



Article Original

Caractérisations Phytochimique et Pharmacotoxicologique de *Spilanthes Africana* (Asteraceae) Utilisée par les Tradithérapeutes pour les Extractions Dentaires

*Phytochemical and pharmacotoxicological characterization of *spilanthes africana* (asteraceae) used by traditional healers for dental extraction*

Nokam Abena Marie Elvire^{1,4}, Nnanga Nga^{2,6,7}, Soppo Vanessa⁶, Ngono Mballa⁶, Nyangono Ndongo Martin⁶, Wouassi Armelle Leiticia^{1,2,3}, Bengondo Messanga Charles⁴, Zé Minkande Jacqueline⁸

¹Service d'odontostomatologie, Hôpital de district de la cité verte de Yaoundé

²Institut de recherches médicales et d'études de plantes médicinales (IMPM)

³Laboratoire de multidisciplinaire galénique de la FMSB

⁴Département de Chirurgie Buccale, Maxillo-faciale et Parodontologie de la Faculté de médecine et des Sciences biomédicales (FMSB).

⁵Département de Médecine Traditionnelle africaine et pharmacopée traditionnelle (FMSB)

⁶Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique de la FMSB

⁷Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD)

⁸Département de Chirurgie et spécialités de la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicale de l'Université de Yaoundé 1

Auteur correspondant :

Dr Nokam Taguenné Epse Abéna Marie Elvire

Tel : (237)699975202

E-mail : nokamabena@yahoo.fr

Mots clés : *spilanthes africana*, tradithérapeutes, extraction dentaire, Cameroun..

Key Words: *Spilanthes africana*, traditional therapists, dental extraction, Cameroon.

RÉSUMÉ

Introduction. Les feuilles de *Spilanthes africana* sont utilisées en médecine traditionnelle en tant qu'anesthésiant, anti-inflammatoire et antimicrobien, pour ramollir les ligaments alvéolo-dentaire et réaliser une extraction dentaire. Cette utilisation empirique, a permis de réaliser la présente étude dont le but était d'identifier les métabolites actifs responsables des propriétés facilitant, permettant et autorisant l'extraction dentaire. **Matériels et Méthodes.** Le screening phytochimique a révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, tri-terpènes, stérols, hétérosides, saponosides, tanins, coumarines et sucres réducteurs par Harborne JB (1998) phytochemical methods; qui ont des propriétés anesthésiantes, anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique, syndesmotomiques, hémostatiques et astringent. Les feuilles de *spilanthes africana* n'ont pas présenté de toxicité aigüe aux doses 2000 et 5000 mg/kg et subaigüe aux doses 500, 1000, 2000mg/kg. La dose létale 50 était au-dessus de 5000 mg/kg. **Conclusion.** Les propriétés anesthésiques locales, hémostatique et syndesmotomiques de *Spilanthes africana* expliquent son usage par les tradithérapeutes pour l'extraction dentaire.

ABSTRACT

Introduction... The leaves of *Spilanthes Africana* are used in traditional medicine as an anaesthetic, anti-inflammatory and antimicrobial, to soften the alveolar ligaments and to perform a dental extraction. This empirical use has enabled the present study the aim of which was to identify the active metabolites responsible for the properties that facilitate, allow and authorize dental extraction. **Methods.** The phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tri-terpenes, sterols, heterosides, saponosides, tannins, coumarins and reducing sugars by Harborne JB (1998) phytochemical methods; which have anaesthetic, anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, syndesmotomic, haemostatic and astringent properties. The leaves of *spilanthes africana* showed no acute toxicity at 2000 and 5000 mg/kg and no subacute toxicity at 500, 1000, 2000 mg/kg. Lethal dose 50 was superior to 5000 mg/kg. **Conclusion.** The recognized local anaesthetic, haemostatic and syndesmotomic properties of *Spilanthes africana* justify its use by traditional healers for dental extraction.

INTRODUCTION

Les plantes contiennent des substances qui peuvent être bénéfiques pour la santé et utilisées dans le traitement médicamenteux de certaines pathologies. Dans notre sphère mondiale, 30% des espèces de plantes connues sont utilisées à des fins médicales [1, 2].

