



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Cotutelle internationale avec "l'Institut Supérieur de Formation et de Recherche Appliquée (ISFRA) de l'Université des Sciences Juridiques et Politiques de Bamako, Mali"

Présentée et soutenue par :

Mahamane HAIDARA

le mercredi 21 février 2018

Titre :

Contribution à l'étude de l'activité pharmacologique de Terminalia macroptera Guill. & Perr. (Combretaceae) dans le but de l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré au Mali (Afrique de l'Ouest).

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED BSB : Pharmacologie

Unité de recherche :

UMR 152 Pharma-Dev, IRD-UPS, Toulouse, France

Directeur/trice(s) de Thèse :

BOURDY Geneviève et SANOGO Rokia

Jury :

BOURDY Geneviève	Chargée de Recherches UMR 152, IRD-UPS, Toulouse	Directrice
SANOGO Rokia	Professeur des Universités, Bamako (Mali)	Co-Directrice
OLLIVIER Evelyne	Professeur des Universités, Marseille	Rapporteur
ROUMY Vincent	Maître de Conférences des Universités, Lille	Rapporteur
HADDAD Mohamed	Chargé de Recherches UMR 152, IRD-UPS, Toulouse	Examineur
FABRE Nicolas	Professeur des Universités, Toulouse	Président

**Contribution à l'étude de l'activité
pharmacologique de *Terminalia macroptera*
Guill. & Perr. (Combretaceae) dans le but de
l'élaboration d'un médicament traditionnel
amélioré au Mali (Afrique de l'Ouest).**

Présentée par Mahamane HAIDARA

Directrice de thèse : Geneviève BOURDY

Co-directrice de thèse : Rokia SANOGO

Unité de recherche : UMR 152 Pharma-Dev, Université Paul Sabatier, Institut
de Recherche pour le Développement, Toulouse, France

Ecole doctorale : BSB (Biologie, Santé, Biotechnologies)

Soutenance prévue le 21 février 2018

DEDICACES

A ALLAH

Je rends grâce à ALLAH, le Créateur, le Tout puissant, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Merci de m'avoir donné la vie, la santé, la force, la patience, la volonté et l'opportunité d'être instruit.

...Ce que ALLAH accorde en miséricorde aux gens, il n'est personne à pouvoir le retenir. Et ce qu'il retient, il n'est personne à le relâcher après Lui. Et c'est Lui le Puissant, le Sage...
(Sourate 35 : le créateur, verset 2).

A mes parents : Almoukoutar et Seynabou N'DIAYE

Je ne pourrai jamais assez vous dire merci pour les conseils, le soutien, les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagnés tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, qui mieux que des mots, traduit tout l'amour que je ressens pour vous. Que Dieu vous garde longtemps près de nous.

A ma très chère épouse Zeinabou Alassane KONE pour ta patience, ton soutien et ton amour durant cette longue et difficile épreuve, **et à mes enfants** Tènin Mahamane, Khadidiatou Mahamane et Almoukoutar. Sachez que je vous aime profondément, que Allah, le Clément, le Miséricordieux bénisse notre famille.

A mon frère et à mes sœurs : Mahalmoudou, N'Deye Mariam, Djeinabou et Ramata

Ce travail est aussi le vôtre car sans votre soutien, vos encouragements et vos conseils il n'aurait pas pu voir le jour.

A mes grands-parents Mahamane Haïdara, Maria Haïdara, Mahalmoudou Haïdara, Oumar N'Diaye, Emilie Konaté (*in memoriam*)

Ce travail vous est dédié. Malgré votre absence vous resterez présents en nous et cela pour toujours.

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur Nicolas FABRE,

Merci de nous avoir accueillis comme doctorant dans le laboratoire *Pharma-Dev* de Toulouse et d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

Madame le Docteur Geneviève BOURDY (Directrice de thèse) et Mme le Professeur Rokia SANOGO (Co-Directrice)

Permettez-nous de vous adresser nos remerciements pour l'honneur que vous nous avez fait en nous guidant dans la réalisation de ce travail. Nous avons été heureux de travailler sous votre direction. Vous avez fait preuve de patience et de disponibilité à notre égard. Grâce à vous nous avons pu acquiescer la rigueur dans la démarche scientifique. Puissiez-vous trouver ici le témoignage de notre reconnaissance la plus sincère.

Madame le Professeur Evelyne OLLIVIER et Monsieur le Docteur Vincent ROUMY

Merci de nous avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs et de siéger dans le jury de cette thèse.

Monsieur le Docteur Mohamed HADDAD

Nous avons été très touchés par votre accueil et la disponibilité dont vous avez fait preuve à notre égard. A travers ce travail, recevez notre profonde gratitude.

Madame le Professeur Myriam MARTINO et Madame le Professeur Françoise BENOIT-VICAL (Membre du comité de suivi de la thèse)

Merci pour vos conseils. Vos critiques constructives nous ont permis d'avancer avec profit dans ce travail de thèse.

Madame le Professeur émérite Isabelle FOURASTE

Merci pour vos conseils et votre contribution dans la réalisation des essais de contrôle botanique.

Monsieur le Professeur Drissa DIALLO

Merci pour vos conseils et pour votre soutien.

Madame le Docteur Agnès AUBOUY

Merci pour votre contribution dans la réalisation du test antiplasmodial *in vivo*.

Monsieur le Docteur Guillaume MARTI

Merci pour votre contribution dans la réalisation de la déréplication.

Monsieur le Docteur Eric DEHARO

Merci pour vos conseils.

Monsieur le Docteur Sergio GIANI

Merci pour vos conseils et pour votre soutien.

Madame le Docteur Nah TRAORE et Monsieur le Docteur Aimé SOMBORO

Merci pour vos conseils et votre soutien.

Madame l'Ingénieure Sandra BOURGEADE-DELMAS

Merci pour votre contribution dans la réalisation du test antiplasmodial *in vitro*.

Mesdames et Messieurs les Docteurs Marie Nyoni SOGOBA, Fatoumata KANADJIGUI, Adama DENOU, Amadou DIAKITE, Salia DIARRA, Aboubacar NIARE, Birama DIARRA,

Merci pour vos conseils, votre soutien et pour l'aide apportée pour la réalisation des travaux au sein du laboratoire du Département de Médecine Traditionnelle de Bamako, Mali.

Monsieur le Technicien des Eaux et des Forêts N'golo BALLO,

Merci pour votre soutien dans la réalisation de l'enquête auprès des tradipraticiens-herboristes et dans la récolte des espèces.

Dr André Tibiri †

Merci pour sa contribution dans l'analyse statistique des données pharmacologiques

Monsieur les Techniciens Kassim COULIBALY, Fagnan SANOGO,

Merci pour l'aide apportée pour la réalisation des travaux de laboratoire au sein du Département de Médecine Traditionnelle de Bamako, Mali.

Monsieur l'Ingénieur des Eaux et Forêts Seydou DEMBELE,

Merci de nous avoir aidés pour l'identification des espèces et la confection des herbiers.

Je tiens également à remercier :

Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et Programme de Formation des Formateurs (PFF)des universités du Mali

Je remercie ces deux institutions pour l'aide financière apportée pour la réalisation des travaux de cette thèse.

Monsieur Bruno SICARD, Directeur de l'IRD à Bamako et Monsieur Solimane Ag ATTEYNINE.

Mes oncles, tantes, cousins, cousines, beaux-frères, belles sœurs, nièces et neveux

Mes amis : Soungalo DIARRA, Younouss KEITA, Oumar KANE, Aly DIAKITE, Ibrahim Diomansi DOUMBIA, Dramane SIDIBE, Fousseini KOUYATE, Salif DIARRA, Youba DIARRA, Pascal DIARRA et Tidiane SANGARE.

Monsieur le Docteur Amadou Makhan SARR du laboratoire d'analyse biomédical « Biotech » pour son soutien dans la réalisation du dosage des enzymes marqueurs du foie.

Monsieur le Docteur Nouhou Madali DIALLO de la Pharmacie « Bazi-Gourma de Kati ».

Mme KONE Korotoumou TRAORE.

Le personnel du Département de Médecine Traditionnelle de Bamako (Mali) pour leur soutien et leur affection.

L'ensemble de l'équipe du laboratoire *Pharma-Dev* pour leur soutien et leur affection.

Mes amis pharmaciens et médecins de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Bamako, (Mali).

Sans oublier tous ceux que je n'ai pas cités !

RESUME

En Afrique, la valorisation des pharmacopées traditionnelles constitue bien souvent un moyen d'orienter la recherche vers de nouveaux antipaludéens. Les plantes médicinales antipaludiques peuvent servir de base à la formulation de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) ou être source de nouvelles molécules antiplasmodiales. Sur la base d'une recherche bibliographique exhaustive, 10 plantes médicinales largement utilisées au Mali dans le traitement du paludisme et des affections hépatiques (ictères) ont été sélectionnées par une approche d'ethnopharmacologie quantitative et évaluées *in vitro* sur *Plasmodium falciparum* FcB1, conduisant à la sélection de *Terminalia macroptera* (Feuilles et Racines). *Terminalia macroptera* est une espèce largement utilisée au Mali contre le paludisme, la fièvre, les affections hépatiques (ictères) et la plaie.

Dans le contexte de mise sur le marché d'un MTA, une monographie botanique a été réalisée sur ces organes de plante afin de définir les normes pharmacopées de la poudre de feuilles et de racines permettant d'éviter les falsifications. Une étude toxicologique *in vivo* et une étude pharmacologique *in vivo* (activités antiplasmodiales, antipyrétiques, antalgiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrice) ont été réalisées. L'extrait éthanolique des feuilles et des racines ont démontré des propriétés antiplasmodiales *in vivo* sur des modèles murins de paludisme simple et paludisme sévère des propriétés antipyrétiques, antalgiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrices sur modèles murins d'hyperthermie, d'algie, d'inflammation et d'hépatotoxicité, respectivement. Un fractionnement bio-guidé, et une méthode de dérégulation ont été réalisés sur les extraits actifs afin d'établir leur profil chimique.

Ces résultats vont dans le sens de la validation de l'utilisation traditionnelle de *Terminalia macroptera* dans le traitement du paludisme et des affections hépatiques, et peuvent servir de base pour l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré au Mali.

Mots clés : Paludisme, paludisme sévère, hépatoprotection, médecine traditionnelle, *Terminalia macroptera*, Plantes médicinales, Mali, ethnopharmacologie, médicament traditionnel amélioré, *in vivo*, Afrique de l'ouest.

SUMMARY

In Africa, the promotion of traditional pharmacopoeias is often a means of directing research towards new antimalarial drugs. Anti-malarial medicinal plants can be used as a basis for the formulation of improved traditional medicine (médicament traditionnel amélioré, MTA) or as a source of new antiplasmodial molecules. Based on a comprehensive literature search, 10 medicinal plants widely used in Mali for the treatment of malaria and liver disease (jaundice) were selected by a quantitative ethnopharmacology approach and evaluated *in vitro* on *Plasmodium falciparum* FcB1, leading to the selection of *Terminalia macroptera* (leaves and roots). *Terminalia macroptera* is a species widely used in Mali against malaria, fever, liver diseases (jaundice) and wound.

In the context of the marketing of a *Terminalia macroptera* based MTA, a botanical monography has been carried out on previously cited plant organs in order to define pharmacopoeia standards for leaf and root powder in order to avoid falsification. An *in vivo* toxicological study and a pharmacological study *in vivo* (antiplasmodial, antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective activities) were carried out. Ethanolic extract from leaves and roots demonstrated antiplasmodial properties *in vivo* on mouse models of simple malaria and severe malaria, antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective properties on mouse models. A bioguided fractionation and a dereplication method were carried out on the active extracts in order to establish their chemical profile.

These results support the validation of the traditional use of *Terminalia macroptera* in the treatment of malaria and liver disease, and may serve as a basis for the development of an improved traditional medicine in Mali.

Key words: Malaria, severe malaria, hepatoprotection, traditional medicine, *Terminalia macroptera*, medicinal plants, Mali, ethnopharmacology, improved traditional medicine, *in vivo*, West Africa

SOMMAIRE

RESUME.....	6
SUMMARY	7
Liste des figures.....	12
Liste des tableaux	14
ABRÉVIATIONS	15
INTRODUCTION GENERALE.....	16
1. Présentation du Mali.....	18
1.1 Géographie	18
1.2 Climat	18
1.3 Division administrative	18
1.4 Données sociodémographiques sur la population malienne.....	19
2. Les différents systèmes de soins au Mali	20
2.1 Ressource de la médecine traditionnelle	20
2.1.1 Définition de la Médecine traditionnelle (MT)	20
2.1.2 Tradipraticiens de Santé (TPS).....	20
2.1.3 Recours aux ressources de la MT	21
2.1.4 Les recherches en médecine traditionnelle au Mali.....	21
2.2 Médecine conventionnelle.....	23
2.3 Articulation de la médecine conventionnelle et de la médecine traditionnelle	24
3. Le paludisme en Afrique de l’Ouest et au Mali.....	27
3.1 Les parasites et les vecteurs du paludisme au Mali (PNLP, 2013).....	27
3.2 Dynamique de la transmission du paludisme et niveau d’endémicité au Mali (PNLP, 2013)	27
3.3 Morbidité et mortalité du paludisme au Mali	28
3.4 Axes stratégiques de lutte contre le paludisme au Mali (PNLP, 2013)	30
3.4.1 La prise en charge des cas de paludisme	31
3.4.2 La prévention du paludisme chez la femme enceinte.....	31
3.4.3 La chimio-prévention du paludisme saisonnier chez les enfants de 3 à 59 mois	32
3.4.4 La lutte anti vectorielle.....	32
4. Contexte et traitements alternatifs antipaludiques.....	33
CHAPITRE 1: VALIDATION D’USAGE DES PHARMACOPEES TRADITIONNELLES EN AFRIQUE DE L’OUEST CONTRE LE PALUDISME, SELECTION DE PLANTES POUR ETUDE.....	34
1. Contexte et objectifs.....	35

2.	Méthodologie.....	36
3.	Résultats et discussion.....	37
3.1	Analyse bibliométrique	37
3.2	Validation et valorisation de dix espèces très communément utilisées au Mali, contre <i>sumaya</i>	39
3.3	Sélection d'espèces peu étudiées, utilisées traditionnellement contre le paludisme en Afrique de l'ouest	40
4.	Conclusion.....	53
CHAPITRE 2 : SELECTION ET EVALUATION DE <i>TERMINALIA MACROPTERA</i> GUILL. & PERR. (COMBRETACEAE) CONTRE LE PALUDISME SIMPLE ET NEUROLOGIQUE.....		72
1.	Contexte et objectifs.....	73
2.	Matériel et méthodes	73
2.1	Matériel végétal.....	73
2.2	Matériel biologique	73
2.3	Matériel animal et déclaration d'éthique.....	74
2.4	Préparations des extraits et des fractions.....	74
2.5	Culture cellulaire des cellules VERO.....	76
2.6	Culture <i>in vitro</i> de <i>Plasmodium falciparum</i>	76
2.7	Test de cytotoxicité.....	76
2.8	Evaluation de l'activité antiplasmodiale <i>in vitro</i>	77
2.9	Evaluation de la toxicité aiguë	77
2.10	Evaluation de l'activité antiplasmodiale <i>in vivo</i>	78
2.11	Analyses statistiques.....	78
2.12	Enquêtes ethnopharmacologique auprès des tradipraticiens herboristes de Bamako.....	78
3.	Résultats	79
3.1	Activité antiplasmodiale <i>in vitro</i>	79
3.2	Toxicité <i>in vitro</i> (cytotoxicité).....	80
3.3	Toxicité <i>in vivo</i>	80
3.4	Activité antiplasmodiale <i>in vivo</i>	80
3.5	Enquête ethnopharmacologique auprès des tradipraticiens-herboristes (TH).....	80
3.5.1	Perception de <i>Sumaya</i>	80
3.5.2	Traitement de <i>sumaya</i>	81
3.5.3	Utilisations de <i>Terminalia macroptera</i>	81
4.	Discussion et conclusion	89
CHAPITRE 3: EVALUATION DES ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRES, ANTIPYRETIQUES, ANALGESIQUES ET HEPATOPROTECTRICES DE <i>TERMINALIA MACROPTERA</i> GUILL. & PERR. (COMBRETACEAE).....		104

1.	Contexte et objectifs	105
2.	Matériel et méthodes	107
2.1	Principaux usages de <i>Terminalia macroptera</i> Guill. & Perr.	107
2.2	Les extraits soumis à évaluation.....	107
2.3	Evaluation de l'activité antipyrétique.....	107
2.4	Evaluation de l'activité antalgique	108
2.5	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	108
2.6	Evaluation de l'activité hépatoprotectrice	108
2.7	Analyses statistiques utilisées pour ces tests	109
3.	Résultats	109
3.1	Indications de <i>Terminalia macroptera</i> et convergences d'usages.	109
3.2	Activités antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire	115
3.3	Activité hépatoprotectrice	115
4.	Discussion et conclusion	115
	CHAPITRE 4 : ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE PRÉLIMINAIRE DE <i>TERMINALIA MACROPTERA</i> GUILL. & PERR. (COMBRETACEAE).....	132
1.	Contexte et objectif	133
2.	Matériel et méthodes	134
2.1	Criblage phytochimique	134
2.1.1	Polyphénols	134
2.1.1.1	Extraction	134
2.1.1.2	Caractérisation.....	134
2.1.2	Anthracénosides	134
2.1.3	Saponosides	135
2.1.4	Oses et holosides, mucilages, les composés réducteurs	136
2.1.4.1	Extraction	136
2.1.4.2	Caractérisation.....	136
2.1.5	Stérols et triterpènes, coumarines, caroténoïdes.....	136
2.1.5.1	Extraction	136
2.1.5.2	Caractérisation.....	136
2.1.6	Alcaloïdes.....	137
2.1.6.1	Extraction	137
2.1.6.2	Caractérisation.....	138
2.1.7	Hétérosides cardiotoniques.....	138
2.2	Déréplication	139
2.2.1	Profilage UHPLC-HRMS.....	139

2.2.2	Traitement des données et analyses statistiques	139
3.	Résultats et discussion	140
3.1	Criblage phytochimique	140
3.2	Approche métabolomique basée sur UHPLC-HRMS	140
CHAPITRE 5 : CONTROLE DE QUALITE DE LA POUDRE DES FEUILLES ET DES RACINES DE <i>TERMINALIA MACROPTERA</i> GUILL. & PERR. (COMBRETACEAE).....		149
1.	Contexte et objectif	150
2.	Matériel et méthodes	150
2.1	Contrôle botanique	150
2.1.1	Examen macroscopique	150
2.1.2	Analyse histologique	150
2.1.3	Examen microscopique de la poudre.....	151
2.2	Contrôle physicochimique	151
2.2.1	Teneur en eau:	151
2.2.2	Teneur en cendre totale	151
2.2.3	Teneur en cendre insoluble dans l'acide chlorhydrique	152
3.	Résultats	153
3.1	Etude botanique	153
3.1.1	Description morphologique	153
3.1.2	Caractères organoleptiques des poudres	158
3.1.3	Histologie	158
3.1.3.1	Feuilles	158
3.1.3.2	Racines	163
3.1.4	Microscopie des poudres	168
3.1.4.1	Poudre des feuilles.....	168
3.1.4.2	Poudre des racines	169
3.2	Etude physicochimique	170
4.	Discussion	171
5.	Conclusion.....	174
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION.....		175
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		175
ANNEXES		175

Liste des figures

Figure 1 : Carte du Mali (source : Direction des Ressources Humaines Secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille, 2017)

Figure 2 : Strates épidémiologiques selon le nombre de mois de transmission (PNLP, 2013).

Figure 3 : Prévalence de la parasitémie du paludisme chez les enfants (source PNL, 2013)

Figure 4 : Les images des dix plantes sélectionnées pour l'étude

Figure 5 : Schéma du fractionnement des extraits éthanoliques 90% des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera*

Figure 6: Différents types de *sumaya* et symptômes associés, énumérés par les TH

Figure 7: Score bibliographique obtenu pour chacun des usages de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Score > 2)

Figure 8 : Score bibliographique obtenu pour les différentes parties de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae) employées dans la préparation des recettes traditionnelles.

Figure 9: Score bibliographique obtenu pour les différents modes de préparations des recettes à base de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae)

Figure 10: Approche multiplexée pour l'analyse de l'extrait des racines de *Terminalia macroptera*: A) Orbitrap-MS en mode ESI négatif; B) signaux du détecteur CAD; C) Chromatogramme PDA (200-400nm). Numérotation des pics suivant le tableau 14.

Figure 11 : Structure chimique des 10 composés identifiés dans l'extrait éthanolique 90 % des racines par Déréplication

Figure 12 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. - Sommités feuillues.

Figure 13 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Feuille.

Figure 14 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine.

Figure 15 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine.

Figure 16 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine (section).

Figure 17 : *Terminalia macroptera* Guill.& Perr. -Section transversale de la nervure principale de la feuille (vue générale).

Figure 18 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. -détail de la section transversale de la nervure médiane.

Figure 19 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.- détail de la section transversale du limbe.

Figure 20 : *Terminalia macroptera* Gill. & Perr. - Section transversale de l'écorce de la racine

Figure 21 : *Terminalia macroptera* Gill. & Perr. -Section transversale de l'écorce de la racine – Détail subers successifs

Figure 22 : *Terminalia macroptera* Gill. & Perr.- détail section transversale de la partie externe de la racine

Figure 23 : *Terminalia macroptera* Gill. & Perr.- détail section longitudinale de la partie externe de la racine

Figure 24 : *Terminalia macroptera* Gill. & Perr. - Section transversale de la racine – Détail du bois

Figure 25 : Eléments microscopiques de la poudre des feuilles de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.

Figure 26 : Eléments microscopiques de la poudre des racines de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des MTA inscrits sur la liste des médicaments essentiels du Mali.

Tableau 2 : Paludisme au Mali du 1^{er} Janvier au 31 Décembre 2014.

Tableau 3 : Activité *in vitro* et *in vivo* des espèces utilisées au Mali. Sont retenus dans ce tableau seulement les espèces démontrant une $CI_{50} < 5$ ($\mu\text{g/mL}$).

Tableau 4 : *Type de test utilisé pour l'évaluation antiplasmodiale des 5 espèces les plus communément utilisées au Mali contre le paludisme / sumaya*

Tableau 5 : *Usages traditionnels des dix espèces communément utilisées au Mali dans la prise en charge du paludisme et des affections hépatiques (sumaya).*

Tableau 6 : Usages traditionnels des dix espèces sélectionnées pour le criblage antiplasmodial *in vitro*. Synthèse des travaux reportés dans la littérature concernant l'évaluation de l'activité antiplasmodiale de chaque espèce et isolement de molécules liées à cette activité

Tableau 7: Activité antiplasmodiale et cytotoxique *in vitro* des extraits éthanoliques des dix plantes sélectionnées sur Pf-FcB1 et les données reportées dans la littérature

Tableau 8 : Activité antiplasmodial *in vitro* des extraits éthanoliques 90 % et des fractions des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* sur la souche de Pf-FcB1

Tableau 9 : Espèces les plus fréquemment citées par les TH du marché de Médina Coura à Bamako pour traiter *sumaya* et les symptômes associés

Tableau 10: Activité antiplasmodiale *in vitro* ($CI_{50} \leq 5$ $\mu\text{g/mL}$) des cinq espèces les plus fréquemment citées par les TH.

Tableau 11: Les activités biologiques de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae) reportées dans la littérature.

Tableau 12: Usages de *Terminalia macroptera* et pays d'origine de l'information.

Tableau 13: Les constituants chimiques identifiés dans la poudre des feuilles et des racines *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.(Combretaceae)

Tableau 14 : Fonctionnalités identifiées putatives (paires m / z x RT) utilisant des modèles de fragmentation HRMS et MS / MS utilisant la base de données MSfinder et DNP. Les pics majeurs détectés par CAD sont en gras.

Tableau 15 : La composition chimique de *Terminalia macroptera* rapportée dans la littérature

Tableau 16: Activité antipaludique et cytotoxicité des molécules isolées des espèces de la famille des Combretaceae

Tableau 17 : Activités antalgiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrices des molécules isolées de la famille des Combretaceae

ABRÉVIATIONS

ARTS : Allocation de Recherche pour une Thèse au Sud

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice 50

CRMT : Centre Régional de Médecine Traditionnelle

CTA : Combinaisons Thérapeutique à base d' Artémisinine

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DMT : Département de Médecine Traditionnelle

EDSM : Enquête Démographique et de Santé au Mali

FEMATH : Fédération Malienne des Associations des Thérapeutes Traditionnels et Herboristes

HT : Herboriste Traditionnel

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

INSTAT : Institut National de la Statistique

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

MT : Médecine traditionnelle

MTA : Médicaments Traditionnels Améliorés

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pba : *Plasmodium berghei anka*

Pcc : *Plasmodium chabaudi chabaudi*

PFF : Programme de Formation des Formateurs

Pharma-Dev : Pharmacochimie et Biologie pour le Développement

PNLP : Programme National de Lutte contre le Paludisme

RGPH : Recensements Généraux de la Population et de l'Habitat

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TPS : Tradipraticiens de Santé

UMR: Unités Mixtes de Recherches

WHO: World Health Organization



INTRODUCTION GENERALE

Ce travail de thèse a été soutenu financièrement par l'allocation d'une bourse de la part de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) à travers son programme Allocation de Recherche pour une Thèse au Sud (ARTS) et une contribution partielle du Programme de Formation des Formateurs (PFF) des universités du Mali.

Le doctorat s'est déroulé sur une période de 3 ans, avec une alternance de 6 mois de séjour entre le Mali et la France. Le travail de recherche a été effectué dans le laboratoire de l'UMR 152 (IRD-Université Toulouse 3) de Toulouse (France) et le laboratoire du Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) du Mali.

Les différentes actions de recherches qui ont contribué à la réalisation de ce doctorat sont :

- *Une recherche bibliographique*, réalisée au DMT et à l'UMR 152,
- *Une sélection d'espèces médicinales*, la mise en place d'enquêtes auprès des tradipraticiens-herboristes, réalisées au Mali,
- *Une préparation d'extraits bruts*, réalisée au DMT
- *Des analyses phytochimiques*, réalisées au DMT (caractérisation en tube) et à l'UMR152 (déréplication).
- *Un contrôle de qualité*, réalisé au DMT (paramètres physicochimiques) et à l'UMR152 (contrôle botanique)
- *Une évaluation des extraits in vitro*, réalisée à l'UMR152
- *Une évaluation des extraits de Terminalia macroptera in vivo*, réalisée au DMT (test de toxicité, test antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et hépatoprotecteur) et à l'UMR 152 (test antiplasmodial).

La recherche menée dans ce travail de thèse s'inscrit dans le souhait de pouvoir contribuer à l'amélioration de la santé de la population malienne et plus largement d'Afrique de l'ouest par le biais de la valorisation de la pharmacopée traditionnelle africaine, patrimoine culturel vivant inestimable, transmis de génération en génération, mais malheureusement menacé, et souvent déprécié.

1. Présentation du Mali

1.1 Géographie

Situé au cœur de l'Afrique de l'ouest, la République du Mali s'étend entre le 10^{ème} et le 25^{ème} degré de latitude nord d'une part et d'autre part entre le 4^{ème} degré de longitude Est et le 12^{ème} degré de longitude Ouest, sur une superficie de 1 241 238 km². Elle est limitée

- au Nord par l'Algérie
- à l'Est par le Niger
- au Sud-est par le Burkina Faso
- à l'Ouest par la Mauritanie et le Sénégal
- au Sud par la Côte d'Ivoire et la Guinée

Le relief est peu élevé et peu accidenté ; c'est un pays de plaines et de bas plateaux. L'altitude moyenne est de 500 mètres. Deux fleuves traversent le Mali : le fleuve Niger et le fleuve Sénégal. Le réseau hydrographique dessert surtout le sud du pays. La partie septentrionale de cette zone est arrosée par le fleuve Sénégal et ses affluents, la partie orientale par le fleuve Niger et ses constituants. Le régime de l'ensemble de ce réseau est tropical : hautes eaux en période d'hivernage et basses eaux en saison sèche.

1.2 Climat

Le climat est sec avec une saison sèche et une saison des pluies. On distingue 3 zones climatiques :

- **la zone soudano guinéenne** : à l'extrême sud du pays avec une pluviométrie de 1500 mm d'eau environ par an.
- **la zone sahélienne** : au centre recevant 200 à 800 mm d'eau par an.
- **la zone saharienne**, qui occupe la moitié nord du pays, les précipitations y sont irrégulières, voire accidentelles et très souvent inférieures à 200 mm d'eau par an.

1.3 Division administrative

Sur le plan administratif, le Mali était découpé en 8 Régions administratives (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou, Mopti, Tombouctou, Gao, et Kidal) et un District (la capitale Bamako) qui a rang de région. Recensement de deux nouvelles Régions sont en cours de création. Ces deux nouvelles Région sont la Région de Taoudéni et la Région de Ménaka. Taoudéni faisait partie de la Région de Tombouctou et Ménaka de la Région de Gao.



Figure 1 : Carte du Mali (source : Direction des Ressources Humaines Secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille, 2017)

1.4 Données sociodémographiques sur la population malienne

Le Mali a réalisé quatre Recensements Généraux de la Population et de l'Habitat (RGPH) en 1976, 1987, 1998 et 2009. Selon les données du quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH), la population résidente du Mali s'élevait à 14.528.662 habitants en avril 2009 dont 51 % de femmes et 49 % d'hommes (EDSM V, 2012 – 2013).

Selon les projections des données de RGPH 2009, le Mali compte une population de 18.343.000 habitants en 2016 avec 49.6% d'hommes et 50.4 % de femmes (Direction des Ressources Humaines Secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille, 2017). Près de 40% des habitants du pays appartiennent à l'ethnie mandingue ; ce sont majoritairement des Bambara vivant principalement dans le district de Bamako, et dans les régions de Koulikoro et Ségou, et les Malinké (6.6 %). Après viennent les Peul (13.9 %), les Sénoufo (9%), les Soninké (8.8 %), les Dogon (8 %), les Songhaï (7.2 %), les Dioula (2.9 %), les Bwaba (2.4 %), les Touaregs (1.7 %), les Maures ou Berbères (1.2 %).

L'islam est la religion de 90 % des Maliens, Quelque 9 % d'entre eux ont conservé des croyances animistes. Le christianisme est pratiqué par 1 % de la population.

2. Les différents systèmes de soins au Mali

Au Mali, il existe les ressources la médecine traditionnelle (Praticiens- pratiques- produits) et médecine conventionnelle, avec une organisation pyramidale de différents niveaux.

2.1 Ressource de la médecine traditionnelle

2.1.1 Définition de la Médecine traditionnelle (MT)

Selon l’OMS, la MT est «l’ensemble de toutes les connaissances et de toutes les pratiques, explicables ou non, transmises de génération en génération, oralement ou par écrit, utilisées dans une société humaine pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien-être physique, mental, social, moral et spirituel» (OMS, 2013).

2.1.2 Tradipraticiens de Santé (TPS)

Le TPS, est une personne reconnue par la collectivité dans laquelle elle vit, comme compétente pour dispenser les soins de santé, grâce à l’emploi de substances végétales, animales et minérales, et d’autres méthodes, basées sur le fondement socioculturel et religieux, aussi bien que sur les connaissances, comportements et croyances liées au bien-être physique, mental, social et spirituel, ainsi qu’aux causes des maladies et invalidités prévalant dans la collectivité.

Il existe différentes catégories de TPS, citons entre autres :

- **Accoucheuse Traditionnelle (AT)** est une personne qui est réputée dans son entourage pour aider les parturientes et dont la compétence provient d’un héritage familial ou de son apprentissage auprès d’autres accoucheuses traditionnelles.
- **Pédiatre Traditionnelle**, est une personne qui prodigue des soins traditionnels aux nouveaux nés et aux enfants à domicile et au niveau des marchés.
- **Traumatologue Traditionnel**, est un TPS, spécialisé dans la prise en charge des luxations, des entorses, les douleurs articulaires et utilise des méthodes de réduction des fractures.
- **Herboriste Traditionnel (HT)** est une personne qui détient des connaissances sur les plantes médicinales et en exerce le commerce à une place fixe, de préférence dans un marché.

Au Mali, les TPS sont organisés en associations à différents niveaux. A partir de 2002, il a été créé la Fédération Malienne des Associations des Thérapeutes Traditionnels et Herboristes (FEMATH), qui regroupe aujourd'hui 142 associations dans toutes les régions du Mali avec 10 400 TPSs.

2.1.3 Recours aux ressources de la MT

Au Mali, il existe 1 TPS pour 500 habitants. L'itinéraire thérapeutique commence par la famille et les tradipraticiens de santé (TPS). La MT constitue le premier recours de plus de 80 % de la population pour les soins de santé primaires. Les structures de santé sont consultées dans la majorité des cas après passage des malades chez un TPS (Diallo et Dussart, 2008).

Une étude menée par l'ONG Aidemet (www.aidemet.org) en partenariat avec PSDS (Coopération Suisse), PCSM 2 (Coopération Française) de 2008 – 2009 dans la commune de Zégoua (frontière entre le Mali et la Côte d'Ivoire) a montré que 10 tradipraticiens de santé ont consulté 277 patients par mois avec comme première cause de consultation le paludisme. Cette étude a estimé en moyenne, 1 TPS pour 236 habitants.

Une enquête menée en 2010 auprès des pédiatres traditionnels sur la prise en charge des maladies infantiles dans les quatre zones du Mali, a permis de recenser de nombreuses plantes médicinales utilisées dans le traitement du paludisme chez les enfants (DEA de Mme Korotoumou TRAORE, données non encore publiée).

Des études conduites par le programme Faire Reculer le Paludisme en 1998 indiquent qu'au Ghana, au Mali, au Nigeria et en Zambie, plus de 60% des enfants souffrant de forte fièvre sont traités à domicile à l'aide de médicaments à base de plantes (Guedje et al., 2013, OMS, 2003).

2.1.4 Les recherches en médecine traditionnelle au Mali

Le Département Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Santé Publique (INRSP), est la structure technique du Ministère de la Santé qui gère la politique malienne de recherche, de promotion et de développement des ressources de la MT.

Les objectifs du DMT :

- Organiser le système de la médecine traditionnelle pour assurer la complémentarité avec la médecine conventionnelle;
- Valoriser les ressources de la MT pour la mise au point de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA).

Ces médicaments à base de plantes issues des pharmacopées traditionnelles sont dits améliorés car leur composition chimique a été testée, ils ont fait l'objet de tests de toxicité sur animaux et des études scientifiques ont évalué leur efficacité thérapeutique et leur production est contrôlée (Pousset, 2006).

- Assurer la formulation et production de phyto-médicament à partir des ressources naturelles.

Pour atteindre ces objectifs, le DMT est composé de trois (3) services et un centre régional de médecine traditionnelle :

- Un service Ethnobotanique et matières premières, chargé de la conception des herbiers et des droguiers, de la culture expérimentale des plantes médicinales, approvisionnement en matières premières et le recensement des tradipraticiens de santé ;
- Un service des sciences pharmaceutiques pour la recherche scientifique (phytochimie, galénique, pharmacologie, toxicologie) sur les plantes médicinales ; la formation et la production de MTA
- Un service des sciences médicales pour la consultation, la dispensation des MTA, les essais cliniques et les évaluations de l'évidence ethno-médicale,
- Un centre régional de médecine traditionnelle de Bandiagara (CRMT)

Le DMT occupe depuis janvier 2005 de nouveaux locaux construits par le Ministère de la Santé à Sotuba sur le budget national. Ce nouveau bâtiment offre un environnement adapté aux activités de formation, de recherche et de production de médicaments à base de plantes: administration, gestion et maintenance, bibliothèque et salle informatique et salle de formation et de conférence, salles de consultations médicales, salle de séchage des plantes et de salle avec moulin pour la pulvérisation des matières premières végétales, salle de l'Herbier (herbier d'environ 3000 échantillons espèces végétales collectées depuis 1960, important pour toute identification de plantes médicinales du Mali), les laboratoires pour les extractions et les analyses phytochimiques (Extracteurs, Rotavapor, Lyophilisateur, matériels chromatographiques sur couche mince, des appareils HPLC, CPG, Spectrophotomètres et d'absorption atomique etc.); une unité artisanale de production de tisane et de sirop, un jardin expérimentale de 1 ha et un terrain de 20 ha à aménager.

Pour les études d'activités biologiques sur les animaux, le DMT, à la disponibilité d'une animalerie qui élève des souris mâles et femelles blanches. Le Laboratoire de pharmacodynamie est équipé pour certaines études d'activités pharmacologiques.

