

Evaluation *in vitro* de l'activité antiproliférative de la teinture extraite du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* Taub (Fabaceae) utilisée par les populations autochtones en République du Congo

Aimé Bertrand Madiélé Mabika, Docteur, Maître-Assistant

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Louis Donald Diazitoukoulou Matima, Docteur, Maître-Assistant

Laboratoire de Microbiologie et de Biochimie des Substances Naturelles,

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Romarc De Garde Elion Itou, Docteur, Maître de Conférences

Laboratoire de Pharmacologie et de Biochimie, Faculté des Sciences de la

Santé, Université Marien Ngouabi. Institut National de Recherche en

Sciences de la Santé (IRSSA), Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Guy Moussavou, Docteur, Maître de Conférences

Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH),

Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Jean-Maurille Ouamba, Professeur Emérite

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

[Doi:10.19044/esj.2025.v21n3p66](https://doi.org/10.19044/esj.2025.v21n3p66)

Submitted: 21 October 2024

Accepted: 10 January 2025

Published: 31 January 2025

Copyright 2025 Author(s)

Under Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

Cite As:

Madiélé Mabika A.B., Diazitoukoulou Matima L.D., Elion Itou R.G., Moussavou G. & Jean-Maurille O. (2025). *Evaluation in vitro de l'activité antiproliférative de la teinture extraite du bois de cœur de Pterocarpus soyauxii Taub (Fabaceae) utilisée par les populations autochtones en République du Congo.* European Scientific Journal, ESJ, 21 (3), 66. <https://doi.org/10.19044/esj.2025.v21n3p66>

Résumé

Les enquêtes ethnobotaniques réalisées auprès des populations autochtones du département de la Lékoumou ont montré une utilisation prépondérante en médecine traditionnelle de *Pterocarpus soyauxii*. Le but de ce travail est d'évaluer les propriétés antiprolifératives de l'extrait aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii*. L'activité antiproliférative de l'extrait

a été évaluée *in vitro* sur deux lignées cellulaires cancéreuses, la lignées cellulaires CRL11147 (cellules de mélanome) et MCF-7 (cellules tumorales mammaires) en utilisant le test de MTT. Les extraits aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* à différentes concentrations ont montré une activité antiproliférative contre les cellules cancéreuses avec des valeurs d'inhibition supérieures à 50% à des concentrations supérieures à 55 µg/ml. Par Contre, les extraits dont les concentrations sont comprises entre 55 µg/ml et 30 µg/ml n'induisent aucune inhibition de la prolifération sur les deux lignées cellulaires. Notre étude a permis d'identifier le *Pterocarpus soyauxii* comme plantes médicinales aux propriétés antiprolifératives.

Mots-clés: Antiprolifératives, bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii*, Populations autochtones, Test de MTT

***In vitro* evaluation of the antiproliferative activity of the dye extracted from the heartwood of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Fabaceae) used by indigenous populations in the Republic of Congo**

Aimé Bertrand Madiélé Mabika, Docteur, Maitre-Assistant

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Louis Donald Diazitoukoulou Matima, Docteur, Maitre-Assistant

Laboratoire de Microbiologie et de Biochimie des Substances Naturelles,

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Romaric De Garde Elion Itou, Docteur, Maitre de Conférences

Laboratoire de Pharmacologie et de Biochimie, Faculté des Sciences de la

Santé, Université Marien Ngouabi. Institut National de Recherche en

Sciences de la Santé (IRSSA), Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Guy Moussavou, Docteur, Maitre de Conférences

Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH),

Cité Scientifique, Brazzaville, Congo

Jean-Maurille Ouamba, Professeur Emérite

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V),

Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi

Abstract

Ethnobotanical surveys of the indigenous populations of the Lékoumou department have shown that *Pterocarpus soyauxii* is widely used in traditional medicine. The aim of this study was to evaluate the

antiproliferative properties of the aqueous extract of *Pterocarpus soyauxii* heartwood. The antiproliferative activity of the extract was assessed in vitro on two cancer cell lines, CRL11147 (melanoma cells) and MCF-7 (breast tumour cells) using the MTT assay. Aqueous extracts of *Pterocarpus soyauxii* heartwood at different concentrations showed antiproliferative activity against cancer cells, with inhibition values of over 50% at concentrations above 55 µg/ml. In contrast, extracts with concentrations between 55 µg/ml and 30 µg/ml did not induce any inhibition of proliferation in the two cell lines. Our study identified *Pterocarpus soyauxii* as a medicinal plant with antiproliferative properties.

