



**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## Identification de deux phytostérols biologiquement actifs de l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus sur* (Moraceae)

Kossivi Issa SALOUFOU<sup>1\*</sup>, Pakoupati Bruno BOYODE<sup>1</sup>, Oudjanjobi SIMALOU<sup>1</sup>, Kodjo ELOH<sup>2</sup>, Mamatchi MELILA<sup>3</sup>, Kafui KPEGBA<sup>1</sup>, Kosi Mawuéna NOVIDZRO<sup>4</sup>, Thomas GASLONDE<sup>5</sup> et Sylvie MICHEL<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Organique et des Substances Naturelles (Lab COSNat) ; Département de Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>2</sup> Department of Life and Environmental Sciences, University of Cagliari, Via Ospedale 72, 09124, Cagliari, Italy.

<sup>3</sup> Département de Biochimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>4</sup> Laboratoire de Génie des Procédés et Ressources Naturelles (LAGEPREN), Département de Chimie, Université de Lomé, 01 BP 1515 Lomé 01, Lomé, Togo.

<sup>5</sup> Laboratoire de Pharmacognosie, UMR au CNRS, N° 9638, Université Paris-Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutique et Biologique, 4 Avenue de l'Observatoire, 75006, Paris, France.

\*Auteur correspondant, E-mail : [salkos@hotmail.fr](mailto:salkos@hotmail.fr), Tel. : (+228) 91 58 81 61

### REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements vont à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour le financement de ce travail.

### RESUME

*Ficus sur* est une plante alimentaire couramment utilisée en médecine traditionnelle au Togo. Elle a cependant fait l'objet de très peu d'études phytochimiques. Le présent travail a pour but de valoriser cette espèce à travers l'identification continue de ses métabolites. Ainsi, l'extraction cyclohexanique au Soxhlet a été réalisée sur les feuilles de *Ficus sur*. Cet extrait cyclohexanique obtenu a été ensuite fractionné puis purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice. L'identification des composés a été réalisée par GC-MS, précédée quelquefois d'une étape de dérivatisation. Treize fractions (A1 à A13) ont été obtenues du fractionnement de cet extrait. Après deux purifications successives de la fraction A5, deux sous-fractions A5.1 et A5.2 ont été obtenues. Le spectre de masse d'un composé de A2 présente un pic moléculaire à m/z 426 et des pics fragments [M-69]<sup>+</sup>, [M-154]<sup>+</sup>, [M-169]<sup>+</sup>, [M-197]<sup>+</sup>, [M-208]<sup>+</sup> et [M-219]<sup>+</sup> caractéristique du taraxastérol. Pour A5.2 dérivatisée, un composé présente un spectre de masse de pic moléculaire à m/z 486 et des pics fragments [M-90]<sup>+</sup>, [M-129]<sup>+</sup> et [M-357]<sup>+</sup> propres au  $\beta$ -sitostérol triméthylsilyl éther dérivé du  $\beta$ -sitostérol. La présence de ces deux phytostérols bioactifs serait un atout majeur dans l'usage thérapeutique de cette plante.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés** : *Ficus sur*, GC-MS, taraxastérol,  $\beta$ -sitostérol.

## Identification of two bioactive phytosterols of the cyclohexane extract of *Ficus sur* (moraceae) leaves

### ABSTRACT

*Ficus sur* is a food plant commonly used in traditional medicine in Togo. However, few phytochemical studies of this species are available. This work aims at contributing to the enhancement of this approach through an identification of its metabolites. The leaves of *Ficus sur* were then extracted with cyclohexane using soxhlet. The obtained cyclohexane extract was fractionated and purified by chromatography on silica gel column. Identification of the compounds was carried out by GC-MS, sometimes preceded by a derivatization step. Thirteen fractions (A1 to A13) were obtained from the fractionation of this extract. After two successive purifications of the fraction A5, two subfractions A5.1 and A5.2 were obtained. The mass spectrum of a compound of A2 has a molecular peak at  $m/z$  426 and peaks  $[M-69]^+$ ,  $[M-154]^+$ ,  $[M-169]^+$ ,  $[M-197]^+$ ,  $[M-208]^+$  and  $[M-219]^+$  characteristic of taraxasterol. For the derivatized fraction A5.2, a compound has a mass spectrum of molecular peak at  $m/z$  486 and peaks  $[M-90]^+$ ,  $[M-129]^+$  and  $[M-357]^+$  characteristic of  $\beta$ -sitosterol trimethylsilyl ether derived from  $\beta$ -sitosterol. The presence of these two bioactive phytosterols would be a major asset in the therapeutic use of this plant.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

**Keywords:** *Ficus sur*, GC-MS, taraxasterol,  $\beta$ -sitosterol.

### INTRODUCTION

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés dans les traitements contre de nombreuses maladies. L'utilisation thérapeutique des plantes est une partie intégrante des traditions de toutes les cultures et la valorisation médicinale de ces pratiques passe notamment par l'isolement et l'identification de nouvelles molécules actives sur une cible biologique donnée (Alice et al., 2017 ; Daouda et al., 2017).

