

EVALUATION DE LA TOXICITE AIGUE DE *Boerhavia diffusa* CHEZ LA SOURIS

K. N'GUESSAN¹, Y. B. N. FOFIE², K. COULIBALY¹ et D. KONE²

¹Université de Cocody-Abidjan, Côte-d'Ivoire, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique. 22 BP 582 Abidjan 22.
E-mail : nguessankoffifr@yahoo.fr

²Université de Cocody-Abidjan, Côte-d'Ivoire, U.F.R. Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Laboratoire de Pharmacognosie, Botanique et Cryptogamie

RESUME

Une enquête ethnopharmacologique en pays Krobou a révélé que *Boerhavia diffusa*, est une herbe, sollicitée en médecine traditionnelle, pour traiter le diabète et diverses autres pathologies. Ce travail a pour but de déterminer les paramètres toxicologiques du décocté aqueux des tiges feuillées de la plante, en vue de parvenir à contrôler la posologie et prévenir les cas d'intoxications. La toxicité aiguë a été évaluée, en administrant, par voie orale, à des souris, des doses croissantes d'extrait brut (1 200 à 6 000 mg kg⁻¹ de poids corporel). L'administration orale du phytomédicament, à différentes doses, a entraîné certains signes cliniques tels que : manque d'appétit, difficultés motrices et dyspnée. Les valeurs des paramètres toxicologiques obtenues ont été les suivants : dose maximale tolérée, DMT (1 200 mg kg⁻¹ p.c./vo), dose létale 50 %, DL50 (2749,4 mg kg⁻¹ p.c./vo) et dose létale 100 %, DL100 (6 000 mg kg⁻¹ p.c./vo). La DMT a été nettement supérieure à 44,57 mg kg⁻¹ p.c./vo, la dose quotidienne recommandée par les tradithérapeutes. Ainsi, l'étude montre clairement que le phytomédicament n'est pas toxique, justifiant l'usage de la plante dans les conditions traditionnelles de préparation et d'administration orale.

Mots clés : DMT, DL₅₀, DL₁₀₀, phytomédicament, tradithérapeutes, paramètres toxicologiques.

ABSTRACT

EVALUATION OF *Boerhavia diffusa* ACUTE TOXICITY IN THE MOUSE

An ethnopharmacological investigation conducted among Krobou people revealed that *Boerhavia diffusa*, is an herb used in a wide range of traditional medicine to cure various diseases. This work is aimed to determine the toxicological parameters of the stem-leaves aqueous decoction of the plant, in order to control posology and prevent intoxication. The acute toxicity of the stem-leaves aqueous decoction from *Boerhavia diffusa* was assessed after a process consisting in giving orally, to mice, the crude decoction at increasing doses ranging from 1 200 to 6 000 mg kg⁻¹ of body weight (b.w.). The use of herbal medicine, through oral route (or), can induce some clinical signs such as : lack of appetite, motor problems and dyspnea). The toxicological parameters had the following characteristics : tolerated maximal dose, TMD (1 200 mg kg⁻¹ b.w./or), lethal dose for 50 %, LD50 (2 749, 4 mg kg⁻¹ b.w./or) and lethal dose for 100 % or LD100 (6 000 mg/kg b.w./or). The TMD has been by far higher than 44.57 mg kg⁻¹ b.w./or, daily dose traditional healers recommended. Therefore, the dosage prescribed by traditional healers was not found to be not toxic, justifying the use of the plant in traditional conditions of preparation for oral administration.

Keywords : TMD, LD₅₀, LD₁₀₀, phytomedicine, traditional healers, toxicological parameters.

