Available online at http://ajol.info/index.php/ijbcs

Int. J. Biol. Chem. Sci. 4(2): 456-463, April 2010

ISSN 1991-8631

International Journal of Biological and Chemical Sciences

Original Paper

http://indexmedicus.afro.who.int

Evaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux des feuilles de *Mitracarpus scaber Zucc* (Rubiacées), une plante médicinale de Côte d'Ivoire

S. L. KOUAKOU [1], G. S. KOUAKOU [2], I. DALLY LABA [3*] et J. K. BROU [4]

[1,2] *Laboratoire de Pharmacologie et de Physiologie. UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Cocody (Abidjan).Côte d'Ivoire. BP V 34 Abidjan 01.*

[3] *Laboratoire de Pharmacie galénique et Biopharmacie. UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Cocody(Abidjan).Côte d'Ivoire. 22 BP 1609 Abidjan 22.*

[4] *Chef du Laboratoire de Pharmacologie et de Physiologie. UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Cocody (Abidjan).Côte d'Ivoire. BP V 34 Abidjan 01*

[*]*Auteur correspondant ; E-mail : dismaelfr@yahoo.fr; Laboratoire de Pharmacie galénique et Biopharmacie. UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Cocody (Abidjan).Côte d'Ivoire. 22 BP 1609 Abidjan 22 ; Tel : 00 (225) 07 69 79 04*

RESUME

Le recours constant et même grandissant par les populations économiquement faibles à la pharmacopée traditionnelle n'est plus discutable puisque de nombreuses recettes traditionnelles font et continuent de faire leurs preuves d'efficacité dans plusieurs pathologies comme le paludisme, les infections virales, le cancer, les infections bactériennes et fongiques. C'est dans ce but que notre équipe a étudié l'activité analgésique centrale et périphérique de l'extrait aqueux des feuilles de *Mitracarpus scaber* (EAMS) une plante utilisée en médecine traditionnelle pour soulager des maux de tête et des douleurs des membres. Nous avons testé les concentrations suivantes : 10 mg/kg de poids corporel (PC); 1 mg/kg PC et 0,1 mg/kg PC du lyophilisat issu du macérât aqueux des feuilles de *Mitracarpus scaber* sur des souris de type *Mus musculus* par le test d'Amour et Smith et le writhing test à l'acide acétique. Les résultats obtenus montrent que l'extrait de feuilles de *Mitracarpus scaber* à la dose de 10 mg/kg PC possède d'une part une activité analgésique centrale comparable à celle de la morphine après administration aux souris, et d'autre part une activité analgésique périphérique supérieure à celle du ketoprofène dosé à 10 mg/kg PC. Nos résultats confirment l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Mitracarpus scaber* comme analgésique.

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved

Mots clés : Extrait de plante**,** douleur, souris.

INTRODUCTION

Les produits naturels occupent une place importante dans la découverte de nouveaux médicaments. On estime que près de 50% des agents thérapeutiques utilisés actuellement sont de sources naturelles (plantes, champignons et animaux) (Sofowora, 1993).

On estime également que moins de 10% des espèces végétales ont été étudiées pour leurs activités biologiques. Pour l'OMS, plus de 80% (Sofowora, 1993) des populations africaines ont constamment recours à la médecine traditionnelle et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux

© 2010 International Formulae Group. All rights reserved

problèmes de santé compte tenu du problème de coût et d'accessibilité des spécialités.

C'est dans ce cadre que les auteurs ont eu recours, parmi les plantes très utilisées en Côte d'Ivoire, à *Mitracarpus scaber* (rubiacées), une herbe annuelle, utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des infections de la peau (dartre, teignes) et également pour soulager les maux de tête, ainsi que les douleurs des membres.

De nombreuses études scientifiques ont mis en évidence ses propriétés antifongiques (Ekpendu, 1994 ; Irobi, 1994 ; Bisignano, 2000) et ont toutes confirmé cette activité conformément aux résultats des enquêtes ethnobotaniques réalisées sur cette plante. Cependant, aucune étude ne fait référence à une quelconque activité antalgique souvent attribuée, en médecine traditionnelle, aux feuilles de cette espèce végétale.