Au Togo, un grand nombre de plantes sont traditionnellement reconnues pour leurs propriétés médicinales mais seulement très peu ont fait l'objet d'une étude de constituants phytochimiques. C'est le cas de *Ficus sur*, une plante de la famille des Moraceae qui peut atteindre une taille moyenne de 30-35 m de haut et 150 cm de diamètre du tronc. Cet arbre produit du latex blanc. En outre, ces fruits et feuilles entrent dans l'alimentation des populations. Sur le plan thérapeutique, les décoctions de racines, écorces et de feuilles sont utilisées, comme dans le cas de la plupart des figuiers, pour soulager les douleurs hépatiques, cardiovasculaires, et les crises d'asthme (Amandeep et al., 2011 ; Ahmed et al., 2012). Les feuilles sont aussi reconnues

pour leurs propriétés antipaludique, antibactérienne et antiulcéreuse (Atindehou et al., 2002 ; Emeje et al., 2005 ; Oyeleke et al., 2008 ; Alphonsine et al., 2012). Les travaux de Igoli et al. (2005) ont montré l'utilisation des feuilles de cette plante dans le traitement des diarrhées et la cicatrisation des plaies par les tribus Igede de l'État de Benue au Nigéria. Ayinde et Owolabi (2009) ont démontré que l'extrait aqueux des feuilles réduit la motilité intestinale, ce qui justifie son utilisation traditionnelle dans l'arrêt des diarrhées. Des composés bioactifs comme le 4',5,7-trihydroxyflavan-3-ol (un flavonoïde), xanthoxine (une pyrano-coumarine) et stigmatérol-3- $\beta$ -O-glucoside (une saponine) ont été isolés d'un extrait polaire éthanolique des feuilles de *Ficus sur* (Hassan, 2005). Par ailleurs, Jullian et al. (2005) lors de leurs travaux sur *Laetia procera* ont montré que les extraits apolaires de plantes pouvaient contenir des composés ayant de très bonnes activités biologiques. Le présent travail a pour objectif d'identifier, dans un extrait apolaire, des composés qui pourraient expliquer certaines propriétés pharmacologiques de cette plante.

## MATERIEL ET METHODES

### Matériel végétal

Les travaux ont porté sur les feuilles de *Ficus sur* (*Moraceae*) récoltées pendant le mois de décembre 2015 dans la région septentrionale du Togo (Dapaong). La caractérisation botanique de l'espèce, basé sur les travaux de Akoègninou et al. (2006), a été faite au Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Ces feuilles ont été séchées en laboratoire à la température ambiante (25 °C) puis réduites en poudre fine.

### Méthodes expérimentales

#### Procédures générales

Les analyses par chromatographie sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de silices de type Kieselgel 60 F254 (Merck) de 0,25 mm d'épaisseur. Les spots obtenus après élution sont observés tout d'abord à 254 nm puis à 366 nm sous lumière UV par extinction de fluorescence et ensuite révélés par pulvérisation de vanilline sulfurique suivie d'un chauffage. Le fractionnement des échantillons par chromatographie sur colonne a été réalisé sur gel de silice Chromatogel 60 SDS (granulométrie 20-45 µm) sous faible pression d'air (300 mbar) (Daouda et al., 2017).

L'analyse GC-MS a été effectuée suivant le protocole décrit par Kodjo et al. (2015). Deux cents microlitres d'échantillon à 10 mg/ml ont été séchés sous un léger courant d'azote et ensuite transformés en dérivés correspondants en utilisant une solution de chlorure de méthoxyamine dissous dans de la pyridine à 10 mg/ml. Après 17 heures d'incubation, 80 µl de N-méthyl-N-(triméthylsilyl) trifluoroacétamide (MSTFA) ont été ajoutés. Au bout de 1 h, 50 µl d'hexane contenant 5 mg/l de l'acide 2,2,3,3-d<sub>4</sub>-succinique ont été ajoutés comme étalon interne. Quatre répliquations ont été faites pour chaque échantillon et l'expérience a été répétée deux fois à des moments différents. Les échantillons dérivatisés et non dérivatisés ont été analysés par un chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard 6850) muni d'un détecteur sélectif de masse 5973 et d'un injecteur de série 7683B (Agilent

Technologies, Palo Alto, CA). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur au débit de 1 ml/min. Un microlitre de chaque échantillon a été injecté sur une colonne DB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Les températures pour l'entrée, l'interface et la source d'ions étaient de 250, 250 et 230 °C, respectivement. La température du four a été programmée comme suit: de 50 à 230 °C (5 °C / min en 36 min) et maintenue à cette température pendant 2 min. Les spectres de masse avec ionisation par impact électronique (70 eV) ont été enregistrés à partir de m/z 50 à 550. Les données qui en résultant ont été élaborées en utilisant MSD ChemStation. La confirmation des composants de l'échantillon a été faite par la comparaison de leurs temps de rétention et la fragmentation de masse avec ceux des étalons purs et par recherche dans la base de données NIST (2.0).

