

## **Influence de l'extrait aqueux de feuilles d'*Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* et *Justicia insularis* sur la fertilité et quelques paramètres biochimiques de la reproduction chez la rate.**

**P.B. TELEFO<sup>a</sup>, P.F. MOUNDIPA<sup>b</sup>, F.M. TCHOUANGUEP<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Dschang B.P: 67 Dschang, CAMEROUN

<sup>b</sup> Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I B.P: 812 Yaoundé, CAMEROUN

\* Auteur à qui seront transmises les correspondances.

### **RESUME**

En vue de vérifier une des propriétés médicinales de l'extrait aqueux de feuilles des plantes médicinales susmentionnées, utilisé pour accroître la fertilité et régulariser le cycle menstruel chez la femme, différentes doses de cet extrait (13, 25, 49 et 94 mg/ml) ont été administrées par voie orale pendant 20 jours à des rates immatures de race albinos Wistar, âgées de 22 jours et réparties en 5 groupes expérimentaux de 23 rates chacun. A la fin du traitement, 5 rates dans chacun des groupes ont été sacrifiées, leur sang recueilli, leurs ovaires et utérus prélevés, pesés et utilisés pour des dosages biochimiques. Quant aux quatre vingt et dix autres restantes (18/groupe), elles ont immédiatement été croisées aux rats mâles de fertilité prouvée (1 mâle et 3 femelles/cage). Le pourcentage de mise bas, la portée et le poids corporel des petits ont été notés. Le poids des ovaires et de l'utérus ainsi que leur concentration en protéines sont significativement élevés ( $p < 0,05$ ) chez toutes les rates traitées. Il en est de même de l'oestradiol sérique. L'oestradiol ovarien augmente de 83% chez les rates traitées à la dose de 49 mg/kg comparativement à la valeur de celles du groupe témoin. Le cholestérol ovarien demeure significativement faible chez toutes les rates traitées ( $p < 0,05$ ). Le taux de fertilité est maximal (100%) chez les rates traitées aux doses de 49 et 94 mg/kg, contrairement à celles non traitées qui donnent un taux de 82% de mise bas. La portée n'est pas affectée par l'extrait de plante et le poids corporel des petits issus des rates traitées est significativement élevé ( $p < 0,05$ ) quelle que soit la dose d'extrait de plantes administrée. Ces résultats attestent non seulement l'oestrogénicité de l'extrait de plantes mais également son implication dans l'amélioration du développement folliculaire.

**Mots clés:** Rates, plantes médicinales, fertilité, oestradiol, utérus, ovaire.

### **ABSTRACT**

In the course of the clarification of one of the claimed therapeutic effect of the aqueous extract from the leaves of *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus*, *Justicia insularis*, locally used to improve fertility and to regulate the menstrual cycle in women, different doses of the extract (13, 25, 49 and 94 mg/ml) were given daily for 20 days and by gastric intubation to 22 day old albino rats divided into 5 experimental groups of 23 animal each. After the treatment, 5 animals from each experimental group were killed, their blood collected, the ovaries and uteri removed, weighed and used for biochemical analysis. The remaining female rats (18 in each group) were mated with male rat of proven fertility (1 male and 3 female rats/cage). The conception rate, the number and weight of pups in each litter were evaluated. The ovarian and uterine weights, protein levels, as well as serum oestradiol level were significantly high ( $p < 0.05$ ) in all treated rats. The ovarian level of oestradiol increased by 83% in group given 49 mg/kg of the plant extract when compared to the control. Ovarian cholesterol remained significantly low in all treated rats ( $p < 0.05$ ). The conception rate was maximum (100%) in rats given 49 or 94 mg/kg of the plant extracts, contrary to control that gave 82%. The plant extract did not affect the size of litters. The weight of pups from treated rats was significantly high ( $p < 0.05$ ). These results not only confirm the oestrogenic potential of the extract but also its implication in the improvement of follicular growth.