La présente étude vise à évaluer l'activité antalgique souvent attribuée à l'extrait aqueux des feuilles *Mitracarpus scaber (EAMS)*.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Il est constitué des feuilles de *Mitracarpus scaber*, récoltées à Abobo-Ayama (forêt du banco), une ville située à 5 km de la capitale économique de la Côte d'Ivoire. Elles ont été lavées avec l'eau du robinet, puis séchées à l'étuve à 60 °C. Après le séchage, les feuilles ont été pulvérisées dans une broyeuse de type Retsh sm 100.

Matériel animal

L'étude a porté sur des souris type *Mus musculus*, sans distinction de sexe et pesant entre 18 et 29 g. Ces souris sont acclimatées pendant une semaine à 25 °C avant l'expérimentation.

Préparation de l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* (EAMS)

Les extraits aqueux ont été obtenus en utilisant 100 g de poudre mélangé à 1 litre d'eau distillée. Ce mélange est agité pendant 24 h par un agitateur magnétique (Agimatic-N). L'homogénat obtenu est d'abord filtré sur du coton hydrophile, puis sur du papier filtre Wattman 3 mm. Par la suite, le filtrat est lyophilisé dans un lyophilisateur de type Telstar cryodos-80. A partir du lyophilisat, nous avons réalisé une gamme de concentration (10 mg/kg de PC, 1 mg/kg de PC, 0,1 mg/kg de poids PC.

Méthode d'étude de l'activité analgésique

L'activité analgésique sera étudiée selon ses composantes centrales et périphériques.

Test du Tail flick

La méthode utilisée est celle décrite par D'Amour et Smith (1941) et modifiée par Gray et al. (1972). Les souris sont reparties en 5 lots de 5 souris chacun. La morphine est administrée aux souris du lot de référence à raison de 10 mg/kg de poids corporel, et chaque concentration de l'EAMS est administrée à trois lots de souris à raison de 10 mg/kg de PC, 1 mg/kg de PC, et 0,1 mg/kg de PC.

L'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber*, et la morphine sont dilués dans de l'eau physiologique (Nacl 0,9%) et administrés 30 minutes avant l'irradiation de la queue, l'extrait aqueux est administré par gavage à raison de 0,2 ml/20g de poids corporel, tandis que la morphine est injectée par voie intrapéritonéale à raison de 10 mg/kg de PC.

Un lot de 5 souris reçoit parallèlement de l'eau physiologique (Nacl 0,9%) par gavage à raison de 0,2 ml/20g de PC et constitue notre lot témoin.

Le dispositif expérimental utilisé pour produire la chaleur est le Tail Flick, model DS20 qui est un appareil composé d'une ampoule émettant une chaleur irradiante de 55 à 60 °C, d'un chronomètre qui est déclenché en même temps que la source de chaleur irradiante, et d'une cellule photoélectrique qui arrête automatiquement le chronomètre dès que l'animal retire sa queue. Au début de chaque épreuve, la souris est immobilisée dans une cage en plexiglas, la queue de l'animal est positionné à sa mi-longueur sur le

trajet lumineux, et repose sur l'orifice photoélectrique situé sur ce même trajet. Le temps de réaction de chaque souris à 30, 45, 60, 75, 90 et 120 minutes est noté après administration de la morphine et des gammes de concentration de l'extrait à étudier.

Le décompte de la latence de retrait de la queue et l'émission de la chaleur irradiante sont simultanément déclenchés. Ils sont automatiquement arrêtés dès que la queue subit une brusque déflexion pour se mettre hors du trajet lumineux calorique.

Le calcul du pourcentage d'augmentation du temps de la latence de retrait de la queue se fait selon la formule suivante :

$$PATL\ (\%) = \frac{M2 - M1}{M1} \times 100$$

PATL: Pourcentage d'augmentation du temps de latence,
M1 : Moyenne des temps de retrait du lot témoin,
M2 : Moyenne des temps de retrait du lot traité.

Pour déterminer les seuils nociceptifs, trois essais sont successivement effectués à 15 minutes d'intervalle. A l'intérieur de chaque essai, trois mesures sont réalisées à une minute d'intervalle. La première mesure (9 secondes au maximum) sert de mesure d'habituation. La moyenne calculée sur les deux dernières mesures des trois essais sert à déterminer le seuil nociceptif. La distance lampe-queue et l'intensité de l'irradiation sont ajustées en vue d'obtenir le retrait de la queue au bout d'un temps compris entre 4 et 8 secondes lors des tests de contrôle effectués avant l'injection de la substance à étudier.