La recherche en MT implique une équipe multidisciplinaire et un réseau de partenaires au Mali et à l'extérieur. Pour cela, le DMT, travaille en partenariat avec la FEMATH et d'autres intervenants dans la recherche sur les ressources de la MT :

- **Chercheurs**

Ce sont les scientifiques et les chercheurs de différentes facultés, des instituts (Sciences, Médecine, Pharmacie, Odontostomatologie) des facultés littéraires, juridiques et économiques, où certains chercheurs se spécialisent dans le domaine de la MT, des sociologues, des ethnosociologies, des anthropologues, des juristes, des économistes.

- **Organisations et autres partenaires**

Les autres partenaires de la MT sont entre autres : l'OMS, le Fond Environnemental Mondial, Banque Mondiale (Programme savoirs locaux), Coopération Suisse, Terra Nuova, Coopération Décentralisée, Université de Messine, Salerne, Pise (Italie), Antenna technologies (Suisse) ; ONG Aidemet, GTZ Christian-aide, le Group Pivot Santé et Population, université d'Oslo (Norvège), d'Ottawa (Canada), de Toulouse, de Montpellier (France), Universités et instituts en Afrique.

2.2 Médecine conventionnelle

Le système sanitaire malien est de type pyramidal et a trois niveaux de prise en charge :

- **Le niveau central** comprend cinq *Etablissements Publics Hospitaliers (EPH)* et six *Etablissements Publics Scientifiques et Technologiques (EPST)* à Bamako (Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Centre National de Transfusion Sanguine, Laboratoire National de la Santé, Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie, Centre de Recherche, d'Etudes et de Documentation pour la Survie de l'Enfant, Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose).

Ces établissements et instituts du sommet de la pyramide, constituent la 3^{ème} référence. C'est à ce niveau que sont orientés tous les cas graves nécessitant une intervention spécialisée ou des investigations paracliniques poussées.

- **Le niveau intermédiaire regroupe** sept Établissements Publics Hospitaliers (EPH) assurant la 2^{ème} référence à vocation générale et situés respectivement dans les régions de Kayes, Sikasso, Ségou, Mopti, Tombouctou, Gao et Koulikoro (l'hôpital de Kati). A ceux-ci s'ajoute l'Hôpital « Mère-enfant » le Luxembourg, un établissement sanitaire privé à but non lucratif.

➤ **Le niveau district sanitaire avec 2 échelons :**

Le premier échelon (la base de la pyramide) ou premier niveau de recours aux soins, offre le Paquet Minimum d'Activités (PMA) dans les Centres de Santé Communautaires (CSCoM). Il existe d'autres structures de santé : parapubliques, confessionnelles, dispensaires, maternités rurales et établissements de santé privés qui complètent le premier échelon. Certains aspects de l'offre des soins sont assurés par les ONG, il s'agit surtout de la santé de la reproduction, la survie de l'enfant et la lutte contre les IST, VIH/SIDA.

Le deuxième échelon ou deuxième niveau de recours aux soins (première référence) est constitué par les Centres de Santé de Référence (CSRéf) au niveau des districts sanitaires, correspondant aux cercles, communes ou zones sanitaires. Ils assurent la prise en charge des cas référés par le premier échelon

2.3 Articulation de la médecine conventionnelle et de la médecine traditionnelle

Il existe des expériences de collaboration entre la MT et la Médecine conventionnelle dans la prise en charge de pathologies fréquentes comme le paludisme.

Référence des cas graves de paludisme par les PMT (Praticiens de la Médecine Traditionnelle) de 1997 à 2002: Implication des PMT dans la détection et la référence rapide des cas de fièvres palustres. Amélioration de la prise en charge du Paludisme et contribution à la diminution de la mortalité infantile due au paludisme grave (40% à moins de 10%) (*Expérience du MRTC à Bandiagara Région de Mopti, Mali*).

Au Mali, la législation pharmaceutique définit 4 catégories de MT (Willcox et al., 2012):

- **Catégorie 1 :** Médicaments traditionnels préparés par un tradipraticien pour un patient avec des matières premières fraîches ou sèches, avec une courte durée de conservation
- **Catégorie 2 :** Médicaments traditionnels actuellement utilisés dans la communauté, préparée à l'avance, et composée de matières premières brutes
- **Catégorie 3 :** Extraits standardisés préparés à l'avance suite à des recherches scientifiques
- **Catégorie 4 :** Molécules purifiées à partir de médicaments traditionnels à la suite de recherches scientifiques.

Ainsi, les travaux du DMT ont permis de mettre sur le marché pharmaceutique malien sept MTA (tableau 1), chacun avec une indication thérapeutique différente et enregistrés sur la liste nationale des médicaments essentiels avec autorisation de mise sur le marché pharmaceutique du Mali.

INTRODUCTION GENERALE

Tableau 1 : Liste des MTA inscrits sur la liste des médicaments essentiels du Mali

Produit	Catégorie	Composition	Présentation	Indication	Mode d'emploi et posologie
Balembo®	3	Extraits des fruits de <i>Crossopteryx febrifuga</i> (Afzel. ex G.Don) Benth. : 20g (Adulte) et 10g (Enfant) Parahydroxybenzoate de méthyle sodique: 0.2g Sirop simple: ...QSP (100 mL)	Sirop Adulte et Enfant de 100mL	Sédatif de la toux et toux rebelle	Adultes: 3 à 4 cuillérées à café / jour Enfant: 3 à 4 cuillère à café / jour
Dysenteral®	2	<i>Euphorbia hirta</i> L. (Partie aérienne)	Paquet de 8 sachets unidoses de 10 g de poudre	Dysenterie	Faire bouillir le contenu d'un sachet dans 1/2 litre d'eau pendant 10 mn. Boire le décocté filtré le soir après le repas
Gastrosédal®	2	<i>Baccharoides adoensis</i> var. <i>kotschyana</i> (Sch.Bip. ex Walp.) "Isawumi, El-Ghazaly & B.Nord."(Racines)	Sachets de 225 g de poudre	Gastrite, Ulcère gastroduodéal	Prendre en suspension le contenu d'une cuillerée à café dans un 1/2 verre d'eau tiède trois fois par jour avant le repas
Hépatisane®	2	<i>Combretum micranthum</i> G.Don (Feuilles)	Paquet de 14 sachets unidoses de 10 g de poudre	Cholagogue, Cholérétique Diurétique	Faire bouillir le contenu d'un sachet dans 1/2 litre d'eau pendant 10 mn. Boire le décocté filtré le matin à jeun et le soir après le repas

Tableau 1: Liste des MTA inscrits sur la liste des médicaments essentiels du Mali

Produit	Catégorie	Composition	Présentation	Indication	Mode d'emploi et posologie
Laxa-cassia[®]	2	<i>Senna italica</i> Mill. (Feuilles)	Paquet de 4 sachets unidoses de 5g de poudre	Constipation	Faire bouillir le contenu d'un sachet dans 1/2 litre d'eau pendant 10 mn. Boire le décocté filtré le soir après le repas
Malarial 5[®]	2	<i>Lippia chevalieri</i> Moldenke (Feuilles): 32% <i>occidentalis</i> (L.) Link (Feuilles): 62% <i>oleracea</i> (L.) R.K.Jansen (Feuilles): 6%	<i>Senna</i> <i>Acmella</i> Paquet de 11 Sachets unidoses de 10 g de poudre	Affections grippales, Etats fébriles en cas de paludisme	Faire bouillir le contenu d'un sachet dans 1/2 litre d'eau pendant 10 mn. Boire le décocté filtré 2 fois par jour pendant les 4 premiers jours et 1 fois par jour pendant 3 jours
Psorospermine[®]	3	Extrait des racines de <i>Psorospermum guineense</i> (L.) Hochr.: 10 g VaselineQSP (100g)	Pommade 10% en boite de 100g	Eczémas	Une application deux fois par jour

3. Le paludisme en Afrique de l'Ouest et au Mali

Selon le rapport de l'OMS sur le paludisme publié en 2017, l'incidence du paludisme était estimée à 109.9 millions de cas en Afrique de l'ouest, et la mortalité associée était à 224 000 décès. La population à risque d'être infecter et de développer le paludisme était de 367 millions de personnes (WHO, 2017). Il est à noter que grâce au développement de grands projets internationaux, pilotés par l'OMS, dont Roll Back malaria, Medicine for Malaria Venture, l'incidence du paludisme a diminué de 0.01 % en Afrique de l'ouest entre 2010 et 2016, et la mortalité associée de 22% (WHO, 2017). Cependant, même si l'objectif de l'OMS est une élimination, au niveau mondial, du paludisme en 2030, il est à craindre que ces avancées remarquables restent fragiles car très liées aux importants financements internationaux (WHO, 2017).

3.1 Les parasites et les vecteurs du paludisme au Mali (PNLP, 2013)

Au Mali, les parasites responsables du paludisme sont : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium ovale*. Parmi ces quatre espèces *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus fréquente. Elle représente à elle seule 85 – 90 % des cas, et elle provoque les formes létales, graves et compliquées du paludisme.

Les principaux vecteurs du paludisme sont les complexes *Anophèles gambiae* (*An. gambiaes.l.*) et *Anophèles funestus* (*An. funestus s.l.*).

3.2 Dynamique de la transmission du paludisme et niveau d'endémicité au Mali (PNLP, 2013)

Selon la saison et l'indice plasmodique cinq facies épidémiologiques de transmission du paludisme sont identifiés. L'indice plasmodique est la proportion de sujets (d'un échantillon d'enfants non fébriles âgés de 2 à 9 ans) présentant des plasmodiums dans le sang, quel que soit le stade parasitaire. Ces facies sont :

- **les zones soudano-guinéennes** : La transmission saisonnière est intense et longue (≥ 6 mois). Dans cette zone, l'indice plasmodique (IP) chez les enfants est ≥ 80 %. L'état de prémunition est acquis vers l'âge de 5-6 ans
- **les zones sahéliennes** : La transmission saisonnière est intense et courte $\leq 3 - 4$ mois. Dans cette zone, l'IP se situe entre 50-70 %.

- **les zones sahariennes** : La transmission est sporadique voire épidémique. L'IP est en dessous de 10 %. Tous les groupes d'âge sont à risque de paludisme grave.
- **les zones périodiquement inondées** : La transmission est bi ou plurimodales. l'IP se situe entre 26-50 %.
- **les milieux urbains** : ce sont des zones peu propices à l'impaludation. L'IP est ≤ 10 % et les adultes peuvent faire des formes graves et compliquées de paludisme.

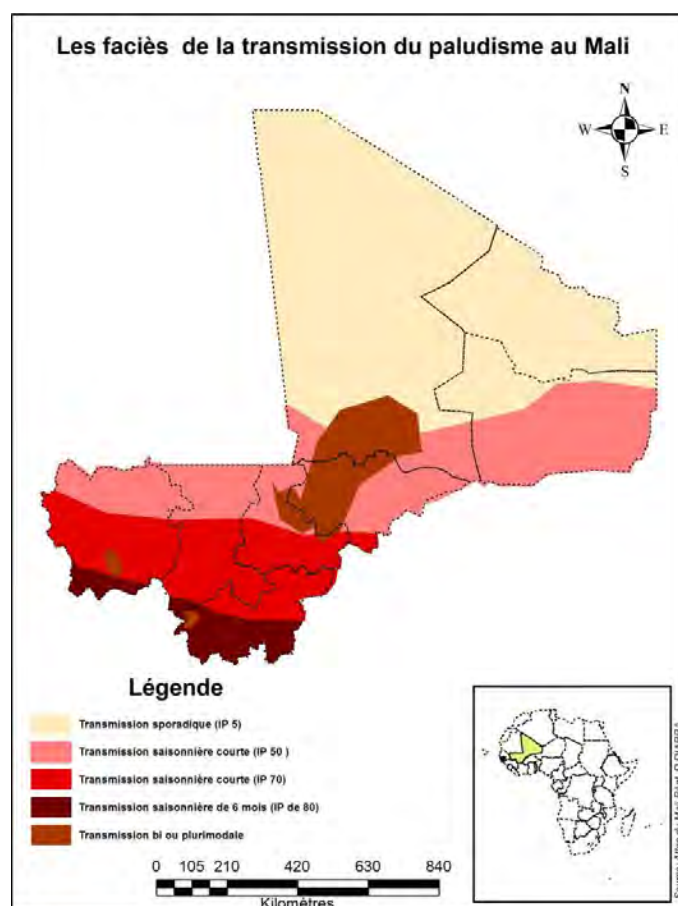


Figure 2: Strates épidémiologiques selon le nombre de mois de transmission (PNLP, 2013).

3.3 Morbidité et mortalité du paludisme au Mali

Le paludisme est un problème de santé et développement au Mali. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes sont les plus vulnérables. La prévalence nationale de la parasitémie était de 52% chez les enfants de moins de 5 ans. La prévalence du paludisme est variable suivant les régions (voir figure 3) : Mopti (71%), Sikasso (62 %), Ségou (56 %), Koulikoro (50 %) et Kayes (37 %), Gao, Tombouctou et Kidal (17% chacune) et le district Bamako (10 %) (PNLP, 2013).

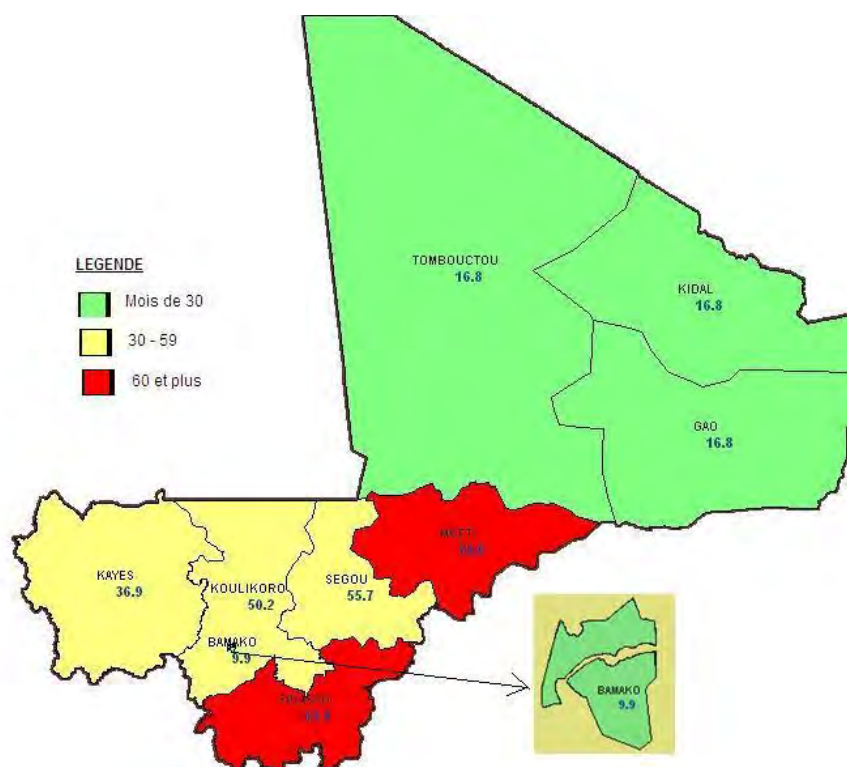


Figure 3 : Prévalence de la parasitémie du paludisme chez les enfants (source PNLP, 2013)

Selon l'annuaire de la statistique publié en 2015 par l'Institut National de Statistique (INSTAT) du Mali, le paludisme représentait 40% des motifs de consultation dans les formations sanitaires au Mali en 2014. Il a été enregistré dans les établissements de santé plus de 2.500.000 cas suspects de paludisme (1.789.581 cas simples et 801.060 cas graves) avec 2.309 décès (INSTAT, 2015).

L'incidence du paludisme est variable suivant les régions. En 2014, l'incidence la plus élevée a été observée dans la Région de Sikasso (21 %) suivie par la Région de Koulikoro et la capitale Bamako (17 % chacune). L'incidence la plus faible a été observée dans la Région de Kidal (4%) (Voir tableau 2)(INSTAT, 2015).

Tableau 2 : Paludisme au Mali du 1^{er} Janvier au 31 Décembre 2014

Régions	Population	Cas de paludisme	Incidence (%)	Décès
Kayes	2 375 000	264 394	11	166
Koulikoro	2 885 000	488 537	17	240
Sikasso	3 149 000	650 849	21	539
Ségou	2 786 000	424 926	15	172
Mopti	2 426 000	210 989	9	132
Tombouctou	804 000	110 596	14	61
Gao	646 000	74 415	12	21
Kidal	81 000	2 910	4	0
Bamako	2 157 000	363 025	17	978
Total Mali	17 309 000	2 590 641	15	2 309

3.4 Axes stratégiques de lutte contre le paludisme au Mali (PNLP, 2013)

La lutte contre le paludisme a toujours été une priorité pour le gouvernement du Mali avec la mise en place du Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP) en 1993 suite à sa participation à la conférence ministérielle d'Amsterdam. Le Mali dispose d'une politique nationale de lutte contre le paludisme dont la vision est : «Un Mali sans paludisme». Les stratégies majeures de lutte contre le paludisme au Mali sont axées sur

- la prise en charge des cas de paludisme (le diagnostic, le traitement curatif précoce des cas de paludisme)
- la prévention du paludisme chez la femme enceinte
- la chimio-prévention du paludisme saisonnier chez les enfants de 3 à 59 mois,
- la lutte anti vectorielle
- la prévention et la gestion des épidémies.

Ces actions sont soutenues par la politique nationale de lutte contre le paludisme au Mali dont l'objectif est d'inverser les tendances de l'incidence du paludisme, et d'amorcer l'arrêt de sa transmission dans la perspective de son élimination à l'horizon 2030, suivant en cela les directives de l'OMS (OMS, 2016, http://www.who.int/hrh/resources/global_strategy2030fr.pdf).

3.4.1 La prise en charge des cas de paludisme

Au Mali, la gratuité de la prise en charge du paludisme (traitement, diagnostic) pour les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes d'une part et la forte subvention chez les adolescents et les adultes venant en consultation curative dans les structures publiques, parapubliques de santé d'autre part sont des stratégies mises en œuvres par l'Etat enfin de réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme (PNLP, 2016).

Les directives du ministère de la Santé du Mali pour le diagnostic du paludisme sont celles de l'OMS qui recommande une confirmation parasitologique rapide des cas suspects par un diagnostic basé sur la recherche des plasmodies par microscopie (goutte épaisse/frottis mince) ou un test de diagnostic rapide (TDR) (OMS, 2013).

Le traitement du paludisme simple est basé sur l'utilisation des Combinaisons Thérapeutique à base d'artémisinine (CTA) par voie orale. Les combinaisons Artemether – Lumefantrine et Artesunate – Amodiaquine sont retenues. La quinine injectable est utilisée lorsque la voie orale est inaccessible pour les cas de diarrhées ou vomissements (PNLP, 2016). L'Artésunate ou l'Artemether ou la quinine injectable sont retenus pour traiter les cas de paludisme grave (PNLP, 2016 ; PNL, 2013). Le traitement du paludisme chez la femme enceinte se fait avec la quinine injectable et comprimé au cours du premier trimestre et les CTA à partir du deuxième trimestre (PNLP, 2016 ; PNL, 2013).

3.4.2 La prévention du paludisme chez la femme enceinte

Pour assurer la prévention du paludisme chez la femme enceinte, le ministère de santé en collaboration avec le PNL offre gratuitement aux femmes enceintes des moustiquaires imprégnées d'insecticide longue durée (MILD) et la Sulfadoxine (500 mg) - Pyriméthamine (25mg) comprimé comme Traitement Préventif Intermittent (TPI) lors de la consultation prénatale. La Sulfadoxine-Pyriméthamine est administrée en raison de 2 cures de 3 comprimés de Sulfadoxine-Pyriméthamine en prises supervisées et espacées d'au moins un mois, entre le 4^{ème} mois de la grossesse et l'accouchement (PNLP, 2016 ; PNL, 2013).

3.4.3 La chimio-prévention du paludisme saisonnier chez les enfants de 3 à 59 mois

Le ministère de santé en collaboration avec le PNLP organise chaque année une campagne de chimio-prévention gratuite qui se fait de porte en porte pendant la période de haute transmission (août à novembre) chez les enfants de 3 à 59 mois. Une dose de Sulfadoxine-Pyriméthamine (SP) et Amodiaquine (AQ) est administrée chaque mois pendant 4 mois (PNLP, 2016 ; PNLP, 2013).

3.4.4 La lutte anti vectorielle

Le contrôle des vecteurs est une intervention clé dans la lutte contre le paludisme. La lutte anti vectorielle a pour but de réduire voire arrêté la transmission du paludisme. Les objectifs de la lutte anti vectorielle visent essentiellement une couverture en moustiquaires imprégnées d'insecticides longue durée (MILD) de 100 % de la population (couverture universelle), une couverture d'au moins 85 % des maisons/structures éligibles des districts retenus dans le cadre de la pulvérisation intra domiciliaire (PID), la promotion de l'aménagement de l'environnement et le traitement biologique des gîtes larvaires (PNLP, 2016 ; PNLP, 2013).

➤ Promotion de l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides Longue Durée (MILD)

De nombreuses actions sont menées par le ministère de la santé en collaboration avec le PNLP pour assurer une couverture universelle de la population en moustiquaires imprégnées d'insecticides. En routine les MILD sont distribuées gratuitement aux femmes enceintes au cours des consultations prénatales (premier contact) et aux enfants de moins de 1 an après la vaccination anti rougeoleuse.

En plus de la routine, des campagnes de distribution gratuite de moustiquaires sont souvent organisées. Par exemple entre 2009 – 2010, 403.040 MILD ont été distribuées dans les zones traversées par le fleuve Sénégal au Mali appelé zones OMVS (Organisation pour la Mise en Valeur du fleuve Sénégal). La distribution visant la couverture universelle est en cours depuis avril 2011 avec la distribution de 4.369.197 MILD.

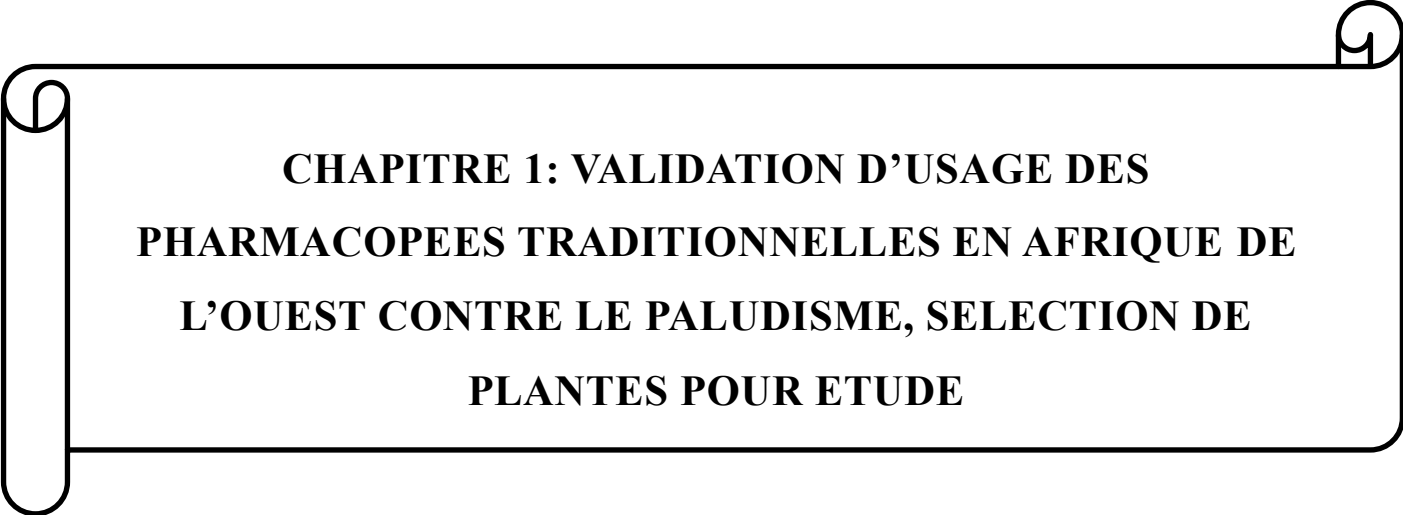
➤ La pulvérisation intra domiciliaire (PID)

Le PNLP, avec l'appui de l'USAID/PMI a mis en œuvre la pulvérisation intra domiciliaire dans les districts sanitaires de Bla et Barouéli (Région de Ségou) et Koulikoro (Région de Koulikoro). Deux classes d'insecticides ont été utilisées au cours cette PID : les pyréthrinoïdes (lambda-cyhalothrine et deltaméthrine) et les carbamates.

4. Contexte et traitements alternatifs antipaludiques

Selon les dernières estimations de l'OMS, on a globalement assisté grâce au développement de grands projets internationaux, pilotés par l'OMS, dont Roll Back malaria, Medicine for Malaria Venture, à une diminution globale de l'incidence (0.01 %) en Afrique de l'ouest entre 2010 et 2016, et la mortalité associée de 22 % (WHO, 2017). Cependant, même si l'objectif de l'OMS est une élimination, au niveau mondial, du paludisme en 2030, il est à craindre que ces avancées remarquables restent fragiles car très liées aux importants financements internationaux (WHO, 2017) mais aussi au développement des résistances du Plasmodium face à l'artémisinine (Rogers et al., 2009 ; Paloque et al., 2016).

En effet l'histoire a montré que, quel que soit le type de molécule utilisé, des résistances surviennent. Ceci a été mis en évidence pour la chloroquine, et maintenant en Asie du sud est pour l'artémisinine, obligeant à la formulation de médicaments mixtes associant plusieurs molécules, le défi étant de trouver les molécules actives sur les formes de résistances de *P. falciparum* induites par l'artémisinine (Paloque et al., 2016).



**CHAPITRE 1: VALIDATION D'USAGE DES
PHARMACOPEES TRADITIONNELLES EN AFRIQUE DE
L'OUEST CONTRE LE PALUDISME, SELECTION DE
PLANTES POUR ETUDE**

1. Contexte et objectifs

En Afrique de l'Ouest plus particulièrement au Mali, la médecine traditionnelle est un élément important du patrimoine culturel et demeure le principal recours pour une large majorité de personnes pour les soins de santé. Dans ce pays le paludisme reste un problème de santé publique important. Bien qu'actuellement le traitement de référence préconisé par l'OMS pour le paludisme soit en théorie accessible à tous ceux qui en ont besoin (MSF, 2008). de nombreuses études soulignent le fait que, pour traiter cette parasitose, les plantes médicinales sont un recours thérapeutique très utilisé par les populations, en particulier rurales, employées seules ou en association avec des traitements conventionnels (Sanon et al., 2013 ; Nadembega et al., 2011).

Etant donné la récente apparition de résistances à l'artémisinine (Rogers et al., 2009) l'étude des plantes médicinales antipaludiques représente toujours un espoir de découverte de molécules pouvant être formulées sous forme de médicament dans de nouvelles stratégies thérapeutiques. Par ailleurs, il est également tout aussi important de continuer à mener des études sur les plantes médicinales antipaludiques, dans un objectif de santé publique afin de formuler des recommandations d'usage et ce contribuer ainsi à la santé des populations premières utilisatrices de la pharmacopée traditionnelle.

Dans les pays dont la législation reconnaît la médecine traditionnelle de manière officielle, l'étude des plantes médicinales permet également de continuer à l'élaboration de pharmacopées nationales (Pharmacopée OOAS, 2013). En l'Afrique de l'ouest, et en particulier au Mali, de nombreux travaux ont déjà été réalisés sur les plantes médicinales antipaludiques conduisant pour certaines à la mise sur le marché de médicaments traditionnels améliorés MTA (Willcox et al., 2012). Afin de contribuer dans cette voie, et dans un but de valorisation d'espèces médicinales ayant fait l'objet de peu de travaux, nous sommes attachés dans ce chapitre à :

- Faire une étude actualisée de la littérature afin de recenser les espèces utilisées au Mali comme antipaludique et identifier celles qui ont démontré une activité antiplasmodiale
- Analyser les données expérimentales fournies dans la littérature sur 10 espèces communément utilisées au Mali dans un but de validation d'usage et de valorisation.
- Sélectionner 10 espèces peu étudiées utilisées traditionnellement contre le paludisme en Afrique de l'ouest, afin d'évaluer leur potentialité antiparasitaire.

2. Méthodologie

Une première recherche bibliographique aussi exhaustive que possible a été réalisée afin d'identifier les espèces utilisées dans le traitement du paludisme au Mali. Les livres, thèses, mémoires et rapports disponibles dans la bibliothèque du DMT/INRSP de Bamako, Mali portant sur des études ethnobotaniques ont été analysés.

Un premier tri a été effectué, au sein de ces références, afin de dégager les espèces les plus citées. Cette estimation s'est faite en comptabilisant le nombre de publications dans lesquelles chaque espèce était mentionnée. Puis, sur la base de ces noms d'espèces une recherche systématique bibliographique approfondie a été faite dans un deuxième temps. Les bases de données suivantes ont été consultées : PubMed et Google scholar. Ont été retenues toutes les publications faisant état des activités pharmacologiques de ces espèces, ainsi que celles fournissant des données de toxicologie, et de phytochimie.

Dans un deuxième temps la recherche de références de nature ethnobotanique s'est poursuivie, en étendant la recherche à tous les pays d'Afrique de l'ouest (Mali, Benin, Burkina Faso, Cap-Vert, Cote d'Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Liberia, Niger, Nigéria, Sénégal, Sierra Leone et Togo) et en consultant des bases de données Pubmed, Science direct, Google Scholar.

Puis, afin d'avoir un aperçu sur les activités antiplasmodiales d'espèces d'Afrique de l'ouest, nous avons complété cette recherche sur Pubmed, Science direct, Google Scholar, en sélectionnant les références correspondantes. Pour ce faire, les mots-clés suivants : *medicinal plant*, *traditional medicine*, combiné avec *malaria*, *Plasmodium*, *antiplasmodial*, *antimalarial* ont été utilisés.

Selon le type de publication, les informations suivantes ont été relevées pour chaque espèce citée : le nom du pays d'origine dans laquelle la plante est utilisée pour le paludisme, le binôme latin de l'espèce, la partie de plante utilisée, la recette, la voie d'administration et la posologie, le type de test utilisé pour évaluation antiparasitaire, l'organe de plante soumis à évaluation, le type d'extrait testé, la souche de *Plasmodium* pour les tests *in vitro*, ou l'espèce utilisée pour les tests *in vivo* ainsi que les résultats aux tests. Les binômes latins de toutes les espèces citées ont été vérifiés et actualisés, le cas échéant avec la base de données The Plant List (<http://www.theplantlist.org/>).

D'autres paramètres non analysés ici ont également été pris en compte pour alimenter une base de données en cours de construction "malaria plant DBcommunity" (Voir annexe 1) à laquelle nous avons contribué. Toutes ces données ont été rentrées dans un fichier Excel.

3. Résultats et discussion

3.1 Analyse bibliométrique

Pour le Mali, au total 14 publications ethnobotaniques ou ethnopharmacologiques dont 3 livres, une thèse de doctorat d'état en pharmacie, un rapport et 9 articles scientifiques ont permis de recenser 262 espèces appartenant à soixante-deux (61) familles utilisées dans le traitement paludisme. (Diarra et al., 2015 ; Nergard et al., 2015 ; Nordeng et al., 2013 ; Pham et al., 2011 ; Somboro et al., 2011 ; Arbonnier, 2009 ; Grønhaug et al., 2008 ; Togola et al., 2008 ; Diallo et al., 2007 ; Togola et al., 2005 ; Sangaré, 2003 ; Malgras, 1992 et Adjanohoun et al., 1981).

Il est à noter qu'au Mali, le même terme de *sumaya* en langue banaman désigne les accès palustres et les poussées ictériques pouvant survenir de manière concomitante à ces crises. C'est pourquoi, très souvent dans les références consultées provenant du Mali les usages "paludisme et ictère" sont associés¹.

Les premières cinq espèces les plus citées étaient : *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae), *Opilia amentacea* Roxb. (Opiliaceae) et *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze (Rubiaceae) (toutes citées dans 9 publications), et *Guiera senegalensis* J. F. Gmel. (Combretaceae) et *Sarcocephalus latifolius* (Sm.) E.A. Bruce (Rubiaceae) citées dans 8 références (voir annexe 2).

En ce qui concerne les publications portant sur l'évaluation antiplasmodiale d'espèces originaire d'Afrique de l'ouest, 140 articles de recherche parus entre 2007 – 2017 et une compilation portant sur les années 1987-2006 (Soh et Benoit-Vical, 2007) ont été sélectionnés pour analyse. Au total ce sont 165 espèces qui ont été évaluées sur les 262 espèces recensées précédemment. Pour quarante-six (46) références, l'évaluation des activités antiplasmodiale a été menée à bien en utilisant des tests *in vitro*.

¹Une approche nosologique de la pathologie appelée *sumaya* que certains auteurs traduisent par "paludisme et symptômes associés" est donnée dans le §2.

Des tests *in vivo* ont été utilisés dans quatre-vingt-une (81) références, les deux types de tests étaient utilisés dans onze (11) références. Enfin deux études cliniques ont été sélectionnées.

Pour les évaluations *in vitro*, tous les auteurs ont utilisés la méthode classique de culture continue de souches de *Plasmodium falciparum* (Trager et Jensen, 1976) et ont utilisés diverses méthodes d'évaluation de l'activité antiplasmodiale. Les méthodes d'évaluation les plus fréquemment utilisées étaient des méthodes radioactives ($[^3\text{H}]$ -hypoxanthine (17 références), enzymatiques et fluorométriques (SYBR Green) (10) et microscopiques (9),

Diverses méthodes ont été utilisées par les auteurs pour l'évaluation *in vivo* sur des modèles murins de l'activité antiplasmodiale. Le test Peters ou test de suppression de 4 jours, le test Rane ou test curatif et le test Repository ou test prophylactique (Okokon et al., 2015 ; Christian et al., 2015) ont été les plus fréquemment utilisés.

Quarante-huit espèces ont démontré une activité antiplasmodiale *in vitro* sur des souches de *Plasmodium falciparum* avec une CI_{50} inférieure ou égale à 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Parmi ces espèces figurent les cinq espèces les plus fréquemment citées (*Combretum micranthum*, *Opilia amentacea*, *Mitragyna inermis*, *Guiera senegalensis* et *Sarcocephalus latifolius*).

Sur les 48 espèces actives *in vitro* sur des souches de *Plasmodium falciparum* (CI_{50} inférieure ou égale à 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 8 espèces ont démontré une activité antiplasmodiale *in vivo* sur des souris infectées par des souches de Plasmodium (Voir tableau 3)

Le nombre élevé d'espèce ayant démontré une activité antiplasmodiale *in vitro* par rapport au test *in vivo* pourrait s'expliquer par le fait que dans le test *in vivo* le produit passe par différentes phases (libération, absorption, distribution, métabolisme et élimination) qui n'existe pas en *in vitro*. En effet le test *in vitro* ne prend pas en compte la complexité du fonctionnement de l'organisme car le produit est en contact direct avec les cellules donc il y a un risque d'avoir une activité cytotoxique qui est parfois non sélective. Par exemple l'extrait hexane de la plante entière de *Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae) a démontré une activité antiplasmodiale *in vitro* sur Pf-K1 ($\text{CI}_{50} = 4.33\mu\text{g}/\text{mL}$) couplée à une faible sélectivité sur les cellules L6 (myoblastes squelettiques de rat) avec un indice de sélectivité de 3.28 (Abiodun et al., 2011). Un résultat similaire ($\text{CI}_{50} = 5\mu\text{g}/\text{mL}$ sur Pf-K1) a été obtenu avec les alcaloïdes totaux des feuilles de *Pavetta crassipes* K.Schum. (Rubiaceae) avec un indice de sélectivité de 1.6 sur les cellules CHO (lignée cellulaire issue d'ovaires de hamster de Chine) (Ouattara et al., 2014). Cependant dans peu de publications il y a des études de cytotoxicité.

3.2 Validation et valorisation de dix espèces très communément utilisées au Mali, contre *sumaya*

L'usage antipaludique des 5 espèces les plus citées dans la littérature selon notre recherche bibliographique n'est pas cantonné au Mali, mais se trouve également cité dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest. Toutes ces espèces ont fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques afin de valider leur réputation traditionnelle (Voir tableau 4).

Par la suite, nous avons étendu cette sélection à 10 espèces (Voir tableau 5) afin de pouvoir approfondir les activités pharmacologiques et fournir des recommandations d'usage.

Au total 88 publications portant sur les activités biologiques de ces dix espèces ont été retenues pour analyse.

Des études ont montré une très bonne activité antiplasmodiale *in vitro* des extraits de *Argemone mexicana* L. (Diallo et al., 2007), *Cochlospermum tinctorium* Perrier ex A.Rich. (Soh et Benoit-Vical 2007), *Combretum micranthum* G. Don (Soh et Benoit-Vical 2007), *Erythrina senegalensis* DC. (Soh et Benoit-Vical 2007), *Gymnanthemum coloratum* (Willd.) H.Rob. & B.Kahn (Kaou et al., 2008), *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze (Serge et al., 2012 ; Soh et Benoit-Vical, 2007), *Trichilia emetica* Vahl (Soh et Benoit-Vical 2007), *Sarcocephalus latifolius* (Sm.) E.A.Bruce (Soh et Benoit-Vical 2007) avec une $CI_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$. Les extraits de *Securidaca longipedunculata* Fresen. (Bah et al., 2007) ont montré une activité antiplasmodiale modérée avec une CI_{50} comprise entre 5 – 10 $\mu\text{g/mL}$.