INTRODUCTION

Boerhavia diffusa L. (Nyctaginaceae), une herbe annuelle à tiges semi-érigées, possède des feuilles simples ou entières. Les fleurs, rouge-cramoisi ou violet-foncé, sont réunies en panicule. Les fruits, des capsules obovoïdes, renferment des graines à arille jaune. Espèce commune à tous les pays tropicaux, on la rencontre en Afrique occidentale, du Sénégal au Nigeria. C'est une plante rudérale, qui pousse en Côte d'Ivoire, en zone guinéo-congolaise, en bordure des pistes (N'Guessan, 2008). La plante est surtout connue pour ses vertus thérapeutiques. En Côte d'Ivoire, chez les Abbey et Krobou, elle est employée comme antidiabétique, anti-cholérique, entéralgique, hémorroïdaire, antifongique et antipaludique (N'Guessan, 2008). Selon Ouattara (2006), les populations Dida de Divo, dans le Sud forestier de la Côte d'Ivoire, l'utilisent contre l'hypertrophie de la prostate. Dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire, on l'emploie contre les céphalées (Tra-Bi, 1997). Les ethnies Akan de la région littorale de la Côte d'Ivoire l'emploient dans le traitement des furoncles (Vangah, 1986). La plante est également sollicitée pour combattre la lombalgie, le rhumatisme, les entorses, la blennorragie et les oreillons, par les populations ivoiriennes (Bouquet et Debray, 1974). En pays Attié (Côte d'Ivoire), elle est employée pour soigner l'asthme (Adjanohoun et Aké-Assi, 1979). Selon Kerharo et Bouquet (1950), la plante exerce des propriétés purgatives, ocytociques et antivarioliques. Au Togo, on l'emploie dans le traitement des piens, de l'herpès et de la conjonctivite (Anonyme, 1986). Au Plateau Central du Burkina Faso, on l'utilise pour ses propriétés antitussive, antipyrétique, anthelminthique, hypotensive, analgésique, émétique et hémostatique (Nacoulma, 1996). Au Bénin, *Boerhavia diffusa* est appréciée pour ses effets antimétrorragiques (Neuwinger, 1996). Des études phytochimiques ont montré que les tiges feuillées comportent des flavonoïdes, des tanins, un alcaloïde amer dénommé punarnavine ($C_{17}H_{22}N_{2}O$), ainsi qu'un acide cristallisé, l'acide boerhaviique de formule $C_{10}H_{18}O_3$ (Kerharo et Bouquet, 1950). Par l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux aux souris, la dose maximale tolérée (DMT) a été déterminée. Sa valeur est de 1 000 mg/kg p.c. En rapport avec l'activité pharmacologique, Kerharo et Adam (1974) ont montré que la punarnavine provoque, chez les cobayes, une augmentation marquée

et persistante de la pression sanguine avec une forte diurèse, par action sur l'épithélium rénal. Paris et Amarnath (2004) ont indiqué que l'extrait brut de la plante produit un effet hypoglycémiant considérable sur les lapins diabétiques induits à l'alloxane. Cependant, malgré ces connaissances scientifiques, l'utilisation de la plante, à des fins thérapeutiques, en milieu rural traditionnel, doit faire face à des obstacles, comme celui des doses employées dans la préparation et l'administration des recettes médicamenteuses. Cette imprécision constitue un véritable problème de la médecine traditionnelle (Barry, 1999). La méconnaissance des doses d'extraits administrés traditionnellement expose les populations qui les utilisent à des risques réels d'accidents thérapeutiques qui peuvent parfois s'avérer tragiques (Adjoungoua *et al.*, 2006). L'objectif de ce travail est d'évaluer la toxicité aiguë de *Boerhavia diffusa* L. (Nyctaginaceae) et de déterminer les paramètres toxicologiques qui s'imposent, pour mieux rationaliser son utilisation.

MATERIEL ET METHODES

IDENTIFICATION DU MATERIEL VEGETAL

Les tiges feuillées de *Boerhavia diffusa* ont été collectées, à l'état frais, au cours d'investigations ethnopharmacologiques dans le Département d'Agboville, en Côte d'Ivoire (N'Guessan, 2008). A partir des échantillons récoltés et des spécimens du Centre National de Floristique (C.N.F.), la plante a été identifiée par son nom scientifique. La vérification a été faite par le Professeur AKÉ-ASSI Laurent, Systématicien Botanique, au laboratoire de Botanique de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Biosciences (Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire). Un spécimen (Oress-Krobou, 12 août 1999, N'GUESSAN KOFFI N° 301) a été déposé dans l'herbier du laboratoire de Botanique.