Keywords: Antiproliferative, *Pterocarpus soyauxii*, heartwood, Native populations

Introduction

Les teintures contiennent naturellement des composés bioactifs tels que les phénols, les tannins et les quinones qui peuvent inhiber la croissance des micro-organismes (Cardon, 2007). Ces derniers sont susceptibles de se développer sur le textile et capable de provoquer des allergies et des irritations cutanées. En effet, les fibres naturelles sont faites de molécules organiques (cellulose) qui sont un milieu favorable à la croissance bactérienne (Singh, 2005). Il est important de noter que toutes les teintures naturelles ne sont pas biodégradables. Elles peuvent contenir des éléments traces métallique (ETM) ou tout autre forme de toxicité, provoquant ainsi des allergies ou des cancers. Plusieurs résultats de recherche font cas de l'existence d'espèces de plantes possédant des propriétés anticancéreuses (Spjut and Perdue, 1976 ; Graham, 2000). Par ailleurs, plus de 50% d'agents anticancéreux, utilisés en clinique, sont soit issus de produits naturels soit des analogues des molécules naturelles obtenus par hémisynthèse (Newman, 2003). Cependant, les données scientifiques disponibles sur les propriétés anticancéreuses des plantes tinctoriales ou de leurs substances actives sont encore limitées (Huet, 2013). La biodiversité de la flore congolaise constitue source potentielle des molécules bioactives. Plus d'une centaine d'espèces tinctoriales issues de la flore congolaise sont utilisées en médecine traditionnelle au Congo dans les traitements de diverses affections (Bouquet, 1969 ; Adjanohoun, 1988). Les enquêtes ethnobotaniques menées par Madiélé en 2024 et l'étude réalisée par l'Institut National de Recherche et d'Etude en Sciences Humaines (INRESH) auprès des peuples du département de la Lékoumou, ont montré une utilisation prépondérante des espèces tinctoriales en médecine traditionnelle. Cette étude révèle que les peuples autochtones utilisaient ces teintures naturelles comme pommades cosmétiques. L'espèce *Pterocarpus soyauxii* est citée pour sa production de teinture naturelle. Des études antérieures (Burkill,

1995 ; Cardon, 2003) ont permis de rapporter des activités biologiques et pharmacologiques liées à cette espèce. C'est pour vérifier son innocuité que cette étude est menée autour de la teinture extraite de son bois de cœur. Cette partie de la plante est utilisée par les populations autochtones du département de la Lékoumou au sud du Congo.

L'espèce *Pterocarpus soyauxii*, le padouk d'Afrique, autrefois connu sous le nom de bois de santal, bois corail, bois rouge ou bois de teinture rouge, est une espèce d'arbres du genre *Pterocarpus* de la famille des Fabacées. Cette espèce pousse en Afrique tropicale et équatoriale. L'espèce est présente au Nigeria, au Bénin, au Cameroun, en Centrafrique, en Guinée équatoriale, au Gabon, au Congo-Brazzaville, au Congo-Kinshasa et en Angola (Burkill, 1995).