Parmi ces dix espèces, seule *Sarcocephalus latifolius* a été testée *in vivo*. L'extrait éthanolique des écorces de tronc (300 mg/kg) administré par gavage a démontré une activité antiplasmodiale *in vivo* en réduisant (63.84 % d'inhibition) la parasitémie chez des souris infectées par *Plasmodium berghei berghei* (Etebong et al., 2014).

Argemone mexicana a fait l'objet d'essais cliniques. Les études cliniques ont permis d'évaluer l'évidence ethnomédicale de l'utilisation du décocté de *A. mexicana* dans le traitement du paludisme simple. Les résultats les plus encourageants ont été enregistrés pour les patients de plus de 5 ans, avec 89 % de réponses cliniques adéquates (Willcox et al., 2007). L'étude clinique randomisée contrôlée, a permis de comparer le traitement du paludisme simple présomptif avec le décocté de *A. mexicana* au traitement avec une combinaison thérapeutique à base d'Artémisinine. Dans les deux groupes, l'évolution vers le paludisme sévère, qui était l'indicateur principal retenu, est restée en dessous de 5 %, niveau

de référence rapporté dans les études internationales (Gratz et al., 2010 et Willcox et al., 2011).

En plus des propriétés antiplasmodiales, les propriétés hépatoprotectrices ont été démontrées pour la plus part de ces espèces (7) sauf pour *Gymnanthemum coloratum*, *Sarcocephalus latifolius* et *Securidaca longipedunculata*. Une activité anti-hépatocarcinome a été démontrée *in vitro* pour *Entada africana*, *Erythrina senegalensis* et *Securidaca longipedunculata* sur des cellules d'hépatocarcinome humain Hep3B (Haïdara, 2013).

3.3 Sélection d'espèces peu étudiées, utilisées traditionnellement contre le paludisme en Afrique de l'ouest

10 espèces utilisées au Mali dans la prise en charge du paludisme dont l'approvisionnement en matière première était facile et pour lesquelles l'on ne disposait que de peu d'informations de nature chimique et/ou biologique ont été sélectionné pour un criblage antiplasmodial *in vitro*. Ces espèces sont présentées dans le tableau 6 et les images dans la figure 4.

Parmi les dix espèces sélectionnées sept ont démontré une activité antiplasmodiale *in vitro* sur des souches de *Plasmodium falciparum* avec des $CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, deux espèces n'ont pas fait l'objet d'étude antiplasmodiale Aucune espèce n'a fait l'objet de recherches phytochimiques approfondies dans un but d'identification de composés responsable de l'éventuelle activité antiplasmodiale.

Tableau 3 : Activité *in vitro* et *in vivo* des espèces utilisées au Mali. Sont retenus dans ce tableau seulement les espèces démontrant une $CI_{50} < 5$ ($\mu\text{g/mL}$).

Nom scientifique (Famille)	Type de test	Solvant d'extraction	Souche de Plasmodium	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Dose (mg/kg/jour) et (% suppression de la parasitémie)	Référence
<i>Acanthospermum hispidum</i> DC. (Compositae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	W2	4.8±1.6		[5]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	D6	4.69		[33]
<i>Alchornea cordifolia</i> (Schum. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	K1	4.84		[21]
	<i>in vitro</i>	Méthanol	EHI	2.8±0.6		[19]
	<i>in vitro</i>	Ethanol	FcM29	2.3		[33]
<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes totaux	EHI	2.59		[31]
	<i>in vitro</i>	Méthanol	W2	4.9		[13]
	<i>in vitro</i>	Méthanol	FcB1	2.6		[33]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	2.6		[33]
<i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	K1	1		[10]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	1.22		[10]
<i>Azadirachta indica</i> A.Juss. (Meliaceae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	D10	1.31±0.48		[9]
	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	W2	1.92±0.84		[9]
	<i>in vitro</i>	Ethanol	W2	2.4		[33]
	<i>in vitro</i>	Ethanol	D6	2.5		[33]
	<i>in vitro</i>	Eau	FcB1	4.17		[33]
	<i>in vivo</i>	Eau	P. berghei		10 (3.1)	[26]
	<i>in vivo</i>	Ethanol	P. berghei		650 (54.79)	[18]

Tableau 3 : (suite)

Nom scientifique (Famille)	Type de test	Solvant d'extraction	Souche de Plasmodium	CI ₅₀ (µg/mL)	Dose (mg/kg/jour) et (% suppression de la parasitémie)	Référence
<i>Bauhinia thonningii</i> Schum. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	K1	3.56± 0.83		[2]
	<i>in vivo</i>	Ethanol	P. berghei		400 (91.94)	[16]
<i>Boscia angustifolia</i> A. Rich. (Capparaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	D6	1.4		[24]
	<i>in vitro</i>	Eau	W2	4.7		[24]
<i>Calotropis procera</i> (Aiton) Dryand. (Apocynaceae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	3D7	2.5		[30]
<i>Capparis tomentosa</i> Lam. (Capparaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	NF54	2,19		[4]
<i>Carica papaya</i> L. (Caricaceae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	D10	2.96 ±0.14		[17]
	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	DD2	3.98 ±0.42		[17]
<i>Cochlospermum planchonii</i> Hook.f. ex Planch. (Bixaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	3D7	2.4 ± 2.2		[15]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	4.4		[33]
	<i>in vitro</i>	Ethanol	3D7	2.3		[33]
	<i>in vitro</i>	Ethanol	FcB1	3.8		[33]
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A.Rich. (Bixaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	F32	0.93		[33]
<i>Combretum adenogonium</i> Steud. ex A.Rich. (Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	5		[29]
<i>Combretum collinum</i> Fresen. Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	4		[29]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	0,2		[30]
<i>Combretum micranthum</i> G. Don Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	W2	0.8		[33]
	<i>in vitro</i>	Eau	FcB1	1.18		[33]
	<i>in vitro</i>	Eau	F32	1.7		[33]
<i>Cordia myxa</i> L. (Boraginaceae)	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	K1	4.2		[30]

Tableau 3 : (suite)

Nom scientifique (Famille)	Type de test	Solvant d'extraction	Souche de Plasmodium	CI ₅₀ (µg/mL)	Dose (mg/kg/jour) et (% suppression de la parasitémie)	Référence
<i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight & Arn. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	NF54	2.10		[4]
	<i>in vivo</i>	Eau	P. berghei		10 (6.3)	[26]
<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. ex A.DC. (Ebenaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	NF54	4.40		[4]
	<i>in vivo</i>	Eau	P. berghei		200 (73.2)	[3]
<i>Erythrina senegalensis</i> DC. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	K1	1,82		[33]
<i>Euphorbia hirta</i> L. (Euphorbiaceae)	<i>in vitro</i>	Hexane	K1	4.33 ± 0.48		[2]
	<i>in vitro</i>	Ethanol 80%	MRC-Pf-43	4.22		[8]
<i>Flueggea virosa</i> (Roxb. ex Willd.) Royle (Phyllanthaceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	D6	2.2		[23]
	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	K1	1.6		[30]
	<i>in vitro</i>	Méthanol-Eau	W2	2		[13]
	<i>in vitro</i>	Méthanol	D6	2.28 ± 0.17		[22]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	2.41		[10]
	<i>in vivo</i>	Méthanol	P. berghei		100 (70.91 ± 4.53)	[22]
<i>Guiera senegalensis</i> J. F. Gmel. (Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	FcB1	0.79		[35]
<i>Gymnanthemum coloratum</i> (Willd.) H. Rob. & B. Kahn (Compositae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	W2	3		[13]
<i>Gymnosporia senegalensis</i> (Lam.) Loes. (Celastraceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	D6	4.7		[23]
<i>Jatropha curcas</i> L. (Euphorbiaceae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	K1	2.39 ± 0.54		[2]
	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	NF54	3.45±0.10		[1]
<i>Lophira lanceolata</i> Tiegh. ex Keay (Ochnaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	K1	4.7		[32]

Tableau 3 : (suite)

Nom scientifique (Famille)	Type de test	Solvant d'extraction	Souche de Plasmodium	CI ₅₀ (µg/mL)	Dose (mg/kg/jour) et (% suppression de la parasitémie)	Référence
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	EHI	2.35		[31]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	W2	4.3		[33]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	3D7	4.8		[33]
<i>Ochna schweinfurthiana</i> F.Hoffm. (Ochnaceae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	3D7	0.71±1.21		[20]
<i>Opilia amentacea</i> Roxb. (Opiliaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	2.8		[30]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	4.01		[10]
<i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) G.Don (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Polyphénol	EHI	0,51		[7]
<i>Pavetta corymbosa</i> (DC.) F.N.Williams (Rubiaceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	EHI	2.041		[14]
<i>Pavetta crassipes</i> K.Schum. (Rubiaceae)	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	K1	4.9		[34]
	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	K1	5		[29]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	D6	1.02		[33]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	W2	1.23		[33]
<i>Prosopis africana</i> (Guill. & Perr.) Taub. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	W2	0.5		[25]
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Chloroforme	EHI	1,93		[33]
<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A. Bruce (Rubiaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	FcB1	0.6		[33]
		Eau	FcB1	0.7		[33]
	<i>in vivo</i>	Ethanol	P. berghei		300 (63.84)	[11]
<i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Acétate d'éthyle	NF54	2.61±0.54		[1]
<i>Sida acuta</i> Burm.f. (Malvaceae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	FcM29	3.9		[33]
	<i>in vitro</i>	Eau	FcM29	0.92		[33]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	FcM29	0.87		[33]
<i>Spondias mombin</i> L. (Anacardiaceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	K1	2.8		[34]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	2.57		[10]

*EHI : Erythrocytes humains infectés

Tableau 3 : (fin)

Nom scientifique (Famille)	Type de test	Solvant d'extraction	Souche de Plasmodium	CI ₅₀ (µg/mL)	Dose (mg/kg/jour) et (% suppression de la parasitémie)	Référence
<i>Tamarindus indica</i> L. (Leguminosae)	<i>in vitro</i>	Eau	EHI	4.786		[14]
	<i>in vivo</i>	Eau	P. berghei		10 (25.1)	[26]
	<i>in vivo</i>	Eau	P. berghei		650 (81.09)	[18]
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol-Eau	K1	3.5		[29]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	1.6		[30]
	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	K1	3.6		[30]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	K1	1.9		[30]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	K1	4.5		[30]
	<i>in vivo</i>	Méthanol	P. berghei		200 (84)	[27]
<i>Terminalia macroptera</i> Guil. & Perr. (Combretaceae)	<i>in vitro</i>	Eau	W2	1		[33]
<i>Trichilia emetica</i> Vahl (Meliaceae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	K1	3.9		[33]
	<i>in vitro</i>	Méthanol	Dd2	2.5		[33]
<i>Vernonia amygdalina</i> Delile (Compositae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	D6	4.9		[23]
	<i>in vitro</i>	Chloroforme	MRC-Pf-43	4.34		[8]
<i>Vitex doniana</i> Sweet (Lamiaceae)	<i>in vitro</i>	Hexane	K1	3.60 ± 0.46		[2]
<i>Vitex madiensis</i> Oliv. (Lamiaceae)	<i>in vitro</i>	Dichlorométhane	FCB	2.36		[28]
<i>Ximenia americana</i> L. (Olacaceae)	<i>in vitro</i>	Ethanol	W2	0.05		[25]
	<i>in vitro</i>	Eau	F32	0.6		[33]
	<i>in vitro</i>	Eau	FeB1	1.05		[33]
<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A.Rich. (Annonaceae)	<i>in vitro</i>	Méthanol	W2	3.75±0.10		[6]
<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timler (Rutaceae)	<i>in vitro</i>	Alcaloïdes	W2	1,2		[12]

Tableau 4 : Type de test utilisé pour l'évaluation antiplasmodiale des 5 espèces les plus communément utilisées au Mali contre le paludisme / sumaya

Nom scientifique (Famille)	Pays	Indications	Partie utilisée	Référence usage	Test antiplasmodial
<i>Combretum micranthum</i> G. Don (Combretaceae)	Mali	Ictères	Feuilles	[39, 44]	<i>In vitro</i> [33]
	Mali	Ictères	Racines	[43]	
	Mali	Fièvre	Feuilles ou racines	[37, 39, 43]	
	Mali	Paludisme	Feuilles	[35-36, 39, 40, 42-43]	
	Mali	Paludisme	Non précisée	[10]	
	Burkina Faso	Paludisme	Ecorces de tronc	[47]	
	Guinée	Paludisme	Feuilles	[50]	
<i>Opilia amentacea</i> Roxb. (Opiliaceae)	Mali	Ictères	Feuilles ou acines	[39, 43]	<i>In vitro</i> [10, 30]
	Mali	Fièvre	Feuilles	[37]	
	Mali	Paludisme	Feuilles	[35-36, 39, 42]	
	Mali	Paludisme	Non précisée	[40-41]	
	Togo	Fièvre	Tiges feuillées	[53]	
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	Mali	Ictères	Feuilles	[39, 43]	<i>In vitro</i> [33]
	Mali	Ictères	Non précisée	[44]	
	Mali	Fièvre	Feuilles ou écorces	[37, 39]	
	Mali	Paludisme	Feuilles, écorces, racines	[35-36, 42-43]	
	Mali	Paludisme	Non précisée	[10, 44-45]	
	Burkina Faso	Paludisme	Ecorces	[47]	
	Guinée	Paludisme	Feuilles	[50]	
Ghana	Paludisme	Feuilles	[49]		

Tableau 4 : Type de test utilisé pour l'évaluation antiplasmodiale des 5 espèces les plus communément utilisées au Mali contre le paludisme / sumaya

Nom scientifique	Pays	Indications	Partie utilisée	Référence	Test antiplasmodial
<i>Guiera senegalensis</i> J. F. Gmel. (Combretaceae)	Mali	Fièvre	Feuilles ou rameaux	[38-39]	<i>In vitro</i> [33]
	Mali	Fièvre	Non précisée	[12]	
	Mali	Paludisme	Feuilles, racines	[35-36, 39, 42-43]	
	Mali	Paludisme	Non précisée	[10]	
	Burkina Faso	Paludisme	Feuille	[47]	
	Guinée	Paludisme	Feuilles.	[50]	
	Sénégal	Paludisme	Feuilles	[52]	
<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A.Bruce (Rubiaceae)	Mali	Ictères	Racines, écorces, fruits	[39, 43]	<i>In vitro</i> [33]
	Mali	Fièvre	Feuilles, écorces	[37, 39, 43]	In vivo [11]
	Mali	Paludisme	Feuilles, racines, écorces, fruits	[35-36, 39, 42-44]	
	Mali	Paludisme	Non précisée	[10]	
	Benin	Paludisme	Racines	[46]	
	Burkina Faso	Paludisme	Feuilles	[47]	
	Côte d'Ivoire	Paludisme	Ecorces de racine	[48]	
	Ghana	Paludisme	Racines	[49]	
	Guinée	Paludisme	Feuilles, racines, écorces	[50]	
	Nigéria	Paludisme	Racines	[51]	
	Sénégal	Paludisme	Ecorces de tronc	[52]	
	Togo	Paludisme	Racines	[53]	

*** Dans ce tableau sont aussi reportés les pays d'Afrique de l'ouest dans lesquels l'espèce considérée est utilisée traditionnellement contre le paludisme

Tableau 5 : Usages traditionnels des dix espèces communément utilisées au Mali dans la prise en charge du paludisme et des affections hépatiques (sumaya).

Nom scientifique (Famille)	Indications	Partie utilisée	Référence
<i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae)	Ictères	Feuilles, racines	[44]
	Paludisme	Feuilles	[35, 42]
	Paludisme	Non précisée	[10]
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A.Rich. (Bixaceae)	Ictères	Racines	[41, 44]
	Ictères	Non précisée	[54]
	Paludisme	Feuilles, racines	[35, 41-42]
	Paludisme	Non précisée	[10, 45]
<i>Combretum micranthum</i> G. Don (Combretaceae)	Ictères	Feuilles	[39, 44]
	Ictères	Racines	[44]
	Fièvre	Feuilles ou racines	[37, 39, 43]
	Paludisme	Feuilles	[35-36, 39-40, 42-43]
	Paludisme	Non précisée	[10]
<i>Gymnanthemum coloratum</i> (Willd.) H. Rob. & B. Kahn (Compositae)	Fièvre	Feuilles, écorces	[39, 43]
	Ictères	Feuilles	[43-44]
	Paludisme	Feuilles	[35, 42]
	Fièvre	Non précisée	[45]
	Paludisme	Non précisée	[45]

Tableau 5 : Usages traditionnels des dix espèces communément utilisées au Mali dans la prise en charge du paludisme et des affections hépatiques (sumaya).

Nom scientifique (Famille)	Indications	Partie utilisée	Référence
<i>Entada africana</i> Guill. & Perr. (Leguminosae)	Fièvre	Feuilles, racines, écorces	[39, 43]
	Ictères	Racines, écorces de tronc	[39, 43-44]
	Paludisme	Feuilles, racines, écorces	[35, 42-43]
<i>Erythrina senegalensis</i> DC. (Leguminosae)	Ictères	Feuilles, racines, écorces	[39, 43, 54]
	Paludisme	Feuilles, racines, écorces	[35, 41, 43, 54]
	Ictères	Non précisée	[44]
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	Ictères	Feuilles	[39, 43]
	Ictères	Organe non précisé	[44]
	Fièvre	Feuilles ou écorces	[37, 39]
	Paludisme	Feuilles; écorces; Racines	[35-36, 42-43]
	Paludisme	Non précisée	[10, 44-45]
<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A.Bruce (Rubiaceae)	Ictères	Racines écorces, fruits	[39, 44]
	Fièvre	Feuilles, écorces	[37, 39, 43]
	Paludisme	Feuilles, racines, écorces, fruits	[35-36, 39, 42, 44]
	Paludisme	Non précisée	[10]
<i>Securidaca longipedunculata</i> Fresen. (Polygalaceae)	Ictères	Racines	[39, 43]
	Fièvre	Feuilles	[44]
	Paludisme	Feuilles, racines	[35, 42-43]
<i>Trichilia emetica</i> Vahl (Meliaceae)	Ictères	Ecorces	[39]
	Paludisme	Feuilles, racines	[35, 37, 39, 41-42]
	Paludisme	Non précisée	[10]

Tableau 6 : Usages traditionnels des dix espèces sélectionnées pour le criblage antiplasmodial *in vitro*. Synthèse des travaux reportés dans la littérature concernant l'évaluation de l'activité antiplasmodiale de chaque espèce et isolement de molécules liées à cette activité

Noms scientifique (Famille)	Indication	Partie utilisée	Références usage	Molécules antiplasmodiales isolées	Activité antiplasmodiale <i>in vitro</i>
<i>Bauhinia reticulata</i> DC. (Leguminosae)	Fièvre	Gui feuillu	[43]	Non rapportée	Non rapportée
	Ictères	Fruits	[43]		
	Paludisme	Fruits, Loranthus sp	[35, 42]		
<i>Burkea africana</i> Hook. (Leguminosae)	Fièvres	Feuilles	[39]	Non rapportée	Non rapportée
	Paludisme	Ecorces de tronc	[42-43]		
<i>Cordyla pinnata</i> (A.Rich.) Milne-Redh. (Leguminosae)	Fièvre	Feuilles	[5]	Non rapportée	Non rapportée
	Ictères	Ecorces de tronc	[43]		
<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. ex A.DC. (Ebenaceae)	Fièvre	Feuilles, rameaux	[39]	Non rapportée	Actif [4]
	Ictères	Feuilles, racines	[39, 43]		
	Paludisme	Feuilles, écorces	[35, 43]		
<i>Feretia apodanthera</i> Delile (Rubiaceae)	Fièvre	Tige feuillée	[43]	Non rapportée	Actif [10]
	Paludisme	Feuilles, écorces	[35, 42]		
	Paludisme	Non précisée	[10]		
<i>Hymenocardia acida</i> Tul. (Phyllanthaceae)	Ictères	Feuilles	[39, 43]	Non rapportée	Pas actif [34]
	Fièvre	Feuilles, écorces	[39, 43]		
	Paludisme	Feuilles, racines	[39, 43]		

Tableau 6 : Usages traditionnels des dix espèces sélectionnées pour le criblage antiplasmodial *in vitro*. Synthèse des travaux reportés dans la littérature concernant l'évaluation de l'activité antiplasmodiale de chaque espèce et isolement de molécules liées à cette activité

Noms scientifique (Famille)	Indication	Partie utilisée	Références usage	Molécules antiplasmodiales isolées	Activité antiplasmodiale <i>in vitro</i>	
<i>Opilia amentacea</i> Roxb. (Opiliaceae)	Fièvre	Feuilles	[37]	Non rapportée	Actif [10, 30]	
	Ictères	Feuilles ou acines	[39, 43]			
	Paludisme	Feuilles	[35-36, 39, 42]			
	Paludisme	Non précisée	[40-41]			
<i>Psydrax acutiflora</i> (Hiern) Bridson (Rubiaceae)	Paludisme	Feuilles	[42]	Non rapportée	Modérément actif [10]	
	Paludisme	Non précisée	[10]			
<i>Terminalia macroptera</i> Guil. & Perr. (Combretaceae)	Fièvre	Feuilles, racines	[39, 43, 55]	Non rapportée	Actif [33]	
	Ictères	Feuilles, racines, écorces de tronc	[39, 43-11, 55]			Modérément actif [34]
	Paludisme	Racines	[55]			
<i>Vitex madiensis</i> Oliv. (Lamiaceae)	Paludisme	Feuilles	[35]	Non rapportée	Actif [28]	

NB : Les références concernant les tableaux sont mentionnées en fonction des chiffres attribués aux documents suivants : (1-Abiodum et al., 2010) ; (2- Abiodun et al., 2011) ; (3- Adzu et al., 2009) ; (4- Bapela et al., 2014) ; (5-Bero et al., 2009) ; (6-Boyom et al., 2011) ; (7-Builders et al., 2014) ; (8-Chenniappan et al., 2010) ; (9-Chianese et al., 2010) ; (10-Diallo et al., 2007) ; (11-Ettebong et al., 2014) ; (12-Gansané et al., 2010) ; (13-Kaou et al., 2008) ; (14-Koudouvo et al., 2011a) (15-Lamien-Meda et al., 2015) ; (16-Madara et al., 2010) ; (17-Melariri et al., 2011) ; (18-Mesfin et al., 2012) ; (19-Mesia et al., 2008) ; (20-Messi et al., 2016) ; (21-Muganza et al., 2012) ; (22-Muthaura et al., 2007) ; (23-Muthaura et al., 2015a) ; (24-Muthaura et al., 2015b) ; (25-Nassirou et al., 2015) ; (26-Nguta, et al., 2013) ; (27-Omonkhua et al., 2013) ; (28-Ondo et al., 2012) ; (29-Ouattara et al., 2014) ; (30-Sanon et al., 2013) ; (31-Serge et al., 2012) ; (32-Singh et al., 2015) ; (33-Soh et Benoit-Vical 2007) ; (34-Traoré et al., 2014) ; (35-Diarra et al., 2015) ; (36-Nergard et al., 2015) ; (37-Nordeng et al., 2013) ; (38-Somboro et al., 2011) ; (39-Arbonnier, 2009) ; (40-Grønhaug et al., 2008) ; (41-Togola et al., 2005) ; (42-Sangaré, 2003) ; (43-Malgras, 1992) ; (44-Adjanooun et al., 1981) ; (45-Traoré M cité par Prelude database) ; (46-Yetein et al., 2013) ; (47-Nadembega et al., 2011) ; (48-N'Guessan et al., 2009) ; (49-Asase et al., 2005) ; (50-Traoré et al., 2013) ; (51-Ajibesin et al., 2008) ; (52-Kerharo et Adam 1974) ; (53-Koudouvo et al., 2011b) ; (54-Togola et al., 2008) ; (55-Pham et al., 2011)



Bauhinia reticulata



Burkea africana



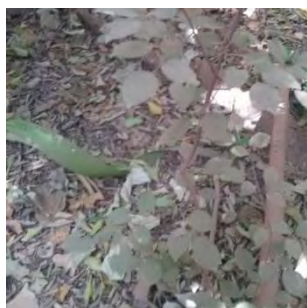
Cordyla pinnata



Diospyros mespiliformis



Feretia apodanthera



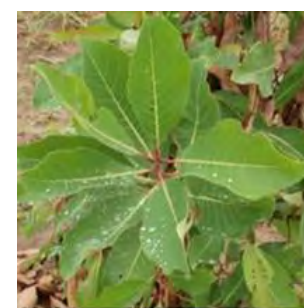
Hymenocardia acida



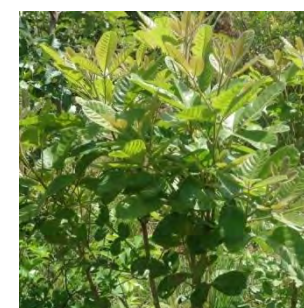
Opilia amentacea



Psydrax acutiflora
(West African Plants)



Terminalia macroptera



Vitex madiensis

Figure 4 : Les images des dix plantes sélectionnées pour l'étude

4. Conclusion

Les propriétés antiplasmodiales des 10 espèces communément utilisées au Mali contre le paludisme permettent de valider l'utilisation traditionnelle de ces espèces. Actuellement une demande d'autorisation de mise sur le marché pharmaceutique malien est en cours pour la mise au point d'un MTA appelé *SUMAFURA "TIEMOKO BENGALY "* à base des feuilles de *Argemone mexicana* utilisé contre le paludisme simple. Les autres espèces plus particulièrement *Sarcocephalus latifolius* peuvent être des potentiels candidats pour le développement de nouveau MTA contre le paludisme.

La potentialité antiparasitaire des dix espèces sélectionnées selon des critères ethnopharmacologie, mais ayant fait l'objet de peu de publications, sera évalué par le biais d'un criblage antiplasmodial *in vitro* afin de sélectionner les extraits les plus intéressants dans le chapitre 2 suivant.

Ce travail s'est traduit par la rédaction d'un article soumis le 2 mars 2015 à la revue scientifique *Natural Product Communications*, publié dans cette même revue en 2016 après révision, et intitulé :

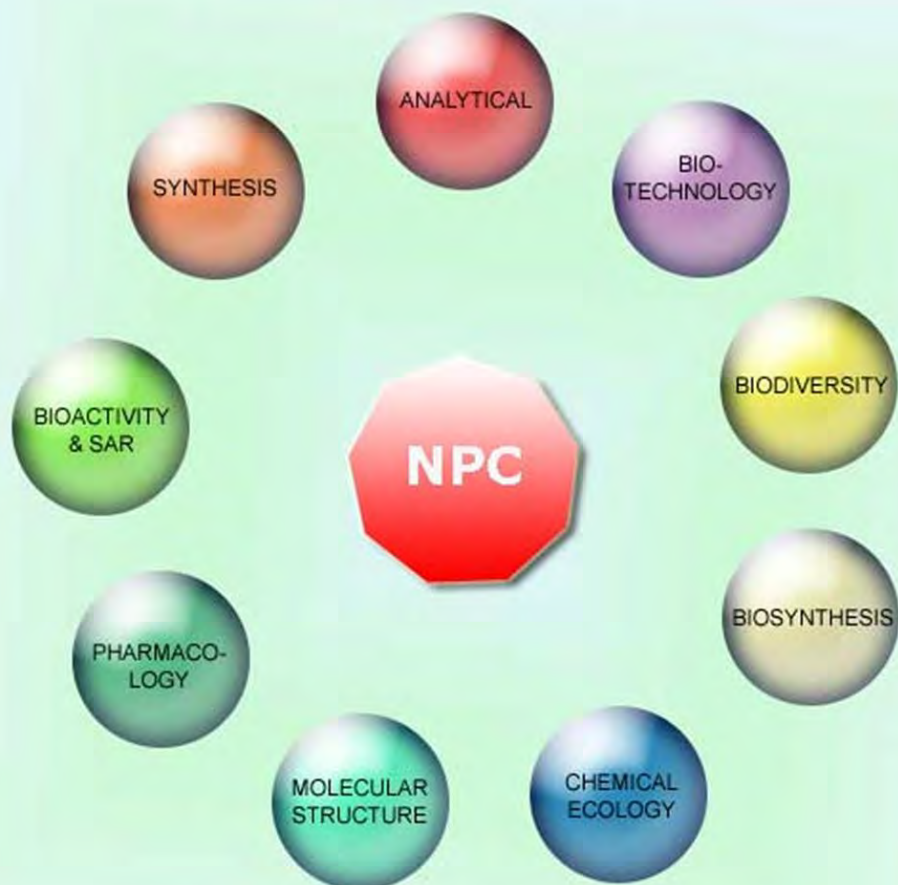
Article 1: Medicinal Plants Used in Mali for the Treatment of Malaria and Liver Diseases

Haidara M, Bourdy G, De Tommasi N, Braca A, Traore K, Giani S, Sanogo R.

L'article est présenté ci-dessous *in extenso* dans sa forme originale.

NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS

An International Journal for Communications and Reviews Covering all Aspects of Natural Products Research



Volume 11. Issue 3. Pages 273-430. 2016
ISSN 1934-578X (printed); ISSN 1555-9475 (online)
www.naturalproduct.us

NPC

Natural Product Communications

EDITOR-IN-CHIEF

DR. PAWAN K AGRAWAL

*Natural Product Inc.
7963, Anderson Park Lane,
Westerville, Ohio 43081, USA
agraval@naturalproduct.us*

EDITORS

PROFESSOR ALEJANDRO F. BARRERO

*Department of Organic Chemistry, University of Granada,
Campus de Fuente Nueva, s/n, 18071, Granada, Spain
afbarr@ugr.es*

PROFESSOR ALESSANDRA BRACA

*Dipartimento di Chimica Bioorganica e Biofarmacia,
Universita di Pisa,
via Bonanno 33, 56126 Pisa, Italy
braca@farm.unipi.it*

PROFESSOR DE-AN GUO

*National Engineering Laboratory for TCM Standardization Technology,
Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences,
Shanghai 201203, P. R. China
gda5958@163.com*

PROFESSOR VLADIMIR I. KALININ

*G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Pr. 100-letiya Vladivostoka 159, 690022,
Vladivostok, Russian Federation*

PROFESSOR YOSHIHIRO MIMAKI

*School of Pharmacy,
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences,
Horinouchi 1432-1, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan
mimaki@ps.toyaku.ac.jp*

PROFESSOR STEPHEN G. PYNE

*Department of Chemistry, University of Wollongong,
Wollongong, New South Wales, 2522, Australia
spyne@uow.edu.au*

PROFESSOR MANFRED G. REINECKE

*Department of Chemistry, Texas Christian University,
Forts Worth, TX 76129, USA
m.reinecke@tcu.edu*

PROFESSOR WILLIAM N. SETZER

*Department of Chemistry, The University of Alabama in Huntsville,
Huntsville, AL 35809, USA
wsetzer@chemistry.uah.edu*

PROFESSOR YASUHIRO TEZUKA

*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University,
Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan
y-tezuka@hokuriku-u.ac.jp*

PROFESSOR DAVID E. THURSTON

*Institute of Pharmaceutical Science
Faculty of Life Sciences & Medicine
King's College London, Britannia House
7 Trinity Street, London SE1 1DB, UK
david.thurston@kcl.ac.uk*

HONORARY EDITOR

PROFESSOR GERALD BLUNDEN

*The School of Pharmacy & Biomedical Sciences,
University of Portsmouth,
Portsmouth, PO1 2DT U.K.
axuf64@dsl.pipex.com*

ADVISORY BOARD

Prof. Viqar Uddin Ahmad

Karachi, Pakistan

Prof. Giovanni Appendino

Novara, Italy

Prof. Yoshinori Asakawa

Tokushima, Japan

Prof. Roberto G. S. Berlinck

São Carlos, Brazil

Prof. Anna R. Bilia

Florence, Italy

Prof. Maurizio Bruno

Palermo, Italy

Prof. Josep Coll

Barcelona, Spain

Prof. Geoffrey Cordell

Chicago, IL, USA

Prof. Fatih Demirci

Eskişehir, Turkey

Prof. Francesco Epifano

Chiati Scalo, Italy

Prof. Ana Cristina Figueiredo

Lisbon, Portugal

Prof. Cristina Gracia-Viguera

Murcia, Spain

Dr. Christopher Gray

Saint John, NB, Canada

Prof. Dominique Guillaume

Reims, France

Prof. Duvvuru Gunasekar

Tirupati, India

Prof. Hisahiro Hagiwara

Niigata, Japan

Prof. Judith Hohmann

Szeged, Hungary

Prof. Tsukasa Iwashina

Tsukuba, Japan

Prof. Leopold Jirovetz

Vienna, Austria

Prof. Phan Van Kiem

Hanoi, Vietnam

Prof. Niel A. Koorbanally

Durban, South Africa

Prof. Chiaki Kuroda

Tokyo, Japan

Prof. Hartmut Laatsch

Göttingen, Germany

Prof. Marie Lacaillle-Dubois

Dijon, France

Prof. Shoen-Sheng Lee

Taipei, Taiwan

Prof. Imre Mathe

Szeged, Hungary

Prof. M. Soledade C. Pedras

Saskatoon, Canada

Prof. Luc Pieters

Antwerp, Belgium

Prof. Peter Proksch

Düsseldorf, Germany

Prof. Phila Raharivelomanana

Tahiti, French Polynesia

Prof. Luca Rastrelli

Fisciano, Italy

Prof. Stefano Serra

Milano, Italy

Dr. Bikram Singh

Palampur, India

Prof. John L. Sorensen

Manitoba, Canada

Prof. Johannes van Staden

Scottsville, South Africa

Prof. Valentin Stonik

Vladivostok, Russia

Prof. Ping-Jyun Sung

Pingtung, Taiwan

Prof. Winston F. Tinto

Barbados, West Indies

Prof. Sylvia Urban

Melbourne, Australia

Prof. Karen Valant-Vetschera

Vienna, Austria

INFORMATION FOR AUTHORS

Full details of how to submit a manuscript for publication in Natural Product Communications are given in Information for Authors on our Web site <http://www.naturalproduct.us>.

Authors may reproduce/republish portions of their published contribution without seeking permission from NPC, provided that any such republication is accompanied by an acknowledgment (original citation)-Reproduced by permission of Natural Product Communications. Any unauthorized reproduction, transmission or storage may result in either civil or criminal liability.

The publication of each of the articles contained herein is protected by copyright. Except as allowed under national "fair use" laws, copying is not permitted by any means or for any purpose, such as for distribution to any third party (whether by sale, loan, gift, or otherwise); as agent (express or implied) of any third party; for purposes of advertising or promotion; or to create collective or derivative works. Such permission requests, or other inquiries, should be addressed to the Natural Product Inc. (NPI). A photocopy license is available from the NPI for institutional subscribers that need to make multiple copies of single articles for internal study or research purposes.

To Subscribe: Natural Product Communications is a journal published monthly. 2016 subscription price: US\$2,595 (Print, ISSN# 1934-578X); US\$2,595 (Web edition, ISSN# 1555-9475); US\$2,995 (Print + single site online); US\$595 (Personal online). Orders should be addressed to Subscription Department, Natural Product Communications, Natural Product Inc., 7963 Anderson Park Lane, Westerville, Ohio 43081, USA. Subscriptions are renewed on an annual basis. Claims for nonreceipt of issues will be honored if made within three months of publication of the issue. All issues are dispatched by airmail throughout the world, excluding the USA and Canada.