Au Cameroun la médecine traditionnelle constitue le 3^e sous-secteur de la santé [3]. L'une des familles de plantes les plus utilisées est celle des *Asteraceae* [3, 4]. Les genres *spilanthes* de cette famille sont largement

connus dans la pharmacopée traditionnelle sous le nom français « l'œil du poulet » [5, 6].

Parmi les espèces qu'il comporte, les feuilles de *Spilanthes africana* regroupaient en elles tous les ingrédients pour réaliser une extraction dentaire c'est à dire l'anesthésie locale, la syndesmontomie et avulsion proprement dite, puisqu' elle est utilisé par des tradithérapeutes pour les extractions dentaires. Les vertus qu'elle renferme pourraient être une solution face à la peur des aiguilles lors de l'anesthésie locale [3, 7].

A travers une étude phytochimique et pharmacologique de *Spilanthes africana*, l'objectif de ce travail est d'identifier les principes actifs responsables des effets pharmacologiques observés dans le cadre d'extractions dentaires par les tradithérapeutes.

MATERIELS ET METHODES

Il s'agit d'une étude expérimentale menée à Yaoundé, sur la recherche des métabolites secondaires du *Spilanthes africana*, sur une période de 13 mois allant du 02 janvier 2018 au 31 février 2019.

Le matériel végétal était les feuilles de *Spilanthes africana*, récoltées courant septembre avec l'aide d'un tradithérapeute, dans l'arrondissement d'Awae village Edouma situé à 45Km de Yaoundé. L'identification de la plante s'est faite à l'herbier National : L'échantillon de NDITAPAH n°173 (33076 HNC) collecté le 16/05/1960 est le numéro identifiant l'espèce *Spilanthes africana* au Cameroun (figure 1).



Figure 1 : plants de *Spilanthes africana*.

L'espèce animale choisie pour les tests de toxicité aiguë et subaiguë était *Rattus norvegicus* albinos de la souche Wistar.

Le matériel d'extraction et de *Screening* phytochimique était constitué des tubes à essai, une micropipette un bain-marie (Prescistern), une lampe UV (BioblockSc), une spatule, une balance de précision Explorer OHAUS (précision 0.001 g - 210g), un évaporateur Rotatif, BUCHI, la verrerie, du coton blanc, une étuve ou un four électrique (MAGNESTY), du papier Whatman numéro 1, du papier Ph ou un PH-mètre, un agitateur mécanique, un percolateur, une plaque chauffante, une marmite et un tamis.

Les réactifs utilisés étaient l'iode mercurique, l'iode de potassium, le nitrate de bismuth, l'acide tartrique, le sulfate de cuivre, l'eau distillé, l'acide sulfurique, le sodium tartrate de potassium, l'hydroxyde de sodium, le réactif de BOUCHARDAT, le réactif de BORNTAEGER, le carbonate de sodium anhydre, l'acide sulfurique, l'éthanol, le chlorure de fer III, le chlorure d'hydrogène, l'anhydride acétique, le chloroforme, l'acide acétique glacial, le réactif de STIASNY, le copeaux de magnésium, le réactif de Dragendorff, la solution de Fehling A, la solution de Fehling B, le réactif de Liebermann-Burchard.

Les solvants utilisés étaient l'eau distillée et le mélange éthanol /eau.

Les méthodes d'extraction des métabolites secondaires ont été réalisées par extraction hydroéthanolique et par extraction aqueuse par digestion.

Le screening phytochimique des extraits aqueux et hydroéthanolique :

Une partie de l'extrait a été utilisée pour le *screening* phytochimique afin de déterminer les groupes chimiques majeurs retrouvés dans la plante. C'est un ensemble de techniques permettant de caractériser chimiquement les substances organiques naturelles (métabolites secondaires) de la plante. Les métabolites secondaires que nous recherchions étaient : les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes, stérols, hétérosides, saponosides, tanins, les coumarines, sucres réducteurs selon Harborne JB (1998).

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm erreur type. Les différences entre les moyennes et le groupe contrôle ont été déterminées à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA) couplée au test post hoc appelé Tukey. L'analyse a été conduite à l'aide du logiciel SPSS version 20 pour Windows au seuil de significativité 0,05. Les graphes ont été représentés grâce au logiciel MS Excel 2013.