**Key words:** Female rats, medicinal plants, fertility, oestradiol, uterus, ovary.

## Introduction

L'homme s'est de tout temps intéressé à sa santé de reproduction. Face aux multiples problèmes socio-économiques liés à l'actuelle démographie galopante, à la persistance ou à l'apparition de diverses formes de maladies sexuellement transmissibles et surtout au nombre assez important de personnes stériles (50 à 80 millions) à travers le monde (Rowe *et al.*, 1993); des schémas thérapeutiques tels que l'administration de contraceptifs, d'antibiotiques ou d'inducteur de l'ovulation; la microchirurgie des organes de reproduction ont été préconisés par la médecine moderne (Guyton et Gontier, 1989; Dioulde, 1992). Vu le coût élevé et les effets néfastes parfois associés à cette thérapie, l'utilisation des plantes médicinales dont certaines possèdent des principes actifs capables de réguler la reproduction humaine s'est davantage imposée comme ultime voie de recours chez nos populations (Sharma *et al.*, 1972).

L'extrait aqueux du mélange de feuilles d' *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus*, *Justicia insularis* est ainsi utilisé dans la province de l'Ouest du Cameroun pour accroître la fertilité, régulariser le cycle menstruel et traiter les dysménorrhées ou des cas de stérilité chez la femme.

Afin de vérifier certaines propriétés thérapeutiques de cet extrait de plantes, ses effets sur le taux de conception, la portée et certains paramètres biochimiques de la reproduction chez la rate immature seront évalués.

## Material and Methods

### Plantes médicinales

#### *Aloe buettneri* A. berger

C'est une plante herbacée de la famille des Liliacées dont les feuilles vertes à bord épineux mesurent 40 cm de longueur sur 15 cm de largeur. Elle est présente dans toute l'Afrique au sud du Sahara (Adjahoun *et al.*, 1989).

Les Zulu utilisent les feuilles de cette plante pour le traitement des règles douloureuses. Chez les femmes stériles de la tribu Sotho, la décoction de ses racines est utilisée pour faciliter la conception (Watt et Breyer, 1962). La plante est également indiquée pour calmer les douleurs d'enfantement ainsi que pour le traitement de la constipation, de la toux, de l'ictère, de la dysenterie, des brûlures légères, des petites plaies et des infections fongiques (Schaffner, 1992; Penelope, 1994; Adjahoun *et al.*, 1989).

#### *Dicliptera verticillata* G.J.H. Amshoff

C'est une plante herbacée, vivace, dressée, de la famille des Acanthacées; atteignant un mètre de haut. Ses tiges sont quadrangulaires, sub-6-angulaires et ses feuilles opposées à limbe ovale, poilu, long de 4 à 6 cm et large

de 3 à 4 cm. Elle est très répandue en Afrique tropicale où le jus de ses feuilles (préalablement ramollies au feu) s'utilise contre la coqueluche et certaines infections pulmonaires (Berhaut, 1971; Pettit *et al.*, 1984).

#### *Justicia insularis* T. Anders

C'est une plante herbacée, vivace, de la famille des Acanthacées, haute de 30 à 40 cm, à tige portant 6 sillons profondes et épaissies au dessus des nœuds. Les feuilles sont opposées, leur limbe ovale, parfois lancéolé. Elle se rencontre facilement toute l'année mais surtout pendant les pluies dans les savanes boisées, les ravins et un peu partout (Berhaut, 1971).

La décoction de ses feuilles ingurgitées pendant les derniers mois de la grossesse calmerait les douleurs d'enfantement. Elle est également indiquée pour les courbatures, les maux de ventre, les hémorroïdes, les migraines et les vers intestinaux (Burkill, 1985; Berhaut, 1971; Chopra, 1933; Pettit *et al.*, 1984).

#### *Hibiscus macranthus* Hochst ex. A. Rich

C'est une plante ligneuse, dressée, de la famille des Malvacées, atteignant près de 20 mètres de haut, à tiges glabres ou pubescentes recouvertes de poils fins et piquants. Les feuilles sont très grandes (plus de 30 cm de long et autant de large) et longuement pétiolées. Elle se rencontre essentiellement en zone tropicale. Au Kenya, sa racine est utilisée pour faciliter l'accouchement (Yu, 1982).

### Préparation de l'extrait aqueux de plantes médicinales

Les feuilles d' *Aloe buettneri* A. berger (Liliacées), *Dicliptera verticillata* G.J.H. Amshoff (Acanthacées), *Hibiscus macranthus* Hochst ex A. Rich (Malvacées) et *Justicia insularis* T. Anders (Acanthacées) utilisées dans la préparation de l'extrait ont été récoltées en Août 1992 dans le village Batoufam (Province de l'Ouest du Cameroun) et identifiées à l'Herbier National (IRA, CAMEROUN) sous les références N° 52232, 20387, 41881 et 34997 respectivement.

