanthes acmella* Murr. Industrial Crops and Products 2012 ;36 : 321-328.
- [19].Prachayasittikul.V. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: A review. EXCLI J. 2013 ;12 :291–312.
- [20].Belfer W.A. Cosmetic compositions comprising peptides and *Acmella oleracea* extract to accelerate repair of functional wrinkles US Pat. 2007; 1-10.
- [21].Adamara M.Nascimento, Lauro M. de Souza , Cristiane H. Baggio, Maria Fernanda de P.Werner ,Daniele Maria-ferreira , et al. Phytochemistry. Gastroprotective effect and structure of a rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. Phytochemistry . Elsevier Ltd; 2013;85:137–142.
- [22].Nasiri.E, Hosseinimehr S.J, Akbari.J, Azadbakht.M, Azizi.S. The Effects of *Punica granatum* Flower Extract on Skin Injuries Induced by Burn in Rats. Hindawi Advances in Pharmacological Sciences .2017 ; 1- 50.
- [23].Kandemir, Sagliyan, Ozkaraca, Gunay, Han M.C, Benzer F. Effects of oral administrations of pomegranate seed extract on surgical wound healing in rabbits. Revue Méd. Vét.2013 ; 400-408.
- [24].Ahmed salim. Mechanisms of wound healing and gastro protective effects of ethanol leaf extract of *Jasminum Sambac* and *Hemigraphis Colorata* on HCl/ethanol-induced gastric injury in experimental animals. 2013 ; 1- 50.
- [25].Epa Charles, Elion Itou, Etou Ossibi, Attibayéba, Ongoka Pascal Robin, Abena Ange Antoine. Effet anti-inflammatoire et cicatrisant des extraits aqueux et éthanolique des écorces du tronc de *Buchholzia coriacea* Engl. (Capparidaceae). Journal of Applied Biosciences. 2015 ;8858–8868.
- [26].Manjula R.R, Uppuluri.S, Anand T.J, Adilakshmi.V. Wound healing effect of methanolic flower extract of *Bauhinia tomentosa*Linn. with emu oil in rats. 2017 ;6(1):247–253.
- [27].Kundu.A, Ghosh.A, Singh N.K, Singh G.K, Maura S.K, Hemalatha.S, et al. Wound healing activity of the ethanol root extract and polyphenolic rich fraction from *Potentilla fulgens*. 2016 ;209.
- [28].Qiu C, Coutinho.P, Frank.S, Franke.S, Law.L, Martin.P, Green C.R., Becker1 D.L. Targeting Connexin43 Expression Accelerates the Rate of Wound Repair. Current Biology, 2003 (30) 13 : 1697–1703.
- [29].Pillai S.I, Palsamy.P, Subramanian.S, Kandaswamy.M, Pillai S.I, Palsamy.P, et al. Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats. 2010 ;209.
- [30].Oecd/ocde 420. Ligne directrice de l'ocde pour les essais de produits chimiques. Toxicité aigüe par voie orale. 2001 ;1–14.
- [31].Nyaboke, J., Jared, O., Onyancha, M., Odhiambo, J. phytochemical studies of acmella caulirhiza and spermacoce princeae used by postpartum mothers in nyamira. 2017 ; 7(8), 591–599.
- [32].Lagnika, L., Amoussa, A. M. O., Adjileye, R. A. A., Laleye, A., Sanni, A. phytochemical assessment of extracts from *Acmella uliginosa* , a leafy-vegetable consumed in Bénin . West Africa. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.2016 ;1–11.
- [33].Uwah A.F, Otitoju O, Ndem J.I, Peter A.I. Chemical composition and antimicrobial activities of adventitious root sap of musanga cecropioides. Der Pharm Lett. 2013;5(2):13–16.
- [34].Georgescu, M., Chifiriuc, M. World ' s largest Science , Technology & Medicine Open Access book publisher. December. 2016; 1- 10.
- [35].Ikegami F, Sumino M, Fujii Y. Pharmacology and toxicology of Bupleurum root- containing Kampo medecines in clinical use. Hum.Exp.Toxicol, 2006; 25: 481-494.
- [36].Farahani R.M., Kloth L.C. The hypothesis of biophysical matrix contraction: wound contraction revisited. Int Wound Journal, 2008; 5 : 477–482.
- [37].Bahramikia S., Yazdanparast R. Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) *Phytother. Res.* 2012; 26: 1581–1593 .

- [38].White R., Cutting K. Critical colonisation of chronic wounds: microbial mechanisms. *Wounds UK*.2008;14(1). 1-10p
- [39].Shefali .A, Saurabh. V and Deepak . K. Phytochemical and antimicrobial studies on the leaves of *Spilanthes acmella*. *Journal of chemical and pharmaceutical research*. 2011 , 3(5) : 145–150.
- [40].Alahtavakoli A., Vazirinejad R., Ansari Jaber A., Negahban T., Mashayekhi H., Nazari M., Ghoreishi S., Nematollahi F. Effect of *Teucrium polium* extract on skin wound healing in rat. 2010; 1- 30.
- [41].Yamane LT, Paula E De, Jorge MP, Freitas-blanco VS De, Junior ÍM, Figueira GM, et al. *Acmella oleracea* and *Achyrocline satureioides* as Sources of Natural Products in Topical Wound Care. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016; 1- 15.
- [42].Adeneye, A, Ajagbonna, O, Adeleke, T. Bello, S. O. Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. 2006 ;374–379.