#### Extraction, fractionnement et purification

L'extraction a été faite au soxhlet en utilisant comme matériel végétal 568 g de poudre des feuilles de *Ficus sur* et comme solvant le cyclohexane qui a été évaporé sous pression réduite pour donner 9 g d'extrait cyclohexanique. Cet extrait est ensuite fractionné par chromatographie sur colonne ouverte de gel de silice Chromatogel 60 SDS (granulométrie 20-45 µm) sous faible pression d'air (300 mbar). L'éluant utilisé est le système mélange cyclohexane - acétate d'éthyle de polarité croissante. Ceci a permis d'obtenir 13 fractions désignées par An (n compris entre 1 et 13). La fraction A7 est rechromatographiée sur colonne de gel de silice, élué par un mélange gradient cyclohexane-dichlorométhane pour donner une poudre blanche dont le code est A7.3. Avec ce dernier système d'éluant, la fraction A5 a été traitée à deux reprises conduisant à deux sous fractions A5.1 et A5.2. Les fractions A2 et A5.2, présentant une meilleure pureté par la CCM, ont été analysées par GC-MS.

## RESULTATS

Treize fractions (A1 à A13) ont été obtenues du fractionnement de cet extrait. Après deux purifications successives de la

fraction A5, deux sous-fractions A5.1 et A5.2 ont été obtenues. Le spectre de masse obtenu de l'analyse GC-MS de A2 (Figure 1) présente un pic moléculaire à  $m/z$  426 et des pics fragments  $[M-69]^+$ ,  $[M-154]^+$ ,  $[M-169]^+$ ,  $[M-197]^+$ ,  $[M-208]^+$  et  $[M-219]^+$  caractéristique du taraxastérol. De plus, la présence d'un ion fragment à  $m/z$  408 ( $[M-18]^+$ ) traduisant la perte d'une molécule d'eau est une preuve de l'existence d'une fonction hydroxyle (-OH). Pour cette fraction A2, l'analyse a été faite sans dérivatisation et a révélé ainsi la présence de taraxastérol avec une correspondance de 87% selon NIST library.

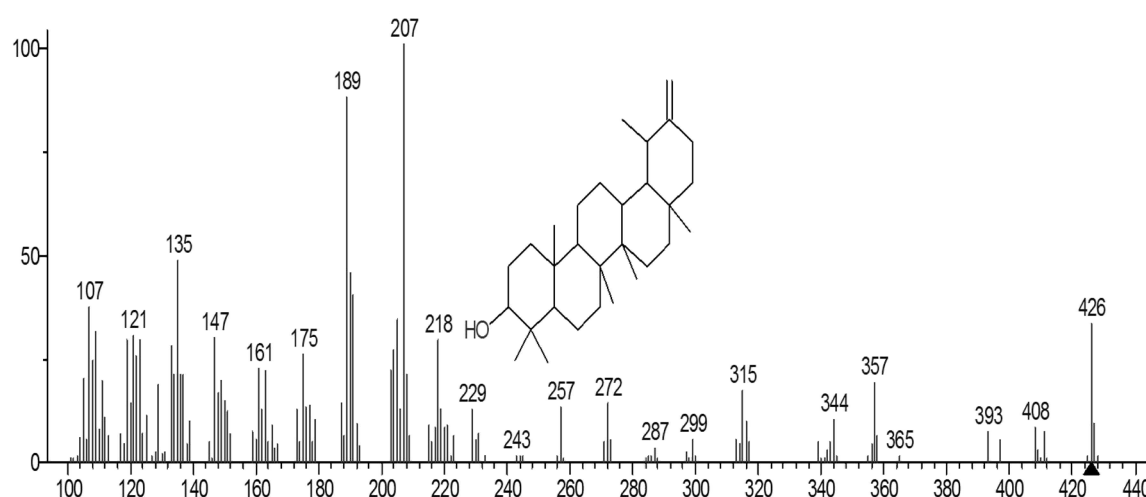
Par ailleurs, pour la fraction A2 dérivatisée, le spectre (

Figure 5) présente un pic moléculaire à  $m/z$  486 et des pics fragments  $[M-90]^+$ ,  $[M-129]^+$  et  $[M-357]^+$  propres au  $\beta$ -sitostérol triméthylsilyl éther dérivé du  $\beta$ -sitostérol. La présence d'un pic à  $m/z$  égal à 276 justifie une fragmentation de type Rétro Diels-Alder qui serait due à la double liaison C=C de cette structure. Le spectre de masse obtenu de l'analyse GC-MS de la fraction A5.2 a alors révélé la présence du  $\beta$ -Sitostérol détecté sous forme silylée à cause de la dérivatisation, la correspondance selon NIST library étant de 94%.