MATERIEL TECHNIQUE DE PREPARATION DE L'EXTRAIT

Un matériel technique comportant une broyeuse électrique de marque RETSH, pour la pulvérisation de la drogue, a été utilisé. Une étuve à 60 °C a été employée, pour faire évaporer le filtrat du décocté de la poudre de drogue. Une balance électrique a été utilisée pour les

différentes pesées. Le matériel technique comportait également des spatules, pour le prélèvement des poudres de drogue, du coton hydrophile et du papier Wattman, utilisés comme filtres, un mortier et un pilon en porcelaine pour broyer finement les cristaux obtenus, des bocaux stériles en verre et un réfrigérateur pour la conservation de l'extrait. Tout le matériel technique a été fourni par le Laboratoire de Pharmacognosie de l'UFR des Sciences pharmaceutiques et Biologiques (Université de Cocody-Abidjan).

PREPARATION DE L'EXTRAIT BRUTAQUEUX

Les tiges feuillées de *Boerhavia diffusa* (850 g), récoltées le 17 Juillet 2010 à Aboudé-Mandéké (Département d'Agboville, Sud de la Côte d'Ivoire), ont été rincées à l'eau puis découpées en petits morceaux pour être séchées en atmosphère aérée, à la température ambiante dans un local aménagé à cet effet. Deux semaines après, la drogue séchée, qui ne pesait plus que 230 g, est pulvérisée à l'aide d'un broyeur électrique de marque RETSCH. Ainsi, 200 g de poudre ont été obtenus. En mélange dans deux litres d'eau distillée, cette poudre a été soumise à une décoction, durant 30 min. L'homogénat obtenu a été d'abord essoré dans un carré de tissu propre, filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile puis sur papier Wattman 3 mm. Le volume final du filtrat (0,250 L) a été évaporé à l'étuve à 60 °C. Au bout de 3 j, les cristaux obtenus ont été pulvérisés, dans un mortier en porcelaine. La poudre fine recueillie (19,2 g) a constitué l'extrait total sec qui a été conservé, au réfrigérateur, dans un bocal stérile en verre, hermétiquement fermé. La concentration maximale qui correspond à une concentration à la limite de la solubilité de l'extrait est recherchée en utilisant 5 g d'extrait total dans 25 ml d'eau distillée. Ainsi, une concentration maximale de 200 mg mL⁻¹ a été obtenue. A partir de cette solution limite, des dilutions successives ont été préparées au 1/2, 1/3, 1/4 et au 1/5. Cela a permis d'obtenir les concentrations respectives de 100, 67, 50 et de 40 mg mL⁻¹, qui ont été utilisées pour l'étude.

DOSES EVALUEES

Pour soigner le diabète, le tradithérapeute conseille d'utiliser une poignée de tiges feuillées

de *Boerhavia diffusa*, dans une casserole d'eau et de porter l'ensemble à ébullition, durant 30 min. Après filtration, il est conseillé aux adultes, de boire un gobelet du décocté, 2 fois par jour, durant un mois de traitement. La concentration des feuilles de *Boerhavia diffusa* dans la préparation du tradithérapeute a été de 9,512 g L⁻¹ soit 9,512 mg mL⁻¹, avec M : 2,378 g (masse de l'extrait sec) et V : 0,25 L (volume du décocté). Le tradithérapeute conseille au patient adulte, de 70 kg environ, un verre du décocté, 2 fois par jour. Dans les applications de cette recette médicamenteuse, la dose usuelle qu'il recommande est alors de 44,57 mg kg⁻¹ p.c./vo. Nous avons choisi d'évaluer les doses de 6 000, 3 000, 2 010, 1 500 et 1 200 mg kg⁻¹ p.c./vo, sur des souris, pour déterminer les caractéristiques toxicologiques de l'extrait concentré. Ces doses correspondent aux concentrations respectives de 200, 100, 67, 50 et 40 mg mL⁻¹.