Le bois de cœur est la source de la teinture rouge. En Afrique, cette teinture est utilisée pour teindre en rouge des tissus, des fibres et des vêtements, dont les ornements en fibre de raphia (Cardon, 2003). Les populations autochtones de la région de la Lékoumou en République du Congo, y préparent une teinture de qualité, mélangée à l'huile de palme et utilisée comme pommade cosmétique pour les cérémonies rituelles, liées à la circoncision, à l'initiation, au mariage, à l'accouchement et au veuvage. En effet, pour ces derniers, cette peinture corporelle est chargée de pouvoirs magiques. La littérature renseigne que le bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* contient des biflavonoïdes rouges (cardon, 2003). Dans le Colour Index, le padouk est cité comme source de rouge naturel n°22. Les enquêtes menées par Madiélé (2024) auprès des populations autochtones rapportent que, pour l'extraction de teinture, il est coupé en forêt de préférence des arbres âgés et creux, et le bois de cœur récupéré. Souvent, les arbres sont abattus et laissés sur place en forêt pendant 2 à 3 ans avant de prendre le bois de cœur en vue de la teinture. Par la suite, le bois de cœur est débité en rondins et en copeaux qui sont séchés et ensuite pilés dans des mortiers pour les réduire en poudre. Il est ajouté un peu d'huile à cette poudre de bois, puis moulée en pain pour le stockage.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Le bois de *P. soyauxii* a été utilisé comme matériel végétal dans cette étude. De façon spécifique, c'est le bois de coeur qui a été utilisé pour produire la poudre ayant servie à l'évaluation de cette activité antiproliférative.

Les tests de l'activité antiproliférative ont été réalisés avec l'extrait aqueux.



Figure 1 : tronc de padouk

Le produit tinctorial est broyé à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre. Cette dernière est récupérée après tamisage et conservée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

Matériel biologique

L'activité antiproliférative a été évaluée sur les lignées cellulaires CRL11147 (cellule de mélanome) et MCF-7 (cellules tumorales mammaires), utilisées comme matériel biologique.

Production de poudre de *P. soyauxii*

Le bois moulu en forme de pain qui constitue le produit tinctorial a été obtenu auprès des populations autochtones du village Missama situé à 30 km de Sibiti, capitale du département de la Lékoumou.

Le produit tinctorial a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisé pour obtenir une poudre qui est conditionnée dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abris de la lumière jusqu'à utilisation.

Préparation de l'extrait

Une quantité de 50 g de poudre fine à été placés dans 250 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 minutes puis refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre de type whatman. Le filtrat obtenu a été placé dans une étuve à une température de 40°C pour éliminer l'eau afin d'avoir l'extrait sec ensuite, 5 g de l'extrait sec ont été solubilisés dans du DMSO pour préparer une solution mère de concentration 100µg.mL⁻¹. Enfin, à partir de la solution mère, des solutions filles ont été préparées par dilution à différentes concentrations (tableau 1).

Tableau 1 : concentrations des extraits

Extraits	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇	E ₈	E ₉	E ₁₀	E ₁₁	E ₁₂	E ₁₃	E ₁₄	E ₁₅
C(µg/mL)	95	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30

La teneur en DMSO dans les solutions à tester ne doit pas excéder 1 %.

Evaluation de l'activité antiproliférative des extraits

L'activité antiproliférative des extraits est déterminée par l'utilisation du test de MTT. Ce test est basé sur la réduction métabolique de 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) en formazan (Mosmann, 1983).

Les cristaux de MTT bleu violet formés ont été dissouts dans 100 µl de DMSO après suppression du milieu de culture. L'absorbance de chaque échantillon a été lue à 550 nm en utilisant un lecteur de microplaques. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules viables.

Dépôt des cellules

Le test au MTT est réalisé dans des plaques de 96 puits. Le milieu de culture contenant les cellules est déposé en raison de 50 µL dans chacun des puits. Le nombre de cellules par puits est de 4000. On place une lamelle de verre sur la cellule de Malassez pour dénombrer les cellules. On dépose 15 µL de cellules en suspension. Après avoir attendu quelques minutes pour que les cellules se sédimentent, il peut être compté le nombre de cellule dans 10 carrés (quadrillés).