Après l'administration de l'extrait, le maximum d'irradiation est de 15 secondes, temps limite pour éviter d'endommager les tissus par la trop longue permanence sous le rayon lumineux calorique.

Test du writhing

La méthode utilisée est celle décrite par Koster (1959) et modifiée par Collier (1968). Les souris sont reparties en lots de 5 animaux. Le ketoprofène est administrée aux souris du lot de référence à raison de 5 mg/kg de PC, et chaque concentration de l'EAMS est administrée à trois lots de souris à raison de (10 mg/kg PC, 1 mg/kg PC, et 0,1 mg/kg PC).

L'EAMS, le ketoprofène et l'acide acétique sont dilués dans de l'eau physiologique avant l'administration aux souris. Dix minutes après l'injection de l'acide acétique, le syndrome douloureux se caractérise par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale. Ces torsions sont comptabilisées pendant 20 minutes après l'injection de l'acide acétique.

Le calcul du pourcentage d'inhibition des contorsions induite par l'injection de l'acide acétique se fait selon la formule suivante :

$$PIC\ (\%) = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100$$

PIC : Pourcentage d'inhibition des contorsions,
M1 : Moyenne des contorsions du lot témoin,
M2 : Moyenne des contorsions du lot traité.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Excel (Office 2007) et la comparaison des moyennes des mesures entre les lots a été faite à l'aide du test *t* de Student ($p < 0,05$ ou 0,001).

RESULTATS

Matériel végétal

Nous avons récolté 2531,8 g de feuilles fraîches matures de *Mitracarpus scaber*. Après séchage, nous avons obtenu 534 g. Le rendement en matière sèche est de 21,09% et le rendement en lyophilisat est de 1,16%.

Activité analgésique

Test du Tail flick

Les effets de la morphine et de l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* sur la latence de retrait de la queue de la souris du faisceau

lumineux calorifique sont représentés par les Tableaux 1 et 2.

Le temps de latence de retrait de la queue des souris témoins du faisceau lumineux est égal à 6,90 ± 0,97 s.

Lorsqu'on compare les différents lots au lot témoin on observe que 30 minutes après administration des produits, les temps de latence des animaux des lots recevant l'extrait à 10 mg/kg pc et 1 mg/kg pc ainsi que celui des animaux du lot recevant de la morphine sont significativement supérieurs ($p<0,001$) au temps de latence dans le lot témoin.

Par contre, il n'y a pas de différence significative entre le lot ayant reçu l'extrait à 0,1 mg/kg PC et le lot témoin.

Lorsqu'on compare entre eux les différents lots ayant reçu l'extrait, on constate que le temps de latence du lot qui a reçu l'extrait dosé à 10 mg/kg PC est significativement supérieur ($p<0,001$) à celui du lot qui a reçu l'extrait à 1 mg/kg PC. De même le lot qui a reçu l'extrait à la dose de 1 mg/kg PC possède un temps de latence significativement supérieur ($p<0,05$) à celui du lot qui a reçu l'extrait à 0,1 mg/kg PC (Tableau 2). Ceci montre que l'activité de l'EAMS est dose dépendante.

Au delà de 30 minutes, seul l'extrait dosé à 10 mg/kg PC a montré une augmentation significative du temps de latence ($p<0,001$ à 45 et 60 minutes ; $p<0,05$ à 75 minutes) par rapport au lot témoin.

Test du writhing

Le Tableau 3 représente les effets de l'acide acétique et de l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* sur le nombre de crampes induit par l'acide acétique chez la souris.

Après injection de l'acide acétique au lot témoin de souris, on décompte 18,6 ± 1,92 crampes abdominales au bout de 20 minutes.

En présence de l'EAMS à la dose de 10 mg/kg PC, le nombre de crampes abdominales diminuent significativement ($p<0,001$) par rapport au lot témoin (Tableau 3).

Tableau 1 : Effet de l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* et de la morphine sur la latence de retrait de la queue de la souris.