EVALUATION DE LA TOXICITE AIGUE

Pour mener cette étude, 60 souris (1/2 mâle ; 1/2 femelle) de race SWISS ont été utilisées. Les animaux en provenance de l'animalerie du Laboratoire de Zoologie de l'Unité de Formation et de Recherche de Biosciences (Université de Cocody-Abidjan), étaient âgés de 4 à 6 semaines et pesaient entre 17 et 30 g. Ils ont été placés dans des cages métalliques aérées contenant des litières de copeaux de bois régulièrement renouvelées puis acclimatés aux conditions de l'animalerie pendant 3 j avant le traitement. Ils étaient nourris à partir des granulés de la société IVOGRAIN. Avant traitement, les animaux ont été soumis à un jeûne de 12 h puis répartis en 6 lots de 10 de la façon suivante :

- lot 1 : souris témoins recevant de l'eau distillée ;
- lot 2 : souris traitées avec le phytomédicament à 200 mg mL⁻¹ ;
- lot 3 : souris traitées avec le phytomédicament à 100 mg mL⁻¹ ;
- lot 4 : souris traitées avec le phytomédicament à 67 mg mL⁻¹ ;
- lot 5 : souris traitées avec le phytomédicament à 50 mg mL⁻¹ ;
- lot 6 : souris traitées avec le phytomédicament à 40 mg mL⁻¹.

EVALUATION DES PARAMETRES TOXICOLOGIQUES

Détermination de la DMT et de la DL₁₀₀

Après avoir soumis les animaux à un jeûne de 12 h, la solution mère (200 mg mL⁻¹) est administrée, par gavage, à l'aide d'une canule d'intubation comportant un embout légèrement recourbé. Le gavage a été effectué à l'aide d'un volume de 0,6 ml pour 20 g de poids corporel. La dose de phytomédicament à administrer a été ensuite exprimée en mg/kg/vo de poids corporel (Tableau 1). Dans l'ensemble, des volumes de 0,5 à 0,9 ml ont été administrés aux animaux, en fonction de leur poids corporel.

Après l'administration de l'extrait, les animaux ont été replacés dans des cages métalliques où ils pouvaient avoir accès aux granulés. Ils ont été observés aussitôt puis toutes les 30 min, pendant 8 h, le premier jour et une fois par jour, durant 48 h. Pendant cette période, les troubles symptomatiques (manque d'appétit, difficultés motrices et dyspnée) ont été notés, à divers degrés, chez les animaux des lots 2 à 5. Les animaux morts ont été recensés dans chaque lot. Cette expérimentation sur la toxicité aiguë a été conduite dans le but de déterminer les paramètres toxicologiques que sont la dose létale 50 % (DL₅₀), la dose létale 100 % (DL₁₀₀) et la dose maximale tolérée (DMT) qui représente la dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque l'extrait est administré.

Tableau 1 : Taux de mortalité des souris après gavage au phytomédicament.

Mice death rate after spraying with phytomedicine.

Substance donnée en gavage	Taux de mortalité par lot					
	1	2	3	4	5	6
Concentration initiale (mg/ml)	0,6 ml/kg	200	100	67	50	40
Dose correspondante (mg/kg p.c./vo)	30 ml/kg	6000	3000	2010	1500	1200
Nombre de souris par lot	10	10	10	10	10	10
Nombres de souris mortes, 48 h après gavage du phytomédicament	0	10	7	4	2	0
Mortalité (%)	0	100	70	40	20	0

Détermination de la dose létale 50 % (DL₅₀)

La dose létale 50% a été déterminée à partir de la formule de Karber et Berhens (1935) comme suit :

$$DL_{50} = DL_{100} - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

DL₅₀ : Dose létale 50 % ; DL₁₀₀ : Dose létale 100 % ; a : moyenne de la somme des morts entre deux doses successives ; b : différence entre deux doses successives ; n : moyenne du nombre d'animaux utilisés par lot.