Dépôt des extraits

Pour chaque extrait, 50 µL des différentes dilutions sont déposés dans la plaque 96 puits. Le volume final dans chacun des puits est donc de 100 µL. La plaque est laissée sous incubation pendant 72 h à 37 ° C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

Mise en évidence de la croissance des cellules

Après le temps d'incubation de 72 h, 20 µL de MTT à 5 mg.L⁻¹ préparé dans du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) (pH = 7,4 ; 0,1 M) ont été déposés dans chacun des puits. La plaque est laissée à incuber pendant 5 h à 37°C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

Le milieu de culture est retiré, et les cristaux de formazan sont dissouts dans le DMSO (200 µL dans chacun des puits). L'absorbance dans chaque puits est mesurée à 550 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Molecular Devices, Versa Max, tunable microplate reader).

Détermination du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition est calculé pour 72 h d'incubation des cellules, en phase exponentielle de croissance selon l'équation ci-dessous :

$$\%I = 100 - \frac{DO_{test}(550\text{ nm}, 72h)}{DO_{témoin}(550\text{ nm}, 72h)} \times 100$$

Avec :

%I : Pourcentage d'inhibition d'une concentration donnée en extrait.

$DO_{\text{test } 550\text{ nm}, 72\text{ h}}$ = Absorbance mesurée à 550 nm après 72 h d'incubation des cellules en présence d'une concentration donnée en extrait.

$DO_{\text{témoin } 550\text{ nm}, 72\text{ h}}$ = Absorbance mesurée à 550 nm après 72 h d'incubation des cellules en absence d'extrait (témoin)

Traitement et analyse des données

L'analyse et l'interprétation statistiques des résultats de cette étude ont été réalisées par le test de student. Les données ont été exprimées en moyenne \pm SD.

Résultats et discussion

Les résultats de l'activité antiproliférative des extraits du cœur de bois de *Pterocarpus Soyauxii* sur les lignées cellulaires cancéreuses sont représentés dans le tableau ci-dessous. Ils révèlent une disparité des pourcentages d'inhibition selon les concentrations des extraits. Ces résultats (Tableau II), indiquent des variances significatives et la viabilité cellulaire est diversement affectée par différentes concentrations utilisées.

Tableau II : pourcentage d'inhibition

Extraits (solutions)	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	% Inhibition	
		MCF-7	CRL11147
E1	100,00	89,29 \pm 5,15** 55,42 \pm 3,98*	94,31 \pm 4,36**
E2	95,00	87,45 \pm 4,29**	93,67 \pm 3,19**
E3	90,00	66,45 \pm 5,35**	67,50 \pm 5,12**
E4	85,00	60,78 \pm 4,41**	64,38 \pm 5,47**
E5	80,00	56,63 \pm 7,16*	60,85 \pm 4,21**
E6	75,00	52,43 \pm 9,10*	57,38 \pm 4,06*
E7	70,00	50,81 \pm 9,50*	55,21 \pm 5,82*
E8	65,00	44,02 \pm 6,29*	48,95 \pm 2,59*
E9	60,00	42,42 \pm 6,68*	43,69 \pm 9,01*
E10	55,00	37,88 \pm 6,07	35,02 \pm 6,94
E11	50,00	33,78 \pm 7,49	25,30 \pm 8,73
E12	45,00	30,25 \pm 6,34	24,24 \pm 6,00
E13	40,00	28,85 \pm 7,28	20,96 \pm 6,68
E14	35,00	23,40 \pm 5,16	4,68 \pm 6,01

E15	30,00	17,40± 8,16	0,67± 3,54
	*inhibition moyenne	** grande inhibition	

Les valeurs correspondent à la Moyenne de deux répétitions (n=2) ± l'écart type.