	Temps de latence de retrait de la queue en secondes					
Produits	**30 min**	**45 min**	**60 min**	**75 min**	**90 min**	**120 min**
Eau physiologique	6,90± 0,97	-	-	-	-	-
Morphine à 10 mg/kg PC	12,33±1,18***	10,87±0,70	10,66±1,40	9,75±0,70	9,37±0,69	9,92±1,18
Extrait à 10 mg/kg PC	13,02±1,41***	10,48±1,42***	10,56±1,63***	9,02±3,59**	9,14±3,24	9,06±1,27
Extrait à 1 mg/kg PC	10,20±0,77***	8,40±2,64	7,44±0,94	7,76±0,92	7,75±0,89	7,22±0,83
Extrait à 0,1 mg/kg PC	7,70±2,10**	8,51±2,40	7,82±0,73	7,44±0,75	7,85±0,67	7,30±1,02

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type, n=5 pour chaque lot, $p < 0,001$ ou $p < 0,05$ du test *t* de Student.
*** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,05$.

Tableau 2 : Pourcentage d'augmentation du temps de réaction en secondes.

	% du temps de réaction en secondes					
Produits	**30 min**	**45 min**	**60 min**	**75 min**	**90 min**	**120 min**
Eau physiologique	-	-	-	-	-	-
Morphine à 1mg/ml	78,69±1,18	36,52±0,70	35,27±1,40	29,23±0,70	26,36±0,69	30,44±1,18
Extrait à 1mg/ml	88,7±1,41***	34,16±1,42	34,66±1,63	23,5±3,59	24,51±3,24	23,84±1,27
Extrait à 0,1mg/ml	32,35±0,77	17,86±2,64	7,26±0,94	11,08±0,92	10,97±0,89	4,43±0,83
Extrait à 0,01mg/ml	10,39±2,10	18,92±2,40	11,76±0,73	7,26±0,75	12,1±0,67	5,48±1,02

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type, n=5 pour chaque lot, $p < 0,001$ ou $p < 0,05$ du test *t* de Student.
*** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,05$.

Tableau 3 : Effet de l'extrait aqueux de *Mitracarpus scaber* et du kétoprofène sur le nombre de contorsions induites par l'acide acétique chez la souris.

Produits	**Dose**	**Moyenne de contorsions**	**Inhibition des crampes (%)**
Eau physiologique	0,2ml / 20g PC	18,6 ± 1,92	-
Ketoprofène lyophilisat	10 mg / kg PC	14,0 ± 1,20	24,73± 1,20
Extrait	10 mg / kg PC	8,0 ± 1,20***	56,99± 1,20
Extrait	1 mg / kg PC	17,8 ± 1,44	4,30± 1,44
Extrait	0,1 mg / kg PC	17,2 ± 1,2	7,53± 1,2

Les valeurs représentent la moyenne ± écart type, n=5 pour chaque lot, $p < 0,001$ ou $p < 0,05$ du test *t* de Student.
*** : $p < 0,001$; ** : $p < 0,05$.

Ceci correspond à des pourcentages d'inhibition des contorsions de 56,99±1,20% pour l'extrait et 24,73±1,20% pour le kétoprofène qui est le produit de référence. Lorsqu'on compare entre eux les différents lots ayant reçu l'extrait, on constate que le nombre de crampes du lot qui a reçu l'extrait dosé à 10 mg/kg PC est significativement supérieur ($p<0,001$) au lot qui a reçu l'extrait à 1 mg/kg PC. Mais la différence observée entre le lot à 1 mg/kg PC et le lot à 0,1 mg/kg PC n'est pas significative.

DISCUSSION

Notre étude vise à évaluer l'activité analgésique de l'EAMS, une plante utilisée en médecine traditionnelle Ivoirienne pour son activité réputée antifongique (Adjanohoun et al., 1986, 1989). Les modèles animaux sont communément utilisés pour évaluer l'activité

antalgique des extraits de plantes (Le Bar, 2001)

Les résultats du test à l'ampoule chauffante (Test du Tail flick) ont montré que l'EAMS administré à la concentration de 10 mg/kg PC diminue les douleurs induites par le rayon lumineux calorique.

Les travaux de Chang et Lewis (1989), et Sayyah et al. (2004) ont démontré que les stimuli thermiques sont sélectivement inhibés par les analgésiques centraux et non les analgésiques périphériques chez les rats. Nous avons utilisé la morphine dans notre étude pour vérifier cette hypothèse. Notre extrait ayant montré une différence significative par rapport au témoin à la dose de 10 mg/kg PC, nous pouvons dire que notre extrait possèderait une activité analgésique centrale. Cette activité reste toutefois inférieure à celle de la morphine dosée à 10 mg/kg PC.