Les analyses GC-MS des fractions A2 et A5.2 nous ont permis d'identifier deux phytostérols : le  $\beta$ -Sitostérol et le taraxastérol avec les caractéristiques regroupées dans le Tableau 1.

**Tableau 1 :** Composés identifiés par GC-MS et leurs caractéristiques.

| Composé                                  | Formule brute moléculaire           | Correspondance selon NIST Library (%) | Masse moléculaire         |                                | Temps de rétention (min) | Code des différentes fractions |
|--|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
|  |                                     |                                       | M <sup>+</sup> (calculée) | M <sup>+</sup> (expérimentale) |                          |                                |
| $\beta$ -Sitostérol triméthylsilyl éther | C <sub>32</sub> H <sub>58</sub> OSi | 94                                    | 486,23                    | 486,5                          | 32,200                   | A5.2                           |
| taraxastérol                             | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O   | 87                                    | 426.14                    | 426,4                          | 33,834-33,931            | A2                             |



**Figure 1:** Spectre de masse du taraxastérol.

## DISCUSSION

### Identification des composés

Les informations disponibles dans la littérature ont permis de confirmer les structures des composés identifiés. En effet, le mécanisme de la formation de l'ion fragment  $m/z$  357 (Figure 2) a été élucidé par Yang et al. (2007). Plusieurs autres fragments, tels que  $[M-154]^+$ ,  $[M-169]^+$ ,  $[M-197]^+$ ,  $[M-208]^+$  et  $[M-219]^+$  (Figure 1), ainsi que les plus évidents comme  $[M-CH_3]^+$ ,  $[M-H_2O]^+$  et  $[M-(CH_3 + H_2O)]^+$  sont caractéristiques des stérols et sont bien connus des études avec d'autres terpènes (Melle et al., 2007).

D'un autre côté, à l'étape de la dérivatisation de la fraction A5.2, les hydrogènes labiles liés aux hétéroatomes sont remplacés par des groupements triméthylsilyle ( $-Si(CH_3)_3$ ) par substitution nucléophile d'ordre 2 (Figure 3). Ainsi des liaisons hydrogènes sont éliminées formant un dérivé plus volatil et donnant un pic chromatographique plus symétrique (Aubert, 2011). Un mécanisme général de la réaction est présenté à la Figure 3.

D'après le mécanisme de fragmentation (Figure 4) proposé par Dey et al. (2012), le spectre de masse de la forme silylée du  $\beta$ -Sitostérol présente des pics caractéristiques à  $m/z$  357 et  $m/z$  129 (Figure 5). Les autres pics sont aussi très caractéristiques du  $\beta$ -Sitostérol triméthylsilyl éther ce qui se traduit par une correspondance de 94% selon NIST library. Le  $\beta$ -sitostérol a été identifié dans le genre *Ficus* sous forme libre et glucosylée (Kuate et al., 2008 ; Tsai et al., 2012) et sa présence dans l'huile essentielle de l'espèce *Ficus sur* a été déjà rapportée par François et al. (2010). Ainsi, la présence de ce composé dans l'extrait vient confirmer que l'espèce *Ficus Sur* est riche en  $\beta$ -sitostérol et montrer la nature polyvalente de ce dernier.

Les phytostérols sont un sous-groupe des stéroïdes, reconnus comme une classe

importante de molécules bio-organiques répandues dans les plantes, les animaux ainsi que les champignons. En effet, les phytostérols affichent une similarité avec le cholestérol en structure. Ces composés ont une longue histoire de consommation en tant que produits alimentaires ou pharmaceutiques, et généralement reconnus comme sûrs sans effets secondaires indésirables (Saeidnia et al., 2014).

### Importance pharmacologique des composés identifiés

Le Taraxastérol est un composé qui possède plusieurs propriétés pharmacologiques. En effet, plusieurs auteurs ont déjà rapporté ses propriétés antitumorale (Jamshieed et al., 2010), anti-allergique (Liu et al., 2013), antioxydante (Gallová et al., 2007) et anti-inflammatoire (Zhang et al., 2012). Ovesna et al. (2004) ont enregistré expérimentalement l'inhibition du développement du cancer du côlon et du sein par le taraxastérol et le  $\beta$ -sitostérol. Ils ont indiqué que ces composés affectent les différents niveaux de développement de la tumeur, tels que leurs effets inhibiteurs sur la création, la multiplication et l'induction de cellules cancéreuses, ainsi que l'inhibition de l'invasion des cellules tumorales et des métastases. Le  $\beta$ -sitostérol serait également efficace dans le traitement du cancer de la prostate (Berges et al. 2000 ; Jourdain et al., 2006). Le stress oxydatif induit par la glucose-oxydase et la peroxydation lipidique pourrait être évité par incorporation de  $\beta$ -sitostérol dans la membrane cellulaire, ce qui a révélé l'effet précieux du composé dans le traitement des troubles neuro-dégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer (Shi et al., 2013). L'administration de  $\beta$ -sitostérol favorise la sensibilité à l'insuline (Radika et al., 2013) et réduit les taux de glucose et d'oxyde nitrique dans les rats diabétiques induits par la stéptopine, suivis d'une augmentation du taux