Elles ont été mélangées d'après les proportions indiquées par le tradipraticien (Tableau 1) puis séchées pendant 48 heures dans une étuve ventilée et thermostatée à 50°C. Les feuilles ainsi desséchées ont été broyées dans un mortier puis 3,6; 7,2; 14,4 et 28,8g de la poudre obtenue ont chacun été infusée dans un litre d'eau distillée pendant 30 minutes. Après filtration, chaque extrait de plantes a été lyophilisé et les concentrations de 1,3; 2,5; 4,9 et 9,4 mg/ml respectivement obtenues par calcul.

### Traitement des animaux

Les études ont été menées sur des rates immatures de race albinos Wistar, âgées de 22 jours et de poids variant entre 30-35 g. Elles ont été élevées à l'animalerie de

**Tableau 1** :Composition du mélange de plantes médicinales utilisées pour la préparation de l'extrait.

Espèces	Famille	Partie de la plante utilisée	Poids frais utilisé (g)
<i>Aloe buettneri</i>	Liliacées	Feuilles	28
<i>Dicliptera verticillata</i>	Acanthacées	Feuilles	12
<i>Hibiscus macranthus</i>	Malvacées	Feuilles et écorces	20
<i>Justicia insularis</i>	Acanthacées	Feuilles	40
Poids frais total (g)			100
Poids sec total (g)			10,75

département de Biochimie (Université de Yaoundé I, Cameroun) sous un éclairage contrôlé (cycle de 12 heures) et à une température de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . Elles ont reçu une alimentation standard et de l'eau *ad libitum*. Cent quinze rates immatures réparties en cinq groupes expérimentaux de 23 rates chacun ont reçu par gavage pendant 20 jours de l'eau distillée (groupe Témoin) ou des doses de 13 mg/kg (groupe E1), 25 mg/kg (groupe E2), 49 mg/kg (groupe E3) et 94 mg/kg (groupe E4) d'extrait aqueux de plantes médicinales. A la fin du traitement, 25 rates (cinq par groupe) ont été sacrifiées par décapitation, leur sang recueilli, leurs ovaires et utérus prélevés, nettoyés, pesés et conservés à  $-20^\circ\text{C}$ . Le sérum obtenu du sang de chaque animal a également été conservé dans les mêmes conditions que les organes en vue des analyses biochimiques.

Les quatre vingt et dix autres rates non sacrifiées (18/groupe) ont immédiatement été croisées pendant 2 semaines aux rats mâles de fertilité prouvée à raison d'un mâle et de trois femelles par cage. Durant les périodes de croisement et/ou de gestation, les animaux ont été pesés tous les 4 jours. Lorsque l'évolution du poids corporel d'une rate s'accroissait, elle était séparée du reste et isolée dans une cage individuelle qui était contrôlée tous les

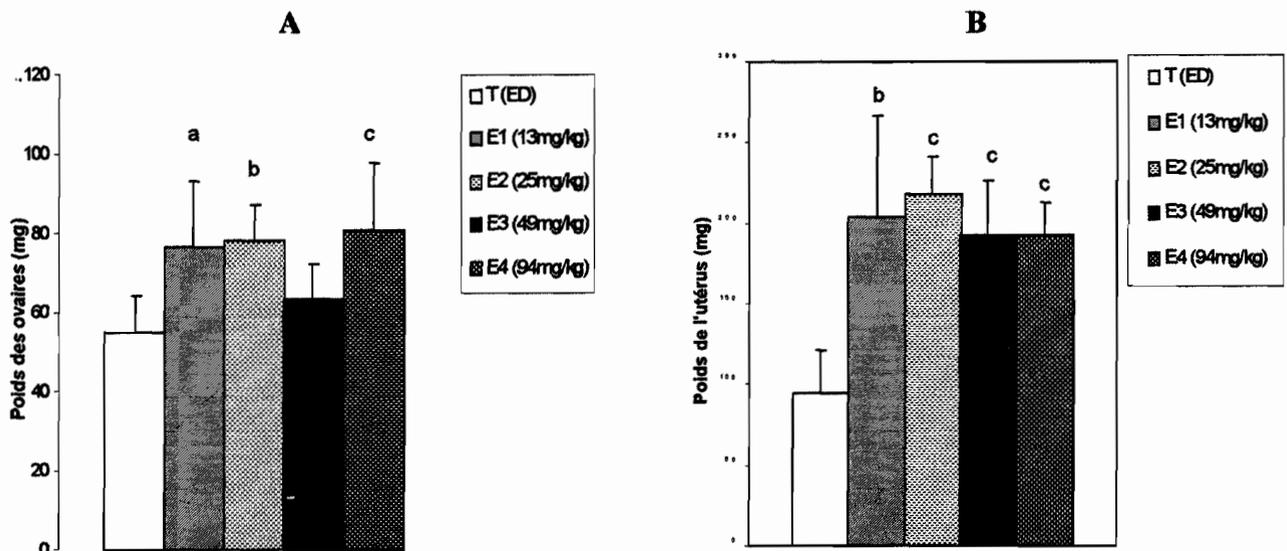
matins et soirs afin de noter avec exactitude la date de mise bas. Après la mise bas, la portée était notée puis pesée.