L'EAMS à la concentration de 10 mg/kg PC inhibe les crampes dues à l'injection de l'acide acétique dans le test du writhing. Cet effet antalgique périphérique est deux fois supérieur à celui du ketoprofène dosé à 10 mg/kg PC.

L'étude de Bentley (1983) sur l'action anti-nociceptive des agonistes et leur interaction avec les opioïdes, ainsi que celle de Negus et al. (2006), ont montré que l'injection intra péritonéale d'acide acétique provoque la douleur. Ces auteurs ont prouvé que le mécanisme d'apparition de la douleur se fait par une augmentation dans le liquide intra-péritonéal de substances telles que les prostaglandines (PGE2, PGF2 α), la sérotonine, l'histamine, la bradykinine qui vont stimuler les récepteurs nociceptifs situés au niveau péritonéal.

Par ailleurs, Collier et al. (1968) démontre que les neurones nociceptifs sont sensibles aux anti-inflammatoires non stéroïdiens et une particularité de cette classe de médicaments est qu'ils possèdent tous à des degrés divers, des propriétés analgésiques et antipyrétiques. Le ketoprofène comme la plupart des anti-inflammatoires non stéroïdiens, doit son activité antalgique à son pouvoir anti-prostaglandine, mais il agit aussi par une forte activité antibradykinine directe (Julou et al., 1974; Okunade et Clark, 1999 ; Ferrera, 2002).

Au vu de nos résultats, l'on pourrait affirmer que l'EAMS possède des propriétés thérapeutiques intéressantes, notamment antalgiques, puisqu'à la dose de 10 mg/kg PC, elle a montré une activité supérieure à celle du ketoprofène par le writhing test à l'acide acétique. Son mécanisme d'action au niveau périphérique pourrait s'apparenter à celui du ketoprofène, par une inhibition de la sensibilité des nocicepteurs vis-à-vis des substances algogènes (bradykinine, histamine), mais également elle agirait en bloquant la transmission des messages douloureux aux centres supérieurs du contrôle de la douleur.

De plus, les feuilles de *Mitracarpus scaber*, possèdent dans leur composition chimique des flavonoïdes, saponines, tanins et hydrates de carbone (Okunade et Clark, 1999). Les flavonoïdes sont des inhibiteurs de la 5-lypo oxygénase, donc de la production des prostaglandines et des leucotriènes, qui sont médiateurs de l'inflammation et des manifestations allergiques (Ferreira, 2002). L'activité antalgique pourrait aussi être due en partie à la présence de flavonoïdes dans l'extrait de feuilles de *Mitracarpus scaber*.

Conclusion

Cette étude s'inscrit dans le programme de recherche dont l'objectif est de valoriser les plantes médicinales de la pharmacopée de Côte d'Ivoire, et surtout de rechercher de nouvelles molécules ou activités à partir d'extraits de plantes pouvant servir de nouvelles têtes de séries de médicaments.

Dans ce travail, la plante étudiée est *Mitracarpus scaber*, une espèce à laquelle l'on accorde à partir de l'enquête ethnobotanique des vertus non seulement antifongiques, mais aussi antalgiques. Cette étude confirme la vertu antalgique de l'EAMS à la concentration de 10 mg/kg PC puisqu'on peut retenir d'une part que l'EAMS (10 mg/kg PC) réduit de façon significative les douleurs induites par un rayon lumineux calorique (test

du Tail flick), mais d'autre part qu'il inhibe les crampes dues à l'injection d'acide acétique (test du writhing). Ces deux techniques étudiées nous ont permis d'atteindre notre objectif qui était d'évaluer l'activité antalgique de l'EAMS. Les vertus antalgiques sont donc confirmées. Une analyse plus poussée nous permettra de quantifier cette activité antalgique en établissant de façon précise la relation dose-effets et par la suite, rechercher une formulation galénique stable pouvant servir de support à cette activité pour en faire un médicament contre les douleurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adjanohoun EJ, Ahyi AMR, Ake Assi L, Chibon P, Eyme J, Garba M, Gassita J N, Goudote E, Giunko S, Keita A, Lo I. 1986. *Contribution aux Etudes Ethnobotaniques et Floristiques au Togo*. ACCT : Paris ; 121-133.