La toxicité aiguë et subaiguë de l'extrait hydroéthanolique des feuilles

Parmi les animaux d'élevage, 30 jeunes rats mâles, apparemment sains ont été sélectionnés, et répartis selon les poids semblables dans les différents groupes témoins et essais (dont 09 rats âgés de 9 à 10 semaines ; de masse corporelle comprise entre 93 et 153g pour l'essai de toxicité aiguë et 20 rats âgés de 10 à 12 semaines ; de masse corporelle comprise entre 110 et 150g pour la toxicité subaiguë). Aucun de ces animaux n'avait été sujet à des expériences antérieures. L'administration de la dose s'est faite par gavage. Pour la toxicité aiguë la méthode utilisée a suivi les lignes directrices 423 modifiées de l'OCDE. Concernant la toxicité subaiguë, elle a été déterminée à partir de la ligne directrice 407 de l'OCDE adopté le 03 octobre 2008.

RESULTATS

L'extraction hydroéthanolique par percolation de 1kg de masse de poudre de *Spilanthes africana*, avec un rendement de 14,2%, a été obtenue de la masse initiale de poudre de *Spilanthes africana*. Les caractéristiques de l'extrait étaient : odeur forte, couleur vert foncée avec un aspect gélatineux.

L'extraction aqueuse, avec un rendement de 43,97%, a été obtenue par la méthode de digestion à partir de 0,802Kg de poudre de *Spilanthes africana*. Les caractéristiques de l'extrait étaient : pas d'odeur, couleur vert pâle avec aspect de bouillon.

Screening phytochimique des extraits aqueux et hydroéthanolique

Les résultats du *screening* phytochimique sont donnés par les caractères très abondant (+++), moyennement abondant (++) , présent à l'état de trace (+) et absent (-). Le tableau I nous présente les résultats des réactions de

caractérisation phytochimique réalisés sur les différents extraits.

Tableau I : Résultats du screening phytochimique

Classe phytochimique	Extrait hydroéthanolique (70/30)	Extrait aqueux
Saponosides	–	–
Coumarines	+++	–
Tanins catéchiques	+++	–
Flavonoïdes	+	–
Alcaloïdes	+++	++
Triterpènes	–	–
Stérols	++	–
Sucres réducteurs	–	+
Glucosides	+	+
Anthraquinones	–	–

Toxicité aigüe

Elle étudie le changement comportemental des animaux aux doses 2000 et 5000 mg/kg pendant 14 jours et évalue l'évolution de masse corporelle des animaux après l'administration de l'extrait hydroéthanolique par gavage. Il ressort que les animaux des différents groupes ont pris du poids par rapport au groupe contrôle. La quantité de nourriture ingérée par les animaux des différents groupes a entraîné une évolution progressive de leur masse corporelle, avec un pic le 7ème jour.

L'évaluation du comportement des animaux s'est faite à 30min, 4h et 24h après l'administration de l'extrait hydroéthanolique. Chez les animaux du groupe contrôle, aucun symptôme n'a été observé. Chez les rats des différents groupes, 30min après, on a observé des difficultés à marcher, des poils hisses, des tremblements, la recherche de la chaleur et l'insensibilité au bruit ; 4h après, les animaux se sont endormis et 24h plus tard, il n'y avait plus aucun signe. Les autres jours suivants, les rats n'ont montré aucun signe de toxicité.

Toxicité subaigüe

Ce test a permis de mettre en évidence l'impact de l'extrait hydroéthanolique sur le poids pondéral relatif des animaux testés, l'histologie et la masse des organes (foie, cœur, rein, rate) prélevés, les paramètres biochimiques et hématologiques du plasma des animaux. La masse pondérale relative a varié en fonction des doses 500, 1000, 2000mg/kg et du groupe contrôle.

Les organes les plus significatifs de chaque animal à savoir le foie, rein, rate, cœur, ont été pesé dans le but d'évaluer l'impact de cette plante au niveau de la masse des organes selon les dosés et en comparaison avec ceux du groupe contrôle. Il en ressort qu'il n'y a pas de différence entre les animaux des différents groupes avec le groupe contrôle. Les tests biochimiques ont été faits. Les dosages des transaminases, urée, créatinine, cholestérol totale, glucose, protéines, triglycérides dans le plasma sanguin des animaux aux doses 500, 1000, 2000 mg/kg et le groupe contrôle ont été faits. Il ressort que le dosage de l'urée et du cholestérol total présentent une différence significative par rapport au groupe contrôle.