Medicinal Plants Used in Mali for the Treatment of Malaria and Liver Diseases

Mahamane Haidara^a, Geneviève Bourdy^b, Nunziatina De Tommasi^c, Alessandra Braca^d, Korotoumou Traoré^e, Sergio Giani^f and Rokia Sanogo^{g,h}

^aFaculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

^bLaboratoire de Pharmacochimie et Pharmacologie pour le Développement (PharmaDev) de Toulouse, France

^cDipartimento di Farmacia, Università di Salerno, Via Giovanni Paolo II, 84084 Fisciano (SA), Italy

^dDipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Via Bonanno 33, 56126 Pisa, Italy

^eAidemet Ong, BP 9279, Bamako, Mali

^fDépartement Médecine Traditionnelle, Bamako, Mali

rosanogo@yahoo.fr

Received: March 2nd, 2015; Accepted: July 1st, 2015

Today, ethno-pharmacology is a very important resource in order to discover new therapies for the current diseases. Moreover, another good justification for the ethno-pharmacological approach is to obtain new, effective, less expensive and simple therapies, limiting at the same time the cost of pharmaceutical research. Two major anti-malarial drugs widely used today, i.e. quinine and artemisinin, came respectively from Peruvian and Chinese ancestral treatments reported in the traditional medicines. In this context, there is an urgent need for the discovery of new drugs, due to the critical epidemiological situation of this disease and to the growth of resistances. In Mali, malaria and liver diseases remain one of the leading public health problems. Many medicinal plants are often used, in local traditional medicine, for the treatment at the same time of malaria and liver diseases, including hepatic syndromes, jaundice, hepatitis and other hepatic disorders. Moreover, in the local language Bamanan, the word "Sumaya" is used both for malaria and some liver diseases. In addition, we noted that some of the improved traditional phytomedicines produced by the Department of Traditional Medicine are prescribed by modern doctors both for malaria and liver diseases. In this review, pharmacological, toxicological and phytochemical data on *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae), *Cochlospermum tinctorium* Perr. ex A. Rich (Cochlospermaceae), *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae), *Entada africana* Guillet Perr. (Mimosaceae), *Erythrina senegalensis* A. DC (Fabaceae), *Mitragyna inermis* (Willd) Kuntze (Rubiaceae), *Nauclea latifolia* Smith syn. *Sarcocephalus latifolius* (Smith) Bruce (Rubiaceae), *Securidaca longepedunculata* Fresen (Polygalaceae), *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae), and *Vernonia colorata* (Willd) Drake (Asteraceae) are reported. Some of the collected data could be used to improve the actual herbal drugs and to propose new phytomedicines for the management of malaria and liver diseases.

Keywords: Mali, Malaria, Liver diseases, Medicinal plants, Phytomedicines.

Malaria is a serious parasitic disease of tropical regions caused by species of *Plasmodium* and transmitted by *Anopheles* mosquitoes. It is prevalent in many developing countries in Africa, Asia, and South America, with about 250 million malaria cases per year. According to the World Malaria Report, approximately one million people die from malaria each year [1]. The emergence and rapid spread of multidrug-resistant strains of *Plasmodium falciparum* represent a major problem for the disease treatment, which becomes more difficult and limits the choice of drugs to be used.

Today, ethno-pharmacology is a very important resource in order to discover new therapies for the current diseases. Moreover, another good justification for the ethno-pharmacological approach is to obtain new, effective, less expensive and simple therapies, limiting at the same time the cost of pharmaceutical research. In Mali, the sanitary situation is characterised by a predominance of many endemic and epidemic diseases, together with a lack of qualified health workers, medicines and equipment. Traditional medicine, being a significant element in the cultural patrimony, still remains the main recourse for a large majority of people for treating health problems. A high level of Malian government commitment supported the research and development of traditional medicines, with the creation in 1968 of the first institute for medicinal plants study. Today, this institute is the Department of Traditional Medicine (DMT) within the National Institute for Research on

Public Health (INRSP) of the Ministry of Health. The main activities of DMT are research and development on phytomedicines from local plants, named "Improved Traditional Medicines" (MTAs in French). The aim for promoting the local production of phytomedicines is to provide cost-effective medicines to populations, particularly those with limited access to quality healthcare. In malaria therapy, 11 drugs out of the anti-malarials included in the WHO therapeutic schemes for malaria treatment are either natural products or their analogues, or were design-based on the pharmacophores from natural products [2]. The great significance of plant-derived drugs for the treatment of the malaria is highlighted by the two major anti-malarial drugs widely used today, i.e. quinine and artemisinin, which came respectively from Peruvian and Chinese ancestral treatments reported in traditional medicines. In this context, there is an urgent need for the discovery of new drugs, due to the critical epidemiological situation of this disease and to the growth of resistances to new drugs.

In Mali, malaria and liver diseases remain one of the leading public health problems. In the local language, Bamanan, the word "Sumaya" is used both for malaria and for some liver diseases. This is why many medicinal plants are often used at the same time, in local traditional medicine, for the treatment of malaria and liver diseases, including hepatic syndromes, jaundice, hepatitis and other hepatic disorders. Preclinical and clinical studies permitted to

confirm the safety, efficacy and quality of many of these medicinal plants and their effectiveness in the liver protection and in the treatment of malaria.

The aim of this review is to analyse experimental and literature data on ten medicinal plants frequently used in Malian traditional medicine for the management of malaria and liver diseases, selected through ethno-pharmacological and experimental studies: *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae), *Cochlospermum tinctorium* Perr. ex A. Rich (Cochlospermaceae), *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae), *Entada africana* Guillet Perr. (Mimosaceae), *Erythrina senegalensis* A. DC (Papilionaceae), *Mitragyna inermis* (Willd) Kuntze (Rubiaceae), *Nauclea latifolia* Smith syn. *Sarcocephalus latifolius* (Smith) Bruce (Rubiaceae), *Securidaca longepedunculata* Fresen (Polygalaceae), *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae), and *Vernonia colorata* (Willd) Drake (Asteraceae).

***Argemone mexicana* L. (Papaveraceae)**

Argemone mexicana (Papaveraceae), known as Mexican poppy or Mexican prickly poppy, is a species of poppy found in Mexico and now in the United States, India, Ethiopia and in other countries in Africa. The plant is pantropic in distribution and is a weed in waste places. A leaf decoction of *A. mexicana* is used by traditional healers in Mali to treat malaria and malarial fevers. So, it has been investigated in terms of modern pharmacology for anti-malarial activity [3-5]. After a long process, *A. mexicana* decoction was selected [6, 7], it has undergone clinical trials [3, 6, 8, 9], and will soon be approved as a new MTA for malaria. The new phytomedicine will be called SUMAFURA® Tiemoko BENGALY, in honour of the traditional healer who mainly used *A. mexicana* to treat malaria. It will be prepared from the plant aerial parts, without seeds. Other research is ongoing to prepare syrup with the decoction and hydro-ethanolic extract of the plant [10, 11]. This syrup can contribute to a better management of uncomplicated malaria in children.

A. mexicana is also traditionally used in the treatment of dropsy and jaundice [4], and has been investigated in terms of modern pharmacology for hepatoprotective activity [12]. Moreover, *A. mexicana* is extensively used as a traditional medicine for the treatment of ulcers, cataracts, as an antimicrobial, for wound healing, as a larvicidal agent, chemosterilant, and for its nematocidal, allelopathic, antibacterial, antifungal, molluscicidal, anticancer, anti-HIV and neuro-pharmacological activities [4, 13].

Chemical investigations of this plant revealed the presence of alkaloids [14, 15] and phenolics [16]. The aerial parts contain isoquinoline and benzyloisoquinoline alkaloids; other alkaloids like berberine, tetrahydroberberine, protopine, and benzo-phenanthridines have also been isolated from the plant [17], while sanguinarine is an alkaloid present in the seeds with potential liver toxicity [18].

***Cochlospermum tinctorium* Perr.ex A. Rich (Cochlospermaceae)**

Cochlospermum tinctorium is one of the plants used in rural areas of Mali for the management of malaria, abdominal pains and dermatitis [19]. Information collected from 106 traditional health practitioners (THPs), by an ethno-pharmacological survey demonstrated that the roots of the plant were the most frequently used for medicinal purposes in Mali. The main indications were to treat jaundice, gastro intestinal diseases or ailments, malaria, schistosomiasis and dysuria [20]. This species is also used to treat infectious diseases in Guinea Conakry [21] and in the West African sub-region for the management of various affections, including pain

and inflammation [22]. Various studies have been reported on different activities of extracts of *C.tinctorium*, but the main researches were focused on hepatoprotective and antiplasmodial properties.

Concerning malaria, fresh, frozen, and lyophilized extracts of *C. tinctorium* exhibited antiplasmodial activity against two strains of *P. falciparum* (chloroquine resistant and chloroquine sensitive) with IC₅₀ values of 1-2 µg/mL [22]. Crude extracts of the leaves tested *in vitro* showed the most antiplasmodial activity. The aqueous extract of rhizomes also demonstrated antiplasmodial activity *in vitro* and *in vivo* [23]. Recently, the essential oil of *C. tinctorium* was demonstrated to be active as an insecticide in the control of the malarial vectors in West Africa [24]. Fractionation of the ethanol extract of the roots afforded five compounds: 3-*O-E-p*-coumaroylaliphitic acid, cochloxanthin, dihydrocochloxanthin, aliphitic acid, and 1-hydroxytetradecan-3-one, of which the first demonstrated an antiplasmodial activity with an IC₅₀ value of 2.3 µM [25].

The methanol and ethanol extracts exhibited antihepatotoxic effects against cytotoxicity induced by CCl₄ and galactosamine in primary cultured rat hepatocytes [26]. Pretreatment of rats with different extracts of the plant (36 mg/kg), orally, resulted *in vitro* and *in vivo* in protection against hepatotoxicity induced by CCl₄, galactosamine and aflatoxin B1 [27]. Aqueous, hydro-ethanolic and ethanolic extracts showed significant dose-dependent hepatoprotective actions. The ethanolic and hydro-ethanolic extracts exhibited remarkable effects against the induction of lipid peroxidation and hepatocyte lysis [28]. The extracts and preparations with potent antihepatotoxic activity from *C. tinctorium* were selected for the treatment of various liver disorders [29]. The aqueous extracts (100-300 mg/kg) significantly and dose dependently demonstrated a hepatoprotective effect against CCl₄-induced liver damage in rats. This extract (5000 mg/kg) appeared to be safe when administered orally [30].

C. tinctorium demonstrated many other activities. Antimicrobial activities of some carotenoids from *C. tinctorium* were reported against *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, and *Escherichia coli* [31]. Arjunolic acid, an oleanene-type triterpene isolated from the rhizome of *C. tinctorium*, and its acetate and methyl ester derivatives, were tested using the short-term *in vitro* assay on Epstein-Barr virus early antigen activation in Raji cells induced by 12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-acetate. Their inhibitory effects on skin tumor promoters were greater than those of previously studied natural products [32, 33]. Structures of two pectic arabinogalactans and their complement fixation and induction of B cell proliferation *in vitro* were also reported [34]. The cytotoxicity of the crude extract assessed on the K562 cell line, showed IC₅₀ values of 33-2000 µg/mL [35, 36]. Other reported activities are antifungal, antibacterial, radical scavenger, immunomodulating, anti-ulcer, analgesic and anti-inflammatory. The aqueous and methanol extracts of the rhizomes showed antibacterial and antifungal activities against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa* [37]. The methanol extract of the roots demonstrated a potent antibacterial activity against *Shigella dysenteriae* [38]. Polysaccharides and polyphenols of the aqueous extract showed significant anti-ulcer activities against HCl/ethanol-induced gastric lesions in mice. The extract showed also DPPH-radical scavenging and immunomodulating activities *in vitro* [20]. The anti-ulcer activities of the crude water extracts and isolated polysaccharide fractions from the rhizome of *C. tinctorium* can be explained by the anti-adhesive properties of *Helicobacter pylori* [39]. Finally, the aqueous methanol extract of the leaves of *C. tinctorium* significantly and dose

independently inhibited the acetic acid induced writhing in mice. The highest protection was produced by the aqueous methanol extract (80 mg/kg); the same extract significantly and dose-dependently inhibited carrageenan-induced hind paw edema in the rat [40].

Many phytochemical studies on the plant crude extracts are reported in the literature. Firstly, in 1987, polyphenolic compounds (gallic and ellagic acids) and carotenoids were detected in the antihepatotoxic active fractions [26]. Major carotenoids, identified as 6-hydroxy-8'-apo-ε-caroten-3-one-8'-oic acid (cochloxanthin) and 4,5-dihydro-6-hydroxy-8'-apo-ε-caroten-3-one-8'-oic acid (dihydrocochloxanthin), were later isolated from *C. tinctorium* by countercurrent chromatography and HPLC [41, 42]. Triacylbenzenes were isolated from a petrol extract of the rhizome of *C. tinctorium* [43], while phenolic and polyphenolic compounds (gallic and ellagic acids, ellagitannins, flavonoids), carotenoids, triterpenes, and flavonoids were identified in aqueous, hydro-ethanolic and ethanolic extracts of the plant roots [28, 23]. The aqueous extract of the plant roots contained polysaccharides (59.3%) and polyphenols (9.3%): the polysaccharides were purified and characterized as highly complex pectic arabinogalactans type II, while gallotannins and ferulic acids were identified as parts of the polyphenolic compounds [20]. Alkaloids, tannins, saponins, flavonoids, triterpenes, sterols, cardiac and cyanogenic glycosides, and volatile oils were identified from different plant extracts [30, 37]. Recently, pectin- and inulin-type polysaccharides, phenolic substances and proteins were isolated from the crude water extracts of *C. tinctorium* wild and cultivated roots [44].

***Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae)**

Combretum micranthum, locally called "N'golobe", is a small tree, common on the poor soil of the Sahel savannah. Like other *Combretum* species, it has characteristic four-winged fruit. Twigs with leaves are commonly sold in markets with the name of "Kinkeliba" and yield a drug having the same name, which has been listed in French, Spanish, and British Extra Pharmacopoeia under supplementary drugs with indication for black-water fever and bilious gastrointestinal conditions [45]. It was added to the French Pharmacopoeia in 1937 and to the African Pharmacopoeia in 1985 [45]. The plant is used in West Africa for the treatment of different diseases [46-49]. *C. micranthum* is also one of the most used plants in traditional medicine of Burkina Faso for the treatment of kidney symptoms [50], and is one of the common plants used in popular traditional herbal medicines from the Joolas [51].

Extracts obtained from *C. micranthum* and others plants, commonly used in Cote d'Ivoire by native healers for the treatment of malaria, tested on two strains of *Plasmodium falciparum*, FcB-Colombia (chloroquine-resistant) and F32-Tanzania (chloroquine-sensitive), had an apparent inhibitory effect on *P. falciparum* growth *in vitro*, while the other seemed to be less efficient [52]. In Mali, HEPATISANE[®] is an MTA produced with powder of *C. micranthum* leaves. The decoction is taken orally, and the operation is repeated twice daily for seven days. HEPATISANE[®] is used in the symptomatic treatment of hepatic insufficiency, in colds, hepatitis, dyspepsia and constipation. It is also used as diuretic remedy; it is not toxic and can be safely consumed when used appropriately. Patients with non-obstructive jaundice have been treated with HEPATISANE[®] and their bilirubin and transaminases returned to normal within 2-3 weeks of starting the treatment [53]. About 50 asymptomatic patients with chronic viral hepatitis B have been treated with HEPATISANE[®] in a clinical trial, but there was no clearance of the hepatitis B surface antigen. However, the herbal treatment was well-tolerated, there were no adverse effects, and the

compliance was good. Further clinical trials are needed to determine whether this treatment helps patients with symptomatic hepatitis, or whether it helps to prevent long-term consequences of chronic viral hepatitis.

The root extract of *C. micranthum* presented antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative organisms [54]. The methanolic extract of the leaves, prepared 7 days before the assay, demonstrated *in vitro* antiviral activity against HSV-1 and HSV-2. The freshly prepared extract contained inactive precursors which undergo spontaneous transformations into active compounds. The precursors have been identified as condensed catechinic tannins, which, under alkaline conditions, suffer rapid cleavage, intramolecular rearrangement to catechinic acid and autooxidation. EC₅₀s of catechinic acid autooxidation products against HSV-1 and HSV-2 replication were 2 µg/mL and 4 µg/mL, respectively, when cell cultures were treated with the compound during virus infection [54]. Therefore, *C. micranthum* extracts are not only interesting sources for antimicrobial molecules, but also potential sources of phenolic antioxidants [55]. Methanol extract of *C. micranthum* leaves was studied for anti-inflammatory activity in rats and mice using the carrageenan-induced rat paw edema and the acetic acid-induced vascular permeability in mice. The extract (50, 100 mg/kg) significantly (*P*<0.05) inhibited the edema production induced by carrageenan in rats. Increased vascular permeability caused by acetic acid injection was also inhibited by the extract, within the same dose range. *C. micranthum* extract (100 mg/kg) inhibited the granuloma formation in rats to a similar degree as indomethacin (5 mg/kg). These results provide evidence for the anti-inflammatory property of *C. micranthum* leaves [56]. An ethanol extract of *C. micranthum* leaves exhibited an anti-inflammatory activity. The extract was fractionated based upon polarity and subsequently assayed for antioxidant capacity. The most active fraction, ethylacetate, was then tested for anti-inflammatory activity and exhibited an inhibition of NO by 93.5% at only 60 µg/mL and 100% at higher concentration [57]. The aqueous leaf extract of *C. micranthum*, at the dose of 100 mg/kg, produces a significant hypoglycemic and antidiabetic activity comparable with that of the standard drug (0.6 mg/kg glibenclamide) [58]. The ethanol and water extracts of leaves of *C. micranthum* demonstrated antioxidant properties, including scavenging of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical with IC values of 8.02±0.34 for the ethanol extract and 9.1±0.28 for the water extract; for the 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical, the IC₅₀ values were 7.4±0.14 for the ethanol extract and 11.8±0.01 for the aqueous extract, and with the hydroxyl radical the ethanol extract had an IC₅₀ of 58.1%, and the aqueous extract 61.1%. At 20 mg/mL concentration, the water and ethanol extracts provided, respectively, 36.8%, and 75.1% inhibition of lipid peroxidation of linoleic acid emulsion. The IC₅₀ values of the ethanol extract in ABTS and DPPH tests were significantly lower than those of the water extract [59]. The aqueous extract of the fresh leaves of *C. micranthum* demonstrated antibacterial effects on both *S. aureus* and *E. coli* cultures [60]. In North-Western Nigeria, the leaves of the plant are used for treating diabetes [57]. A recent study, aimed to investigate how TPs in Mali treat common diseases and ailments during pregnancy, revealed that *C. micranthum* is one of the common plants most used [61].

Studies on chemical constituents reported the presence of salts (potassium nitrate), flavonoids (vitexin), organic acids, tannins, coumarins, sterols, terpenoids, carbohydrates (inositol, mannitol, sorbitol), and alkaloids (choline, stachydrine) [45, 51, 62-66]. Gallic acid, rutin trihydrate, (+)-catechin and benzoic acid are the main polyphenols identified in the 90% ethanol extract of the plant leaves

[67]. Some novel piperidine flavan alkaloids isolated from the aqueous extract of the plant were patented as anti-diabetic agents for the treatment of metabolic disorders [68].

***Entada africana* Guillet Perr. (Mimosaceae)**

Entada africana, called "Samanère" in Mali, is a well known Leguminous tree used in traditional medicine throughout West-Africa in the treatment of many diseases such as fever, respiratory tract complaints, diabetes, hypertension, and diarrhea [69]; in particular, the plant is used in Mali for the treatment of malaria [70]; in Burkina Faso against diabetes, hypertension and diarrhea; in Cameroon, for wound dressing, liver related diseases, rheumatism, cataract, fevers and dysentery. Many studies reported the wound healing, hemostatic, anti-rheumatism, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of extracts of this species [71]. The root bark is the part of the plant most used in traditional medicine; for this reason, the availability of the plant in Burkina Faso Plateau Central Region is endangered. Biological studies on *E. africana* extracts concerned antihepatotoxic, antimicrobial, antiplasmodial, antioxidant [72], fungistatic, fungicidal [73] and antiulcerogenic activities [74].

In a recent study, the antiplasmodial activity of the ethanolic leaf extract against chloroquine-sensitive (HB3) and chloroquine-resistant (FcM29) *P. falciparum* was investigated, as well as its peripheral antinociceptive and anti-inflammatory properties. At a concentration of 100 µg/mL, the extract was non-cytotoxic and demonstrated a moderate antiplasmodial activity against HB3 and FcM29 (IC₅₀ 26.36 and 28.86 µg/mL, respectively). It also exhibited concentration-dependent inhibition of synthetic heme (IC₅₀ 16 mg/mL). The extract at 200 mg/kg showed significant ($P < 0.05$) inhibition of paw inflammation, and significantly ($P < 0.01$, 0.05) reduced the number of abdominal writhes induced by acetic acid (58.62–65.51%), which was higher than that of diclofenac (50%, $P < 0.05$). These findings suggested that the antinociceptive effects and parasiticidal activity of the extract contribute to its antimalarial properties and it can be further explored as an effective therapy against malaria infection [75].

Extracts of *E. africana* protected the liver against CCl₄ intoxication by decreasing the level of transaminases and alkaline phosphatase [76]. The aqueous, hydroethanolic and ethanolic extracts of root and stem bark inhibited *in vitro* proliferation of hepatocarcinoma Hep3B cells with IC₅₀ values between 22.8 and 25.3 µg/mL. The extracts of stem bark are more active than those from the root. The aqueous ethanol extract of the root increased activity of caspase 7 and the number of apoptotic bodies. The extract induced disruption of α -tubulin diffusion in every sense of the α -tubulin during interphase. The ethanolic extract of the stem and root bark induced membrane defects, which appear jagged [77]. The extracts of *E. africana* stem bark inhibited, dose-dependently, the replication of hepatitis C virus (HCV) after 24 and 72 h of incubation. The dichloromethane fraction had the highest anti-HCV activity with an IC₅₀ of 0.453 ± 0.00117 mg/mL, but did not reduce cell viability to antiviral concentration [78]. The aqueous extracts of stem bark of *E. africana* at 100 and 500 µg/mL significantly presented a protective activity against hepatotoxicity induced *in vitro* by acetaminophen [79].

Extracts (ethyl acetate, methanol, and water) of the leaves and bark showed antiradical activity by inhibiting the DPPH radical in a colorimetric method with an EC₅₀ between 6.9 to 20 µg/mL [80]. A similar activity was demonstrated by Karou *et al.* for the methanolic extract with an IC₅₀ of 0.47 ± 0.01 µg/mL [81]. Recently, Owona Brice *et al.* investigated the capacity of *E. africana* stem bark to protect microglia from inflammatory insults by exploring the effect

of the CH₂Cl₂/MeOH 5% fraction on pro-inflammatory cytokine mRNA expression and found that this extract inhibited LPS-induced NO production in dose dependent manner, while the expression of TNF α , IL-1 β , IL-6 and iNOS was strongly suppressed in microglia. For this reason, *E. africana* may contain promising compounds useful for the treatment of diseases caused by over-activation of microglia, such as Alzheimer's and other neurological diseases [81]. The same authors found also that the CH₂Cl₂/MeOH 5% extract suppressed lipopolysaccharide-induced inflammation in Raw 264.7 macrophages [82]. Finally, the extracts (*n*-hexane, chloroform, chloroform/methanol, and methanol) of *E. africana* roots demonstrated anti-angiogenic effects on zebrafish embryos [83].

Chemical constituents of *E. africana* are alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, phlobotannins and anthraquinones [84, 85]. New saponins esters were isolated from the plant roots and were found to inhibit the proliferation of tumor cell lines J774.A1 (murine macrophage), HEK-293 (human kidney) and WEHI-164 (murine fibrosarcoma) [86]. The roots contained also arabinogalactan-protein type II polysaccharides [71]. Leaves of *E. africana* are rich in calcium, zinc and iron [87].

***Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae)**

Erythrina senegalensis is frequently used in West Africa in the treatment of various diseases. In Benin and Togo, leaves and stem bark are used in the treatment of liver diseases and bronchus-pulmonary disorders. In Côte d'Ivoire, the root and stem bark are used in the treatment of fever, malaria, liver diseases and urogenital infections. In Nigeria and Senegal, the bark is used against fever and malaria. The root decoction is used in abdominal pain [88]. In Mali, the results of a survey on ethnopharmacological knowledge on the uses of *E. senegalensis* in traditional medicine in three different areas (Dioila, Kolokani and Koutiala) demonstrated that the plant is frequently used by the traditional healers in the treatment of various diseases, mainly amenorrhea, malaria, jaundice, infections, abortion, wound, and body pain [88].

Various studies were focused on the antiplasmodial and hepatoprotective activities of stem bark extracts of *E. senegalensis*. The ethanolic extract showed antiplasmodial activity *in vitro* on a strain of *P. falciparum* K1 with an IC₅₀ of 1.82 µg/mL. The aqueous extract at doses of 50-100 mg/kg orally reduced parasitaemia in mice infected with *P. berghei*, with inhibition percentages from 16.5 to 23.2% [89, 90]. The hydroethanolic extract of *E. senegalensis* exhibited antihepatotoxic effects against cytotoxicity induced by carbon tetrachloride in primary cultured rat hepatocytes, since the pretreatment of rats with different extracts of the plant (25 mg/kg), orally, resulted in an *in vivo* broad protection [91]. The hydroethanolic and ethanolic extracts of roots and stem bark of *E. senegalensis* inhibited *in vitro* proliferation of hepatocarcinoma Hep3B cells with IC₅₀ between 20.3 and 33.9 µg/mL for the roots extracts and 32.9 and 33.5 µg/mL for extracts of stem bark. The hydroethanolic extracts increased the activity of caspase 7 and the number of apoptotic bodies. The extract of stem bark, at two time its IC₅₀, induced an extension of cytoplasm and a destruction of α -tubulin, while the extract of roots induced a degradation of α -tubulin membrane to the nucleus, a deformation of the cells, and an abnormal co-localization of the Hep3B at the centrosomes of α/β -tubulin and γ -tubulin, with an increase of 5.6% compared with control cells treated only with DMSO [77].

Other reported activities of *E. senegalensis* are antibacterial and antioxidant. The ethanolic extract of the leaves and root bark

showed activity against *S. aureus* and *Proteus* spp. The extracts (*n*-hexane, ethyl acetate and ethanol) of leaves, stem and root bark showed antioxidant activity. The extracts of the stem and root bark showed improved activity with inhibition percentages of 82.8-91.5% and 78.9-94.6% at the concentrations of 0.05 mg/kg and 0.5 mg/kg, respectively.

The plant extracts resulted no toxic since it was found that the hydroethanolic extract of stem bark at a dose of 16 g/kg by gavage did not cause any change in behavior and mortality in mice; also the decoction of the plant, evaluated after acute and sub-chronic administration in rodents, resulted in no induced mortality or significant behavioral changes [92].

Phytochemical analysis of different parts of the plant revealed the presence of many active molecules, such as flavonoids, tannins, alkaloids, steroids, and cardiac glycosides [93]. The stem bark of the plant is the most studied from a chemical point of view: in 1995, two new prenylated isoflavonoids, erysenegalensein J and K, were isolated, in addition to five known pentacyclic triterpenes, β -amyryn, maniladiol, erythrodiol, oleanolic acid and cornulaciac acid [94]. Later, two prenylated isoflavonoids named erysenegalensein N and O, together with six known isoflavonoids, erysenegalensein D, 8-prenylleutone, auriculatin, derrone, alpinumisoflavone and 6,8-diprenylgenistein were fully characterized [95]. The bioguided fractionation of the hydroethanolic extract permitted the isolation of two other diprenylated isoflavonoids, 2,3-dihydro-2'-hydroxyosajin, and osajin, together with 6,8-diprenylgenistein. All these compounds exhibited antihepatotoxic effects against cytotoxicity induced by CCl₄ in primary cultured rat hepatocytes with hepatoprotective percentages of 71.8 \pm 1.45, 67.54 \pm 3.56 and 69.41 \pm 2.56, respectively [93]. Finally, in 2009, one new pterocarpan, named erybraedin F, along with 7 known prenylated flavonoids were isolated from the plant collected in Mali [96].

***Mitragyna inermis* (Willd) Kuntze (Rubiaceae)**

Mitragyna inermis is an exclusively African plant, occurring in West African countries from Cameroon to Sudan [97, 98]. It is found in wetlands and semi-arid tropics, in clay bottoms and temporarily flooded land, near ponds and streams, in rainforest as well as in savannah. The plant was selected by ethnobotanical survey as a species commonly used by traditional healers for the treatment of malaria, hepatic illness, stomach and intestinal disorders, hypertension, and HIV/AIDS [97, 99-101].

The alkaloids of leaves and roots of *M. inermis* have a strong antiplasmodial activity on *P. falciparum* standard and isolated from infected patients (IC₅₀ <3 μ g/mL). At concentrations inhibiting 100% of parasite growth, the alkaloids are not toxic to human red blood cells [102]. The combination of extracts of *M. inermis* and *Guiera senegalensis* demonstrated a strong, synergistic inhibitory effect on *in vitro* plasmodial development and is devoid of cytotoxicity towards human cells [103]. This result justified the traditional use of this combination to treat malaria [104]. Antimalarial properties of the extract of *M. inermis* have been demonstrated by its ability to inhibit *P. falciparum* growth [105]. Decoctions of *M. inermis* and *M. ciliata*, prepared according to the recommendation of traditional healers, were tested on three strains of *P. falciparum*, FcB1-Colombia and FcM29-Cameroon (chloroquine-resistant strains) and a Nigerian chloroquine-sensitive strain. The extracts of the plants revealed either weak or very

low activities with IC₅₀ values ranged from 2.34 to more than 500 mg/mL [105, 106]. Acute and chronic evaluation of the toxicity of the hydroethanolic leaf extract, administered orally at up to 3 g/kg/day, did not demonstrate toxic effects and can be used in traditional treatment of malaria [107]; the aqueous extracts traditionally used did not show high antimalarial activity [108], while alkaloids from the chloroform extract and ursolic acid from the hydromethanol extract of leaves, roots and stem barks of *M. inermis* induced a significant decrease in parasite proliferation [109].

Indole alkaloids such as rhynchophylline, rotundifoline, speciophylline and uncarine, triterpenoid saponins (inermiside I and inermiside II) and quinovic acid glycosides are the typical constituents of *M. inermis* [110-114]. Quinovic acid glycosides showed antitumor activity on Bel-7402 hepatic carcinoma. Alkaloids from aqueous extracts of *M. inermis* have been reported to increase biliary flow, and to decrease hepatic enzymes and total cholesterol in the rat [115].

According to bibliographic data, extracts of *M. inermis* exhibited antimalarial, antimicrobial, antihypertensive, antidiabetic, antioxidant, and anti-inflammatory activities. The decoction of fresh or dried leaves is used for wound healing [116]. The macerated leaves and bark are administered twice daily to treat sinusitis, stomach pain and dysentery [117]. The decoction of stem bark is used against amoebic worms [118]. The plant is also used in the treatment of leprosy [119] and diarrheal diseases such as dysentery and cholera [47]. Different preparations of the plant can be used in external and internal applications against arthritis, myalgia and intercostal pain [47]; in combination with other medicinal plants, it is also used in the treatment of rheumatic pains [120]. The decoction of stem and root barks is used in disorders of pregnancy and childbirth [47]. The leaves of the plant are used in retained placenta and as a sedative for uterine contractions. Alone or in combination with *Dialium guineense*, it is used for regulating the menstrual cycle in women [119, 121]. The macerated fruits and seeds are used in animal breeding to activate the estrous cycle [122]. The crude extract and the isolated compounds were tested *in vitro* for their preliminary cytotoxicity against *Artemia salina* [123]. Alkaloid rich extract derived from *M. inermis* induced a strong inhibition of protein synthesis in mammalian cells, but did not exhibit mutagenic or genotoxic activity [108]. Aqueous extracts of *M. inermis* produced a concentration-dependent *in vivo* increase in cardiac contractile response and coronary flow, but did not modify heart rate in the rat. This seemed to indicate that the extract possesses a cardiac inotropic effect and induces an increase in coronary flow without inducing tachycardia in isolated heart [124]. Sy *et al.* have reported the myorelaxant and antispasmodic activities of *M. inermis* extracts [125]. Some sequential *n*-hexane, acetone and 50% aqueous methanol extracts of the leaves, stem bark and roots of *M. inermis* and another three species were active against *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae* and *Cladosporium herbarum* [126]. Alkaloids from *M. inermis* are reported for their clinically useful anticonvulsant activity [127].

Bioactive compounds of the plant are mainly indole alkaloids [100]. In 2012, a new indole alkaloid, named naucleactonin D, together with fourteen known compounds, identified as naucleifline, naucleficine, nauclefidine, angustoline, angustine, barbinervic acid, quinovic acid, 3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, betulinic acid, a mixture of ursolic and oleanolic acid, a mixture of stigmaterol and β -sitosterol, β -sitosterol, 3-*O*- β -D-glucopyranoside, and strictosamide were isolated from the roots and fruits of *M. inermis* [123].

***Nauclea latifolia* Smith syn. *Sarcocephalus latifolius* Smith (Rubiaceae)**

Nauclea latifolia (syn. *Sarcocephalus latifolius*) is a plant used in West Africa for the treatment of several diseases. In Mali, Ivory Coast, and East Africa, *N. latifolia* aqueous extracts are used for the treatment of fever and malaria [11, 128, 129]. In Burkina Faso, the plant is used against jaundice, malaria, infant gastroenteritis, and dysentery [130, 131]. Different extracts are used in the management of gastrointestinal tract disorders [132], sleeping sickness [133], prolonged menstrual flow [134], hypertension [129], and as a chewing stick [135]. The plant is also used as a tonic and fever medicine, and for toothache, dental caries, and septic mouth [136].

The aqueous extract of *N. latifolia* showed an antiplasmodial activity against the chloroquine-resistant FcB1 strain of *P. falciparum* with an IC₅₀ of 0.6 µg/mL. A similar IC₅₀ was obtained from a clinical strain from Nigeria. The IC₅₀ obtained by the ethanol extract of the plant was 8.9 µg/mL [97]. The root extract showed antiplasmodial activity *in vivo* in rats infected with *P. berghei* *berghiei*. The prophylactic and curative ED₅₀ were 189.4 and 174.5 mg/kg, respectively.

Elevated transaminases and alkaline phosphatase induced intoxication in rats by CCl₄ were significantly attenuated by the ethanolic root bark extract. The ethanolic extract at a dose of 1 mg/mL remarkably reduced the leakage of lactate dehydrogenase (LDH) in isolated rat hepatocytes and had a significant effect on the peroxidation of lipids. Other fractions reduced leakage of LDH, but had no significant effect on lipid peroxidation [132]. The aqueous root extract (250 mg/kg) significantly reduced the activity of catalase ($P < 0.05$), but did not significantly reverse the activity of superoxide dismutase in the liver of alloxan-induced diabetic rats [137]. Extracts of the leaves and fruits showed antioxidant activity [138]. The ethanolic extract showed antimicrobial activity on Gram-positive bacteria at a concentration of 0.5 mg/mL and Gram-negative bacteria at a concentration of 1 mg/mL [100]. The root bark aqueous extract at doses of 50-200 mg/kg orally significantly ($P < 0.05$) attenuated torsions induced by acetic acid and increased the threshold of pain perception in the hot plate test in mice [139]. The aqueous and ethanolic extracts of the plant leaves reduced significantly and dose-dependently the levels of glucose in fasting blood of STZ-diabetic rats without significantly lowering the level of glucose in the normo-glycaemic rats [140]. The decoction of root bark strongly increased total sleep time induced by diazepam. It also protected mice against induced seizures of electroshock maximum, pentamethylenetetrazole and strychnine [141].

Phytochemical analysis of the ethanol extract of the plant stem bark showed the presence of saponins, while tannins, flavonoids, and alkaloids were absent. Reducing sugars, flavonoids, steroids, saponins, alkaloids, terpenes and glycosides were revealed in the aqueous extract of the fruits [142]. The extract of the leaves contained tannins (0.37%) alkaloids (2.39%), flavonoids (0.37%), saponins (1.25%), phytate (0.38%) and 16.90 mg/kg of HCN [143]. In the leaves, various alkaloids such as naucleafoline, nauclechine, naufoline, naucleatine, nauclefine, naucedidinal, augustin, cardamine, naucleamide A-E, strictosamide, dihydrostrictosamide, tetrahydrodesoxycordfoline, naucleodial, and epinauclealid were characterized [100]. A novel indole alkaloid, nauclefolinine and five known triterpene compounds, rotundic acid, α -L-rhamnoquinovic acid, 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -sitosterol, squalene, and sitosterol-3-O-6'-stearoyl- β -D-glucopyranoside were isolated from the roots of *N. latifolia* in 1991 [144]. Later, investigations of the roots extract led to the isolation of the new indole alkaloids 21-O-

methylstrictosamide aglycone and 21-O-ethylstrictosamide aglycone together with strictosamide, angustine, nauclefine, angustidine, angustoline, 19-O-ethylangustoline, naucleidinal, 19-*epi*-naucleidinal, quinovic acid-3-O- β -D-fucopyranoside, quinovic acid-3-O- α -L-rhamnopyranoside, scopoletin, and β -sitosterol [145, 146]. Derivatives of fructose (1,2,3,4,6-penta-O-benzoyl- α -D-fructofuranose, 1,2,3,4,6-penta-O-benzoyl- β -D-fructofuranose, 1,2,3,4,5-penta-O-benzoyl- β -D-fructopyranose, and 1,3,4,5-tetra-O-benzoyl- β -D-fructopyranose) were isolated in the sugar fraction of the stem bark [147].