d'insuline ; le  $\beta$ -sitostérol est donc un excellent anti-diabétique. Le  $\beta$ -sitostérol a également montré un effet protecteur sur le tissu pancréatique avec l'amélioration de l'antioxydant pancréatique (Gupta et al., 2011). D'autres études ont mis en évidence son activité antioxydante en démontrant d'une part qu'il provoque une élévation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Baskar et al., 2012), et d'autre part que ce phytostérol pourrait être un piègeur d'espèces réactives de l'oxygène. Ses activités immunomodulatrice, anti-inflammatoire, hypocholestérolémiant, anthelminthique et anti-mutagène ont été également rapporté par plusieurs autres auteurs (Nagaoka et al., 2001 ; Villaseñor et

al., 2002 ; Prieto et al., 2006 ; Desai et al., 2009 ; Loizou et al., 2010 ).

En complément aux travaux de Mpiana et al. (2009) qui ont décelé une forte activité antitumorale des extraits aqueux et méthanolique de *Ficus sur*, le présent travail a montré que l'extrait apolaire cyclohexanique de cette plante mérite également une attention particulière d'autant plus qu'il contient des métabolites potentiellement bioactifs. De surcroît, l'extrait apolaire est plus facile à séparer par la chromatographie sur gel de silice pour un éventuel isolement, caractérisation et surtout test biologique des différents métaboliques qu'il contient.

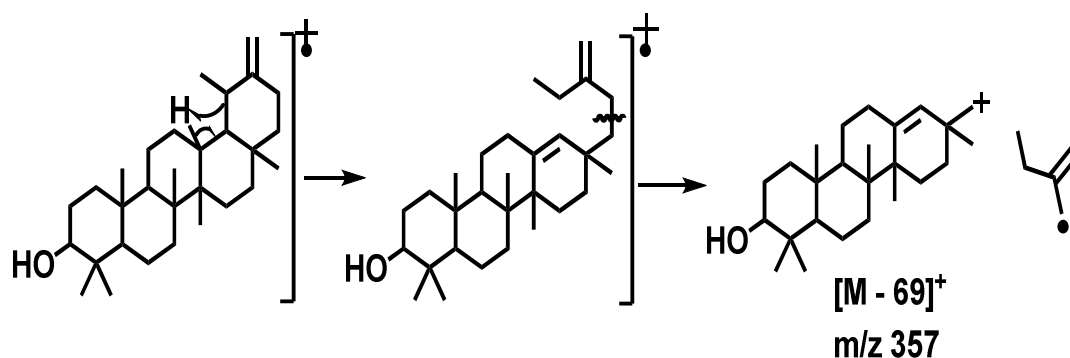


Figure 2: Formation de l'ion fragment m/z 357 lors de la fragmentation du taraxastérol.

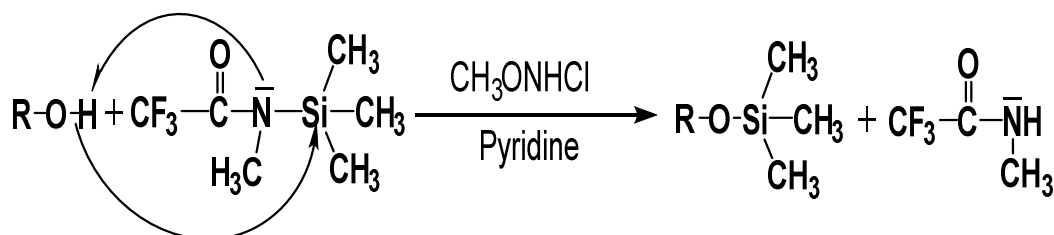


Figure 3: Mécanisme réactionnel de la silylation (Aubert, 2011).