Les tests hématologiques ont permis de mettre en évidence l'impact de la plante sur le système sanguin. Le tableau II résume tous les dosages en montrant les différents paramètres hématologiques testés sur le plasma sanguin des animaux du test subaigu. On remarque qu'il n'y a pas de différence significative en fonction de la valeur P entre le groupe contrôle et le reste des animaux testés.

DISCUSSION

Cette étude expérimentale, portant sur la caractérisation phytochimique et pharmacotoxicologique des extraits des feuilles de *Spilanthes africana*, a été réalisée au travers d'un screening phytochimique et une étude de toxicité aigüe et subaigüe.

L'extraction des feuilles de *Spilanthes africana* par percolation et par digestion a permis d'obtenir des quantités variables d'extrait à savoir 0,142 kg et 0,353 kg respectivement. Le meilleur rendement a été observé avec l'extrait aqueux de 44% ; ceci pourrait s'expliquer par le fait que la percolation laisse le solvant traverser par la poudre alors que dans la digestion la poudre et le solvant sont ensemble et forme un seul bloc [8, 10].

Il a été recherché neuf familles de métabolites secondaires les plus rencontrés. Les métabolites secondaires absents étaient les saponosides. Ceci peut s'expliquer par la différence du lieu de récolte, la période, la procédure d'extraction des métabolites et de la technique de screening certains métabolites. Cette étude a été réalisée à Yaoundé. Les feuilles ont été récoltées à Awae, à 45 km de la ville de Yaoundé, courant septembre. Par contre, l'étude de Ngueguim et al. s'était déroulé dans la ville de Bafoussam à partir de l'extrait aqueux lyophilisé, au mois de juin par la technique Ayoola et al. [9, 11].

La richesse en métabolites de cette plante pourrait expliquer son action dans la sphère buccale [12]. En effet la présence d'alcaloïde explique le rôle anesthésiant local et anti inflammatoire de cette plante. Les tanins, ramolliraient la gencive en accord avec les travaux sur la poussée dentaire [13]. Ils ont aussi des propriétés hémostatiques et astringentes prononcées qui hâtent la guérison des blessures et des muqueuses enflammées [12]. La présence des flavonoïdes qui ont un rôle anti-inflammatoires, hémostatique, analgésique et anti microbien en synergie d'action avec les tanins, expliquerait les actions de *Spilanthes africana* favorable à l'avulsion dentaire. Ce résultat est en accord avec l'étude Veda Prachayasitikul et al qui a travaillé sur *Spilanthes acmella* en 2012 [14]. Les coumarines y contenus, présentent un intérêt thérapeutique pour leur action anti œdémateuse par augmentation du drainage lymphatique, ainsi que pour la stimulation de l'activité protéolytique des macrophages. Ils ont aussi des propriétés anti inflammatoire, anti coagulante, antipyrétique et analgésique [16]. Les stérols possèdent des propriétés antiseptique, antalgique, anti-inflammatoire, analgésique en accord avec l'étude de Agbor et al. [15]

Les résultats de la toxicité aigüe ont révélé les signes de souffrance observés chez les rats pendant les premières

24h après l'administration des doses de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Spilanthes africana* sont marqués par une diminution de la sensibilité et de la mobilité.

Tableau II: Résultats du dosage plasmatique des paramètres hématologiques des différents lots.