**Préparation des surnageants ovariens et utérins, et dosages biochimiques**

Chaque ovaire et utérus a été homogénéisé entre  $0-4^\circ\text{C}$  dans 10 volumes de tampon TS [0,25 M sucrose (RHIEDEL DE HEIN, Germany), 1 mM EDTA (SIGMA, USA) et 10 mM Tris-HCl (RHIEDEL DE HEIN), pH 7,4] à l'aide de l'homogénéisateur de potter. Les homogénats 10% obtenus ont été centrifugés entre  $2-6^\circ\text{C}$  à  $6000 \times g$  (Centrifugeuse Beckman J2-21) pendant 15 minutes et les surnageants obtenus ont été utilisés pour les dosages du cholestérol ovarien (Biomérieux, 1987); des protéines ovariennes et utérines (Bradford, 1976). Les concentrations en oestradiol ovarien et sérique ont été déterminées à l'aide du Kit 3H-RIA et selon le protocole décrit par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1996).

**Analyses statistiques**

Les différentes valeurs obtenues ont été analysées suivant une analyse des variances (ANOVA) à 1 facteur. Le test



**Figure 1** : Poids des ovaires (A) et de l'utérus (B) des rates immatures après 20 jours d'administration orale de différentes doses d'extrait aqueux des plantes médicinales. Chaque valeur représente la Moyenne  $\pm$  écart-type de 5 animaux par groupe. Valeurs statistiquement différentes de celle du témoin \* $p < 0,05$ ;  $^b p < 0,01$ ;  $^c p < 0,001$  (test « $\alpha$ » de student).

**Tableau 2:** Effets de différentes doses d'extrait aqueux du mélange de feuilles d' *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus*, *Justicia insularis* sur les taux d'oestradiol sérique, ovarien et de cholestérol ovarien chez la rate immature.

	T (E.D)	E1 (13 mg/kg)	E2 (25 mg/kg)	E3 (49 mg/kg)	E4 (94 mg/kg)
Oestradiol sérique (pg/ml)	11,35 ± 0,10	13,24 <sup>a</sup> ± 1,32	13,96 <sup>a</sup> ± 2,04	17,21 <sup>b</sup> ± 3,57	15,97 <sup>c</sup> ± 1,42
Oestradiol ovarien (µg/mg ovaire)	3,09 ± 0,80	1,44 <sup>b</sup> ± 0,56	3,54 ± 1,03	5,66 <sup>a</sup> ± 138	1,65 ± 1,27
Cholestérol ovarien (µg/mg ovaire)	3,46 ± 0,27	3,01 <sup>a</sup> ± 0,21	2,67 <sup>b</sup> ± 0,29	3,07 ± 0,52	2,89 <sup>b</sup> ± 0,28

Les valeurs sont les Moyennes ± écart-types de 5 animaux par groupe.

Valeurs statistiquement différentes de celle du témoin à: <sup>a</sup>p<0,05; <sup>b</sup>p<0,01; <sup>c</sup>p<0,001 (test «t» de student).

«t» de student a été utilisé pour la comparaison entre 2 moyennes. La comparaison des pourcentages de mise bas a été effectuée par le test de Chi-deux (Schwartz, 1991).