***Securidaca longepedunculata* Fres (Polygalaceae)**

Securidaca longepedunculata is a medicinal plant commonly used in different African countries. In Mali, the aqueous root extracts are used in trypanosomiasis and dysmenorrhea, while the decoction of the leaves and roots is used against fever and malaria. The powdered leaves or twigs are used against snakebites. In Benin and Togo, the bark is used alone or in combination with other plants in the treatment of fever and malaria. In Burkina Faso, the decoction of the roots is used as a purgative. In Senegal, the roots are used in bronchopulmonary, gastrointestinal and liver diseases, and both leaves and roots against fever and malaria [47, 48].

The light petroleum and dichloromethane extracts of *S. longepedunculata* roots inhibited the growth of a strain of *P. falciparum* K1 with IC₅₀ values of 7.34 and 8.26 µg/mL, respectively; on the contrary, the IC₅₀ could not be determined for either extract on the 3D7 strain of *P. falciparum* [148].

Other different activities were also reported. The aqueous, hydroethanolic and ethanolic extracts of the roots inhibited *in vitro* the proliferation of hepatocellular carcinoma Hep3B cells with IC₅₀ values between 16.3 and 19.9 µg/mL. The hydroethanolic extract increased the activity of caspase 7 and the number of apoptotic bodies, while the ethanolic extract induced abnormalities of membranes, which appeared jagged [77]. The aqueous extract of the roots showed cytotoxicity *in vitro* on certain cancer cell lines: it inhibited the proliferation of ascitic Ehrlich carcinoma cells (spontaneous mammary carcinoma in mice), with an IC₅₀ of 67 µg/mL and reduced *in vivo* in albino Swiss mice the growth of the same carcinoma cells after intraperitoneal administration of the extract at a dose of 10 mg/kg/day for 14 days [149]. The chloroform extract also showed strong cytotoxicity on human pancreatic cancer cell line PANC-1 with an IC₅₀ of 23.4 µg/mL [150].

Extracts of leaves and roots demonstrated an antibacterial activity against different microorganisms with an inhibition diameter between 15 to 20 mm and a minimum inhibitory concentration between 0.59 to 6.25 mg/mL [151]. The aqueous extract of the roots at doses of 200-400 mg/kg significantly reduced, in a dose-dependent manner, the pain induced by acetic acid and formalin in mice and also produced a significant ($P < 0.05$) naloxone reversible antidepressant like effect in the forced swimming test (an animal model of depression). These results suggested that the extract possesses antinociceptive and antidepressant like effects with possible involvement of opioidergic pathways [152]. The same extract administered intraperitoneally in mice at a dose of 50-800 mg/kg showed significant analgesic, anti-inflammatory and hypoglycemic dose dependent effects [153]. The aqueous extract of the roots at a dose of 100-400 mg/kg exhibited anticonvulsant, anxiolytic and sedative activities, using the strychnine and picrotoxin induced seizure models, justifying the use of the plant extract in traditional medicine for the management of convulsions and psychosis. The LD₅₀ in mice was 1.74 g/kg and 19.95 mg/kg for the oral and the intraperitoneal route, respectively. The aqueous extract

administered by gavage at a dose of 2000 mg/kg caused no mortality or signs of toxicity in mice [154]. Intraperitoneal administration of the aqueous extract of the roots produced a dose-dependent toxicity to kidneys, liver and lungs with an estimated LD₅₀ of 36.74 mg/kg in rats [155]. The oral LD₅₀ of the ethanolic extract was 547.72 mg/kg in mice. The same extract had no significant effect on hyperglycemia induced by streptozotocin [156].

Phytochemical analysis of the plant revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, cardiac glycosides, anthraquinones, steroids, essential oils and reducing sugars [151]. Investigation of the chloroform root extract led to the isolation of 28 compounds including five new polymethoxylated xanthenes and a new benzyl benzoate, namely benzyl 3-hydroxy-2-methoxybenzoate [149]; twelve diphenylmethyl-substituted xanthenes, named muchimangines A-L, were isolated from the roots and showed a characteristic phenylmethyl substituent at C-2 [158-161]. Also bidesmosidic saponins are typical secondary metabolites of the plant roots: in 2009, four triterpene saponins having presenegenin as aglycone were isolated by Mitaine-Offier and co-authors [162], while Stevenson and collaborators in the same year isolated two new medicagenic acid bidesmosidic saponins, which were named securidacaside A and B [163].

Trichilia emetica Vahl. (Meliaceae)

Trichilia emetica, a tree native of Africa, and widely distributed in African tropical regions, is used in traditional medicine to treat various ailments such as abdominal pain, dermatitis, hemorrhoids, jaundice and chest pain. The plant is known also for its emetic, diuretic and purgative properties and for induction of labour [164, 165]. According to an ethno-pharmacological survey carried out to collect information on the use of seven medicinal plants in rural areas in the nearby regions of Bamako, the plant is used for the treatment of malaria, abdominal pain, and dermatitis [19]. Moreover, in Mali, the plant is used for the treatment of malaria during pregnancy by traditional healers [61]. In Benin and Madagascar, *T. emetica* is one of the plants used traditionally for the treatment of cognitive disorders [166].

The dichloromethane extract of *T. emetica* leaves demonstrated an antiplasmodial activity (IC₅₀ 12 µg/mL) and exhibited a good binding activity to the GABA(A)-benzodiazepine receptor. The water and methanol extracts of the same plant did not show any activity [148]. Different extracts of the plant presented antiplasmodial activity against different strains of *P. falciparum* 3D7 and Dd2 [89, 167, 168]. Kurubasch aldehyde, a sesquiterpenoid with a hydroxylated humulene skeleton, was isolated from *T. emetica* and found to be a modest inhibitor of the growth of *P. falciparum* (IC₅₀ 76 µM), and of slow-proliferating breast cancer cells MCF7 (78 µM), but a potent inhibitor of proliferation of S180 cancer cells (IC₅₀ 7.4 µM) [169].

The aqueous extract of *T. emetica*, rich in polyphenols and limonoids demonstrated a significant ($P < 0.05$) hepatoprotective effect at a dose of 1000 µg/mL, both on plasma membrane and mitochondrial function. This extract and its diethyl ether fraction did not show toxicity (LC₅₀ > 1000 µg/mL) in the brine shrimp bioassay [170]. The extracts submitted to alkaline hydrolysis showed high antioxidant properties in two *in vitro* assays: auto-oxidation of methyl linoleate (MeLo) and ascorbate/Fe²⁺-mediated lipid peroxidation in rat microsomes. An *in vivo* study was also performed to investigate the intestinal absorption of phenolic acids after oral administration of *T. emetica* extracts. Results showed high

levels of phenolic acids, free or conjugated to glucuronide, in the plasma of rats treated with the hydrolyzed extract [171].

Other biological activities were also investigated including anti-infective, anti-inflammatory, anti-schistosomal, anti-convulsant, anti-trypanosomal, anti-oxidant, anti-tussive, and anti-mutagenic properties. During a screening of some medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles, different extracts of *T. emetica* demonstrated the most promising antifungal activity [172]. The anti-schistosomal and anti-trypanosomal activities of the plant extracts were also demonstrated [173-175]. Crude water-ethanol extract and polysaccharides from *T. emetica* showed antitussive activity against the citric acid-induced cough reflex and the reactivity of airways smooth muscle *in vivo* [176]. The *n*-hexane extract of the plant at non-toxic concentration demonstrated a β-amyloid peptide production activity that could be interesting for the treatment of Alzheimer's disease [166]. The ethyl acetate extract of *T. emetica*, without a detectable anticandidal activity, was detoxified by the multidrug transporter Cdr1p. In this extract, the presence of a non-toxic Cdr1p-mediated ketoconazole resistance modulator accompanying growth-inhibitory Cdr1p substrates was revealed by further fractionation experiments [177]. The dichloromethane extract of the seeds of *T. emetica* significantly inhibited the growth of *P. aeruginosa* [178]. Flavonoid-rich fractions of the plant leaf extracts showed the maximum radical scavenging activity and possessed marked anti-amylase activity *in vitro*. The same flavonoid-rich fractions presented anti-hyperglycemic, anti-lipidemic, and anti-hypertensive properties *in vivo*, demonstrating the antidiabetic potential of *T. emetica* as a therapeutic target for the management of type 2 diabetes [179]. *T. emetica* is also one of the most effective plants for the treatments of dysmenorrhea, with minimal side effects [180], and it is used in the treatment of dry-mouth syndrome induced as a side effect of antidepressant drugs.

A first phytochemical study on *T. emetica* showed the presence of limonoids as the main components of the ethylacetate extract. These isolates exhibited selective inhibitory activity towards DNA repair-deficient yeast mutants and showed antifungal, bactericidal, antiviral, antifeedant and growth regulating properties [181]. During a study of the chemical content of the leaves of the plant, used as wound healing remedy, pectin of the rhamnogalacturonan type I with side chains of the arabinogalactan type II has been isolated. Removal of terminal arabinofuranosides led to a drop in the activity, indicating that this structural unit may be involved in the bioactive site of the molecule [182].

A phytochemical analysis of the plant roots showed a high polyphenolic content in the aqueous extract and the presence of limonoids in the diethyl ether fraction [170]. Free phenolic acids were extracted with a mixture of methanol and 10% acetic acid. Bound phenolic acids were released using first alkaline and then acid hydrolysis. All fractions were quantified separately by HPLC. After alkaline hydrolysis, a remarkable increase in caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, syringic acid, vanillic acid, protocatechuic acid and gallic acid content was observed, showing that most of the phenolic acids in the drug are present as bound forms [171].

Steroids, terpenoids, alkaloids, flavanoids, coumarin and emodol were isolated from *T. emetica* used in Uganda [183]. Several limonoids have been isolated from the stem bark of the plant [184, 185], while four pregnanes, three androstanes, and three known pregnane derivatives were isolated from the root bark [186].

***Vernonia colorata* (Willd.) Drake (Asteraceae)**

Vernonia colorata is distributed through Benin, Cameroon, Senegal, Togo, and Mali. The leaves have a bitter taste that is said to resemble that of quinine. They are used against fever and stomach aches. Inhalation of a decoction from leaves is used in epileptic seizures. It is also combined with other plants in the treatment of schistosomiasis and sterility. Its leaves are commonly used by African traditional healers to treat diabetes. In Mali, the decoction of the leaves is used in liver diseases. In Ivory Coast, a decoction of the leaves is used against fever, malaria and liver diseases, while the stem bark is used in the treatment of digestive disorders. In Burkina Faso, a decoction of the leaves is a remedy to treat fever, malaria, bronchopulmonary diseases and diarrhea. In Senegal, the plant is used against malaria, intestinal worms, abdominal pain, dizziness and constipation [187].

The aerial parts of *V. colorata* extracts showed significant antiparasmodial activity with $IC_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$ [188]. The dichloromethane and methanol extracts demonstrated antiparasmodial activity against the W2 strains of *P. falciparum*, respectively of $6 \mu\text{g/mL}$ and $15 \mu\text{g/mL}$; the same extracts from the roots showed an activity of $3 \mu\text{g/mL}$ and $> 50 \mu\text{g/mL}$, respectively [189]. The aqueous extracts of *V. colorata* were found to be significantly less active ($IC_{50} \geq 50 \mu\text{g/mL}$) as antimalarial agent against chloroquine susceptible (D10) and resistant (W2) strains of *P. falciparum* [187].

The effect of dietary incorporation of *V. amygdalina* and *V. colorata* on some biochemical and histopathological indices in liver of albino rats was studied: treatment of *V. colorata* fed animals with aflatoxin B1 resulted in a marked increase in alkaline phosphatase activity. Increase in aspartate amino transaminase (AST) activity was not significantly different from that of animals fed only with *V. colorata* without aflatoxin B1 [190].

The chloroform-methanol (9:1) extract of the plant leaves exhibited anti-inflammatory activity by using a carrageenan-induced rat paw. The bioassay-oriented fractionation of the extract permitted the isolation of compounds with and without anti-inflammatory activity [191]. The aqueous extract of the leaves presented both hypoglycemic and antidiabetic effects in normoglycemic and alloxan-induced diabetic rats [189]. The acetone extract (100 mg/kg per os) induced a significant decrease in blood glucose in normoglycemic rats. Blood glucose levels ranged from 4.72 ± 0.11 to $3.72 \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ ($P < 0.05$, $n = 5$) 3 hours after oral administration. The *n*-hexane extract significantly increased the glucose levels in normoglycemic rats [192]. During a general screening of traditional Zulu medicinal plants used for the treatment of ailments of infectious nature, aqueous, methanol and ethyl acetate extracts of *V. colorata* demonstrated the highest antibacterial activity against Gram-positive bacteria [193]. The dichloromethane and butanol fractions demonstrated antibacterial activity with a minimum inhibitory concentration of 2.5 mg/mL [194]. The ethanol and aqueous extracts, at concentrations ranging between 2.00 to 5.00 mg/mL , demonstrated a good antibacterial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. The aqueous extract also showed the highest activity against *S. aureus* at a concentration of 5 mg/mL . The minimum inhibitory concentration of the aqueous extract ranged between 4.00 and 6.00 mg/mL , while that of the ethanolic extract ranged between 5.00 and 6.00 mg/mL [195]. All fractions from the aqueous extract at 10 mg/mL did not show a zone of inhibition against the tested bacteria. The chloroform fraction of

the ethanolic extract showed activity only against *S. aureus* at 10 mg/mL , with a zone of inhibition of $15.00 \pm 0.20 \text{ mm}$. The antibacterial activity of the chloroform fraction of the ethanolic extract was significant in comparison with control ($P < 0.05$) [196].

Phytochemical analysis of both ethanolic and aqueous extracts of *V. colorata* led to the characterization of polyphenols, tannins, phlobatannins, saponins, sterols, triterpenes, coumarins, alkaloids, reducing sugars, and anthracenoids [195, 194]. Sesquiterpene lactones, vernolide, $11\beta,13$ -dihydrovernolide and vernodaline have been isolated and identified from spectroscopic data in the leaves of the plant [197]. Vernolide and vernodaline demonstrated antiparasmodial activity with IC_{50} values of $1.87 \mu\text{g/mL}$ and 0.52 mg/mL , respectively [198]. Fractionation of the methanol extract of the leaves allowed the isolation of six new compounds, including two androstane and two stigmastane-type glycosides, and two stigmastane-type steroids [191]. The essential oils of the aerial parts of *V. colorata* and *V. nigritiana* grown wild in Mali, obtained by hydrodistillation, showed different qualitative-compositional; 115 components were identified [199].

Medicinal plants are a local heritage with a global importance; they are still the primary source of leads for pharmacologically active compounds. Medicinal plants also play an important role in the lives of rural people, particularly in remote parts of developing countries with a lack of health facilities. African medicinal plants, in addition to their traditional and cultural values, also hold great public health and medical interest worldwide as sources of standardized phytomedicines, extracts or novel lead compounds for drugs development

The present review montred the therapeutic value of different extracts of plants prepared according to the traditionally used forms. These plants have been studied for the different pharmacological activities, mainly antimalarial and hepatoprotective, of extracts, fractions and isolated compounds. Several bioactive compounds were elucidated in these plants, some of them having an interesting antiparasmodial and hepatoprotective activity. This review confirmed that these medicinal plants have both anti-plasmodial and hepatoprotective properties. *Argemone mexicana*, *Cochlospermum tinctorium*, *Combretum micranthum* and *Entada africana* from the Malian traditional pharmacopoeia present opportunities in the treatment of malaria and some liver diseases. The collected data will be useful to improve actual herbal drugs and to propose new phytomedicines for the management of these diseases. In Mali, phytodrugs prepared with these plants are important for the availability of essential medicines used by the majority of the population. The successes of these herbal drugs open new opportunities for patients and stimulate research on medicinal plants with direct relevance to human health care.

Information was obtained from a literature search through electronic databases such as PubMed, SciFinder, Google Scholar and PROTA. Data collected were organised according to the plan: traditional uses, anti-plasmodial activity, liver disease care, other pharmacological activities, safety of use, and main phytochemical constituents. In Table 1 are reported the botanical names, traditional uses, biological activities and chemical constituents of the ten medicinal plants used in Malian traditional medicine for the treatment of malaria and liver diseases. Most of the authors have personally participated in experimental studies on different aspects of one or more of the ten plants, whose results were published and are among the articles cited in the reference.

Table 1: Botanical names, traditional uses, biological activities and chemical constituents of medicinal plants used in Malian traditional medicines for the treatment of malaria and liver diseases.

Botanical names (Families) (Local names Bambara)	Traditional uses	Biological activities	Chemical constituents	References
<i>Argemone mexicana</i> (Papaveraceae) (Bapobo, Gninnidié)	Malarial, fever, jaundice, ulcers, dropsy	Antimalarial, antihepatotoxic, antimicrobial, wound healing, antibacterial, antifungal, molluscicidal, anticancer and anti-HIV	Isoquinoline and benzylisoquinoline alkaloids, berberine, tetrahydroberberine, protopine, benzophenanthridines	[3-6, 15]
<i>Cochlospermum tinctorium</i> (Cochlospermaceae) (N'itirbara, N'dilbaraba)	Malaria, abdominal pain, dermatitis jaundice, gastro intestinal diseases, schistosomiasis	Antiplasmodial, antihepatotoxic	Gallic and ellagic acids, cochloxanthin, dihydrocochloxanthin, arjunolic acid, oleanene-type triterpene, 3-O-E-p-coumaroylalphitolic acid, alphitolic acid, 1-hydroxytetradecan-3-one	[19, 20, 30, 32]
<i>Combretum micranthum</i> (Combretaceae) (N'golobé)	Malaria, bilious fevers with hematuria, constipation, cholagogue, diuretic	Antiplasmodial, antihepatotoxic, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, antioxydant, hypoglycemic, antidiabetic	Vitexin, choline, stachydrine, gallic acid, rutin trihydrate, (+)-catechin and benzoic acid	[50, 52, 54-60, 62, 63, 65, 66]
<i>Entada africana</i> (Fabaceae) (Samanéré)	Malaria, fever, respiratory tract complaints, diabetes, hypertension, diarrheas, liver diseases, rheumatism, dysentery	Antihepatotoxic, antimicrobial, antiplasmodial, antioxidant, antiradical, anti-angiogenic, anti-hepatocellular carcinoma	Triterpene saponins	[69, 70, 76, 79-81, 84-87]
<i>Erythrina senegalensis</i> (Fabaceae) (N'den, Ntenbilen, Ntini)	Malaria, jaundice, infections, liver diseases, fever, broncho-pulmonary disorders and urogenital infections	Antihepatotoxic, antiplasmodial, antibacterial, antioxidant, anti-hepatocellular carcinoma	2,3-Dihydro-2'-hydroxysajin, osajin, 6,8-diprenylgenistein	[81, 88, 89, 93, 94]
<i>Mitragyna inermis</i> (Rubiaceae) (Um, Djou)	Malaria, hepatic illness, stomach and intestinal disorders, hypertension, HIV/AIDS	Antimalarial, antimicrobial, antihypertension, antidiabetic, antioxidant, anti-inflammatory	Indole alkaloids	[97, 100, 101, 117, 118, 124, 125, 127]
<i>Nauclea latifolia</i> syn <i>Sarcocephalus latifolius</i> (Rubiaceae) (Baro)	Fever, malaria, jaundice, infant gastroenteritis and dysentery	Antiplasmodial, antioxidant, analgesic, antimicrobial, antidiabetic	Alkaloids, glycoalkaloids, saponins, nauclefine and naucleine, indole-quinolizidine, indole alkaloids: nauclefolinine, triterpenic compounds	[93, 100, 128, 129, 130, 131, 139, 140, 141, 143, 145, 146]
<i>Securidaca longepedunculata</i> (Polygalaceae) (Joro)	Fever, malaria, trypanosomiasis, dysmenorrhea, bronchopulmonary diseases, gastrointestinal and liver diseases	Antiplasmodial, cytotoxicity, anti-hepatocellular carcinoma, antibacterial, analgesic, anti-inflammatory, hypoglycemic	Polymethoxylated xanthenes, benzyl 3-hydroxy-2-methoxybenzoate, diphenylmethyl-substituted xanthenes (muchimangines A-L), bidesmosidic saponins (securidacisides A and B), triterpene saponins, medicagenic acid	[81, 148-158, 160]
<i>Trichilia emetica</i> (Meliaceae) (Sulafinzan)	Malaria, abdominal pains, dermatitis, haemorrhoids, jaundice and chest pain	Antiplasmodial, hepatoprotective, anti-infective, anti-inflammatory, anticonvulsant, antitrypanosomal, anti-oxidant, antitussive, antimutagenic	Kurubasch aldehyde, limonoids, polysaccharides	[19, 93, 164, 165, 170, 172, 178, 179, 183, 185]
<i>Vernonia colorata</i> (Asteraceae) (Kosafuné)	Fever, malaria, liver disease, digestive disorders, bronchopulmonary diseases, diarrhea, intestinal worms and abdominal pain	Antiplasmodial, anti-inflammatory, hypoglycemic, antibacterial	Vernolide, vernodaline	[187, 189, 190, 193, 195]

References

[1] WHO - World Health Organization (2009) World Malaria Report. Available from: who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_moz_en.pdf

[2] Bourdy G, Willcox ML, Ginsburg H, Rasoanaivo P, Graz B, Deharo E. (2008) Ethnopharmacology and malaria: new hypothetical leads or old efficient antimalarials? *International Journal of Parasitology*, **38**, 33-41.

[3] Willcox ML, Graz B, Falquet J, Sidibe O, Forster M, Diallo D. (2007) *Argemone mexicana* decoction for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene*, **101**, 1190-1198.

[4] Rekha S, Vidyasagar GM. (2014) Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Argemone mexicana* Linn. A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6**, 45-53.

[5] Adjobimey T, Edayé I, Lagnika L, Gbenou J, Moudachirou M, Sanni A. (2004) Activités antiplasmodiales *in vitro* de quelques plantes antipaludiques de la Pharmacopée béninoise. *CR Chimie*, **4**, 1023-1027.

[6] Graz B, Willcox ML, Diakite C, Falquet J, Dakouo F, Sidibe O, Giani S, Diallo D. (2009) *Argemone mexicana* decoction versus Artesunate/Amodiaquine for the home-based management of malaria in Mali. Policy and public health implications. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **104**, 33-41.

[7] Diallo D, Graz B, Falquet J, Traore AK, Giani S, Mounkoro PP, Berthé A, Sacko M, Diakite C. (2006) Malaria treatment in remote areas of Mali: use of modern and traditional medicines, patient outcome. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **100**, 515-520.

[8] Willcox ML, Graz B, Diakite C, Falquet J, Dakouo F, Sidibe O, Giani S, Diallo D. (2011) Is parasite clearance clinically important after malaria treatment in a high transmission area? A 3-month follow-up of home-based management with herbal medicine or ACT. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **105**, 23-31.

[9] Willcox ML, Graz B, Falquet J, Diakite C, Giani S, Diallo D. (2011) A new methodology for developing antimalarial phytomedicines. *Malaria Journal*, **10**, S8 <http://www.malariajournal.com/content/10/S1/S8>.

[10] Sanogo R, Djimdé A, Guirou C, Doumbia L, Maiga A, Doumbo O, Diallo D. (2008) Etude de la toxicité sub-chronique du décocté de *Argemone mexicana* L. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines*, **15**, 26-31.

[11] Sanogo R, Traoré F, Djimdé A, Doumbia L, Maiga A, Diallo D, Doumbo O. (2012) Formulation de sirops antipaludiques à base d'extraits de *Argemone mexicana*. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelles Africaines*, <http://publication.lemcames.org/index.php/pharm/article/view/22>.

[12] Das PK, Sethi R, Panda P, Pani SR. (2009) Hepatoprotective activity of plant *Argemone mexicana* against carbon tetrachloride (CCl₄) induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, **8**, 1-20.

[13] Sakthivadivel M, Thilagavathy D. (2003) Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* seed. *Journal of Bioscience Technology*, **89**, 213-216.

[14] Hussain SF, Nakkady S, Khan L, Shamma M. (1983) Oxyhydrastinine, an isoquinoline alkaloid from the Papaveraceae. *Phytochemistry*, **22**, 319-320.

[15] Nakkady S, Shamma M. (1988) Studies on the chemical constituents of *Argemone mexicana*. *Egypt Journal of Pharmaceutical Sciences*, **29**, 53-61.

[16] Harborne JB, Williams CA. (1983) Flavonoids in the seeds of *Argemone mexicana*: a reappraisal. *Phytochemistry*, **22**, 1520-1521.

[17] Kenneth WB. (2001) β-Phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids. *Natural Product Reports*, **18**, 148-170.

[18] Dalvi RR. (1985) Sanguinarine: its potential as a liver toxic alkaloid present in the seeds of *Argemone mexicana*. *Experientia*, **41**, 77-78.

- [19] Togola A, Diallo D, Dembele S, Barsett H, Paulsen BS. (2005) Ethnopharmacological survey of different uses of seven medicinal plants from Mali, (West Africa) in the regions Doila, Kolokani and Siby. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *1*, 7, [1-9] doi: 10.1186/1746-4269-1-7.
- [20] Nergard CS, Diallo D, Inngjerdigen K, Michaelsen TE, Matsumoto T, Kiyohara H, Yamada H, Paulsen BS. (2005) Medicinal use of *Cochlospermum tinctorium* in Mali anti-ulcer-, radical scavenging- and immunomodulating activities of polymers in the aqueous extract of the roots. *Journal of Ethnopharmacology*, *96*, 255-269.
- [21] Magassouba FB, Diallo A, Kouyate M, Mara F, Mara O, Bangoura O, Camara A, Traore S, Diallo AK, Zaoro M, Lamah K, Diallo S, Camara G, Traoré S, Kéita A, Camara MK, Barry R, Kéita S, Oularé K, Barry MS, Donzo M, Camara K, Toté K, Vanden Berghe D, Totté J, Pieters L, Vlietinck AJ, Baldé AM. (2007) Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, *114*, 44-53.
- [22] Benoit F, Valentin A, Pellissier Y, Marion C, Dakuyo Z, Mallie M, Bastide JM. (1995) Antimalarial activity *in vitro* of *Cochlospermum tinctorium* tubercle extracts. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *89*, 217-218.
- [23] Traore M, Guiguemde, A, Yago I, Nikiema JB, Tinto H, Dakuyo ZP, Ouedraogo JB, Guissou IP, Guiguemde TR. (2006) Investigation of antiplasmodial compounds from two plants, *Cochlospermum tinctorium* A. Rich and *Gardenia sokotensis* Hutch. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *3*, 34-41.
- [24] Bossou AD, Mangelinckx S, Yedomonhan H, Boko PM, Akogbeto MC, De Kimpe N, Avlessi F, Sohounhoulou DCK. (2013) Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasites & Vectors*, *6*, 337/1-337/17.
- [25] Zederkopff BN, Traore M, Tinto H, Sittie A, Molgaard P, Olsen CE, Kharazmi A, Christensen SB. (2002) Antiplasmodial compounds from *Cochlospermum tinctorium*. *Journal of Natural Products*, *65*, 1325-1327.
- [26] Diallo B, Vanhaelen M, Kiso Y, Hikino H. (1987) Antihepatotoxic actions of *Cochlospermum tinctorium* rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology*, *20*, 239-243.
- [27] Dalvi RR, Sere A. (1988) Protective effect of *Cochlospermum tinctorium* A. Rich extracts versus aflatoxin B-induced liver damage in rats. *International Journal of Crude Drug Research*, *26*, 117-120.
- [28] Diallo B, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M, Fiegel C, Joyeux M, Roland A, Fleurentin J. (1992) Further studies on the hepatoprotective effects of *Cochlospermum tinctorium* rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology*, *36*, 137-142.
- [29] Ram VJ. (2001) Herbal preparations as a source of hepatoprotective agents. *Drug News & Perspectives*, *14*, 353-363.
- [30] Etuk EU, Agaie BM, Ladan MJ, Garba I. (2009) The modulatory effect of *Cochlospermum tinctorium* a rich aqueous root extract on liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *3*, 151-157.
- [31] Diallo B, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M, Nkiani-Ibwala NY, Pelsener-Coremans J. (1991) Antimicrobial activity of two apocarotenoids isolated from *Cochlospermum tinctorium* rhizome. *Fitoterapia*, *62*, 144-145.
- [32] Diallo B, Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, Konoshima T, Kozuka M, Tokuda H. (1989) Studies on inhibitors of skin-tumor promotion. Inhibitory effects of triterpenes from *Cochlospermum tinctorium* on Epstein-Barr virus activation. *Journal of Natural Products*, *52*, 879-881.
- [33] Diallo B, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M, Konoshima T, Takasaki M, Tokuda H. (1995) *In vivo* inhibitory effects of arjunolic acid derivatives on two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Phytotherapy Research*, *9*, 444-447.
- [34] Nergard CS, Kiyohara H, Reynolds JC, Thomas-Oates JE, Matsumoto T, Yamada H, Patel T, Petersen D, Michaelsen TE, Diallo D, Paulsen BS. (2006) Structures and structure-activity relationships of three mitogenic and complement fixing pectic arabinogalactans from the Malian anti-ulcer plants *Cochlospermum tinctorium* A. Rich and *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *Biomacromolecules*, *7*, 71-79.
- [35] Benoit-Vical F, Valentin A, Mallie M, Bastide J-M, Bessiere J-M. (1999) *In vitro* antimalarial activity and cytotoxicity of *Cochlospermum tinctorium* and *C. planchonii* leaf extracts and essential oils. *Planta Medica*, *65*, 378-381.
- [36] Benoit-Vical F, Valentin A, Mallie M, Bessiere J-M. (2001) Antiplasmodial activity of *Cochlospermum planchonii* and *C. tinctorium* tubercle essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, *13*, 65-67.
- [37] Oyewale AO, Audu OT. (2007) The medicinal potentials of aqueous and methanol extracts of six flora of tropical Africa. *African Journal of Chemical Society of Nigeria*, *32*, 150-155.
- [38] Tijjani MB, Bello IA, Aliyu AB, Olurise T, Maidawa SM, Habila JD, Balogun EO. (2009) Phytochemical and antibacterial studies of root extract of *Cochlospermum tinctorium* A. Rich. (Cochlospermaceae). *Research Journal of Medicinal Plants*, *3*, 16-22.
- [39] Tvette Inngjerdigen K, Thole C, Diallo D, Paulsen BS, Hensel A. (2014) Inhibition of *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric adenocarcinoma epithelial cells by aqueous extracts and pectic polysaccharides from the roots of *Cochlospermum tinctorium* A. Rich. And *Vernonia kotschyana* Sch. Bip. ex Walp. *Fitoterapia*, *95*, 127-132.
- [40] Ahmed T, Magaji M, Yaro A, Musa A, Adamu A. (2011) Aqueous methanol extracts of *Cochlospermum tinctorium* (A. Rich) possess analgesic and anti-inflammatory activities. *Journal of Young Pharmacists*, *3*, 237-242.
- [41] Diallo B, Vanhaelen M. (1987) Apocarotenoids from *Cochlospermum tinctorium*. *Phytochemistry*, *26*, 1491-1492.
- [42] Diallo B, Vanhaelen M. (1988) Large scale purification of apocarotenoids from *Cochlospermum tinctorium* by counter-current chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*, *11*, 227-231.
- [43] Diallo B, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M. (1991) Triacylbenzenes and long-chain volatile ketones from *Cochlospermum tinctorium* rhizome. *Phytochemistry*, *30*, 4153-4156.
- [44] Tvette Inngjerdigen K, Ballo N, Zhang B-Z, Malterud KE, Michaelsen TE, Diallo D, Paulsen SB. (2013) A comparison of bioactive aqueous extracts and polysaccharide fractions from roots of wild and cultivated *Cochlospermum tinctorium* A. Rich. *Phytochemistry*, *93*, 136-143.
- [45] Pousset J-L. (2004) *Plantes Médicinales d'Afrique*. Edisud, Aix-en-Provence, 287.
- [46] Irvine FR. (1961) *Woody Plants of Ghana with Special References to their Uses*. Oxford University Press, Oxford.
- [47] Kerharo J, Adam JG. (1974) *La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle: Plantes Médicinales et Toxiques*. Vigot Frères, Paris.
- [48] Adjanohoun EJ, Ake Assi L, Floret JJ, Guindo S, Koumaré M, Ahyi AMR, Raynal J. (1985) *Médecine traditionnelle et pharmacopée contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali*. Edition Agence de Coopération Culturelle et Technique (ACCT), Paris.
- [49] Ake Assi L, Guinko S. (1991) *Plants used in Traditional Medicine in West Africa*. Editions Roche.
- [50] Lengani A, Lompo LF, Guissou IP, Nikiema JB. (2010) Traditional medicine in kidney diseases in Burkina Faso. *Nephrology Therapy*, *6*, 35-39.
- [51] Diatta W, Lo M, Fall AD, Bassene S, Sagna S, Badji K, Bassene E. (2009) Popular traditional herbal medicines from the Joolas of Essyl in the rural community of Enampor (Ziguinchor, Senegal): an ethnographic survey. *ACS Symposium Series*, *1021* (African Natural Plant Products), 111-133.
- [52] Malcolm SA, Sofowora EA. (1969) Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituent plants. *Lloydia*, *32*, 512-517.
- [53] Diallo D, Paulsen BS, Hveem B. (2005) Les produits de la médecine traditionnelle. In *Les plantes sauvages du Sahel malien*. Berge G, Diallo D, Hveem B. (Eds) Editions Karthala, Paris, 135-141.
- [54] Ferrea G, Canessa A, Sampietro F, Cruciani M, Romussi G, Bassetti D. (1993) *In vitro* activity of a *Combretum micranthum* extract against herpes simplex virus types 1 and 2. *Antiviral Research*, *21*, 317-325.
- [55] Olajide OA, Makinde JM, Okpako DT. (2003) Evaluation of the anti-inflammatory property of the extract of *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae). *Inflammopharmacology*, *11*, 293-298.