Paramètres	Dose (mg/kg)			Groupe contrôle
	500	1000	2000	
Globule blanc ($10^3/\text{mm}^3$)	10,74 ± 0,24 ^a	8,88 ± 0,38 ^a	9,50 ± 0,31 ^a	8,84 ± 1,09 ^a
Globule rouge ($10^6/\text{mm}^3$)	7,19 ± 0,08 ^a	7,14 ± 0,18 ^a	6,82 ± 0,29 ^a	6,71 ± 0,41 ^a
HGB (g/L)	13,12 ± 0,06 ^a	13,26 ± 0,26 ^a	13,38 ± 0,09 ^a	12,62 ± 0,67 ^a
HCT (%)	38,18 ± 0,49 ^a	37,30 ± 0,65 ^a	35,86 ± 1,27 ^a	35,60 ± 2,15 ^a
PLA ($10^3/\text{mm}^3$)	782,80 ± 9,56 ^a	634,00 ± 53,39 ^a	661,60 ± 68,73 ^a	613,40 ± 95,92 ^a
THT (%)	0,71 ± 0,01 ^a	0,51 ± 0,05 ^a	0,57 ± 0,08 ^a	0,54 ± 0,10 ^a
VGM (fL)	53,00 ± 0,00 ^a	52,60 ± 0,40 ^a	52,80 ± 0,49 ^a	53,20 ± 0,49 ^a
TGMH (pg)	18,28 ± 0,45 ^a	18,62 ± 0,77 ^a	19,78 ± 1,05 ^a	18,88 ± 0,36 ^a
CCMH (g/dL)	34,38 ± 0,40 ^a	35,58 ± 1,20 ^a	37,56 ± 1,69 ^a	35,56 ± 0,50 ^a
IDR (%)	12,38 ± 0,11 ^a	13,20 ± 0,24 ^a	12,58 ± 0,25 ^a	12,64 ± 0,24 ^a
VMP (fL)	9,02 ± 0,07 ^a	8,10 ± 0,44 ^a	8,54 ± 0,40 ^a	8,66 ± 0,26 ^a
IDP (%)	23,84 ± 0,25 ^a	22,52 ± 1,83 ^a	23,06 ± 0,70 ^a	23,52 ± 0,61 ^a
LYM ($10^3/\text{mm}^3$)	9,50 ± 0,22 ^a	7,64 ± 0,37 ^b	7,60 ± 0,30 ^b	8,40 ± 0,49 ^{ab}
MON ($10^3/\text{mm}^3$)	0,40 ± 0,00 ^a	0,42 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,00 ^a	0,44 ± 0,02 ^a
GRA ($10^3/\text{mm}^3$)	0,84 ± 0,02 ^{bc}	0,66 ± 0,02 ^a	0,88 ± 0,02 ^c	0,76 ± 0,04 ^{ab}

Légende : Les valeurs portant des lettres différentes sur la même ligne sont statistiquement différentes ($p < 0,05$).

Ces signes s'expliqueraient par la présence des alcaloïdes dans cette plante qui ont un rôle dépressif sur le système nerveux central corroborant avec les études sur les effets du temps sur l'humeur de Warm et al., 2005[18]. Aucune mort n'a été enregistré durant la période expérimentale en accord avec la classification de HOGGE et STERNER [20].

Les tests de toxicité subaiguë ont révélé que l'extrait hydroéthanolique n'a pas influencé la prise de poids des animaux du groupe contrôle et ceux des groupes des doses 500, 1000, 2000mg/kg. Les tests hématologiques, n'ont montré aucune variante significative. Les travaux sur les rats mâles pourraient expliquer cette différence avec les travaux de Ngueguim et al. qui a travaillé avec les rats femelles. Ce dernier a montré aux doses 500mg/kg et 1000mg/kg, une diminution du taux de monocytes, des granulocytes, des monocytes, et une augmentation du taux de lymphocytes et d'hémoglobine[19].

Sur les tests biochimiques, notre extrait hydroéthanolique a montré une diminution du taux de cholestérol de tous les groupes par rapport au groupe contrôle. La composition des aliments donnés aux animaux pourrait expliquer ces résultats qui diffèrent de ceux de Ngueguim et al. qui montre plutôt que *Spilanthes africana* n'a aucun effet sur cholestérol totale et le cholestérol HDL[19]. Les doses 500 et 1000 mg/kg n'ont eu aucune variante par rapport aux groupes contrôles. La qualité de l'extrait hydroéthanolique pourrait expliquer cette différence avec les résultats de Ngueguim et al. qui montrent que leur extrait aqueux lyophilisé entraîne une diminution du taux d'ASAT et ALAT.