**RESULTATS**

**Poids des ovaires et de l'utérus**

Le poids des ovaires et de l'utérus des rates traitées est significativement élevé comparativement à celui des organes des rates du groupe témoin et ce quelle que soit la dose d'extrait aqueux de plantes médicinales administrées (Fig.1). Cette augmentation est d'ailleurs très accentuée au niveau de l'utérus des rates traitées où l'on note des valeurs 2 fois supérieures à celle du témoin.

**Paramètres biochimiques**

Hormis l'oestradiol ovarien qui augmente significativement de 83% uniquement chez les rates

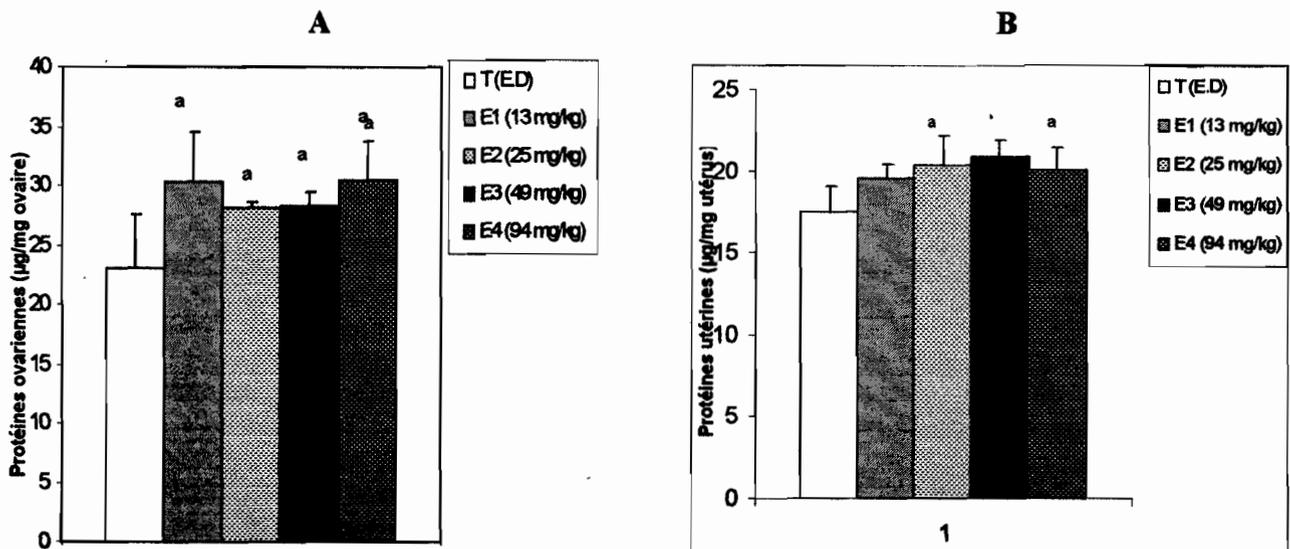
traitées à la dose de 49 mg/kg; l'oestradiol sérique augmente quant à elle significativement chez toutes les rates traitées de 17% (E1), 23% (E2), 52% (E3) et 41% (E4) comparativement à la valeur des rates du groupe témoin (Tableau 2).

Quant au cholestérol ovarien, son taux diminue de 23% chez l'ensemble des rates traitées à l'extrait de plantes.

Les taux de protéines ovariennes et utérines des animaux traités sont significativement supérieur à celui des animaux du groupe témoin (p<0,05) (Fig. 2).

**Evolution des mises bas, portée et poids corporel des petits**

Bien que la portée (nombre de petits à la mise bas) demeure stable dans l'ensemble des groupes expérimentaux, on note une augmentation du pourcentage de mise bas chez les rates traitées comparativement à celui



**Figure 2:** Taux de protéines ovariennes (A) et utérines (B) des rates immatures après 20 jours d'administration orale de différentes doses d'extrait aqueux des plantes médicinales. Chaque valeur représente la Moyenne ± écart-type de 5 animaux par groupe. Valeurs statistiquement différentes de celle du témoin <sup>a</sup>p<0,05; <sup>b</sup>p<0,01; <sup>c</sup>p<0,001 (test «t» de student).

**Tableau 3:** Effets de différentes doses d'extrait aqueux du mélange de feuilles d' *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus*, *Justicia insularis* sur la mise bas (%)\*, la portée et le poids corporel des petits chez la rate.