L'évaluation de l'activité antiproliférative a porté essentiellement sur les extraits aqueux. En effet, le solvant aqueux est le principal solvant utilisé en médecine traditionnelle congolaise (Bouquet, 1969). Après 72h d'incubation, les résultats indiquent une variation d'inhibition selon la concentration de l'extrait. La présente étude montre que l'extrait aqueux du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* présenterait une bonne activité antiproliférative sur les deux lignées cancéreuses. Les données indiquent une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration de l'extrait ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

L'analyse de ces résultats montre que les extraits colorants E₁, E₂, E₃, E₄ ont une activité significative sur les deux lignées cellulaires cancéreuses. Exceptionnellement, l'extrait E₅ a une activité antiproliférative significative sur la lignée cellulaire cancéreuse CRLII47. Quant aux extraits E₆, E₇, E₈ aussi E₉, ils montrent aussi une activité antiproliférative moyenne sur les lignées testées. Par contre les extraits E₁₀, E₁₁, E₁₂, E₁₃, E₁₄ et E₁₅ induisent une inhibition toutefois faible de la prolifération sur les deux lignées cellulaires. Le pouvoir cytotoxique d'un extrait varie également en fonction de la lignée cellulaire considérée. Par exemple, pour l'extrait E₂ ($95 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), le pourcentage d'inhibition est plus important (93,67 %) sur la cellule CRL11147 que sur la cellule MCF-7 (87,45 % d'inhibition). En outre, il peut être révélé des pourcentages d'inhibition sensiblement identique pour une concentration donnée sur les deux lignées cellulaire cancéreuse. Il sied de constater que les extraits dont la concentration est supérieure à $55 \mu\text{g}/\text{mL}$ sont plus actifs sur les souches cellulaires cancéreuses. On peut à priori, faire remarquer que la concentration des extraits à un effet sur le potentiel d'inhibition, car il est observé une régression linéaire des valeurs d'inhibition au fur et à mesure que la concentration de l'extrait diminue. Ces résultats pourraient s'expliquer par la composition en éléments phénoliques (Biflavonoïdes, isoflavonoïdes, isoflavanes) de l'espèce *P. soyauxii* (Cardon, 2003). Les petits écarts du pourcentage d'inhibition relevés entre les lignées de cellules cancéreuses (MCF-7 et CRLII47) seraient non seulement liés à la sensibilité différentielle des deux lignées mais surtout aux propriétés intrinsèques des cellules.

Nombreuses études scientifiques ont attribué aux polyphénols les propriétés anti cancérogènes (Bakana, 1984 ; Leven, 1979 ; Marshall, 1994). En outre, des études plus récentes portant essentiellement sur le rôle des composés phénoliques en tant qu'agents thérapeutiques dans le traitement de tumeurs tels que les mélanomes humains corroborent les résultats donnés par

Pterocarpus soyauxii. Aussi, ces composés phénoliques ont-ils prouvé leur activité antimicrobienne (Okoli, 2002), et leur pouvoir cytotoxique (Nkengfack, 2002) permettant de justifier les résultats de la présente étude où les mêmes composés ont été identifiés comme inhibiteurs de la prolifération des cellules cancéreuses.

En résumé, les résultats des tests de cytotoxicité de la teinture du bois de cœur de *Pterocarpus soyauxii* sur les cellules cancéreuses MCF-7 et CRL1147, sont très probants car il a été enregistré des pourcentages d'inhibition de plus de 50%.

Conclusion

Plusieurs travaux scientifiques ont été réalisés sur l'espèce *Pterocarpus soyauxii* et ont montré toute son importance sur le plan socio-économique à travers les multiples usages dont elle fait l'objet. Ces travaux ont le mérite d'aborder des sujets ayant trait à l'écologie, la biologie de l'espèce de même que l'anatomie de son bois. Ces dits travaux ont également le mérite de proposer des pistes relatives à la valorisation de l'espèce dans le domaine des teintures naturelles. La présente étude montre l'intérêt de l'espèce *Pterocarpus soyauxii* dans la recherche des substances bioactives à visée anticancéreuse. Elle a permis de montrer que *Pterocarpus soyauxii* présente une activité antiproliférative sur les lignées cancéreuses CRL11147 et MCF-7. Les résultats révèlent aussi que l'extrait aqueux de *Pterocarpus soyauxii* exerce une activité antiproliférative maximale sur les lignées cancéreuses lorsque la concentration est aussi élevée. Au regard du potentiel antiprolifératif démontré, des études complémentaires *in vivo* sur modèle animal et cliniques appropriés devront être menées afin de garantir l'innocuité et l'efficacité des extraits colorants de cette espèce.