CONCLUSION

Au terme de ce travail, le constat a pu être fait que le mélange éthanol eau 7/3 s'est avéré le meilleur solvant des extractions. L'extrait aqueux possède moins de métabolites que l'extrait hydroéthanolique en dépit du fait que l'extraction aqueuse ait eu un rendement plus élevé que l'extraction hydroéthanolique. L'extrait hydroéthanolique de *Spilanthes africana* contient les métabolites secondaires suivants: les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les coumarines, les stérols et les glucosides. Ce qui expliqueraient les actions anesthésique, anti-infectieux, hémostatique et syndesmotomique de cette plante lors de l'exodontie. Cet extrait possède une toxicité légère selon l'échelle de toxicité de Hogde et Sterner (1953), qui ferait de *Spilanthes africana* la solution miracle des Chirurgiens de la sphère orale.

CONFLITS D'INTERET

Aucun.

REMERCIEMENTS

A l'Institut de recherches médicales et d'études de plantes médicinales (IMPM).

Au Laboratoire de multidisciplinaire galénique de la FMSB.

Au Laboratoire de chimie organique de la Faculté de Sciences de l'Université de Yaoundé I.

SOURCE DE FINANCEMENT

Cette recherche n'a reçu aucune subvention d'un organisme international, public ou privé.

RÉFÉRENCES

1. Nga EN, Pouka CK, Céleste P, Boumsong N. Inventaire et caractérisation des plantes médicinales utilisées en thérapeutique dans le département de la Sanaga Maritime : Ndom, Ngambe et Pouma. 2016;10333–52.
2. Mpondo E, Dibong DS, Priso RJ, Ngoye A, Ladoh CF. Etat de la médecine traditionnelle dans le système de santé des populations rurales et urbaines de Douala (Cameroun). *J Appl Biosci*. 2012;55:4036–1045.
3. Tsofack F, Parvez M, Hubert J, Akhtar J, Tewari D, Nagar GK, et al. Evaluation of Cameroonian plants towards experimental bone regeneration. *J Ethnopharmacol*. 2012;141(1):331–7.
4. Sharma A, Kumar V, Rattan RS, Kumar N, Singh B. Insecticidal toxicity of spilanthol from *spilanthes acmella* Murr. against *Plutella xylostella* L.," *American Journal of Plant Sciences*. 2012;1568–1572.
5. Paulraj J, Govindarajan R, Palpu P. The Genus *Spilanthes* Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacological Properties : A Review. *Advances in Pharmacological Sciences* 2013(1), 510298-22.
6. OMS. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle, 2008.
7. Martinov. Famille des Astéracées(Asteraceae) 1820.
8. Boussahel S. Etude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. [Mémoire de magister] Algérie : Université Ferhat Abbes, Sétif ; 2011.
9. Nguenguim TF, Djouwoug NC, Donfack JH, Gounoue KR, Mbatchou A, Kamtchouing P, et al. Acute and sub-acute toxicity of a lyophilised aqueous extract of the aerial part of *spilanthes africana* delile in rats. *J ethnopharmacol*. 2015;172:145–54.
10. OCDE. Ligne directrice de l'ocde pour les essais de produits chimiques - ver de terre, essais de toxicité aiguë. 1984;(9).
11. Herzi N. Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. [Thèse de Docteur] France : Université de Toulouse ; 2013.
12. Bruneton J. Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales. 5ème Edition. Lavoisier 2015.
13. Jiofack T et al. Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology*. 2009 144-150.
14. Prachayasittikul V, Prachayasittikul S, Ruchirawat S. High therapeutic potential of *spilanthes acmella*: a review. *excli J*. 2013; 12:291–312.
15. Agbor AM. Methanol extracts of medicinal plants used for oral healthcare in cameroon. *biochem pharmacol*. 2015; 4(2).
16. Prachayasittikul S, Suphamong S, Worachartcheewan A, Lawung R, Ruchirawat S. Bioactive metabolites from *spilanthes acmella* murr. *molecules*. 2009; 14(2):850–67.
17. Barbosa AF, Carvalho MG de, Smith RE, Sabaa-srur auo. spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. *Rev bras farmacogn*. 2016 ; 26(1) :128–33.
18. Keller MC, fredrickson bl, ybarra o, côté s, johnson k, mikels j, et al. A warm heart and a clear head: the contingent effects of weather on mood and cognition. *psychol sci*. 2005; 16(9) : 724–31.
19. Agbor AM, Naidoo S. Ethnomedicinal plants used by traditional healers to treat oral health problems in cameroon. *evd based complement alternat med*. 2015;649832.
20. N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Scinat* 2009; v6i1.48575