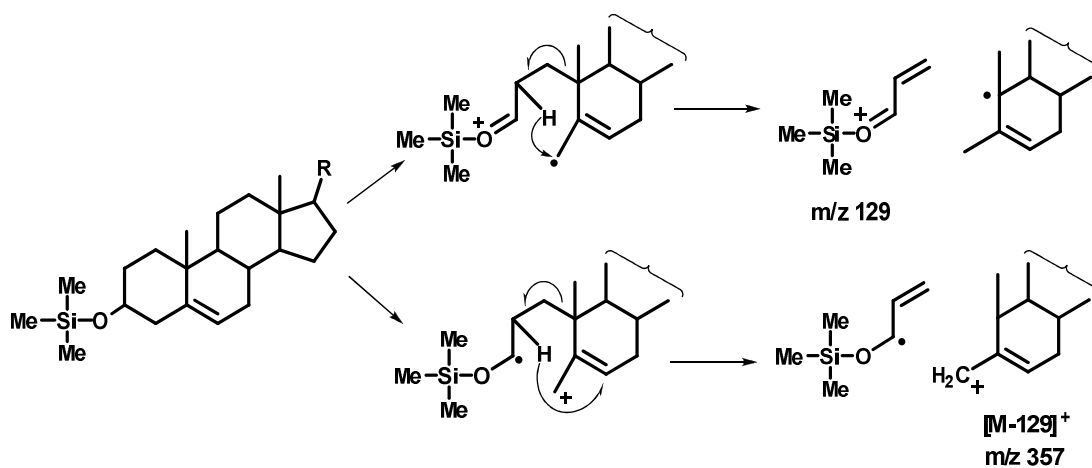


Figure 4: Fragmentation du dérivé triméthylsilyl éther du  $\beta$ -sitostérol.

Figure 5: Spectre de masse du  $\beta$ -sitostérol triméthylsilyl éther.

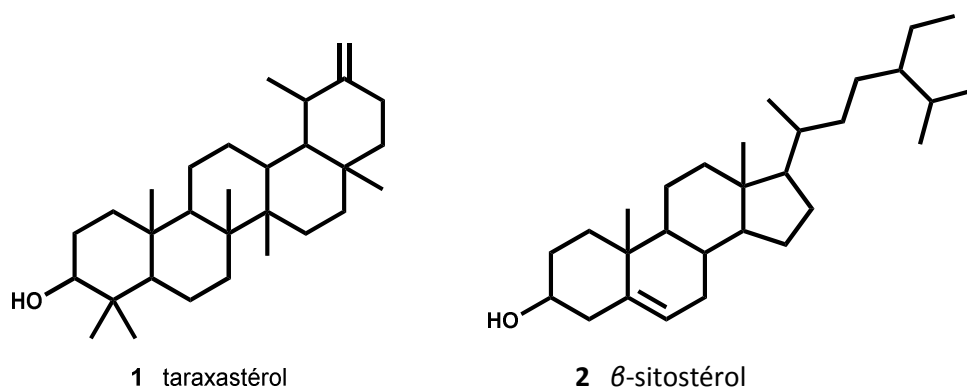


Figure 6 : Les composés identifiés par GC-MS.

## Conclusion

Au terme de cette première phase d'études phytochimiques à travers des méthodes de fractionnement aux fins de purification et avec l'emploi déterminant de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, deux phytostérols à savoir le taraxastérol et le  $\beta$ -sitostérol ont été identifiés. Les méthodes de fractionnement reposent sur l'utilisation de la chromatographie sur couche mince et la chromatographie en phase liquide à basse pression. Il faut noter que la chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse (GC-MS) a porté dans le cas du taraxastérol sur un échantillon non dérivatisé alors que le  $\beta$ -sitostérol est caractérisé sur un échantillon dérivatisé. Ainsi, la méthode d'analyse par GC-MS a été très efficace pour la détermination structurale de ces composés qui sont présents en mélange complexe et qui sont difficiles à séparer par les autres techniques chromatographiques. Les données spectrales de masse ont fourni une différenciation entre les types de squelettes et ont permis une identification fiable des composés. De plus, la silylation par le N-méthyl-N-(triméthylsilyl) trifluoroacétamide qui est l'agent de dérivatisation a présenté la particularité d'avoir, entre autres, des fragments caractéristiques  $[M-357]^+$  et  $[M-129]^+$  pour le  $\beta$ -Sitostérol triméthylsilyl éther. Les deux phytostérols identifiés présentent, selon la littérature, des intérêts biologiques potentiels et leur présence dans *Ficus sur* serait un atout majeur dans l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. Pour valider les conclusions tirées de ce travail, des études sont en cours afin d'isoler, caractériser puis tester biologiquement les métabolites contenus dans l'extrait cyclohexanique des feuilles de *Ficus sur*.

## CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a pas de conflit d'intérêts relatif à ce travail.

## CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

KIS a effectué les expériences (extraction et chromatographie). KIS, PBB, OS et MM sont les concepteurs et réalisateurs du projet. KE a apporté sa contribution pour la réalisation des analyses GC-MS. KMN a aidé à la rédaction de ce manuscrit. SM a supervisé l'extraction et la chromatographie sur colonne de gel de silice. Ainsi, tous les auteurs ont contribué d'une manière significative dans la réalisation de ce projet.

## REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à toute l'équipe du laboratoire de Pharmacognosie, Chimie des Substances Naturelles UMR CNRS 8638 de la faculté de Pharmacie de Paris qui nous a accueillis pour la réalisation de nos travaux.