Adjanohoun EJ, Ahyi AMR, Ake Assi L, Boukef K, Gusset G, Dramane K, Eyme J, Gassita JN, Goudote E, Guinco S, Lo I, Keita A, Kiniffo HV, Kone Bamba D, Musampa Nseyya A, Saadou M. 1989. *Contribution aux Etudes Ethnobotaniques et Floristiques en République Populaire du Benin*. ACCT: Paris; 185-195.

Bentley GA, Newton SH, Starr J. 1983. Studies on the anti-nociceptive action of α-agonist drugs and their interaction with opioïd mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, **79**: 125-134.

Bisignano G, Sanago R. 2000. Antimicrobial activity of *Mitracarpus scaber* extract and isolated constituents. *Lett. Appl. Microbiol.*, **30**: 105-108.

Chang JY, Lewis AJ. 1989. Pharmacological methods in the control of inflammation**.** *Moderns in pharmacology*, **5**: 195-212.

Collier HOJ, Dinneen LC, Johnson CA, Scheider C. 1968. The abdominal contraction response and its suppression by antinociceptive drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, **32**: 295-310.

D'Amour FE, Smith DL. 1941. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther.*, **72**: 74-79.

Deraedt R, Jougney S, Delevalcee F, Falhout M. 1980. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *European Journal of pharmacology*, **61**: 17-24.

Ekpendu TOE, AKAH PA. 1994. Anti inflammatory and antimicrobial activities of *Mitracarpus scaber*. *Int. J. Pharmacognosy*, **32**: 191-196.

Ferreira SH. 2002. Peripheral analgesic sites of action of anti-inflammatory drugs. *International Journal of Clinical Practice Supplement*, **128**: 2-10.

Gray WD, Osterberg AC, Scute JT. 1972. Measurement of the analgesic efficacy and potency of pentazocine by the D'Amour and Smith method. *J Pharmacol. Exp. Ther.*, **172**: 154-162.

Harvey A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug. Discov. Today*, **5**: 294-300.

Hough LB, Nalwalk JW, Leurs R, Menge WMPB. 1999. Antinociceptive activity of impentamine, a histamine congener, after CNS administration. *Life Sciences*, **64**: 79-86.

Hutchinson J, Dalziel JM, Keay R W J, Hepper F N. 1963. *Flora of West Tropical Africa* (Vol. II, 2ème édn). The Whitefriars Press edn: London & Tonbridge; 544.

Irobi ON, Daramola SO. 1994. Antifungal activities of crude extract of *Mitracarpus villosus* (Rubiaceae). *J. Ethnopharmacol.*, **40**: 137-140.

Jensen TS, Yaksh TL. 1986. Comparaison of antinociceptive action of morphine in the periaqueductal gray, medical an paramedical in rat. *Brain Research.*, **363**: 99-113.

Julou L, Guyonnet JC, Ducrot R, Fournel J. 1974. Pharmacological properties of benzonyl-3 phenyl-2 propionic acid of ketoprofen (R.P.19.583). Pharmacocinetic features. *Rhône Poulenc Report* n° 17.423, January 18.

Koster R, Anderson M, De Beer J. 1959. Acetic acid for analgesic screening. *Federal Proceeding*, **8**: 412-417.

Le Bars, D, Gozariu, M, Cadden, SW. 2001. Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, **53**: 597-652.

Merlier H, Montégut J. 1982. *Adventices Tropicales*. *ORSTOM-GERDAT-ENSH* édn: Montpellier, France; 490.

Negus SS, Vanderah, TW, Brandt, MR, Blisky, EJ, Becerra L, Borsook, D. 2006. Preclinical assessment of candidate analgesic drugs: recent advances and future challenge. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **319**: 507-514

Okunade A, Clark AM. 1999. Aza-anthraquinone, an antimicrobial alkaloïd from *Mitracarpus scaber*. *Planta Med*., **65**: 447-448.

Sayyah MA, Hadidi NB, Kamalinejad MB. 2004. Analgesic and anti-inflammatory activity of lacuca sativa seed extract in rats. *J. Ethnopharmacol*., **92**: 325-329.

Sofowora A. 1993. *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa*, 2. Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, p. 289.

Vane JR. 1987. The evaluation of non-steroidal anti-inflammatory drug and their mechanism of action. *Drug Suppl*., **33** : 8-27