Cette étude est encourageante car elle donne de fortes probabilités de purification et d'isolement de molécules actives contre le cancer de la peau.

Remerciement

Les auteurs remercient les autorités locales du département de la Lékoumou, pour avoir facilité le contact avec les peuples autochtones pendant les enquêtes menées dans les différents villages.

Déclaration pour les participants humains : Cette étude a été approuvée par le Comité d'Éthique de l'Institut National de Recherche en Science de la Santé (IRSSA) et les principes de la déclaration d'Helsinki ont été respectés.

Conflit d'intérêts : Les auteurs n'ont signalé aucun conflit d'intérêts.

Disponibilité des données : Toutes les données sont incluses dans le contenu de l'article.

Déclaration de financement : Les auteurs n'ont obtenu aucun financement pour cette recherche.

References:

1. Adjanohoun, E.J., Ahyi, M.R.A., Ake Assi, L. (1988). Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Congo. ACCT Ed. Paris, 605p.
2. Bakana, P. (1984). Recherche Systématique de l'Activité Biologique Attribuée à quelques Plantes médicinales Africaines. Thèse de Doctorat, Université Antwerpen (U.I.A), 212 p.
3. Bouquet, A. (1969). Féticheurs et médecine traditionnelle au Congo Brazzaville. Paris, Mémoires ORSTOM., 282p.
4. Burkill, H.M (1995): the useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 3. Familles J-L.Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, United Kingdom. 857 pp.
5. Cardon, D. (2003). Le monde des teintures naturelles. Belin. Paris, France. 586 pp.
6. Cardon, D. (2007). Natural Dyes: Sources, Tradition, Technology and Science, Archetype publications, London, 576 p.
7. Graham, J.G., Quinn, M.L., Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R. (2000). Plants used against cancer an extension of the work of Jonathan Hartwell. *Journal of Ethnopharmacology* 73: 347-377.
8. Huet, M. (2013). Les plantes médicinales chez les malades atteints de cancers : pratiques courantes et éléments de leur évaluation. *Bull. Cancer* 100: 485-94.
9. Leven, M., Vanden Berghe, D. A., Marten, L., Vlietinck, A., Iomweas, E. C. (1979). Screening of higher plants for biological activity. *Planta Medica*, 36, 311 – 312.
10. Madiélé Mabika, A.B., Elouma Ndinga, A.M., Bonazaba Milandou, L.J.C. et al (2024). Ethnobotanical Inventory and Evaluation of the dyeing potential of some species of Congolese flora, sources of natural dyes among the craftsmen of Brazzaville. *International Journal of Development Research* 14 (6): 66045-66048.
11. Marshall, S. J., Russel, P. F., Wright, C. W., Anderson, M. M., Phillipson, J. D., Kirby, G. C., Warhurst, D. C., Schiff, P. L. Jr. (1994). In vitro antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of a series of benzyloquinoline alkaloids. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38, 96 – 103.

12. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological. Methods.* 65: 55-63.
13. Nkengfack, A.E., Azebaze, G.A., Vardamides, J.C., Fomum, Z.T., Heerden, F.R.V. (2002). A prenylated xanthone from *Allanblackia floribunda*, *Phytochemistry* 20, 381-384.
14. Okoli, A.S., Okeke, M.I., Iroegbu, C.U. and Ebo, P.U. (2002). Antibacterial activity of *Harungana madagascariensis* leaf extracts. *Phytotherapy Research.* 16, 174-179.
15. Singh, R., Jain, A., Panwan, S, Gupta, D., Khare, S. K. (2005) – Antimicrobial activity of natural dyes. *Dyes Pigm.*, 66, 99 – 102.
16. Spjut, R.W., and Perdue, Jr. (1976). Plant folklore: a tool for predicting sources of antitumor activity? *Cancer Treat. Rep.* 60, 979-985