## RÉFÉRENCES

- Ahmed F, Mueen Ahmed KK, Abedin MZ, Karim AA. 2012. Traditional uses and pharmacological potential of *Ficus exasperata* vahl. *Syst. Rev. Pharm.*, **3**: 15-23. DOI: 10.4103/0975-8453.107131
- Akoègninou A, Van der Burg WJ, Van der Maesen LJG. 2006. *Flore Analytique du Bénin (No. 06.2)*. Backhuys Publishers.
- Alice WN, Josiah OO, Peter KC, Abigael WW. 2017. Cytotoxic triterpenoids from the mushroom *Clavulina cinerea* (Bull) J. Schröt (cantharellaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(2): 865-873. DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i2.26>
- Alphonsine R-T, André T, Adama H, Marius L, Hassanata M-K, Odile GN, Innocent PG. 2012. Antioxidative and antibacterial activities of phenolic compounds from *Ficus sur* Forssk. and *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) :



- potential for sickle cell disease treatment in Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **6**(1): 328-336. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i1.29>
- Amandeep K, Rana AC, Vineeta T, Ramica S, Sunil K. 2011. Review on Ethanomedicinal and Pharmacological Properties of *Ficus religiosa*. *J. Appl. Pharm. Sc.*, **1**(8): 6 - 11.
- Atindehou KK, Kone M, Terreaux C, Traore D, Hostettmann K, Dosso M. 2002. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast. *Phytother. Res.*, **16**(5): 497-502. DOI: 10.1002/ptr.970
- Aubert G. 2011. Analyse des produits d'oxydation d'effluents aqueux : les acides organiques à chaînes courtes. Diplôme d'Ingenieur CNAM, Conservatoire national des arts et métiers, centre régional associé de Lyon, Lyon, p. 26.
- Ayinde BA, Owolabi OJ. 2009. Effects of the aqueous extract of *Ficus capensis* Thunb. (Moraceae) leaf on gastrointestinal motility. *J. Pharmacognosy Phytother.*, **1**(3): 031-035.
- Basakar AA, Numair KSA, Paulraj MG, Alsaif MA, Muamar MA, Ignacimuthu S. 2012.  $\beta$ -Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. *J. Med. Food*, **15**(4): 335-343. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1780>
- Berges RR, Kassen A, Senge T. (2000). Treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia with  $\beta$ -sitosterol: an 18-month follow-up. *BJU int.*, **85**(7): 842-846. DOI: 10.1046/j.1464-410x.2000.00672.x
- Daouda N, Mbaye DM, Abdoulaye G, Catherine L, Serge P. 2017. Détermination structurale de triterpénoïdes isolés des feuilles de *Combretum glutinosium* Perr. Ex DC (Combretaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(1): 488-498. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i1.39>
- Desai F, Ramanathan M, Fink CS, Wilding GE, Weinstock-Guttman B, Awad AB. 2009. Comparison of the immunomodulatory effects of the plant sterol  $\beta$ -sitosterol to simvastatin in peripheral blood cells from multiple sclerosis patients. *Int. Immunopharmacol.*, **9**(1): 153-157. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.10.019>
- Dey P, Harborne JB. 2012. *Methods in Plant Biochemistry: Terpenoids*, Academic Press: New York.
- Emeje M, Kunle O. 2005. Effect of two surfactants and mode of incorporation on the compaction characteristics of the hot water leaf extract of *Ficus sur*. *J. Diet. Suppl.*, **4**(3-4): 147-154. DOI: 10.1300/J133v04n03\_10
- François MN, Amadou D, Rachid S. 2010. Chemical composition and biological activities of *Ficus capensis* leaves extracts. *J. Nat. Prod.*, **3**: 147-160.
- Gallová J, Horváthová M, Grančai D. 2007. Taraxasterol inhibits the peroxydation of egg yolk phosphatidylcholine in liposomes. *Acta. Fac. Pharm. Univ. Comen.*, **3**: 70-77.
- Gupta R, Sharma AK, Dobhal M, Sharma M, Gupta RS. 2011. Antidiabetic and antioxidant potential of  $\beta$ -sitosterol in streptozotocin-induced experimental hyperglycemia. *J. Diabetes*, **3**(1): 29-37. DOI: 10.1111/j.1753-0407.2010.00107.x
- Hassan AAD, 2005. Studies on the Constituents of *Ficus capensis* (Thunb).