	T (E.D)	E1 (13 mg/kg)	E2 (25 mg/kg)	E3 (49 mg/kg)	E4 (94 mg/kg)
Nombre de mise bas	14	15	15	17	16
Nombre de rates croisées	17	18	18	17	16
(%)	(82,3)	(83,3)	(83,3)	(100)	(100)
Portée	8.21 ± 1,05	7,80 ± 0,94	8,00 ± 1,35	7,50 ± 1,83	7,19 ± 1,38
Poids corporel des petits (g)	5,05 ± 0,40	5,52 <sup>b</sup> ± 0,48	5,47 <sup>b</sup> ± 0,30	5,22 ± 0,77	5,45 <sup>a</sup> ± 0,58

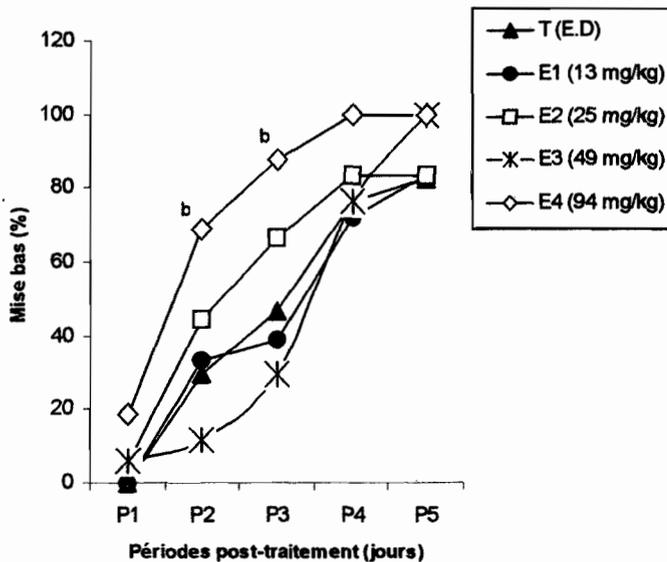
Les valeurs sont les Moyennes ± écart-type de 10 à 16 animaux par groupe.

Valeurs statistiquement différentes de celle du témoin : \*p<0,05; <sup>b</sup>p<0,01 (test «t» de student).

\*Les rates étaient âgées de 22 jours en début d'expérimentation. Après le dernier jour de gavage, elle ont été croisées pendant 2 semaines à des rats mâles de fertilité prouvée.

des rates du groupe témoin. Cette augmentation culmine d'ailleurs à 100% chez les rates traitées aux doses de 49 ou 94 mg/kg d'extrait de plantes médicinales (Tableau 3). On note en plus que les rates traitées à la dose de 94 mg/kg non seulement mettent plus rapidement bas, mais le font à une fréquence significativement élevée durant les 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> périodes post-traitement (p<0,01) (Fig.3).

Le poids corporel des petits issus des rates traitées aux différentes doses d'extrait de plantes est significativement supérieur (p<0,05) à celui des petits issus des rates du groupe témoin (Tableau 3).



**Figure 3 :** Evolution des mises bas (%) après 20 jours d'administration orale de différentes doses d'extrait aqueux de plantes médicinales chez la rate immature. P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> et P<sub>5</sub> représentent les différentes périodes post-traitement de durée égale à 5 jours. La première période (P<sub>1</sub>) commence au 21<sup>e</sup> jours après le début du croisement et se termine le 25<sup>e</sup> jour.

Chaque point représente le rapport entre le nombre d'animaux ayant mis bas sur le nombre d'animaux croisés.

Valeurs statistiquement différentes de celle du témoin : \*p<0,05 ;

<sup>b</sup>p<0,01 (test d  $\chi^2$ )

## DISCUSSION

Au terme des vingt jours d'administration orale et quotidienne de différentes doses d'extrait aqueux du mélange de feuilles d' *Aloe buettneri*, *Dicliptera verticillata*, *Hibiscus macranthus* et *Justicia insularis* aux rates immatures, aucun décès n'a été enregistré. Des augmentations significatives du poids des ovaires et de l'utérus ont par contre été observées chez l'ensemble des rates traitées (Fig.1). Ces observations résulteraient de l'intensification, sous l'action de certains constituants chimiques de l'extrait de plante, des phénomènes de multiplication et de différenciation cellulaire au niveau de ces organes de reproduction.