- [56] Karou D, Dicko MH, Simpore J, Traore AS. (2005) Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, **4**, 823-828.
- [57] Welch CR, Wu Q-L, Pan M-H, Ho C-T, Diatta M, Simon JE. (2008) Identification of the bioactive constituents of Kinkeliba (*Combretum micranthum*), a West African medicinal plant. Abstracts of Papers, 236th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, USA, August 17-21 2008, AGFD-140.
- [58] Chika A, Bello SO. (2010) Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **129**, 34-37.
- [59] Benoit F, Valentin A, Pelissier Y, Diafouka F, Marion C, Kone-Bamba D, Kone M, Mallie M, Yapo A, Bastide JM. (1996) *In vitro* antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **54**, 67-71.
- [60] Osonwa UE, Umeyor CE, Okon, UV, Uronnachi EM, Nwakile CD. (2012) Stability studies on the aqueous extract of the fresh leaves of *Combretum micranthum* G. Don used as antibacterial agent. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, **6**, 417-424.
- [61] Nordeng H, Al-Zayadi W, Diallo D, Ballo N, Paulsen BS. (2013) Traditional medicine practitioners' knowledge and views on treatment of pregnant women in three regions of Mali. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **9**, <http://hdl.handle.net/11250/219439>
- [62] Paris R, Moysse-Mignion H. (1956) Paper chromatographic characterization of choline in some medicinal plants. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, **4**, 464-469.
- [63] Ogan AU. (1962) The alkaloids in the leaves of *Combretum micranthum*. Studies on West African medicinal plants. *Planta Medica*, **10**, 210-217.
- [64] Spiegel K, Jentsch P, Fuchs L. (1962) The constituents of the leaves of *Combretum micranthum*. *Planta Medica*, **10**, 1-8.
- [65] Bassene E, Olschwang D, Pousset JL. (1986) African medicinal plants. Alkaloids of *Combretum micranthum* G. Don (Kinkeliba). *Annales Pharmaceutiques Francaises*, **44**, 191-196.
- [66] Bassene E, Olschwang D, Pousset JL. (1981) African medicinal plants. I: Characterization of inositol and sorbitol, probable active principles of kinkeliba (*Combretum micranthum* G. Don). *Dakar Medicine*, **26**, 219-225.
- [67] Touré A, Xu X, Michel T, Bangoura M. (2011). *In vitro* antioxidant and radical scavenging of Guinean kinkeliba leaf (*Combretum micranthum* G. Don) extracts. *Natural Product Research*, **25**, 1025-1036.
- [68] Simon JE, Wu Q, Welch C. (2011) Novel piperidine-flavan alkaloid compounds derived from African herb tea kinkeliba as anti-diabetic agents. *PCT Int. Appl. WO 2011/140066 A1 20111110*.
- [69] Occhiuto F, Sanogo R, Germano MP, Keita A, D'Angelo V, De Pasquale R. (1999) Effects of some Malian medicinal plants on the respiratory tract of Guinea-pigs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **51**, 1299-1303.
- [70] Maiga A, Diallo D, Fane S, Sanogo R, Paulsen BS, Cisse B. (2005) A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 183-193.
- [71] Diallo D, Paulsen BS, Liljeback TH, Michaelsen TE. (2001) Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **74**, 159-171.
- [72] Sanogo R, Germano MP, D'Angelo V, Guglielmo M, De Pasquale R. (1998) Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytotherapy Research*, **12** (Suppl. 1, Second International Symposium on Natural Drugs, 1997), S157-S159.
- [73] Fabry W, Okemo P, Ansong R. (1996) Fungistatic and fungicidal activity of East African medicinal plants. *Mycoses*, **39**, 67-70.
- [74] Obidike IC, Emeje MO. (2011) Microencapsulation enhances the anti-ulcerogenic properties of *Entada africana* leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology*, **137**, 553-561.
- [75] Ezenyi IC, Ranarivelo L, Oluwakanyinsola, SA, Emeje M. (2014) Analgesic, anti-inflammatory, and hemebiomineralization inhibitory properties of *Entada africana* ethanol leaf extract with antiplasmodial activity against *Plasmodium falciparum*. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, **25**, 217-223.
- [76] Karou SD, Tchacondo T, Ouattara L, Anani K, Savadogo A, Agbonon A, Attia MB, de Souza C, Sakly M, Simpore J. (2011) Antimicrobial, antiplasmodial, haemolytic and antioxidant activities of crude extracts from three selected Togolese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **4**, 808-813.
- [77] Haïdara M. (2013). Caractérisation sur un modèle cellulaire d'hépatocarcinome humain de l'effet cytotoxique des extraits de *Entada africana* Guill et Perr, *Erythrina senegalensis* DC et *Securidaca longepedunculata* Fresen utilisés en médecine traditionnelle au Mali. Rapport de M2R. Université Paul Sabatier III de Toulouse, 21.
- [78] Galani Tietcheu BR, Sass G, Njayou NF, Mkounga P, Tieg G, Moundipa PF. (2014) Anti-hepatitis C virus activity of crude extract and fractions of *Entada africana* in genotype 1b replicon systems. *The American Journal of Chinese Medicine*, **42**, 853-68.
- [79] Njayou FN, Aboudi ECE, Tandjang MK, Tchana AK, Ngadjui BT, Moundipa PF. (2013) Hepatoprotective and antioxidant activities of stem bark extract of *Khaya grandifoliola* (Welw) CDC and *Entada africana* Guill. et Perr. *Journal of Natural Products*, **6**, 73-80.
- [80] Tibiri A, Rakotonandrasana O, Nacoulma GO, Banzouzi JT. (2007) Radical scavenging activity, phenolic content and cytotoxicity of bark and leaves extracts of *Entada africana* Guill. et Perr. (Mimosaceae). *Journal of Biological Sciences*, **7**, 959-963.
- [81] Owona Brice A, Njayou NF, Laufer SA, Schluessener HJ, Moundipa PF. (2013) *Entada africana* fraction CH₂Cl₂/MeOH 5% inhibits inducible nitric oxide synthase and pro-inflammatory cytokines gene expression induced by lipopolysaccharide in microglia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **13**, 254 <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/13/>
- [82] Germano MP, Certo G, D'Angelo V, Sanogo R, Malafrente N, De Tommasi N, Rapisarda A. (2015) Anti-angiogenic activity of *Entada africana* root. *Natural Product Research*, **29**, 1551-1556.
- [83] Ayissi OB, Njayou NF, Laufer SA, Moundipa PF, Schluessener HJ. (2013) A fraction of stem bark extract of *Entada africana* suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 cells. *Journal of Ethnopharmacology*, **149**, 162-168.
- [84] Bako SP, Bakfir MJ, John I, Bala EI. (2005) Ethnomedicinal and phytochemical profile of some savanna plant species in Nigeria. *International Journal of Botany*, **1**, 147-150.
- [85] Olajide OB, Fadimu OY, Osaguona PO, Saliman MI. (2013) Ethnobotanical and phytochemical studies of some selected species of leguminosae of northern Nigeria: a study of Borgu local government area, Niger state, Nigeria. *International Journal of Science and Nature*, **4**, 546-551.
- [86] Cioffi G, Dal Piaz F, De Caprariis P, Sanogo R, Marzocco S, Autore G, De Tommasi N. (2006) Antiproliferative triterpene saponins from *Entada africana*. *Journal of Natural Products*, **69**, 1323-1329.
- [87] Cook JA, Vander Jagt DJ, Pastuszyn A, Mounkaila G, Glew RS, Millson M, Glew RH. (2000) Nutrient and chemical composition of 13 wild plant foods of Niger. *Journal of Food Composition and Analysis*, **13**, 83-92.
- [88] Togola A, Austerheim I, Theis A, Diallo D, Paulsen BS. (2008) Ethnopharmacological uses of *Erythrina senegalensis*: a comparison of three areas in Mali, and a link between traditional knowledge and modern biological science. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **4**:6, 1-9 <http://www.ethnobiomed.com/content/4/1/6>.
- [89] Soh PN, Benoit-Vical F. (2007) Are West African plants a source of future antimalarial drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, **114**, 130-140.
- [90] Saidu K, Onah J, Orisadipe A, Olusola A, Wambebe C, Gamaniel K. (2000) Antiplasmodial, analgesic, and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the stem bark of *Erythrina senegalensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 275-280.

- [91] Donfack JH, Njyou NF, Rodrigue TK, Chuisseu PD, Tchana NA, Vita Finzi P, Tchouanguep MF, Ngadjui BT, Moundipa PF. (2008) Study of a hepatoprotective and antioxidant fraction from *Erythrina senegalensis* stem bark extract: *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacologyonline*, **1**, 120-130.
- [92] Atsamo AD, Nguélefack TB, Datte JY, Kamanyi A. (2011) Acute and subchronic oral toxicity assessment of the aqueous extract from the stem bark of *Erythrina senegalensis* DC (Fabaceae) in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, **134**, 697-702.
- [93] Donfack JH, Njyou NF, Ngameni B, Tchana A, Chuisseu PD, Vita Finzi P, Ngadjui BT, Moundipa PF. (2008) *In vitro* hepatoprotective and antioxidant activities of diprenylatedisoflavonoids from *Erythrina senegalensis* (Fabaceae). *Asian Journal of Traditional Medicines*, **3**, 172-178.
- [94] Wandji J, Awanchiri SS, Fomum ZT, Tillequin F, Michel-Daniwicz S. (1995) Prenylated isoflavonoids from *Erythrina senegalensis*. *Phytochemistry*, **38**, 1309-1313.
- [95] Oh WK, Lee HS, Ahn SC, Ahn JS, Mbafor JT, Wandji J, Fomum ZT, Chang HK, Kim YH. (1999) Prenylated isoflavonoids from *Erythrina senegalensis*. *Phytochemistry*, **51**, 1147-1150.
- [96] Togola A, Hedding B, Theis A, Wangenstein H, Rise F, Paulsen BS, Diallo D, Malterud KE. (2009) 15-Lipoxygenase inhibitory effects of prenylated flavonoids from *Erythrina senegalensis*. *Planta Medica*, **75**, 1168-1170.
- [97] Adjanahoun FJ, Ake A, Floret JJ, Guinko S, Kouame M, Ahyi AMR, Raynal J. (1985) *Contribution aux études ethnobotaniques et floristique du Mali. Médecine traditionnelle et pharmacopée*. ACCT, Paris, 64.
- [98] Malgras D. (1992) *Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes*. Edits Karthala et ACCT, Paris, 474.
- [99] Phillipson JD, Wright CW. (1991) Can ethnopharmacology contribute to the development of antimalarial agents? *Journal of Ethnopharmacology*, **32**, 155-165.
- [100] Karou SD, Tchacondo T, Ilboudo DP, Simporé J. (2011) Sub-Saharan Rubiaceae: a review of their traditional uses, phytochemistry and biological activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **14**, 149-169.
- [101] Nikiema JB, Djierro K, Simporé J, Guissou IP, Nacoulma OG, Bassene E. (2004) Contribution à la connaissance des plantes médicinales utilisées par les tradipraticiens de la ville de Ouagadougou (Burkina Faso), pour la prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA. *Le pharmacien d'Afrique*, **173**, 13-15.
- [102] Kumlungui S, Serges B, Alain O-A, Mints NA, Fumoux F, Traore A. (2012) *In vitro* antiplasmodial activity of seven plants commonly used against malaria in Burkina Faso. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**, 2284-2288.
- [103] Azas N, Laurencin N, Delmas F, Di Giorgio C, Gasquet M, Laget M, Timon-David P. (2002) Synergistic *in vitro* antimalarial activity of plant extracts used as traditional herbal remedies in Mali. *Parasitology Research*, **88**, 165-171.
- [104] Fiot J, Sanon S, Azas N, Mahioua V, Jansen O, Angenot L, Balansard G, Ollivier E. (2006) Phytochemical and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **106**, 173-178.
- [105] Mustafa VA, Benoit-Vical F, Pelissier Y, Kone-Bamba D, Mallié M. (2000) Antiplasmodial activity of plant extracts used in West African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 145-151.
- [106] Menan M, Banzouzi JT, Hocquette A, Pelissier P, Blache Y, Kon M, Malli M, Assi LA, Valentin A. (2006) Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plants used in West African traditional medicine for the treatment of malaria. *Journal of Ethnopharmacology*, **105**, 131-136.
- [107] Monjanel-Mouterde S, Traoré F, Gasquet M, Doderro F, Delmas F, Ikoli JF, Lorec AM, Chamlian V, Portugal H, Balansard G, Pisano P. (2006) Lack of toxicity of hydroethanolic extract from *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze by gavage in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, **103**, 319-326.
- [108] Traore-Keita F, Gasquet M, Di Giorgio C, Ollivier E, Delmas F, Keita A, Doumbo O, Balansard G, Timon-David P. (2000) Antimalarial activity of four plants used in traditional medicine in Mali. *Phytotherapy Research*, **14**, 45-47.
- [109] Fiot J, Baghdikian B, Boyer L, Mahiou V, Azas N, Gasquet M, Timon-David P, Balansard G, Ollivier E. (2005) HPLC quantification of uncarine D and the anti-plasmodial activity of alkaloids from leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze. *Phytochemical Analysis*, **16**, 30-33.
- [110] Cheng ZH, Yu BY, Yang XW. (2002) 27-Nor-triterpenoid glucosides from *Mitragyna inermis*. *Phytochemistry*, **61**, 379-382.
- [111] Cheng ZH, Yu BY, Yang XW, Zhang J. (2002) Triterpenoid saponins from the bark of *Mitragyna inermis*. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **27**, 274-277.
- [112] Shellard EJ, Sarpong K. (1969) The alkaloids of the leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **21**, 113-117.
- [113] Shellard EJ, Sarpong K. (1970) The alkaloidal pattern in the leaves, stem-bark and root-bark of *Mitragyna* species from Ghana. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **22**, 34-39.
- [114] Shellard EJ, Phillipson JD, Sarpong K. (1971) Rhynchophylline and isorhynchophylline N-oxides from species of *Mitragyna*. *Phytochemistry*, **10**, 2505-2511.
- [115] Touré H, Balansard G, Pauli AM, Scotto AM. (1996) Pharmacological investigation of alkaloids from leaves of *Mitragyna inermis* (Rubiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **54**, 59-62.
- [116] Inngierdingen K, Nergård CS, Diallo D, Mounkoro PP, Paulsen BS. (2004) An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, **92**, 233-244.
- [117] Chifundera K. (2001) Contribution to the inventory of medicinal plants from the Bushi area, South Kivu Province, Democratic Republic of Congo. *Fitoterapia*, **72**, 351-368.
- [118] Keita SM, Arnason JT, Baum BR, Marles R, Camara F, Traore AK. (1995) Etude ethnopharmacologique traditionnelle de quelques plantes médicinales anthelminthiques de la République de Guinée. *Revue de Médecine et Pharmacie Africaine*, **9**, 119-134.
- [119] Bouquet A, Debray M. (1974) Plantes médicinales de la Côte d'Ivoire. *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, **32**, Paris, 232.
- [120] Adjanahoun EJ, Ahyi AMR, Ake-Assi L, Dan Dicko L, Daouda H, Delmas M, De Souza S, Garba M, Guinko S, Kayonga A, Ngolo D, Raynal JL, Saadou M. (1981) *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger*. ACCT, Paris, 250.
- [121] Adjanahoun EJ, Adjakidjè V, Ahyi AMR, Aké Assi L, Akoégninou A, d'Almeida J, Apovo F, Boukef K, Chadare M, Cusset G, Dramane K, Eyme J, Gassita JN, Gbaguidi N, Goudote E, Guinko S, Houngnon P, Lo I, Keita A, Kiniffé HV, Kone-Bamba D, Musampa Nseyya A, Saadou M, Sogodangji T, De Souza S, Tchabi A, Zinsou Dossa C, Zohoun T. (1989) *Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Bénin*. ACCT, Paris, 895.
- [122] Ake-Assi YA. (1992) *Contribution au recensement des espèces végétales utilisées traditionnellement sur le plan zootechnique et vétérinaire en Afrique de l'Ouest*. Thèse de doctorat (Sc. Vétérinaires), Lyon, Université Claude Bernard, 220.
- [123] Donfack EV, Lenta BN, Kongue MDT, Fongang YF, Ngouela S, Tsamo E, Dittrich B, Laatsch H. (2012) Naucleonin D, an indole alkaloid and other chemical constituents from roots and fruits of *Mitragyna inermis*. *Zeitschrift fuer Naturforschung B: A Journal of Chemical Sciences*, **67**, 1159-1165.
- [124] Ouédraogo S, Ranaivo HR, Ndiaye M, Kaboré ZI, Guissou IP, Bucher B, Andriantsitohaina R. (2004) Cardiovascular properties of aqueous extract from *Mitragyna inermis* (Willd.). *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 345-350.
- [125] Sy GY, Sarr A, Dièye AM, Faye B. (2004) Myorelaxant and antispasmodic effects of the aqueous extract of *Mitragyna inermis* barks on Wistar rat ileum. *Fitoterapia*, **75**, 447-450.
- [126] Asase A, Kokubun T, Grayer RJ, Kite G, Simmonds MSJ, Oteng-Yeboah AA, Odamtten GT. (2008) Chemical constituents and antimicrobial activity of medicinal plants from Ghana: *Cassia sieberiana*, *Haematosiphis barteri*, *Mitragyna inermis* and *Pseudocedrela kotschyii*. *Phytotherapy Research*, **22**, 1013-1016.

- [127] Muazu J, Kaita AH. (2008) A review of traditional plants used in the treatment of epilepsy amongst the Hausa/Fulani tribes of Northern Nigeria. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, **5**, 387-390.
- [128] Kokwaro JO. (1976) Medicinal plants of East Africa. *East African Literature Bureau*, Nairobi.
- [129] Akabue P, Mittal GC. (1982) Clinical evaluation of a traditional herbal practice in Nigeria: a preliminary report. *Journal of Ethnopharmacology*, **6**, 355-359.
- [130] Fernandez de la Pradilla C. (1982) *Plantes Medicinales contre les hepatitis: 51 especes tropicales*. Ed. Librairie Jeunesse d'Afrique, Ouagadougou, 61.
- [131] Fernandez de la Pradilla C. (1982) *Plantes Medicinales vendue sur les marches de Ouagadougou*. Ed. Librairie Jeunesse d'Afrique, Ouagadougou, 22.
- [132] Maduabunyi W. (1995) Anti-hepatotoxic and trypanocidal activities of the ethanolic extract of *Nauclea latifolia* root bark. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, **3**, 23-53.
- [133] Kerharo J. (1974) Historic and ethnopharmacognosic review on the belief and traditional practices in the treatment of sleeping sickness in West Africa. *Bulletin de la Societe medicale d'Afrique noire de langue francaise*, **19**, 217.
- [134] Elujoba AA. (1995) Female infertility in the hands of traditional birth attendants in South-West Nigeria. *Fitoterapia*, **66**, 239-248.
- [135] Asubiojo OI, Guinn VP, Okunuga A. (1982) Multi-element analysis of Nigerian chewing sticks by Instrumental Neuron Activation Analysis. *Journal of Radioanalytical Chemistry*, **74**, 149-156.
- [136] Lamidi ME, Oliver R, Faurel L, Debrauwer L, Nze E, Balandsard G. (1995) Quinovic acid glycosides from *Nauclea diderichii*. *Planta Medica*, **61**, 280-281.
- [137] Iwuoke AV, Nwodo OFC, Ojiako OA, Okwu GN, Nwogu LA, Igwe CU. (2010) Modification of lipid peroxidation and oxidative stress in hepatocytes of diabetic rats treated with root extract of *Sarcocephalus latifolius* and *Daniella oliveri*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **4**, 3578-3584.
- [138] Ayeleso AO, Oguntibeju OO, Brooks NL. (2014) *In vitro* study on the antioxidant potentials of the leaves and fruits of *Nauclea latifolia*. *Scientific World Journal*, 437081/1-437081/9.
- [139] Abbah J, Amos S, Chindo B, Ngazal I, Vongtau HO, Adzu B, Farida T, Odutola AA, Wambebe C, Gamaniel KS. (2010) Pharmacological evidence favouring the use of *Nauclea latifolia* in malaria ethnopharmacy: effects against nociception, inflammation, and pyrexia in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **127**, 85-90.
- [140] Gidado A, Ameh DA, Atawodi SE, Ibrahim S. (2008) Hypoglycaemic activity of *Nauclea latifolia* Sm. (Rubiaceae) in experimental animals. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, **5**, 201-208.
- [141] Ngo Bum E, Taive GS, Moto FCO, Ngoupaye GT, Nkanchoua GCN, Pelanken MM, Rakotonirina SV, Rakotonirina A. (2009) Anticonvulsant, anxiolytic, and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* Smith in mice. *Epilepsy & Behavior*, **15**, 434-440.
- [142] Fadipe LA, Haruna K, Mohammed I, Ibikunle GF. (2013) Phytochemical and *in-vitro* antibacterial evaluation of the extracts, portions and sub-portions of the ripe and unripe fruits of *Nauclea latifolia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**, 629-636.
- [143] Eze O, Sunday EO. (2014) Phytochemical and nutrient evaluation of the leaves and fruits of *Nauclea latifolia* (Uvuru-ilu). *Communications in Applied Sciences*, **2**, 8-24.
- [144] Deeni Y, Hussain H. (1991) Screening for antimicrobial activity and for alkaloids of *Nauclea latifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, **35**, 91-96.
- [145] Abreu P, Pereira A. (1998) A new indole alkaloid from *Sarcocephalus latifolius*. *Heterocycles*, **48**, 885-891.
- [146] Abreu P, Pereira A. (2001) New indole alkaloids from *Sarcocephalus latifolius*. *Natural Product Letters*, **15**, 43-48.
- [147] Abreu P, Pereira A, Relva A. (2001) Characterisation of a sugar fraction from *Sarcocephalus latifolius* stem bark extract. *Carbohydrate Polymers*, **45**, 155-160.
- [148] Bah S, Jager AK, Adersen A, Diallo D, Paulsen BS. (2007) Antiplasmodial and GABA(A)-benzodiazepine receptor binding activities of five plants used in traditional medicine in Mali, West Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, **110**, 451-457.
- [149] Lawal RA, Ozaslan MD, Odesanmi OS, Karagoz ID, Kilic IH, Ebuhi OAT. (2013) Cytotoxic and antiproliferative activity of *Securidaca longepedunculata* aqueous extract on Ehrlich ascites carcinoma cells in Swiss albino mice. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, **5**, 19-27.
- [150] Dibwe DF, Awale S, Kadota S, Tezuka Y. (2012) Damnacanthol from the Congolese medicinal plant *Garcinia huiensis* has a potent preferential cytotoxicity against human pancreatic cancer PANC-1 Cells. *Phytotherapy Research*, **26**, 1920-1926.
- [151] Ndamitso MM, Mohammed A, Jimoh TO, Idris S, Oyeleke SB, Etsuyankpa MB. (2013) Phytochemical and antibacterial activity of *Securidaca longepedunculata* on selected pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, **7**, 5652-5656.
- [152] Adebisi RA, Elsa AT, Agaie BM, Etuk EU. (2006) Antinociceptive and antidepressant like effects of *Securidaca longepedunculata* root extract in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **107**, 234-239.
- [153] Ojewole JAO. (2008) Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic effects of *Securidaca longepedunculata* (Fresen.) [Polygalaceae] root-bark aqueous extract. *Inflammopharmacology*, **16**, 174-181.
- [154] Adeyemi OO, Akindele AJ, Yemitan OK, Aigbe FR, Fagbo FI. (2010) Anticonvulsant, anxiolytic and sedative activities of the aqueous root extract of *Securidaca longepedunculata* Fresen. *Journal of Ethnopharmacology*, **130**, 191-195.
- [155] Dapar LP, Maxwell AJC, Wannang NN, Gyang SS, Tanko NM. (2007) The histopathologic effects of *Securidaca longepedunculata* on heart, liver, kidney, and lungs of rats. *African Journal of Biotechnology*, **6**, 591-595.
- [156] Keshobo DL, Choudhury MK, Dekebo AH. (2014) Investigation on toxicity, hypoglycemic effect of the root barks of *Securidaca longepedunculata* Fresen (Polygalaceae) and determination of heavy metals in it. *Annals of Biological Research*, **5**, 15-19.
- [157] Dibwe D, Awale S, Kadota S, Morita H, Tezuka Y. (2013) Hepta-oxygenated xanthenes as anti-austerity agents from *Securidaca longepedunculata*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **21**, 7663-7668.
- [158] Dibwe D, Awale S, Kadota S, Tezuka Y. (2012) Muchimangins A-D: novel diphenylmethyl-substituted xanthenes from *Securidaca longepedunculata*. *Tetrahedron Letters*, **53**, 6186-6190.
- [159] Dibwe D, Awale S, Kadota S, Morita H, Tezuka Y. (2014) Muchimangins E and F: novel diphenylmethyl-substituted xanthenes from *Securidaca longepedunculata*. *Tetrahedron Letters*, **55**, 1916-1919.
- [160] Dibwe D, Awale S, Kadota S, Morita H, Tezuka Y. (2014) Muchimangins G-J, fully substituted xanthenes with a diphenylmethyl substituent, from *Securidaca longepedunculata*. *Journal of Natural Products*, **77**, 1241-1244.
- [161] Dibwe D, Awale S, Kadota S, Morita H, Tezuka Y. (2014) Two new diphenylmethyl-substituted xanthenes from *Securidaca longepedunculata*. *Natural Product Communications*, **9**, 655-657.
- [162] Mitaine-Offier A-C, Penez N, Miyamoto T, Delaude C, Mirjolet J-F, Duchamp O, Laccaille-Dubois M-A. (2009) Acylated triterpene saponins from the roots of *Securidaca longepedunculata*. *Phytochemistry*, **71**, 90-94.
- [163] Stevenson PC, Dayarathna TK, Belmain SR, Veitch NC. (2009) Bisdesmosidic saponins from *Securidaca longepedunculata* roots: evaluation of deterrence and toxicity to coleopteran storage pests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 8860-8867.
- [164] Komane BM, Olivier EI, Viljoen AM. (2011) *Trichilia emetica* (Meliaceae)-A review of traditional uses, biological activities and phytochemistry. *Phytochemistry Letters*, **4**, 1-9.

- [165] Tchacondo T, Karou SD, Agban A, Bako M, Batawila K, Bawa ML, Gbeassor M, de Souza C. (2012) Medicinal plants use in central Togo (Africa) with an emphasis on the timing. *Pharmacognosy Research*, **4**, 92-103.
- [166] Hage S, Kienlen-Campard P, Octave J-N, Quetin-Leclercq J. (2010) *In vitro* screening on β -amyloid peptide production of plants used in traditional medicine for cognitive disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**, 585-591.
- [167] El Tahir A, Satti GM, Khalid SA. (1999) Antiplasmodial activity of selected Sudanese medicinal plants with emphasis on *Maytenus senegalensis* (Lam.) Exell. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**, 227-233.
- [168] Beroa J, Ganfona H, Jonville M-C, Frédéric M, Gbaguidi F, DeMold P, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J. (2009) *In vitro* antiplasmodial activity of plants used in Benin in traditional medicine to treat malaria. *Journal of Ethnopharmacology*, **122**, 439-444.
- [169] Traore M, Zhai L, Chen M, Olsen CE, Odile N, Pierre GI, Bosco OJ, Robert GT, Christensen SB. (2007) Cytotoxic kurubasch aldehyde from *Trichilia emetica*. *Natural Product Research*, **21**, 13-17.
- [170] Germano MP, D'Angelo V, Sanogo R, Catania S, Alma R, De Pasquale R, Bisignano G. (2005) Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **96**, 227-232.
- [171] Germano MP, D'Angelo V, Biasini T, Sanogo R, De Pasquale R, Catania S. (2006) Evaluation of the antioxidant properties and bioavailability of free and bound phenolic acids from *Trichilia emetica* Vahl. *Journal of Ethnopharmacology*, **105**, 368-373.
- [172] Geyid A, Abebe D, Debella A, Makonnen Z, Abera F, Tekla F, Kebede T, Urga K, Yersaw K, Biza T, Bisrat Haile M, Mulugeta G. (2005) Screening of some medicinal plants of Ethiopia for their anti-microbial properties and chemical profiles. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**, 421-427.
- [173] Sparg SG, van Staden J, Jager AK. (2000) Efficiency of traditionally used South African plants against schistosomiasis. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 209-214.
- [174] Hoet S, Opperdoes F, Brun R, Adjakidje V, Quetin-Leclercq J. (2004) *In vitro* antitrypanosomal activity of ethnopharmacologically selected Beninese plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **91**, 37-42.
- [175] Kamanzi AK, Schmid C, Brun R, Kone MW, Traore D. (2004) Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Cote d'Ivoire. *Journal of Ethnopharmacology*, **90**, 221-227.
- [176] Sutovska M, Franova S, Priseznakova L, Nosalova G, Togola A, Diallo D, Paulsen BS, Capek P. (2009) Antitussive activity of polysaccharides isolated from the Malian medicinal plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, **44**, 236-239.
- [177] Kolaczowski M, Kolaczowska A, Sroda K, Ramalhete C, Michalak K, Mulhovo S, Ferreira MJU. (2010) Substrates and modulators of the multidrug transporter Cdr1p of *Candida albicans* in antifungal extracts of medicinal plants. *Mycoses*, **53**, 305-310.
- [178] Madureira AM, Ramalhete C, Mulhovo S, Duarte A, Ferreira MJU. (2012) Antibacterial activity of some African medicinal plants used traditionally against infectious diseases. *Pharmaceutical Biology*, **50**, 481-489.
- [179] Konate K, Yomalan K, Sytar O, Zerbo P, Brestic M, Van Damme P, Gagnieu P, Barro N. (2014) Free radicals scavenging capacity, antidiabetic and antihypertensive activities of flavonoid-rich fractions from leaves of *Trichilia emetica* and *Opilia amentacea* in an animal model of type 2 diabetes mellitus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 867075, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/867075>.
- [180] Sanogo R. (2001) Medicinal plants traditionally used in Mali for dysmenorrhea. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM/African Networks on Ethnomedicines*, **8**, 90-96.
- [181] Gunatilaka AAL, Bolzani V, Dagne E, Hofmann GA, Johnson RK, McCabe FL, Mattern MR, Kingston DGI. (1998) Limonoids showing selective toxicity to DNA repair-deficient yeast and other constituents of *Trichilia emetica*. *Journal of Natural Products*, **61**, 179-184.
- [182] Diallo D, Paulsen BS, Liljeback THA, Michaelsen TE. (2003) The Malian medicinal plant *Trichilia emetica*, studies on polysaccharides with complement fixing ability. *Journal of Ethnopharmacology*, **84**, 279-287.
- [183] Oryema C, Ziraba RB, Odyek O, Omagor N, Opio A. (2011) Phytochemical properties and toxicity to brine shrimp of medicinal plants in Erute county, Lira district, Uganda. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**, 5450-5457.
- [184] Komane, BM, Olivier, EI, Viljoen, AM. (2011) *Trichilia emetica* (Meliaceae)—A review of traditional uses, biological activities and phytochemistry. *Phytochemistry Letters*, **4**, 1-9.
- [185] Dal Piaz F, Malafronte N, Romano A, Gallotta D, Belisario MA, Bifulco G, Gualtieri MJ, Sanogo R, De Tommasi N, Pisano C. (2012) Structural characterization of tetranortriterpenes from *Pseudocedrela kotschy* and *Trichilia emetica* and study of their activity towards the chaperone Hsp90. *Phytochemistry*, **75**, 78-89.
- [186] Malafronte N, Sanogo R, Vassallo A, De Tommasi N, Bifulco G, Dal Piaz F. (2013) Androstanes and pregnanes from *Trichilia emetica* ssp. *suberosa* J.J. de Wilde. *Phytochemistry*, **96**, 437-442.
- [187] Iboudo DP, Basilio N, Parapini S, Corbett Y, D'Alessandro S, Dell'Agli M, Coghi P, Karou SD, Sawadogo R, Gnoula C, Simpore J, Nikiema JB, Monti D, Bosisio E, Taramelli D. (2013) Antiplasmodial and anti-inflammatory activities of *Canthium henriquetianum* (K. Schum), a plant used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology*, **148**, 763-769.
- [188] Kaou AM, Mahiou-Leddé V, Hutter S, Ainouddine S, Hassani S, Yahaya I, Azas N, Ollivier E. (2008) Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **116**, 74-83.
- [189] Sy GY, Nongonierma RB, Sarr M, Cisse A, Faye B. (2004) Antidiabetic activity of the leaves of *Vernonia colorata* (Willd.) Drake (Compositae) in alloxan-induced diabetic rats. *Dakar Medicine*, **49**, 36-39.
- [190] IjehII, Obidoa O. (2010) Biochemical and histopathological changes in liver of albino rats fed diets incorporated with *Vernonia amygdalina* and *Vernonia colorata* leaves. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, **2**, 285-289.
- [191] Cioffi G, Sanogo R, Diallo D, Romussi G, De Tommasi N. (2004) New compounds from an extract of *Vernonia colorata* leaves with anti-inflammatory activity. *Journal of Natural Products*, **67**, 389-394.
- [192] Sy GY, Cissé A, Nongonierma RB, Sarr M, Mbodj NA, Faye B. (2005) Hypoglycaemic and antidiabetic activity of acetic extract of *Vernonia colorata* leaves in normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **8**, 171-175.
- [193] Kelmanson JE, Jäger AK, van Staden J. (2000) Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **69**, 241-246.
- [194] Guenne S, Ouattara N, Hilou A, Millogo JF, Nacoulma OG. (2011) Antioxidant, enzyme inhibition activities and polyphenol contents of three Asteraceae species used in Burkina Faso traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**, 524-528.
- [195] Adebayo O, Berkoh L, Asamoah E, Mills-Robertson FC. (2012) *In vitro* evaluation of aqueous and ethanolic extracts of *Vernonia colorata* as an antibacterial agent. *International Journal of Current Research and Review*, **4**, 21-27.
- [196] Adebayo OL, Akwasi GS, Confidence A. (2013) *In vitro* antibacterial potential of solvent fractions of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Vernonia colorata* against selected human pathogenic bacteria. *International Journal of Research Ayurveda Pharmacy*, **4**, 865-868.
- [197] Rabe T, Mullholland D, van Staden J. (2002) Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, **80**, 91-94.
- [198] Chukwujekwu JC, Latagan CA, Smith PJ, van Heerden FR, van Staden J. (2009) Antiplasmodial and cytotoxic activity of isolated sesquiterpene lactones from the acetone leaf extract of *Vernonia colorata*. *South African Journal of Botany*, **75**, 176-179.
- [199] Senatore F, Formisano C, Sanogo R. (2004) Essential oil from aerial parts of *Vernonia colorata* Drake and *Vernonia nigritiana* Oliver et Hiern. (Asteraceae) growing wild in Mali. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **7**, 267-274.

Secondary Metabolites from an Actinomycete from Vietnam's East Sea Quyen Vu Thi, Van Hieu Tran, Huong Doan Thi Mai, Cong Vinh Le, Minh Le Thi Hong, Brian T. Murphy, Van Minh Chau and Van Cuong Pham	401
Isolation and Quantification of Pinitol, a Bioactive Cyclitol, in <i>Retama</i> spp. Nuria H. González-Mauraza, Antonio J. León-González, José L. Espartero, Juan B. Gallego- Fernández, Marina Sánchez-Hidalgo and Carmen Martín-Cordero	405
Cytotoxic Activity of Lomatiol and 7-(3'-Hydroxymethyl-3'-methylallyloxy)coumarin Serena Fiorito, Salvatore Genovese, Francesco Epifano, Veronique Mathieu, Robert Kiss and Vito Alessandro Taddeo	407
Hydrolyzable Tannins from Sweet Chestnut Fractions Obtained by a Sustainable and Eco-friendly Industrial Process Margherita Campo, Patrizia Pinelli and Annalisa Romani	409
Chemical Composition of the Essential Oil from the Fresh Fruits of <i>Xylopija laevigata</i> and its Cytotoxic Evaluation Emmanoel Vilaça Costa, Thanany Brasil da Silva, Cinara Oliveira D'Souza Costa, Milena Botelho Pereira Soares and Daniel Pereira Bezerra	417
Compositional and Enantiomeric Analysis of the Essential Oil of <i>Taxodium distichum</i> from India Rajendra C. Padalia, Ram S. Verma, Amit Chauhan, Prakash Goswami and Chandan S. Chanotiya	419
Changes in Volatile Compounds during Aging of Sweet Fennel Fruits-Comparison of Hydrodistillation and Static Headspace Sampling Methods Menče Najdoska-Bogdanov, Jane B. Bogdanov and Marina Stefova	423

Natural Product Communications 2016

Volume 11, Number 3

Contents

Traditional Medicines as Sources of Bioactive Compounds (Guest Editors: Giovanni Vidari and Paola Vita Finzi)

Original Paper

- An Unprecedented High Content of the Bioactive Flavone Tricin in *Huperzia* Medicinal Species Used by the Saraguro in Ecuador**
Chabaco Armijos, Jorge Ponce, Jorge Ramirez, Davide Gozzini, Paola Vita Finzi and Giovanni Vidari 273
- Effect of Three *Centaurea* Species Collected from Central Anatolia Region of Turkey on Human Melanoma Cells**
Alessandra Russo, Venera Cardile, Adriana C.E. Graziano, Daniela Rigano, Abdurrahman Aktumsek, Gokhan Zengin and Felice Senatore 275
- Phenolic Compounds from the Fruits of *Medemia argun*, a Food and Medicinal Plant of Ancient Egypt**
Milena Masullo, Arafá I. Hamed, Usama A. Mahalel, Cosimo Pizza and Sonia Piacente 279
- Vasorelaxant Effect of a *Baccharis trimera* Infusion on Precontracted Rat Aortic Rings**
Maria. A Gómez, Ignacio Migués, Maria Caggiani, Ximena Arias, Mariajose Laprovitera, Fabiana Blanco, Maria Veronica Cesio, Eduardo R. Migliaro and Horacio Heinzen 283
- Compositional Analysis of *Lavandula pinnata* Essential Oils**
Maria Pia Argentieri, Barbara De Lucia, Giuseppe Cristiano and Pinarosa Avato 287

Accounts/Reviews

- Phytochemistry and Ethnopharmacology of Some Medicinal Plants Used in the Kurdistan Region of Iraq**
Hawraz Ibrahim M. Amin, Mohammed F. Ibrahim, Faiq H. S. Hussain, Abdullah Sh. Sardar and Giovanni Vidari 291
- Phytochemistry and Ethnopharmacology of the Ecuadorian Flora. A Review**
Omar Malagón, Jorge Ramírez, José Miguel Andrade, Vladimir Morocho, Chabaco Armijos and Gianluca Gilardoni 297
- Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine**
Olga Lock, Eleucy Perez, Martha Villar, Diana Flores and Rosario Rojas 315
- Medicinal Plants Used in Mali for the Treatment of Malaria and Liver Diseases**
Mahamane Haidara, Geneviève Bourdy, Nunziatina De Tommasi, Alessandra Braca, Korotoumou Traore, Sergio Giani and Rokia Sanogo 339
- A Review of Traditional Medicinal Plants from Kachin State, Northern Myanmar**
Hnin Thanda Aung, Myint Myint Sein, Mya Mu Aye and Zaw Min Thu 353

- A New Iridoid from the Aerial Parts of *Hedyotis pilulifera***
Nguyen Thi Hoai, Ho Viet Duc, Nguyen Dinh Quynh Phu, Takeshi Kodama, Takuya Ito and Hiroyuki Morita 365
- A New Degraded Sesquiterpene from the Twigs of *Trigonostemon lutescens***
Yan-Bo Zeng, Shan-Shan Ma, Zhi-Kai Guo, Bei Jiang, Wen-Li Mei and Hao-Fu Dai 369
- Cytotoxic Compounds from Aerial Organs of *Xanthium strumarium***
Janet Piloto Ferrer, Iris Catiana Zampini, Ana Soledad Cuello, Marbelis Francisco, Aylema Romero, Dayana Valdivia, María Gonzalez, Carlos Salas, Angel Sanchez Lamar and María Inés Isla 371
- Diterpenoids from Leaves of *Rubus chingii***
Jicheng Shu, Yingzheng Huang, Hangqing Cui, Caiying Peng, Jianqun Liu and Huilian Huang 375
- Synthesis of 5,19-(2,6-Dimethylpyridin-4-yl)-trisorlopene and Oleanane**
Elena V. Salimova, Elena V. Tretyakova, Lyudmila V. Parfenova and Victor N. Odinkov 377
- Colochirosides A₁, A₂, A₃, and D, Four Novel Sulfated Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber *Colochirus robustus* (Cucumariidae, Dendrochirotida)**
Alexandra S. Silchenko, Anatoly I. Kalinovsky, Sergey A. Avilov, Pelageya V. Andryjaschenko, Pavel S. Dmitrenok, Vladimir I. Kalinin, Ekaterina A. Yurchenko and Igor Yu. Dolmatov 381
- Cytotoxic Aporphines from *Artabotrys crassifolius***
Tan Kok Kwan, Fiona Shipton, Nadiyah Syafiqah Nor Azman, Shahadat Hossan, Khoo Ten Jin and Christophe Wiart 389
- A Novel Alkaloid Isolated from *Spiranthera atlantica* (Rutaceae)**
Michelle Rodrigues e Rocha, Carolina Passos da Cunha, Raimundo Braz Filho and Ivo J. Curcino Vieira 393
- Comparison of Seeds of *Colchicum speciosum* and *Gloriosa superba* in respect to Colchicine and Colchicoside Contents by RP-LC**
Mehmet Gumustas, Derya Çiçek Polat, Ceyda S. Kılıç, Kemalettin Akalın, Sibel A. Ozkan and Maksut Coşkun 397

Continued inside backcover

**CHAPITRE 2 : SELECTION ET EVALUATION DE
TERMINALIA MACROPTERA GUILL. & PERR.
(COMBRETACEAE) CONTRE LE PALUDISME SIMPLE
ET NEUROLOGIQUE**

1. Contexte et objectifs

Le chapitre précédent nous a permis de recenser 262 espèces utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme en Afrique de l'Ouest plus particulièrement au Mali. De ces 262 espèces nous en avons sélectionné 10, qui, n'ont été que peu étudiée d'un point de vue phytochimique, en particulier pour leur activité antipaludique.