RESULTATS

L'analyse des résultats (Tableau 1) montre que le phytomédicament (décocté aqueux des tiges

feuillées de *Boerhavia diffusa*), administré à des doses de 1 200 à 6 000 mg/kg p.c./vo, a provoqué la mort des souris, selon les lots constitués. La mortalité des animaux augmente au fur et à mesure que la dose augmente : il y a donc eu un effet dose-réponse. La plus petite dose tuant tous les animaux ou dose létale 100 % (DL₁₀₀) a été de 6 000 mg/kg p.c./vo. La dose maximale tolérée (DMT), dose maximale qui ne tue aucun animal lorsque l'extrait est administré, a été de 1 200 mg/kg p.c./vo. Dans l'application numérique de la formule de Karber et Berhens (1935), le calcul de la DL₅₀ de l'extrait, a donné la valeur de 2 749,4 mg/kg p.c./vo. Selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner (1943) consignée dans le tableau 2, ce résultat de la DL₅₀ (2 749,4 mg/kg p.c./vo) sur 48 h d'observation indique que l'extrait aqueux des tiges feuillées de *B. diffusa*, administré par voie orale (VO), est légèrement toxique, chez les souris, dans les conditions de cette étude.

Tableau 2 : Classe de toxicité selon l'échelle de toxicité de Hodge et Sterner (1943).*Type of toxicity according to the toxicity scale of Hodge and Sterner (1943).*

Indice ou classe de toxicité	Terme couramment utilisé	Paramètre toxicologique (DL ₅₀)
1	Extrêmement toxique	DL ₅₀ ≤ 1 mg/kg
2	Hautement toxique	1 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 50 mg/kg
3	Modérément toxique	50 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 500 mg/kg
4	Légèrement toxique	500 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 5 g/kg
5	Presque toxique	5 g/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 15 g/kg
6	Relativement inoffensif	DL ₅₀ ≥ 15 g/kg

DISCUSSION

La dose maximale tolérée (1 200 mg/kg p.c./vo) est largement supérieure à la dose quotidienne (44,57 mg/kg p.c./vo) recommandée par les tradithérapeutes. Cela confirme l'idée d'Abo (1996), selon laquelle la DMT est supérieure aux doses nécessaires pour avoir des effets pharmacologiques. Ainsi, grâce à sa DMT de 1 200 mg/kg p.c./vo, l'extrait brut aqueux de *B. diffusa* offre une marge de sécurité appréciable. Ceci nous rassure quant à l'utilisation du phytomédicament prescrit par le tradithérapeute. En effet, dans les conditions d'utilisation traditionnelle, il est quasiment impossible d'atteindre la DMT (1 200 mg/kg p.c./vo. *B. diffusa*, prescrite traditionnellement, à la dose quotidienne de 44,57 mg/kg p.c./vo, ne pourrait être toxique, ce qui expliquerait ses nombreuses utilisations thérapeutiques traditionnelles.

La toxicité est liée aux modes de préparation et d'administration du phytomédicament. Kerahro et Adam (1974) ont rapporté que pour l'administration intrapéritonéale des extraits de la plante entière de *Boerhavia diffusa*, aux souris, la dose maximale tolérée (DMT) est de l'ordre de 1 000 mg/kg p.c. Cette DMT diffère de celle de la présente étude. Cette différence serait le fait du mode d'administration des extraits.

Dans leur étude de la toxicité aiguë de *Mareya micrantha* chez les souris, Doumbia *et al.* (2007) ont montré un effet dose-réponse de l'extrait aqueux et indiquent que la dose de 1 000 mg/kg p.c./vi entraîne la mort de toutes les souris. Dans la présente étude, la DL₁₀₀ est de 6 000 mg/kg p.c./vo : la toxicité n'est pas la même, d'une espèce de plante à une autre.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'extrait aqueux des tiges feuillées de *Boerhavia diffusa*, administré par voie orale, exerce un effet dose-réponse. Les caractéristiques toxicologiques obtenues dans les conditions expérimentales sont nettement supérieures à la dose de 44,57 mg/kg p.c./vo, prescrite par les tradithérapeutes, lors du traitement du diabète. Le phytomédicament, recommandé pour ses effets antidiabétiques, sous formes de décocté aqueux, n'est donc pas toxique, dans les conditions traditionnelles d'utilisation thérapeutique. Cette étude toxicologique devra être complétée avec l'effet du macéré aqueux et en procédant par une injection intrapéritonéale de l'extrait, aux mêmes doses. Il serait aussi utile d'envisager une étude de la toxicité subaiguë et de la toxicité chronique. En améliorant la posologie traditionnelle, il serait possible de réduire la durée du traitement du diabète.