D'après Forest et Bertrand (1987), la multiplication et la différenciation des cellules folliculaires et utérines s'intensifient pendant la période prépubertaire et justifient en général la croissance rapide de ces organes de reproduction pendant cette période. Ce développement folliculaire est entre autres induit par les hormones stéroïdes (oestradiol principalement). Plusieurs auteurs (Kim et Greenwald, 1987; Kim *et al.*, 1984; Bley *et al.*, 1991) ont à cet effet démontré que l'injection du Diethylstilbestrol chez la rate ou la souris immature non seulement stimule le développement folliculaire (augmentation des cellules de la granulosa et du nombre de follicules préantraux) mais surtout augmente significativement le poids des ovaires et de l'utérus. Cette augmentation du nombre de cellules de la granulosa et de follicules préantraux s'accompagne généralement de celle de la synthèse d'ADN (Chakravorty *et al.*, 1991), d'ARN (Moore *et al.*, 1974) et surtout de protéines (Canipari *et al.*, 1979). Elle est également précédé par une induction via la FSH et/ou la LH des enzymes de la stéroïdogenèse qui vont métaboliser le cholestérol libre ou estérifié en hormones stéroïdes.

Les fortes teneurs en protéines ovariennes et

utérines observées chez les rates traitées (Fig.2) résulteraient de l'action des composés oestrogéniques de l'extrait de plantes sur les cellules folliculaires et utérines de ces animaux. De plus, l'importante baisse du cholestérol ovarien couplée aux augmentations significatives des taux d'oestradiol sérique et ovarienne des rates traitées (Tableau 2) confirment davantage l'effet inducteur de ces constituants chimiques de l'extrait de plantes sur le développement folliculaire ou la stéroïdogénèse ovarienne.

L'implication des dérivés oestrogéniques de l'extrait de plantes dans l'amélioration du développement folliculaire a également été confirmée pendant le test de fertilité. Une maturation précoce des follicules ovariens des rates traitées a été notée. En effet, 20% des rates traitées à la dose de 94 mg/kg (contre 0% pour le groupe Témoin) mettent bas à la première période post-traitement (Fig.3). Cette augmentation dans la fréquence des mises bas chez les rates traitées s'accroît d'ailleurs pendant les 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> périodes post-traitement durant lesquelles on obtient des taux de fertilité élevés (67% et 85%) contre 27% et 47% chez les rates du groupe témoin des périodes respectives.

Il ressort des résultats de cette étude que l'extrait de plantes renferme des composés chimiques à fort potentiel oestrogénique dont les effets induiraient le développement précoce des follicules ovariens. Compte tenu de l'implication des dérivés oestrogéniques dans le traitement de certaines formes d'infertilité (Prakash et Roy, 1984), certaines des vertus thérapeutiques de l'extrait de plantes auraient dès lors été confirmées par ce travail. Des études supplémentaires sur les effets de l'extrait de plantes sur les récepteurs ovariens des hormones stéroïdiennes et surtout gonadotropes seront menées afin d'élucider son mécanisme d'action.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions Mr TCHOUANGUEP Célestin pour nous avoir proposé les plantes étudiées. Nous sommes également reconnaissant à Mr DJEUFFA Jean Marie pour son assistance technique.

## REFERENCES

ADJANOHOUN, E. J., AHYI, A. M. R., AKE ASSI, L., BANAKINA, J., CHIBON, P., GUSSET, G., DOULOU, V., ENZANZA, A., EYME, J., GOUDOT, E., KEITA, A., MBEMBA, C., MOLLET, J., MOUTSAMBOU, J. M., MPATTI, SITA, P. (1989). Médecine traditionnelle et pharmacopée, contribution aux études botaniques et floristiques en république populaire du Bénin. *Rapport Agence de Coopération culturelle et technique*. Ed. ACCT, Paris, pp 64-65, 288-289.

BERHAUT, J.(1971). Flore illustrée du Sénégal: Acanthacées à Avicenniacees. Ed. Maisonneuve, Dakar 1. pp.57 - 61.

BIOMERIEUX (1987). La voie enzymatique en colorimétrie. Charbonnières - les Bains, France, 9p.

BLEY, M.A., SIMON, J.C., SARAGUETA, P.E., BARANAO, J.L. (1991). Hormonal regulation of rat granulosa cell deoxyribonucleic acid synthesis: effects of estrogens. *Biol. Reprod.* 44, 880-888.

BRADFORD, M.M.(1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein - dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.