Afin de mettre en évidence le potentiel antipaludique de ces espèces, nous avons tout d'abord procédé à une évaluation des extraits issus de ces espèces, *in vitro* sur une souche de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistante. Par la suite, les extraits présentant une bonne activité ont fait l'objet d'une étude *in vivo* approfondie sur des modèles murins de paludisme simple et neurologique (cérébral). En parallèle la toxicité (toxicité aigue *in vivo* et cytotoxicité *in vitro*) des extraits actifs a été évaluée. Par ailleurs, afin d'approfondir le contexte d'utilisation de l'espèce dont les extraits ont démontré une activité *in vitro*, une enquête ethnopharmacologique a été réalisée auprès des tradipraticiens-herboristes de Bamako.

2. Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal

Les différentes parties des 10 espèces peu étudiées ont été récoltées en août 2015 à Siby dans le cercle de Kati puis identifiées par Monsieur Seydou Dembélé, ingénieur forestier au Département de Médecine Traditionnelle (DMT) de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de Bamako au Mali. Un échantillon d'herbier de chaque espèce est disponible dans l'herbier du DMT. Ces espèces médicinales et les parties sélectionnées sont présentées dans le tableau 7.

2.2 Matériel biologique

- ***Plasmodium falciparum* FcB1** : souches chloroquino-résistantes fournies par le laboratoire de PHARMA-DEV de Toulouse.
- **Sang humain** : fourni par l'établissement français du Sang - EFS, Toulouse, France.
- **Les cellules VERO monkey** : cellules normales adhérentes de rein de singe (*Cercopithecus aethiops*) fournies par le laboratoire de PHARMA-DEV de Toulouse.
- ***Plasmodium chabaudi chabaudi* (Pcc)** : parasite murin à l'origine d'un paludisme non compliqué chez les souris albinos qui sont naturellement résistantes à l'infection par Pcc.

Le modèle est caractérisé par un pic de parasitémie d'environ 40 % 7 à 10 jours post-infection suivi d'une guérison spontanée.

- ***Plasmodium berghei anka* (Pba)** : parasite murin à l'origine d'unneuropaludisme chez les souris albinos. L'infection des souris albinos avec Pba conduit à la mort des souris non traitées 7 à 10 jours après l'infection avec une parasitémie atteignant 10 – 20 % et l'apparition de signes d'atteinte neurologique 5 à 7 jours après l'infection.

2.3 Matériel animal et déclaration d'éthique

Les souris albinos Swiss (26– 33 g) des deux sexes ont été fournies par l'animalerie du DMT / INRSP de Bamako (Mali) et l'animalerie de l'unité de recherche PHARMADEV de Toulouse (France). Les animaux ont été maintenus dans des conditions standards et constantes de laboratoire (23-25 °C et des cycles lumière / obscurité de 12 h) avec un accès libre à la nourriture et à l'eau de robinet.

Les exigences en matière de bien-être des animaux ont été strictement prises en compte lors des études expérimentales utilisant des animaux. L'autorisation et l'approbation du comité d'éthique de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) à Bamako (Mali) et du Comité d'éthique des expérimentations animales de Midi-Pyrénées à Toulouse (France) ont été obtenues pour des études expérimentales utilisant des animaux avec des numéros de permis 24/2016 / CE-INRSP et APAFIS#5921-2016070118008477 v3 respectivement pour Bamako et Toulouse.

2.4 Préparations des extraits et des fractions

Les organes des espèces collectées ont été séchés à l'ombre pendant deux semaines puis broyés en poudre. La poudre de chaque échantillon (250 g) a été macérée avec 1 L d'éthanol (90 %). Les macérés ont été filtrés après 24 h et les résidus ont été repris avec 1 L d'éthanol (90 %). Cette opération a été répétée trois fois. Les filtrats ont été combinés et évaporés sous vide à sec.

Les extraits actifs (15 g) ont été repris dans 600 ml d'eau distillée. Les solutions aqueuses ont été soumises à des partitions liquide-liquide successives en présence d'hexane (3x 300 mL), de dichlorométhane (3 x 300 mL) et d'acétate d'éthyle (3 x300 mL). Les fractions (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle) ont été évaporées à sec à 40°C en utilisant un rotavapor. La phase aqueuse a été concentrée au rotavapor à 40°C puis lyophilisée.

Les étapes du partage liquide – liquide sont présentées dans la figure 5.

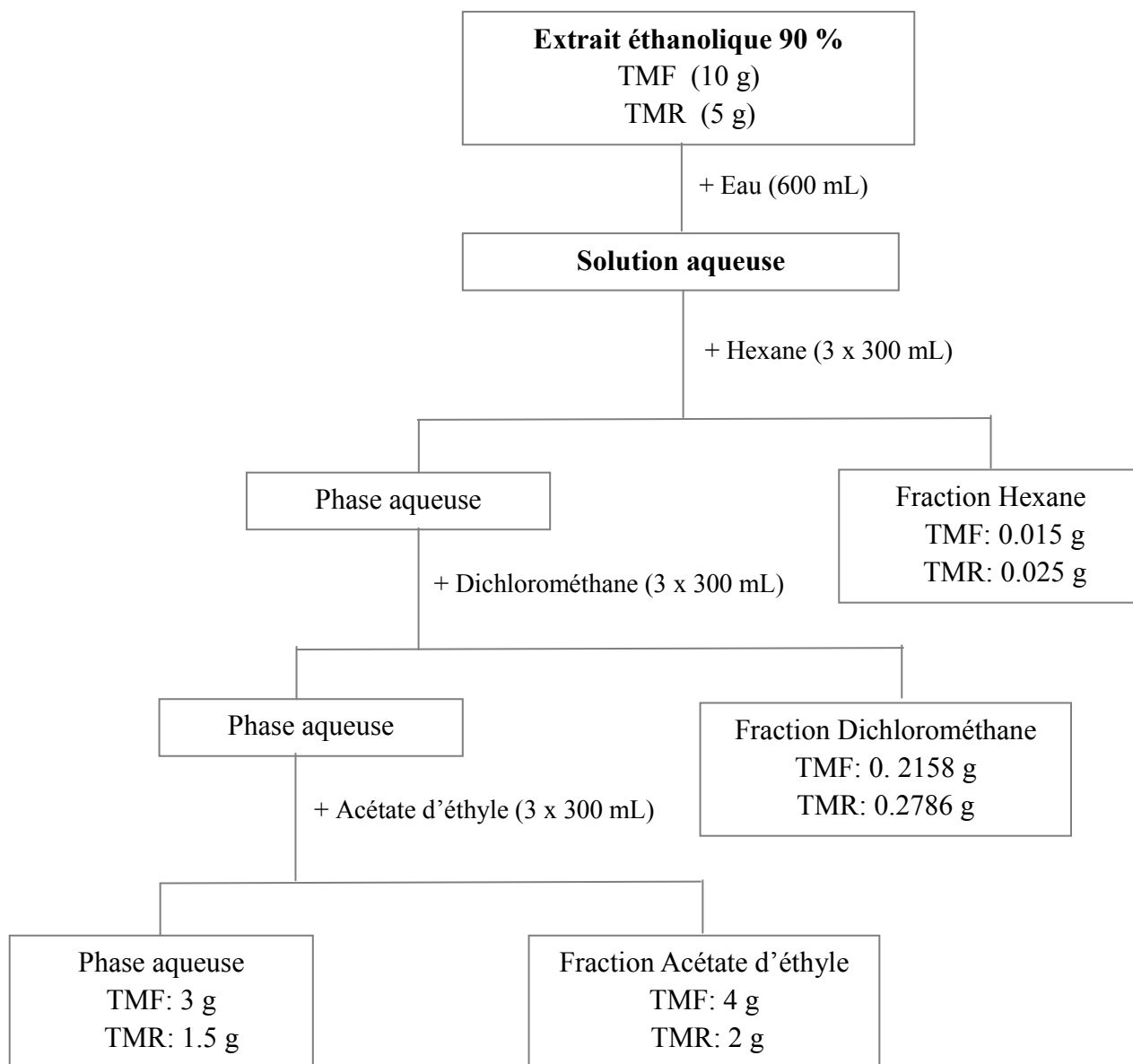


Figure 5 : Schéma du fractionnement des extraits éthanologiques 90% des feuilles (TMF) et des racines (TMR) de *Terminalia macroptera*.

2.5 Culture cellulaire des cellules VERO

Les cellules VERO ont été maintenues en culture respectivement dans le milieu MEM (modified Eagle's medium) supplémenté avec de la L-glutamine à 200 µM final, 10 % de sérum de veau, pénicilline (100 unités/mL) et de la streptomycine (100 µg/mL). La culture a été réalisée dans des flacons de culture de 25 – 75 mL et maintenue en atmosphère humide dans une étuve à 37°C contenant 5 % de CO₂. Le milieu de culture était renouvelé trois fois par semaine.

2.6 Culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum*

Les souches de *Plasmodium falciparum* FcB1 chloroquino-résistantes ont été utilisées dans ce travail. Le stade intracellulaire asexué de *P. falciparum* FcB1 était maintenu en culture dans le milieu RPMI 1640 contenant de la L-glutamine à 200 µM final, HEPES 25 mM final et 5 % de sérum humain (Etablissement français du Sang - EFS, Toulouse, France) selon la technique de culture décrite par Trager et Jensen (Trager et Jensen, 1976). La culture a été réalisée dans des flacons de culture de 25 – 75 mL et maintenue en atmosphère humide dans une étuve à 37 °C contenant 5 % de CO₂. Le milieu de culture était renouvelé quotidiennement.

2.7 Test de cytotoxicité

La cytotoxicité des extraits les plus actifs a été évaluée sur des cellules VERO en utilisant le test MTT selon la méthode décrite par Mahlo *et al.* (Mahlo *et al.*, 2013). Le test MTT repose sur la capacité de la succinate déshydrogénase mitochondriale à précipiter le sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium) en cristaux. Les cristaux intracellulaires de formazan violets sont ensuite dissous dans du DMSO et révélés par lecture de DO (A_{570 nm}).

L'intensité de cette coloration est proportionnelle au nombre de cellules vivantes présentes lors du test mais aussi à leur activité métabolique. Une gamme étalon basée sur un nombre connu de cellules a été réalisée en parallèle de chaque expérience.

Les cellules VERO ont étéensemencées à la densité de 1x10⁵ cellules/ml (100 µL) dans des plaques 96 puits puis incubées dans une étuve à 37°C avec 5 % de CO₂. Vingt-quatre heures après, différentes concentrations des extraits ont été ajoutés dans chaque puits contenant les cellules.

Le triton 1 % (détergent qui lyse les cellules) a été utilisé comme contrôle positif et le méthanol 0,5 % comme contrôle négatif. Après 48 heures en présence des extraits, le milieu a été retiré puis 100 µL de MTT (0,5 mg/mL in PBS) ont été ajoutés dans chaque puits. Les plaques ont été incubées à l'étuve à 37 °C avec 5 % de CO₂ pendant 4 heures.

Le DMSO (100 µL) a été ajouté dans chaque puits pour solubiliser les cristaux de formazan formés. L'absorbance a été mesurée à 570 nm sur un lecteur de microplaque de marque BioTek Synergy. Le pourcentage d'inhibition de la croissance cellulaire a été calculé sur la base d'une comparaison avec des cellules non traitées selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de la croissance cellulaire} = \frac{(AC - AT) \times 100}{AC}$$

Où AC indique la moyenne des absorbances dans les puits traités par le méthanol 0,5 % et AT la moyenne des absorbances dans les puits traités par les extraits.

La concentration cytotoxique 50 (CC₅₀) a été calculée en utilisant un programme de régression non linéaire sur le logiciel Graph Pad Prism.

Indice de sélectivité

L'indice de sélectivité (IS) correspondant au rapport entre les activités cytotoxiques et antiparasitaires de chaque extrait et a été calculé comme suit:

$$IS = \frac{CC50 \text{ (VERO)}}{CI50 \text{ (} P. \textit{falciparum} \text{ FcB1)}}$$

2.8 Evaluation de l'activité antiplasmodiale *in vitro*

L'activité antiplasmodiale des extraits et des fractions a été évaluée sur des souches de *Plasmodium falciparum* FcB1 en utilisant la méthode de fluorescence SYBR Green I (Smilkstein et al., 2004).

2.9 Evaluation de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë a été évaluée sur des souris femelles en utilisant les lignes directrices de l'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE, 2001)

2.10 Evaluation de l'activité antiplasmodiale *in vivo*

L'évaluation de l'activité antiplasmodiale des extraits a été réalisée dans le laboratoire Pharma-Dev de Toulouse, France, sur des souris albinos Swiss infectées par *Plasmodium chabaudi chabaudi* (Pcc) et *Plasmodium berghei anka* (Pba) selon le test de suppression de 4 jours décrit par Knight et Peters (Knight et Peters, 1980).

2.11 Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm DS (Déviation standard) et analysés en utilisant le logiciel Graph Pad Prism version 6. Les comparaisons ont été effectuées par une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie de la méthode de comparaison multiple de Bonferroni-Dunnnett. Les différences étaient considérées significatives si $p < 0.05$

2.12 Enquêtes ethnopharmacologique auprès des tradipraticiens herboristes de Bamako

Une enquête a été menée auprès des tradipraticiens-herboristes (TH) du marché Médina Coura à Bamako du 27 décembre 2016 – au 03 janvier 2017 dans le but de faire une étude nosologique sur les pathologies regroupées sous le terme de *sumaya* (en langue bamanan) et de déterminer le contexte d'utilisation de *Terminalia macroptera*. Les TH ont été interviewés en utilisant un questionnaire (Voir annexe 3) semi-structuré. Les interviews ont été réalisées directement en langue bamanan, l'une des langues locales du Mali.

Le questionnaire administré était constitué de plusieurs parties :

- **La première partie** du questionnaire recueillait les données sociodémographiques (nom, âge, sexe, groupe ethnique) des TH.
- **La deuxième partie** visait à définir et à mieux caractériser le terme *sumaya*. Les TH ont été invités à parler librement de ce problème de santé, à décrire ses différentes manifestations et ses symptômes cliniques, les méthodes de diagnostic utilisées, les traitements utilisés et à donner toutes les informations qui leur paraissaient pertinentes.
- **Dans la troisième partie**, il était demandé aux TH de lister et de nous montrer les espèces utilisées pour traiter *sumaya*.
- **La quatrième partie** portait sur *Terminalia macroptera* et plus spécifiquement sur les usages de cette espèce que les tradipraticiens connaissaient.

Toutes les plantes citées par les TH ont été achetées pour faire un échantillon d'herbier. Une identification préliminaire a été faite sur place par N'golo Ballo, technicien forestier du DMT/INRSP de Bamako, Mali, et l'identification de chaque échantillon a été confirmée par comparaison avec des spécimens de référence dans l'herbier du DMT/INRSP. Les dénominations latines ont été vérifiées avec The Plant List (<http://www.theplantlist.org/>). Toutes les données ont d'abord été enregistrées manuellement puis avec le logiciel Excel.

3. Résultats

3.1 Activité antiplasmodiale *in vitro*

Quinze extraits éthanoliques ont été préparés et testés *in vitro* sur une souche de *Plasmodium falciparum* (Pf) FcB1. Selon la classification de Deharo *et al.*, (2001), lorsque la CI_{50} d'un extrait brut de plante est :

- inférieure à 5 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait peut être considéré comme actif,
- comprise entre 5 – 10 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait peut être considéré comme modérément actif
- supérieure à 10 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait peut être considérée comme inactif.

A partir de cette classification, les extraits éthanoliques provenant des feuilles ($CI_{50} = 1.2 \mu\text{g/mL}$) et des racines (1.6 $\mu\text{g/mL}$) de *Terminalia macroptera* peuvent être considérés comme actifs sur la souche de Pf-FcB1. L'extrait éthanolique des écorces de tronc de *Terminalia macroptera* avec une CI_{50} de 10 $\mu\text{g/mL}$ peut être considéré comme modérément actif sur les souches de Pf-FcB1. Douze extraits peuvent être considérés comme inactifs avec des $CI_{50} > 10 \mu\text{g/mL}$ (Voir tableau 7).

Tous les extraits, exception faite de ceux de *Terminalia macroptera*, se sont révélés inactifs dans ce test. Les extraits éthanoliques provenant des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* ont donc été sélectionnés pour des études de fractionnement, de toxicité *in vitro* et *in vivo* et pour être évalués sur des modèles murins *in vivo* de paludisme simple et neuropaludisme.

Pour les deux organes, la meilleure activité antiplasmodiale a été obtenue avec la fraction acétate d'éthyle. La CI_{50} était de 6.5 $\mu\text{g/ml}$ pour les feuilles et 1 $\mu\text{g/mL}$ pour les racines) (Voir tableau 8).

3.2 Toxicité *in vitro* (cytotoxicité)

Les extraits éthanoliques des feuilles et des racines ont montré une faible cytotoxicité sur des cellules VERO avec une CC_{50} de 118.2 et 128 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. L'indice de sélectivité contre *Plasmodium falciparum* FcB1 était de 98.5 et 80 respectivement.

3.3 Toxicité *in vivo*

Les extraits éthanoliques des feuilles et des racines administrés par gavage à la dose de 2000 mg/kg chez des souris albinos n'ont pas provoqué de mortalité. La dose létale 50 (DL50) par voie orale pour ces extraits est donc supérieure à 2000 mg/kg chez la souris albinos Swiss.

Ainsi les doses à administrer pour les tests pharmacologiques *in vivo* ont été définies selon cette marge de sécurité d'emploi en choisissant des doses correspondantes au 1/20 ; 1/10 et 1/5 de 2 g/kg soit 100, 200 et 400 mg/kg.

3.4 Activité antiplasmodiale *in vivo*

Les extraits éthanoliques des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* administrés per os ont significativement réduit la parasitémie (37.2 % et 46.4 % respectivement) chez les souris infectées par *Plasmodium chabaudi chabaudi* au septième jour de l'infection comparativement aux souris non traitées. Ces traitements ont également permis d'améliorer la survie des souris infectées par *P. berghei anka* avec 50 à 66.6 % de survie respectivement au jour 9 post-infection avec les feuilles et les racines.

3.5 Enquête ethnopharmacologique auprès des tradipraticiens-herboristes (TH)

Quinze TH ont été interviewés, comprenant 9 hommes et 6 femmes. La majorité des TH étaient des Bambaras (53.3 %), suivis par les Dogons (13.3 %), les Forgerons, les Minyankas, les Peulhs, les Semous et les Somonos (6.7 % chacun).

3.5.1 Perception de *Sumaya*

Selon les TH, *sumaya* est un terme général, englobant différentes formes de paludisme, chacune se caractérisant par un ensemble de symptômes (voir figure 6). Dans le langage courant, le terme de bamanan de *sumaya* est traduit en français par paludisme. Les TH ont cités cinq formes de *sumaya* :

- ***Sumaya fitini* (petit)** : caractérisé par la fièvre (80.0 % des répondants), des maux de tête (53.3 %), vomissements (53.3 %), frissons (40.0 %), manque d'appétit et diarrhée (20.0 %), raideur et vertiges (13.3 %).
- ***Sumaya blen* (rouge)** : caractérisé par des signes d'ictère accompagnés ou non de fièvre.
- ***Sumaya jε* (blanc)** : caractérisé par des signes d'anémie accompagnés ou non de fièvre.
- ***Sumaya ba* (grand)** : caractérisé par une rigidité corporelle et/ou des convulsions accompagnées ou non de fièvre.
- ***Sumaya fima* (noir)** : caractérisé par une insomnie sévère persistante et des cauchemars accompagnés ou non de fièvre.

Selon les TH, ces manifestations peuvent survenir suite à une crise de *sumaya fitini* qui n'a pas été correctement traitée.

3.5.2 Traitement de *sumaya*

Au cours de cette enquête, les TH ont cité 25 espèces, parmi les plus fréquemment utilisées pour le traitement de toutes les formes de *sumaya* plus particulièrement de *sumaya fitini*. Ces espèces appartiennent à 14 familles dont les plus représentées sont les Leguminosae (6 espèces, 24 %) et les Combretaceae (5, 20 %). Les espèces les plus fréquemment citées sont : *Mitragyna inermis* (9 citations, 36%) suivie par *Entada africana* (6, 24 %), *Anogeissus leiocarpa* (5, 20.8 %), *Combretum micranthum* (5, 20.8 %) et *Sarcocephalus latifolius* (4, 16 %) (Voir tableau 9).

3.5.3 Utilisations de *Terminalia macroptera*

Selon les TH, *Terminalia macroptera* est utilisée plus spécifiquement lorsqu'il y a une manifestation de *sumaya blen*, dans le traitement des ictères, comme cicatrisant dans le cas de plaies, dans les conjonctivites et les vulvovaginites. Différentes parties de la plante peuvent être utilisées mais les feuilles et les écorces sont les plus fréquemment utilisées. La décoction et la macération sont les principales formes d'utilisation et l'administration se fait par voie orale, ou en application locale.

En ce qui concerne le traitement de *sumaya blen* et des ictères, diverses recettes ont été recommandées :

➤ **Pour les feuilles :**

- Seules en décoction : la décoction est administrée par voie orale une fois/jour jusqu'à guérison.
- En décoction, mélangées avec les racines de la même plante, les racines de *Cochlospermum tinctorium* Perrier ex A.Rich., les feuilles de *Combretum micranthum* G.Don et les feuilles de *Psidium guajava* L.: la décoction est administrée par voie orale et un massage corporel une fois/jour jusqu'à guérison.

➤ **Pour les écorces de tronc :**

- Seules en décoction : la décoction est administrée par voie orale, en bain de vapeur et en bain corporel une fois/jour jusqu'à guérison.
- En décoction, mélangées avec les racines de cette même plante. La décoction est administrée par voie orale une fois/jour jusqu'à guérison

➤ **Pour les racines :** elles sont utilisées en décoction par voie orale une fois/jour pendant une semaine ou jusqu'à guérison.

➤ **Pour les écorces de racines :**

- Seules en décoction par voie orale une fois/jour ou jusqu'à guérison.
- Mélangées avec quelques morceaux de fruit de *Parkia biglobosa* (Jacq.) G.Don. La poudre est administrée par voie orale deux fois/jour jusqu'à guérison.

Tableau 7: Activité antiplasmodiale et cytotoxique *in vitro* des extraits éthanoliques des dix plantes sélectionnées sur Pf-FcB1 et les données reportées dans la littérature

N° Herbier	Nom scientifique (Famille)	Nos résultats						Résultats reportés dans la littérature				
		Partie testée	Extrait	Rendement (%)	CI ₅₀ (µg/mL) (FcB1)	CC ₅₀ (µg/mL) (Vero)	IS	Extrait	CI ₅₀ (µg/mL) et souche de Pf	CC ₅₀ (µg/mL) et (lignée cellulaire)	IS	Référence
3760/DMT	<i>Bauhinia reticulata</i> DC. (Leguminosae)	Feuilles	Ethanol 90%	18.5	> 50			-	-	-	-	Non rapportée
3756/DMT	<i>Burkea africana</i> Hook. (Leguminosae)	Feuilles	Ethanol 90%	22.9	> 50							Non rapportée
		Ecorces de tronc	Ethanol 90%	28.9	> 50							Non rapportée
3754/DMT	<i>Cordyla pinnata</i> (A.Rich.) Milne-Redh. (Leguminosae)	Feuilles	Ethanol 90%	12.5	> 50			-	-	-	-	Non rapportée
		Ecorces de tronc	Ethanol 90%	11	> 50			-	-	-	-	Non rapportée
3762/DMT	<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. ex A.DC. (Ebenaceae)	Feuilles	Ethanol 90%	12.8	> 50			Ethanol 70%	24,9 (K1)	> 64 (MRC-5)	> 2.6	Traoré et al., 2014
3763/DMT	<i>Feretia apodanthera</i> Delile (Rubiaceae)	Ecorces de tronc	Ethanol 90%	10.4	> 50			Eau	9,54 (K1)			Diallo et al., 2007
3746/DMT	<i>Hymenocardia acida</i> Tul. (Phyllanthaceae)	Feuilles	Ethanol 90%	16.5	> 50			Hexane	33,1 (K1)	33,2 (MRC-5)	1	Traoré et al., 2014
37564/DMT	<i>Opilia amentacea</i> Roxb. (Opiliaceae)	Feuilles	Ethanol 90%	15.4	> 50			Dichlorométhane	2,8 (K1) 4,01 (K1)		17.4	Sanon et al., 2013 Diallo et al., 2007
3750/DMT	<i>Psydrax acutiflora</i> (Hiern) Bridson (Rubiaceae)	Feuilles	Ethanol 90%	37.8	> 50			Dichlorométhane	6,07 (K1)	-	-	Diallo et al., 2007
3752/DMT	<i>Terminalia macroptera</i> Guil. & Perr. (Combretaceae)	Racines	Ethanol 90%	14	1.6	128	80	Eau	1 (W2)			Sanon et al., 2003
		Feuilles	Ethanol 90%	17.6	1.2	118.2	98.5	Ethanol 70%	6,8 (K1)	> 64 (MRC-5)	> 9.3	Traoré et al., 2014
		Ecorces de tronc	Ethanol 90%	14.4	10			-	-	-	-	Non rapportée
3765/DMT	<i>Vitex madiensis</i> Oliv. (Lamiaceae)	Ecorces de tronc	Ethanol 90%	7.2	> 50			Dichlorométhane	2,36 (FCB)	431 (MRC-5)	182,6	Ondo et al., 2012
		Feuilles	Ethanol 90%	7,2	23			Cyclohexane	2,69 (FCB)	92,3 (MRC-5)	34,3	Ondo et al., 2012
Contrôle positif			Chloroquine		60 ng/ml							

Tableau 8 : Activité antiplasmodiale *in vitro* des extraits éthanoliques 90 % et des fractions des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* sur la souche de Pf-FcB1

Extraits	Rendement (%)	CI ₅₀ (µg/ml)
Feuilles		
Extraits brut (éthanol 90 %)		1.2
Fraction hexane	0,1	> 25
Fraction dichlorométhane	2,2	> 25
Fraction acétate d'éthyle	36,6	6.5
Fraction eau	39,5	9
Racines		
Extrait brut (éthanol 90 %)		1.6
Fraction hexane	0,3	> 25
Fraction dichlorométhane	5,6	16
Fraction acétate d'éthyle	28,07	1
Fraction eau	32,0	10
Chloroquine		60 ng/ml

Tableau 9 : Espèces les plus fréquemment citées par les TH du marché de Médina Coura à Bamako pour traiter *sumaya* et les symptômes associés

N° Herbar	Nom scientifique (Famille)	Partie utilisée	Mode de préparation	Voie d'administration	Nombre de citation
3782/DMT	<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	Feuilles et écorces de tronc	Décoction	Orale et bain	9
3775/DMT	<i>Entada africana</i> Guill. & Perr. (Leguminosae)	Racines et écorces de tronc	Décoction	Orale et bain	6
3768/DMT	<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae)	Feuilles et écorces de tronc	Décoction	Orale	5
3773/DMT	<i>Combretum micranthum</i> G.Don (Combretaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	5
3787/DMT	<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A.Bruce (Rubiaceae)	Feuilles, racines et écorces de tronc	Macération	Orale	5
3771/DMT	<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel. (Combretaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	4
3786/DMT	<i>Cassia sieberiana</i> DC. (Leguminosae)	Feuilles et racines	Décoction	Orale	3
3778/DMT	<i>Combretum adenogonium</i> Steud. ex A.Rich. (Combretaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	3
3772/DMT	<i>Pentanema indicum</i> (L.) Ling (Compositae)	Partie aérienne	Décoction	Orale	3
3789/DMT	<i>Tamarindus indica</i> L. (Leguminosae)	Feuilles	Décoction	Orale	3
3790/DMT	<i>Trichilia emetica</i> Vahl (Meliaceae)	Feuilles et écorces de tronc	Décoction	Orale et bain	3

Tableau 9 : Espèces les plus fréquemment citées par les TH du marché de Médina Coura à Bamako pour traiter *sumaya* et les symptômes associés.

N° Herbarier	Nom scientifique (Famille)	Parties utilisé	Mode de préparation	Voie d'administration	Nombre de citation
3769/DMT	<i>Flueggea virosa</i> (Roxb. ex Willd.) Royle (Phyllanthaceae)	Feuilles	Décoction	Orale et bain	2
3783/DMT	<i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae)	Feuilles	Décoction	Orale et bain	1
3791/DMT	<i>Boscia angustifolia</i> A.Rich. (Capparaceae)	Feuilles et écorces de tronc	Décoction	Orale	1
3776/DMT	<i>Cuminum cyminum</i> L. (Apiaceae)	Graines	Décoction	Orale	1
3777/DMT	<i>Erythrina senegalensis</i> DC. (Leguminosae)	Feuilles, racines et écorces de tronc	Décoction	Orale et bain	1
3770/DMT	<i>Hymenocardia acida</i> Tul.(Phyllanthaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	1
3785/DMT	<i>Landolphia heudelotii</i> A.DC. (Apocynaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	1
3792/DMT	<i>Maerua oblongifolia</i> (Forssk.) A.Rich. (Capparaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	1
3788/DMT	<i>Opilia amentacea</i> Roxb. (Opiliaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	1
3780/DMT	<i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) G.Don (Leguminosae)	Ecorces de tronc	Décoction	Orale	1
3784/DMT	<i>Pennisetum pedicellatum</i> Trin. (Poaceae)	Feuilles	Décoction	Orale	1
3779/DMT	<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link (Leguminosae)	Plante entière ou feuilles	Décoction	Orale	1
3781/DMT	<i>Ximenia americana</i> L. (Olacaceae)	Feuilles, racines et écorces de tronc	Décoction	Orale et bain	1
3774/DMT	<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A.Rich. (Annonaceae)	Fruits	Décoction	Orale	1

Tableau 10: Activité antiplasmodiale *in vitro* ($CI_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$) des cinq espèces les plus fréquemment citées par les TH.

Nom scientifique (Famille)	Parties utilisée	Solvant d'extraction	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) / Souche de Pf utilisée	Référence
<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae)	Feuilles	Méthanol	4.9 / PW2	Gansané et al., 2010
		Dichlorométhane	3.8 / K1	Vonthron-Sénécheau et al., 2003
	Racines	Méthanol	2.6 / FcB1	Okpekon et al., 2004
		Dichlorométhane	2.6 / FcB1	
	Ecorces	Méthanol	4.8 / FcB1	
<i>Combretum micranthum</i> G.Don (Combretaceae)	Tige feuillue	Eau	1.18 / FcB1	Soh et Benoit-Vical, 2007
			1.7 / Pf-F32	
<i>Entada africana</i> Guill. & Perr. (Leguminosae)	-	-	-	Pas de rapport
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	Feuilles	Chloroforme	4.36 / W2	Soh et Benoit-Vical, 2007
			4.82 / 3D7	
	Racines	Alcaloïdes	2.61 / EHI	Serge et al., 2012
Alcaloïdes		2.35 / EHI		
<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A.Bruce (Rubiaceae)	Racines	Eau	0,6 / FcB1	Soh et Benoit-Vical, 2007
	Tige	Eau	1.3 / FcB1	

*EHI : Erythrocytes humains infectés

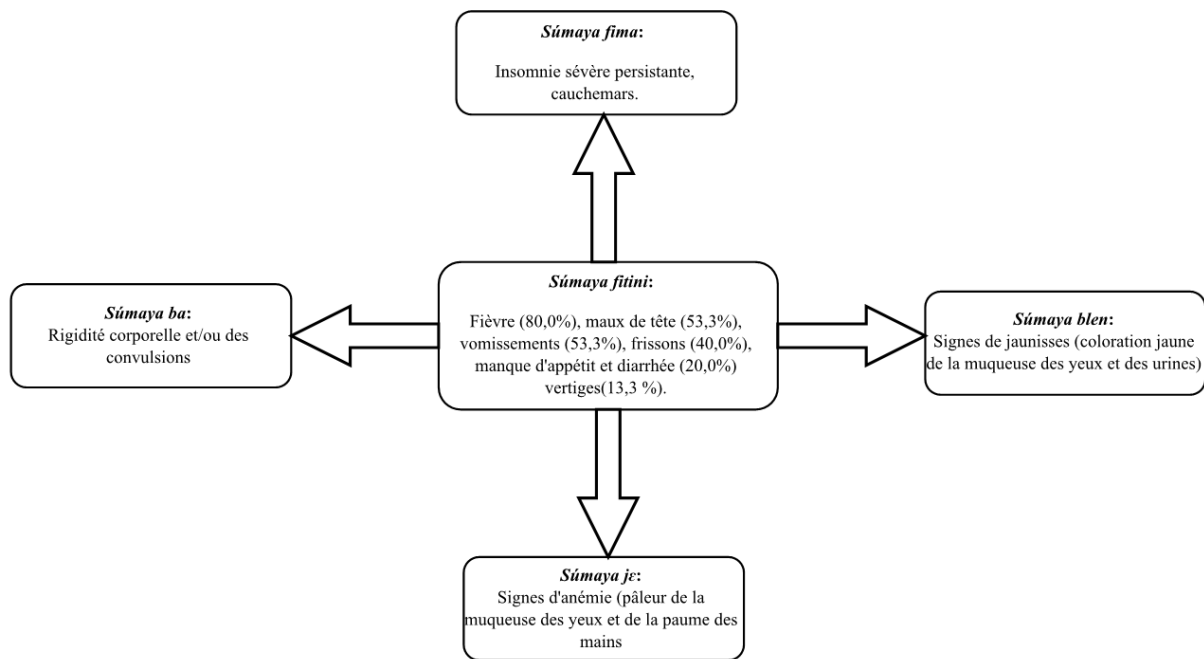


Figure 6: Différents types de *sumaya* et symptômes associés, énumérés par les TH

(Le sens des flèches correspond à l'évolution possible de *sumaya fitini* vers les différentes formes de *sumaya*)

4. Discussion et conclusion

Activité antiplasmodiale *in vitro*

Dans notre évaluation *in vitro*, les seuls extraits actifs se sont révélés être ceux de *Terminalia macroptera* (feuilles et racines) avec une CI_{50} inférieure ou égale à 5 $\mu\text{g/mL}$ sur des souches de *Plasmodium falciparum* FcB1 chloroquino-résistante.

En ce qui concerne les racines, ces résultats confirment ceux de Sanon *et al.* (2003) qui ont montré que l'extrait aqueux des écorces de racines est actif sur la souche *Plasmodium falciparum* W2 chloroquine-résistante ($CI_{50} = 1 \mu\text{g/mL}$) et ceux de Traoré *et al.* (2014) qui ont montré que l'extrait éthanolique 70 % des écorces de racines est modérément actif sur Pf-K1 (6.8 $\mu\text{g/mL}$). Cependant, aucun auteur n'a décrit une activité antiplasmodiale *in vitro* pour les feuilles de cette espèce.