- Pak. J. Soc. Sci.*, **3**: 751-754. DOI: doi=pjssci.2005.751.754
- Igoli JO, Ogaji OG, Tor-Anyiin TA, Igoli NP. 2005. Traditional medicine practice amongst the Igede people of Nigeria. Part II. *Afr. J. Trad. CAM*, **2**(2): 134-152.
- Jamshieed S, Das S, Sharma MP, Srivastava PS. (2010). Difference in in vitro response and esculin content in two populations of *Taraxacum officinale* Weber. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, **16**(4): 353-358. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12298-010-0038-2>
- Jourdain C, Tenca G, Deguercy A, Troplin P, Poelman D. 2006. In-vitro effects of polyphenols from cocoa and  $\beta$ -sitosterol on the growth of human prostate cancer and normal cells. *Eur. J. Cancer Prev.*, **15**(4): 353-361. (pas de DOI)
- Jullian V, Bonduelle C, Valentin A, Acebey L, Duigou A-G, Prévost M-F, Sauvain M. 2005. New clerodane diterpenoids from *Laetia procera* (Poepp.) Eichler (Flacourtiaceae), with antiplasmodial and antileishmanial activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**: 5065-5070. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.07.090>
- Kodjo E, Monica D, Alessandro D, Alvine NM, Antonio M, Andrea M, Valentina O, Pierluigi C. 2015. In Vitro Nematicidal Activity of Aryl Hydrazones and Comparative GC-MS Metabolomics Analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **63**(45): 9970-9976. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04815
- Kuete V, Ngameni B, Simo CCF, Tankeu RK, Ngadjui BT, Meyer JJM, Lall N, Kuate JR. 2008. Antimicrobial activity of the crude extracts and compounds from *Ficus chlamydocarpa* and *Ficus cordata* (Moraceae). *J. Ethnopharmacol.*, **120**(1): 17-24. Doi:10.1016/j.jep.2008.07.026
- Liu J, Xiong H, Cheng Y, Cui C, Zhang X. 2013. Effects of taraxasterol on ovalbumin-induced allergic asthma in mice. *J. Ethnopharmacol.*, **148**: 787-793. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.05.006>
- Loizou S, Lekakis I, Chrousos G, Moutsatsou P. 2010. Beta-sitosterol exhibits antiinflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Mol. Nutr. Food Res.*, **54**(4): 551-558. DOI: 10.1002/mnfr.200900012
- Melle AL. 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (myrsinaceae). Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, p. 119.
- Mpiana PT, Balanganayi EK, Kanangila AB, Kalonda EM, Ngbolua KN, Tshibangu DST, Atibu EK, Lumbu JBS. 2009. Activité antirépanocytaire et thermodégradation des anthocyanes extraits de *Sterculia quinqueloba* et *Ficus capensis*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **3**(3): 551-560.
- Nagaoka S, Futamura Y, Miwa K, Awano T, Yamauchi K, Kanamaru Y, Kuwata T. 2001. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk  $\beta$ -lactoglobulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **281**(1): 11-17. DOI: <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4298>
- Ovesna Z, Vachalkova A, Horvathova K. 2004. Taraxasterol and beta-sitosterol: new naturally compounds with chemoprotective/chemopreventive effects. *Neoplasma.*, **51**: 407-414.
- Oyeleke S, Dauda B, Boye O. 2008. Antibacterial activity of *Ficus capensis*.

- Afr. J. Biotechnol.*, **7**(10):1414-1417. DOI: 10.5897/AJB08.141
- Prieto JM, Recio MC, Giner RM. 2006. Anti-inflammatory activity of beta-sitosterol in a model of oxazolone-induced contact delayed type hypersensitivity. *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med.*, **5**(3): 57-62. (pas de DOI)
- Radika MK, Viswanathan P, Anuradha CV. 2013. Nitric oxide mediates the insulin sensitizing effects of  $\beta$ -sitosterol in high fat diet-fed rats. *Nitric Oxide.*, **32**(1): 43-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.04.007>
- Saeidnia S, Manayi A, Gohari AR, Abdollahi M. 2014. The Story of Beta-sitosterol-A Review. *European J. Med. Plants*, **4**(5): 590-609.
- Shi C, Wu F, Zhu X, Xu J. 2013. Incorporation of  $\beta$ -sitosterol into the membrane increases resistance to oxidative stress and lipid peroxidation via estrogen receptor-mediated PI3K/GSK3 $\beta$  signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, **1830**(3): 2538-2544. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.12.012>
- Tsai P-W, De Castro-Cruz KA, Shen C-C, Chiou C-T, Ragasa CY. 2012. Chemical constituents of *Ficus odorata*. *Pharm. Chem. J.*, **46**(4): 225-227.
- Villaseñor IM, Angelada J, Canlas AP, Echevoyen D. 2002. Bioactivity studies on  $\beta$ -sitosterol and its glucoside. *Phytother. Res.*, **16**(5): 417-421. DOI: 10.1002/ptr.910
- Yang SX, Gao JM, Qin JC, Zhou L, Chiu MH, Wang L. 2007. Chemical constituents from *Craibiodendron yunnanense*. *Helv. Chim. Acta.*, **90**(8): 1477-1481. DOI: 10.1002/hlca.200790153
- Zhang X, Xiong H, Liu L. 2012. Effects of taraxasterol on inflammatory responses in lipopolysaccharide induced RAW 264 267.7 macro macrophages. *J. Ethnopharmacol.*, **141**: 206-211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.02.020>