BURKILL, H.M. (1985). The useful plants of West Tropical Africa. 2<sup>nd</sup> Ed. Vol.1, Royal Botanic Garden K.E.W. pp 120 -145.

CANIPARI, R., PIETROLUCCI, A., MANGIA, F.(1979). Increase of total protein synthesis during mouse oocyte growth. *J. Reprod. Fertil.* 57, 405-413.

CHAKRAVORTY, A., MANESH, V.B., MILLS, T.M. (1991). Regulation of follicular development by diethylstilbestrol in ovaries of immature rats. *J. Reprod. Fertil.* 92, 307-321

CHOPRA, U.N. (1933). Indigenous drugs of India. Their medical and economic aspects. The Art Press, Calcutta, India, 550p.

DIOULDE, B.(1992). Causes et traitements classiques de la stérilité et de la sous fécondité. *Revue du Réseau de Recherche en Santé de la Reproduction en Afrique: Vie et Santé* 12, 12-14.

FOREST, M.G. ET BERTRAND, J. (1986). Puberté féminine. In: MAUVAIS, J.P., SITRUKWARE, R. (Eds). Médecine de la reproduction: Gynécologie endocrinienne, 2<sup>e</sup> Edition. Flammarion-Médecine-Science, Paris. pp 185-218.

GUYTON, A.C. ET GONTIER, J. (1989). Traité de physiologie médicale. Doyn (Ed), Philadelphie. pp 996-998.

KIM, I., SHAHA, C., GREENWALD, G.S. (1984). A species difference between hamster and rat in the effect of estrogens on growth of large preantral follicles. *J. Reprod. Fertil.* 72, 179-185

KIM, I. ET GREENWALD, G.S. (1987). Effect of estrogens on follicular development and ovarian and uterine estrogen receptors in the immature rabbit, guinea pig and mouse. *Endocrinol. Jpn.* 34, 871-878.

MAHYAR, U.N., BURLEY, J.S., GYLLENHAAL, C., SOEJARTO, D.D. (1991). Medicinal plants of Seberida (Ran Province, Sumatra, Indonesia). *J. Ethnopharmacol.* 31: 217 - 237.

MOORE, G.P.M., LINTERN-MOORE, S., PETERS, H., FABER, M. (1974). RNA synthesis in the mouse oocyte. *J. Cell. Biol.* 60, 416-422.

PENELOPE, O. (1994). Les plantes médicinales: Encyclopédie Pratiques. Sélection du Reader's Digest. Paris, 192p.

PETIT, G.R., GOSWAMI, A., CRAGG, G.M., SCHMIDT, J.M., ZOU, J.C. (1984). Antineoplastic agents 103: The isolation and structure of Hypoestestatsins 1 and 2 from the East African *Hypoestes verticillaris*. *J. Nat. Prod.* 4(6): 913 - 919.

PRAKASH, A.O. ET ROY, S.K. (1984). Induction of implantation by a non-steroidal antifertility agent, 1,2-diethyl 1-3-bis-(p-methoxyphenyl)-1-propene in rat. *International J. Fert.* 29,13-15.

ROWE, J.P., COMHAIRE, F.H., HARGREAVE, J.B., MELLOWS, H.J. (1993). WHO manual for the standardised investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge University Press, 83p.

SCHAHHNER, W. (1992). Les plantes médicinales et leurs propriétés, Manuel d'herboristerie. Ed. Delachaux & Nestlé, pp 20 - 21.

SCHWARTZ, D. (1991). Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3è Edition. Flammarion-Médecine-Science, Paris, 306p.

SHARMA, S.C., CHADA, N., BUNRJOREE, M.N. (1972). The effect of *Aloe indica* on the fertility of female rabbits. Indian Obstetrics and Gynecology Congress, New Delhi, 1972. In: Indian Council of Medical Research. pp865-872.

WATT, J.M. ET BREYER, G.M. (1962). The medicinal and poisonous plants of South and Eastern Africa. Ed. E. & S. Livingstone Ltd, Edinburgh 228p.

WHO (1996). WHO Matched Reagent Programme: Method Manual, 20<sup>th</sup> Ed. Geneva, 65p.

YU, G.D. (1982). Medicinal plants used for abortion and childbirth in Eastern Africa. *Chung Yao Tung Pao* 5: 6 - 7.

Received: 27/11/00

Accepted: 4/9/2001