REFERENCES

- Abo J. C. 1996. Effet pharmacologique d'un extrait aqueux de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) sur l'activité cardio-vasculaire de mammifère. Thèse de Doctorat de 3^e Cycle, Université Nationale de Côte d'Ivoire, F.A.S.T. d'Abidjan, 144 p.
- Adjanooun E. J. et L. Aké-Assi. 1979. Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. Université d'Abidjan, Centre National de Floristique, 358 p.
- Adjoungoua A., Diafouka F., Koffi P., Lokrou A. et H. Attaï. 2006. Valorisation de la pharmacopée traditionnelle : action de l'extrait alcoolique

- de *Bidens pilosa* (Asteraceae) sur l'exploration statique et dynamique de la glycémie. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, vol. 19 : 1 - 12.
- Anonyme. 1986. Médecine traditionnelle et pharmacopée, contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo. A.C.C.T., 671 p.
- Barry M. S. 1999. Les guérisseurs et leurs techniques thérapeutiques en Moyenne-Guinée. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, Vol. 13 : 91 - 103.
- Bouquet A. et M. Debray. 1974. Plantes médicinales de Côte-d'Ivoire. Imprimerie Louis Jean, Paris (France), 232 p.
- Doumbia I., Djaman A. J., Bahi C. et F. Guédé-Guina. 2007. Evaluation de la toxicité de *Mareya micrantha* (Euphorbiaceae) chez la souris. *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest*, 00 (5) : 79 - 86.
- Hodge et Sterner. 1943. Classes de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner. <http://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/ld50.html>, June 8th 2011.
- Karber C. and B. Brehrens. 1935. Wie sind Reihenversuche für biologische-Auswertungen am Zweckmässigsten Anzuordnen? *Arch. Exp. Path. Pharm.*, 177, (1935), 379 - 388.
- Kerharo J. et A. Bouquet. 1950. Plantes médicinales et toxiques de Côte d'Ivoire, Haute-Volta. Vigot et Frères, Editeurs. Paris (VIè), 296 p.
- Kerharo J. et J. G. Adam. 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Edition Vigot frères, Paris, 1007 p.
- Nacoulma-Ouédraogo O. 1996. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du Plateau central. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou (Burkina-Faso), Fac. Sc. et Tech., 605 p.
- Neuwinger H. D. 1996. African Ethnobotany. Poisons and Drugs. Chemistry, Pharmacology, Toxicology. Ed. Chapman and Hall, Bundesrepublik Deutschland, 942 p.
- N'Guessan K. 2008. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Département d'Agboville (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Université de Cocody-Abidjan, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique, 235 p.
- Ouattara D. 2006. Contribution à l'inventaire des plantes médicinales significatives utilisées dans la région de Divo (Sud forestier de la Côte d'Ivoire) et à la diagnose du poivrier de Guinée : *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae). Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique, 184 p.
- Paris L. and M. S. Amarnath. 2004. Antidiabetic activity of *Boerhavia diffusa* L.: effect on hepatic key enzymes in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 91 : 109 - 113.
- Tra-Bi F. H. 1997. Utilisation des plantes, par l'homme, dans les forêts classées du Haut-Sassandra et de SCIO, en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat 3^e Cycle, Université de Cocody-Abidjan, F.A.S.T, 212 p.
- Vangah-Manda M. O. 1986. Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées par les ethnies Akans de la région littorale de la Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de 3^e Cycle, Université Nationale de Côte d'Ivoire, F.A.S.T. d'Abidjan, 464 p.