Le manque d'activité antiplasmodiale *in vitro* enregistré pour les 10 espèces testées dans cette étude est en désaccord avec des évaluations *in vitro* faites par d'autres auteurs (voir tableau 7). Il est à noter qu'aucune de ces espèces n'a fait l'objet d'évaluation *in vivo*, permettant d'aller dans le sens d'une validation ou non, d'un usage traditionnel antipaludique.

Cytotoxicité

Les extraits éthanoliques des feuilles et des racines ont montré une faible cytotoxicité sur des cellules VERO. Selon Dzoyem *et al.*, un extrait brut est généralement considéré comme ayant une activité cytotoxique *in vitro* si la CC_{50} est $< 20 \mu\text{g/mL}$ (Dzoyem *et al.*, 2014). Sur la base de ce seuil, les extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* peuvent être considérés comme non cytotoxiques. Tout échantillon dont l'indice de sélectivité est supérieure à 3 peut être considéré comme ayant une sélectivité élevée (Prayong *et al.*, 2008). Sur la base de ce seuil, les extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* peuvent être considérés comme ayant une activité antiplasmodiale sélective élevée.

Activité antiplasmodiale in vivo

Les extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* ont été testés *in vivo* sur des modèles de paludisme simple induit chez la souris albinos Swiss par Pcc et sur des modèles de neuropaludisme ou paludisme cérébral induit par Pba.

Le neuropaludisme est la complication neurologique la plus grave de l'infection par le paludisme à *Plasmodium falciparum*. C'est un syndrome clinique caractérisé par le coma et d'un point de vue diagnostique, la présence de formes asexuées du parasite mise en évidence par une goutte épaisse. La mortalité est élevée (environ 20 %, Oluwayemi *et al.* 2013) et certains patients survivants présentent des lésions cérébrales qui se manifestent par des déficits neurocognitifs à long terme. Les enfants sont les plus touchés (Idro *et al.*, 2010).

L'activité antiplasmodiale des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* a été confirmée *in vivo* dans le modèle de paludisme induit par Pcc. Les souris traitées par l'extrait éthanolique des feuilles et l'extrait éthanolique des racines ont présenté une chimio-suppression d'environ 40 % à J7 lorsque le pic de parasitémie a été atteint chez des souris non traitées. Ce résultat significatif ($P < 0.05$) reflète une activité inhibitrice de la réplication parasitaire dans ce modèle.

Cette activité n'a pas été vérifiée dans le modèle de paludisme induit par Pba. Cependant, une augmentation significative de la survie des souris infectées par Pba traitées avec les extraits éthanoliques de *Terminalia macroptera* et la chloroquine (CQ) a été obtenue en comparaison avec des souris non traitées. A J9, toutes les souris non traitées sont mortes alors que 66.7 % et 50 % des souris ayant reçu les extraits éthanoliques des racines et des feuilles de *Terminalia macroptera* ont survécu, respectivement. Ce résultat indique une capacité de ces extraits à prolonger la survie dans ce modèle caractérisé par un taux de mortalité élevé. Des études complémentaires méritent d'être menées pour comprendre le mécanisme d'action de ces extraits dans ce modèle.

Cependant, la survie à l'infection par Pba n'est pas liée à l'élimination du parasite chez les souris traitées par les extraits de *Terminalia macroptera*. Dans ce modèle, la mort est due à une neuro-inflammation liée à l'afflux de cellules immunitaires myéloïdes vers le cerveau, au stress oxydatif, à la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et à la neuro-dégénérescence (Isah et Ibrahim, 2014 ; Howland *et al.*, 2015).

Des données *in vitro* antérieures ont démontré que les extraits de *Terminalia macroptera* présentaient des propriétés antioxydantes par piégeage des radicaux libres et inhibition de la α -glucosidase (Zou *et al.*, 2014 ; Zou *et al.*, 2015). Par conséquent, d'autres études *in vivo* seraient d'un grand intérêt pour vérifier que la survie des souris infectées par Pba après le traitement par *Terminalia macroptera* repose sur les propriétés antioxydantes de la plante.

Enquête ethnopharmacologique

L'enquête auprès des tradipraticiens-herboristes du marché de Médina Coura à Bamako a permis de distinguer cinq types de *sumaya* : *sumaya fitini*, *sumaya blen*, *sumaya je*, *sumaya ba* et *sumaya fima*. Selon les TH, lorsque *sumaya fitini* (aussi nommé par les TH paludisme simple) n'est pas traité ou lorsque le traitement a échoué, la maladie peut évoluer vers les autres formes de *sumaya* (*sumaya blen*, *súma a jé*, *súma a ba* et *súma a fima*) qui sont considérées comme des formes graves. Parmi ces formes graves, la plus fréquemment citée était *sumaya blen*.

Les mêmes observations ont été faites au Burkina Faso, où il a été rapporté que les personnes interrogées classifiaient différents types de *sumaya* selon les symptômes. Dans cette étude, il est également mentionné que la forme non compliquée de *sumaya* (*sumaya deni*) est facile à traiter avec des plantes médicinales et qu'un paludisme sévère se produisait lorsque la forme non compliquée n'était pas diagnostiquée ou traitée correctement (Drabo *et al.*, 2004).

Selon le système biomédical, *sumaya blen* (caractérisé par des signes d'ictère) pourrait être dû à une hémolyse intravasculaire des globules rouges parasités (Anand et Puri, 2005), entraînant une augmentation significative de la bilirubine sanguine. A son tour, le taux de bilirubine sanguine élevé peut alors submerger le processus de conjugaison et conduire à un état d'hyperbilirubinémie non conjuguée (Roche et Kobos, 2004).

Il a été noté que des signes d'ictère au cours d'un épisode de paludisme sont plus fréquents chez les sujets présentant une hépatite virale aiguë co-existante ou une hépatite chronique sous-jacente, ainsi que chez les personnes souffrant d'un déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. Le déficit en G6PD peut conférer une protection contre le paludisme (Hofmann *et al.*, 2016). Cependant, chez les sujets déficitaires en cette enzyme, il y aurait une fragilité plus importante de la membrane des globules rouges, conduisant à des hémolyses spontanées accrues lorsqu'ils sont infectés par *Plasmodium* (Anand et Puri, 2005).

Les personnes de race noire seraient les plus touchées par cette déficience enzymatique. En Afrique de l'ouest et en Afrique centrale, 10 à 15 % de la population en sont atteints (Hofmann *et al.*, 2016).

Dans ce contexte, il est donc possible que les espèces connues et utilisées par les TH en cas de *sumaya blen*, visant à atténuer des formes de paludisme se traduisant par un ictère, possèdent à la fois des activités hépatoprotectrices, mais aussi agissent au niveau de la membrane du globule rouge en limitant les hémolyses, activité qui se révélerait particulièrement intéressante pour une population dont une part présente un déficit enzymatique.

Les 5 espèces les plus citées par les TH pour traiter une forme simple de paludisme (*Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze, *Entada africana* Guill. & Perr., *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr., *Combretum micranthum* G.Donet *Sarcocephalus latifolius* (Sm.) E.A.Bruce) font aussi partie du groupe de celles que nous avons trouvé le plus fréquemment cité dans la littérature, en particulier au Mali. Ces plantes ont toutes été étudiées pour leur activité antipaludique, et quatre se sont avérées efficaces *in vitro* avec une $CI_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$ (Voir tableau 10).

Parmi ces espèces, seule *Sarcocephalus latifolius* a été testé *in vivo*. L'extrait éthanolique des écorces de tronc (300 mg/kg) administré par gavage a démontré une activité antiplasmodiale *in vivo* en réduisant (63.84 % d'inhibition) la parasitémie chez des souris infectées par *Plasmodium berghei berghei* (Etebong *et al.*, 2014).

Aucune de ces espèces n'a eu une autorisation de mise sur le marché pharmaceutique malien comme MTA contre le paludisme. Cependant, les travaux sur les feuilles de *Combretum micranthum* et les racines de *Entada africana* par rapport à leurs propriétés hépatoprotectrices ont abouti à la mise au point deux MTA. Ces deux MTA sont :

- **HEPATISANE[®]** (à base des feuilles de *Combretum micranthum* G.Don) utilisé contre les symptômes d'insuffisance hépatique avec manifestations digesto-biliaire et,
 - **SAMANERE[®]** (racines de *Entada africana* Guill. & Perr.) utilisé contre les hépatites
- Cependant seul l'HEPATISANE[®] a une autorisation de mise sur le marché pharmaceutique malien et fait partie de la liste des médicaments essentiels. Pour SAMANERE[®], la demande d'autorisation est en cours.

Dans cette enquête, *T. macroptera* a été citée par les TH comme une espèce préférentiellement utilisée pour les cas de *sumaya* se doublant d'ictère, ce qui est considéré comme « paludisme grave » par les TH. La présence d'ictère clinique avec mise en évidence d'autres dysfonctionnements d'organes vitaux fait partie des critères définis par l'OMS pour caractériser le paludisme grave dû à *P. falciparum* (OMS, 2013). Les résultats obtenus *in vitro* et surtout *in vivo* sur paludisme simple et neurologique soulignent le réel intérêt de cette espèce dans le traitement du paludisme, en particulier pour les racines.

Il nous a semblé néanmoins important de valider les autres usages traditionnels de *Terminalia macroptera* (affections hépatiques et maladies inflammatoires) en évaluant les activités hépatoprotectrices, anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques de cette espèce, aspects développés dans le chapitre suivant.

Ce travail s'est concrétisé par la rédaction d'un article qui a été soumis en juillet 2017 dans la revue scientifique Malaria Journal, publié dans cette même revue en janvier 2018 après révision, et intitulé:

Article 2: *In vivo* validation of antimalarial activity of crude extracts of *Terminalia macroptera*, a Malian medicinal plant.

Mahamane HAIDARA, Mohamed HADDAD, Adama DENOU, Sandra BOURGEADE-DELMAS, Rokia SANOGO, Geneviève BOURDY et Agnès AUBOUY

L'article est présenté ci-dessous in extenso dans sa forme originale.

RESEARCH

Open Access



In vivo validation of anti-malarial activity of crude extracts of *Terminalia macroptera*, a Malian medicinal plant

Mahamane Haidara^{1,2}, Mohamed Haddad¹, Adama Denou², Guillaume Marti¹, Sandra Bourgeade-Delmas¹, Rokia Sanogo^{2,3}, Geneviève Bourdy¹ and Agnès Aubouy^{1*}

Abstract

Background: *Plasmodium falciparum* malaria is still one of the most deadly pathology worldwide. Efficient treatment is jeopardized by parasite resistance to artemisinin and its derivatives, and by poor access to treatment in endemic regions. Anti-malarial traditional remedies still offer new tracks for identifying promising antiplasmodial molecules, and a way to ensure that all people have access to care. The present study aims to validate the traditional use of *Terminalia macroptera*, a Malian plant used in traditional medicine.

Methods: *Terminalia macroptera* was collected in Mali. Leaves (TML) and roots ethanolic extracts (TMR) were prepared and tested at 2000 mg/kg for in vivo acute toxicity in Albino Swiss mice. Antiplasmodial activity of the extracts was assessed against a chloroquine resistant strain *P. falciparum* (FcB1) in vitro. In vivo, anti-malarial efficacy was assessed by a 4-day suppressive test at 100 mg/kg in two malaria murine models of uncomplicated malaria (*Plasmodium chabaudi chabaudi* infection) and cerebral malaria (*Plasmodium berghei* strain ANKA infection). Constituents of TMR were characterized by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. Top ranked compounds were putatively identified using plant databases and in silico fragmentation pattern.

Results: Lethal dose of TML and TMR were greater than 2000 mg/kg in Albino Swiss mice. According to the OECD's Globally Harmonized System of Classification, both extracts are non-toxic orally. Antiplasmodial activity of *T. macroptera* extracts was confirmed in vitro against *P. falciparum* FcB1 strain with IC50 values of 1.2 and 1.6 µg/mL for TML and TMR, respectively. In vivo, oral administration of TML and TMR induced significant reduction of parasitaemia (37.2 and 46.4% respectively) in *P. chabaudi chabaudi* infected mice at the 7th day of infection compared to untreated mice. In the cerebral malaria experimental model, mice treated with TMR and TML presented respectively 50 and 66.7% survival rates at day 9 post-infection when all untreated mice died. Eleven major compounds were found in TMR. Among them, several molecules already known could be responsible for the antiplasmodial activity of the roots extract of *T. macroptera*.

Conclusions: This study confirms both safety and anti-malarial activity of *T. macroptera*, thus validating its traditional use.

Keywords: Antimalarial activity, *Terminalia macroptera*, In vitro, Mice models, *Plasmodium berghei* ANKA, *Plasmodium chabaudi*, Toxicity

*Correspondence: agnes.aubouy@ird.fr

¹ UMR 152 PHARMA-DEV, IRD, UPS, Université de Toulouse, Toulouse, France

Full list of author information is available at the end of the article.



© The Author(s) 2018. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

Malaria is still one of the most deadly pathology worldwide with 429,000 deaths reported in 2015 [1]. Africa is by far the most affected region, accounting for 92% of malaria deaths. Despite a recent decrease in malaria mortality due to extensive malaria control through insecticide-impregnated bed nets and increased use of artemisinin derivatives, the state of artemisinin resistance is highly worrying [2]. Artemisinin-based combination therapy constitutes the first-line treatment for malaria in the large majority of countries in which the disease is endemic, and intravenous artesunate the most efficacious treatment for severe malaria. However, *Plasmodium falciparum* has become resistant to almost all available anti-malarial drugs in Southeast Asia [3], and an isolate originating from Equatorial Guinea has been recently found resistant to artemisinin [4]. New effective molecules are thus urgently needed to combat this pathology.

Plants constitute a huge reservoir for bioactive molecules, as evidenced by the Cinchona tree and *Artemisia annua* that contain quinine and artemisinin, respectively. Africa offers an extremely rich flora and proposes numerous medicinal plants [5–7]. *Terminalia macroptera* is a Combretaceae (syn. *Terminalia chevalieri*, *Myrobalanus macroptera*) widespread in West Africa from Senegal to Cameroon [8]. In Mali, *T. macroptera* is one of the most cited plant used in traditional medicine to treat a large variety of diseases including malaria [9]. In addition, traditional remedies allow an affordable access to anti-malarial drugs for the most deprived [10–13]. First studies on *T. macroptera* have been performed in Guinea-Bissau, where extracts of roots and leaves demonstrated antibacterial activities in vitro [14–16]. Its traditional anti-malarial use was first reported from Burkina Faso; in vitro antiplasmodial activity of the total extract of *T. macroptera* was confirmed ($IC_{50} = 1 \mu\text{g/mL}$ for the aqueous extract) [17]. Prepared from the plant collected in Guinea, the ethanolic root bark extract displayed a moderate antiplasmodial activity ($IC_{50} = 6.8 \mu\text{g/mL}$) [18]. However, in vivo anti-malarial activity of *T. macroptera* has not been assessed yet. Hence, this study aims to validate the traditional use of *T. macroptera* roots and leaves against malaria, a potentially fatal disease, through a dual in vivo experimental approach aiming to mimic uncomplicated malaria and cerebral malaria, the most severe form of the disease. Thus, *Plasmodium chabaudi* and *Plasmodium berghei* strain ANKA infection in Albino Swiss mice, the respective experimental models for uncomplicated and cerebral malaria, were used to evaluate anti-malarial activity of root and leaf extracts of *T. macroptera*. Finally, the nature of the major chemical compounds present in the plant was investigated.

Methods

Plant collection

The leaves and roots of *T. macroptera* were collected in August 2015 from Siby village in the Koulikoro region of Mali. Authorization for collection of plant materials at the Traditional Medicinal Department of the National Institute of Public Health (DMT/NIRPH) was obtained prior to collection. After collection, botanical identification was confirmed at the national herbarium of DMT/NIRPH in Bamako, Mali. A specimen of the plant with voucher number (3752/DMT) was deposited in the herbarium of DMT/NIRPH.

Preparation of plant extracts

Terminalia macroptera leaves and roots were dried under shade at room temperature for 2 weeks and ground to a powder before extraction. A total of 250 g dried samples were macerated in 1 L of 90% ethanol for 24 h. The mixtures were filtered using Whatman filters No 1. The unfiltered residues were macerated in 90% ethanol for 24 h and filtered again as before. This operation was repeated three times. Filtrates were combined and evaporated in vacuo to dryness (Büchi® rotary evaporator Model R-200). Crude extracts of *T. macroptera* leaves (TML) and roots (TMR) were stored in the refrigerator at 4–8 °C until use. Each extract was dissolved in methanol to provide a stock solution (10 mg/mL) kept at 4–8 °C. Before in vitro and in vivo experiments, stock solution was dissolved in distilled water to provide working concentrations.

In vitro antiplasmodial activity

The in vitro anti-malarial activity of *T. macroptera* extracts was investigated using the SYBR Green I-based fluorescence assay [19]. The asexual intra-erythrocytic stage of *P. falciparum* laboratory strain FcB1 (chloroquine-resistant strain) was maintained in RPMI 1640 medium containing L-glutamine 200 μM , Hepes 25 mM and 5% human serum (Etablissement français du Sang—EFS, Toulouse, France) using the culture technique described by Trager and Jensen [20]. For anti-malarial drug assays, stock solutions of plant extracts were diluted serially in RPMI 1640 culture medium to test final concentrations between 1 and 100 $\mu\text{g/mL}$ in triplicates in a 96-well plate. Final concentration of methanol was 0.5%. A suspension of sorbitol-synchronized, infected red blood cells (iRBCs) was adjusted to 1% parasitaemia and 2% haematocrit in complete medium and added to the wells. Negative controls were prepared with a suspension of iRBCs and 0.5% methanol. Chloroquine was used as positive control. Test plates were incubated at 37 °C for 48 h. Afterwards, 100 μL SYBR Green I fluorescent lysis buffer were added to each well and incubated in a dark

place at room temperature for 2 h. Fluorescence data were acquired using a fluorescence plate reader (BMG Fluostar Galaxy Labtech) with excitation and emission wavelengths at 485 and 518 nm, respectively. The fluorescence values (after subtraction of the background fluorescence of the non-parasitized RBCs) were plotted against the log of the drug concentration, and analysed by non-linear regression (sigmoidal dose response/variable slope equation) to yield the IC₅₀ (50% inhibitory concentration) that served as a measure of the anti-malarial activity (IVART tool, worldwide anti-malarial resistance network).

Acute oral toxicity measurement

Oral toxicity tests were performed in the DMT/NIRPH animal house in Bamako, Mali. Female healthy Albino Swiss mice aged 6–8 weeks and weighing 26–33 g were maintained in standard and constant laboratory conditions (23–25 °C and light/dark cycles i.e. 12/12 h) with free access to food and tap water. Mice were randomly divided into three groups of three mice and treated by oral route with a single dose of TML, TMR, or water. For TML and TMR, the dose administered was 2000 mg/kg, while 20 mL/kg was used for water treatment. Oral gavage was chosen as mode of administration to mimic the traditional route of administration as described previously [21]. Oral gavage was achieved as per guidelines of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) [22]. Animals were observed for the first 4 h after treatment to record immediate deaths and once daily for 14 days to record any manifestation of toxicity.

Murine malaria models and in vivo anti-malarial tests

In vivo anti-malarial tests were realized in the animal house of PHARMADEV research unit in Toulouse, France. Mice used for these experiments were similar to the mice used for toxicity tests for age, weight and living conditions. *Plasmodium c. chabaudi* and *P. berghei* infections in female Albino Swiss mice were used as experimental models for uncomplicated and cerebral malaria, respectively [23, 24]. Swiss Albino mice are naturally resistant to *P. chabaudi* infection. The model is characterized by a peak of parasitaemia around 7 days post-infection followed by a spontaneous cure. *Plasmodium berghei* ANKA infection leads to death in untreated mice after 7–10 days with a parasitaemia reaching 10–20% at most. In vivo antiplasmodial activity of TML and TMR was evaluated according to the 4-day suppressive standard test described by Knight and Peters [25]. Treatment was administered by oral gavage to mimic the traditional route of administration. For each model of infection, twenty-four mice were randomly divided into four treatment groups of six mice each: TMR, TML, chloroquine

(positive control) and distilled water (negative control). On the 1st day (D0), mice were inoculated intraperitoneally with 0.2 mL of infected blood containing about 1×10^6 parasitized erythrocytes. Two hours after infection, the two tested groups of each infection model were treated orally with 100 mg/kg of TML or TMR. Positive and negative control mice received 5 mg/kg of chloroquine and 25 mL/kg of distilled water, respectively. All mice groups were treated similarly for 4 consecutive days (D0–D3) between 9 a.m. and 10 a.m. Weight, parasitaemia and survival were followed daily. To evaluate the ability of *T. macroptera* extracts to prevent weight loss due to infection, weight differences between days post-infection and D0 were calculated. To measure parasitaemia, thin blood smears were made daily from tail blood from the 5th day (D4), until the 15th day (D14). Blood smears were fixed with methanol and stained with fast acting variation of May-Grünwald Giemsa staining (RAL 555 kit, RAL diagnostics). Parasitaemia was determined by light microscopy using a 100× objective lens as follows: % Parasitaemia = $100 \times (\text{Number of parasitized RBC} / \text{Total number of RBC counted})$. Average percentage chemosuppression was calculated at D7 for both infection models as $[(A - B) / A] \times 100$ where A is the average percentage parasitaemia in the negative control group and B is the average percentage parasitaemia in the test group. Survival was monitored twice daily. The percentage survival was determined over a period of 14 days (D0–D13) and compared between groups.

Metabolites profiling by UHPLC-HRMS

Metabolite profiles of TMR ethanol extract (1 mg/mL) were acquired using a UHPLC-DAD-CAD-LTQ Orbitrap XL instrument (Thermo Fisher Scientific, UK) equipped with an electrospray ionization source (ESI). The UHPLC system consisted of an Ultimate 3000 UHPLC (Thermo Fisher Scientific, UK) equipped with a Acquity BEH C₁₈ column (100 × 2.1 mm i.d., 1.7 μm, Waters, USA). The mobile phase was composed of solvent A (0.1% formic acid–water) and solvent B (0.1% formic acid–acetonitrile) with a gradient elution (0–0.5 min, 95% A; 0.5–12 min, 95–5% A; 12–15 min, 5% A; 15–15.5 min, 5–95% A; 15.5–19 min, 95% A). The flow rate of the mobile phase was 0.45 mL/min. The injection volume was 4 μL and the column temperature was maintained at 40 °C. Electrospray ionization was applied in negative ion (NI) and positive ion (PI) mode under the following conditions: capillary voltage at 3.0 and 4.2 kV for NI and PI respectively, and capillary temperature at 300 °C. The UV detection was performed by a diode array detector (DAD) from 210 to 400 nm. Full mass spectra were recorded between 100 and 1500 Da. Collision Induced Dissociation mass spectra were obtained using the following parameters: 35%

normalized collision energy, isolation width 2 Da, activation Q 0.250. External mass calibration was accomplished before starting the experiment. Hyphenation with Charged Aerosol Detector (CAD), Thermo Fisher Scientific, UK) was performed after DAD using a split 1:1 between CAD and Orbitrap.

Data processing and statistical analysis were performed as previously described [26]. Briefly, the UHPLC-HRMS raw data were processed with MS-Dial v.2.56 for mass signal extraction and peaks alignment [27]. Molecular formula prediction and compound annotation of significant features (m/z , RT pairs) were calculated with MS-FINDER 2.10 [28]. Only natural product databases focused on plants were selected [i.e. Universal Natural Products Database (UNPD), KNAp-SAc, PlantCyc, Dictionary of Natural Products (DNP, CRC press, v26:1) and CheBI]. Database interrogation was performed following a three-step process. Already known compounds belonging to the plant species were first analysed, then those belonging to the botanical family, and finally, molecules present in all plant databases were interrogated. Results were presented as a list of compounds sorted according to a score value for each match. This value encompassed uncertainty on accurate mass, the isotopic pattern score and the experimental MS/MS fragmentation mirrored to in silico fragmentation of the candidate structure.

Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm SEM (standard error of mean) and analysed using Graph Pad Prism software version 6. Comparisons were performed by a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the means multiple comparison method of Bonferroni–Dunnnett. Differences were considered significant if $P < 0.05$.

Animals and ethics statement

Animal welfare requirements were strictly considered during the experiments as required by the National Institute for Research in Public Health (INRSP) ethics committee in Bamako, Mali, and the Midi-Pyrénées ethic committee for animal experimentation in Toulouse, France. Both studies (oral toxicity tests and anti-malarial in vivo evaluation) were authorized with permit numbers 24/2016/CE-INRSP and APAFIS#5921-2016070118008477 v3 for Bamako and Toulouse, respectively.

Results

Acute oral toxicity assessment and determination of the test dose

Due to the absence of previous in vivo studies on *T. macroptera* crude extracts, acute oral toxicity was first

evaluated. Oral administration of TML and TMR at a dose of 2000 mg/kg did not cause mortality or major behavioural changes among experimental animals. This indicates that LD_{50} of TML and TMR are greater than 2000 mg/kg in Albino Swiss mice. Therefore, according to the OECD's Globally Harmonized System of Classification [22], the fractions can be classified as category 5 and considered non-toxic orally. To work under the most favourable experimental conditions, *T. macroptera* extracts were used in the following experiments at 100 mg/kg for antiplasmodial activity, a dose 20 times lower.

Effect of *T. macroptera* on weight after *Plasmodium* infection in mice

To evaluate the effect of *T. macroptera* extracts on weight following infection, analysis was first focused on weight differences between the initial weight (D0) and D4 according to the Peters' test. Second, weight differences between D0 and D7 (peak of parasitaemia in the *P. chabaudi* model) and D0-D9 (peak of death in the *P. berghei* model) were studied. In the *P. chabaudi* model, TML-treated mice lost more weight than those treated with vehicle at D4. However, weight loss was similar between mice treated with CQ and those that received extracts. Surprisingly, the highest weight loss was observed in CQ-treated mice at D7 in this model. Comparatively, no weight loss was noticed for TML- and TMR-treated mice at this time. In the *P. berghei* infection model, TML and TMR treatments had no significant effect on weight at D4 (Table 1). At D9 when all mice that received vehicle have died, the CQ-treated mice lost less weight compared to TML- and TMR-treated mice, as shown on Table 1.

In vitro and in vivo anti-parasite activity

Antiparasite activity of *T. macroptera* crude extracts was measured both in vitro on *P. falciparum* infected red blood cells and in murine experimental models. TML and TMR showed in vitro antiplasmodial activity against FcB1 strain of *P. falciparum*, with IC_{50} values of 1.2 and 1.6 $\mu\text{g/mL}$, respectively (Table 2). The IC_{50} was 60 ng/mL for CQ. In mice models, TML and TMR were more active to lower *P. chabaudi* than *P. berghei* parasitaemia. Suppression percentages of *P. chabaudi* parasitaemia were 37.2 and 46.4%, respectively, at D7 for TML and TMR (Table 2, Fig. 1a). In addition, parasitemia was significantly lower in TML- or TMR-treated mice compared to vehicle-treated mice (Fig. 1a). In the *P. berghei* model, TML and TMR were weakly active against parasites, as parasitaemia were similar between vehicle-treated mice and TML- or TMR-treated mice (Table 2, Fig. 1b).

Table 1 Differences of body weight of *Plasmodium*-infected Swiss mice before (D0) and after infection and administration of the extracts of *T. macroptera* roots (TMR) and leaves (TML) at 4, 7 and 9 days post-infection (D4, D7, D9)

Infection group	Treatment group	n	D4-D0 ± SEM	n	D7-D0 ± SEM
<i>P. chabaudi chabaudi</i>	Vehicle	6	0.54 ± 0.22	6	0.46 ± 0.51
	CQ	6	- 0.23 ± 0.43	6	- 1.03 ± 0.48*
	TML	6	- 0.57 ± 0.43*	6	0.17 ± 0.43
	TMR	6	0.22 ± 0.19	6	0.74 ± 0.36 [§]
Infection group	Treatment group	n	D4-D0	n	D9-D0
<i>P. berghei</i> ANKA	Vehicle	6	0.67 ± 0.33	0	-
	CQ	6	- 0.01 ± 0.40	5	- 0.31 ± 0.89
	TML	6	0.12 ± 0.42	4	- 2.16 ± 1.17
	TMR	6	0.11 ± 0.44	3	- 4.4 ± 1.31 [§]

Chloroquine (CQ) was used as positive control

SEM standard error of mean

* Comparison of mice treated with CQ or extracts to those that received vehicle. *P < 0.05

[§] Comparison of mice treated with extracts to those that received CQ. [§]P < 0.05

Table 2 In vivo and in vitro anti-parasite activity of the extracts of *T. macroptera* roots (TMR) and leaves (TML)

	In vitro IC ₅₀ (µg/mL)		% parasite suppression at D7 (± SD)	
	<i>P. falciparum</i> FcB1	<i>P. berghei</i> ANKA model	<i>P. chabaudi chabaudi</i> model	
CQ	0.06	83.6 ± 6.2	99.3 ± 0.31	
TML	1.2	12.2 ± 2.1	37.2 ± 5.1	
TMR	1.6	13.4 ± 5.2	46.4 ± 6.8	

Chloroquine (CQ) was used as positive control

SD standard deviation

Effect of *T. macroptera* treatments on survival following *Plasmodium* infection in mice

In the *P. chabaudi* infection model, three mice died after the 11th day of infection including one TMR-treated mouse and two vehicle-treated mice (Fig. 1c). The resulting survival rates between groups were similar. In the *P. berghei* model, comparisons of survival rates between groups at D9 post-infection show a critical effect of TML and TMR treatments on survival (Fig. 1d). At D9, all mice that received vehicle died whereas 3 of the 6 mice (50%) treated with TMR, and 4 of the 6 mice (66.7%) treated with TML, survived (Fig. 1d). In the CQ treatment group, 5 of the 6 (83.3%) infected mice survived at D9. At D15, survival rates of TML- or TMR-treated mice were similar to those of the CQ-treated mice (3/6 and 2/6 for TML and TMR versus 2/6 for CQ, see Fig. 1d).

Metabolite profiling of *T. macroptera* roots

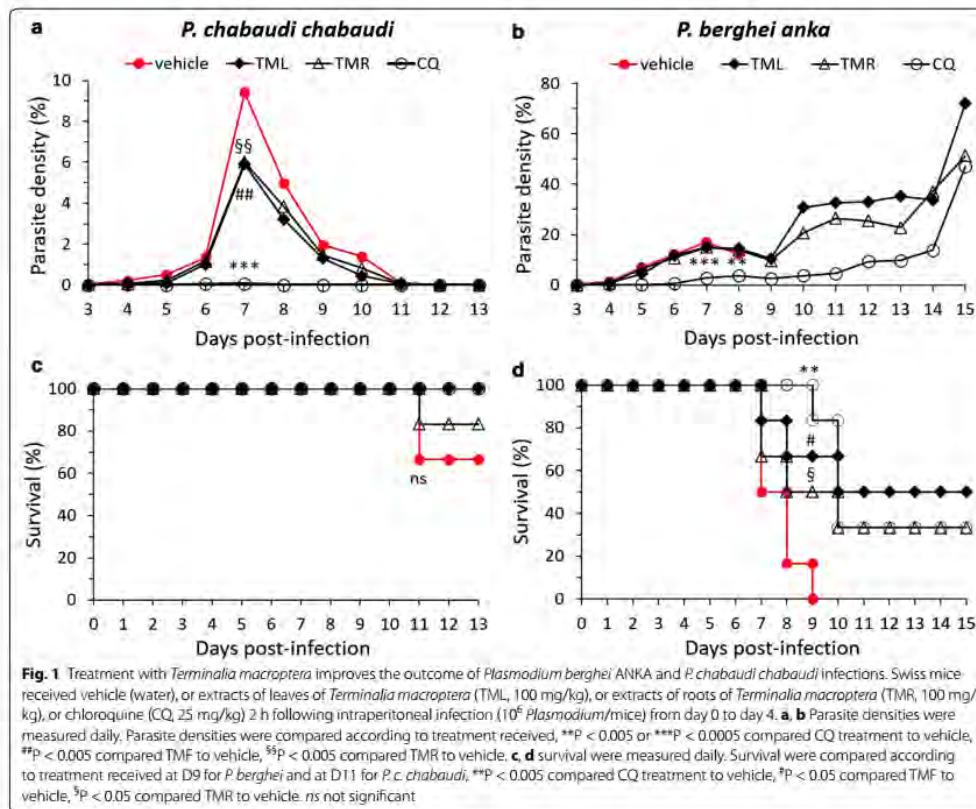
For qualitative analysis by LC-CAD-MS, analysis was focused on root extracts, as root constitute the part of

T. macroptera specifically used by traditional healers to treat malaria [21].

Metabolite profiling of *T. macroptera* roots was acquired in positive and negative ionization mode. Qualitative analysis by LC-CAD-MS of *T. macroptera* roots allowed to identify putatively 11 major peaks through HRMS and MS/MS fragmentation patterns using MS-finder and DNP database (Fig. 2, Table 3). The MS-Finder dereplication method allowed to annotate these major peaks, mostly found in the Combretaceae family (Table 3). Among the top eleven annotated compounds, 5 are tannins (flavogallonic acid, Terminalin, ellagic acid, ellagic acid; 2,8-di-me ether, 3-O-β-D-xylopyranoside, ellagic acid; 2,3,7-tri-me ether), 4 triterpenoids (oleat-erminaloic acid C, bellericagenin B, sericic acid, oleat-erminaloic acid B), 1 lignan (3,4,5-tri-O-caffeoylquinic acid) and 1 unknown compound.

Discussion

Access to treatment remains a major health problem in sub-Saharan Africa. To face this critical public health problem and improve the management of malaria cases, home-based management is the most implemented measure [29, 30], but the use of traditional medicine in a safe, cost-efficient and effective manner also constitutes a way to ensure that all people have access to care. The World Health Organization (WHO) traditional medicine strategy 2014–2023 reminds that traditional medicine is found worldwide, and that its use is constantly increasing [31]. The use of traditional medicine is particularly rooted in African culture and history, although scientific validation of traditional remedies is still scarce [32]. Among the strategic objectives of the WHO, the

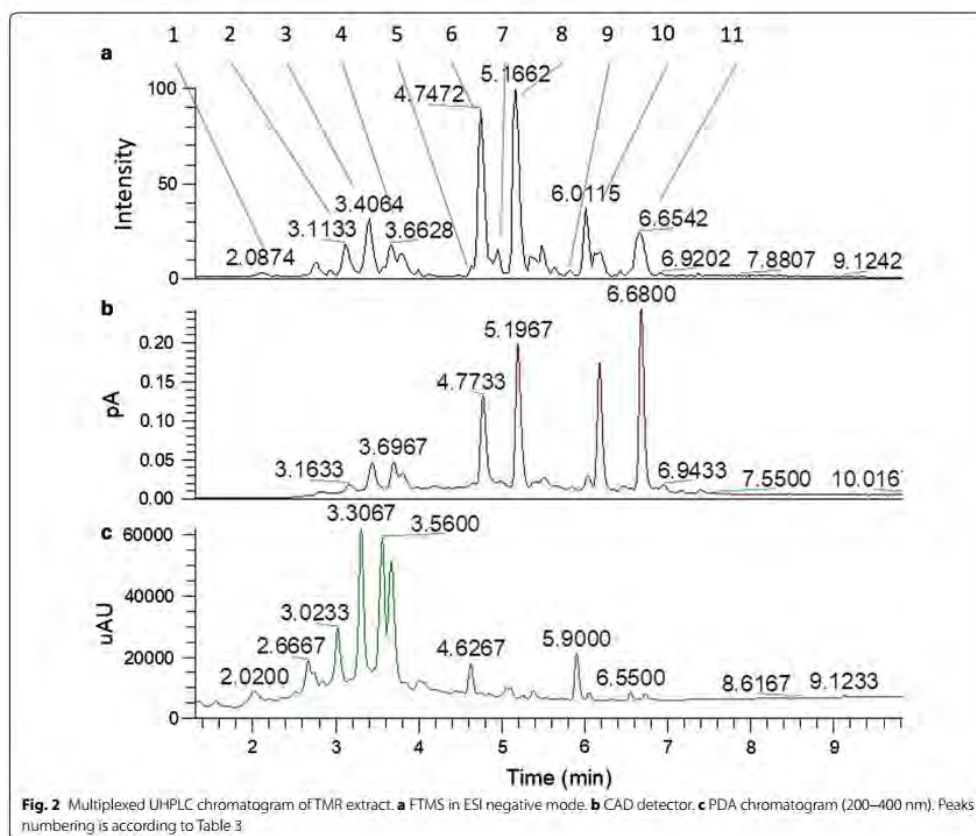


strengthening of safety and effectiveness of traditional medicine constitutes one of the main validation before integrating traditional medicine in health systems. In Mali, *T. macroptera* is used traditionally in the treatment many diseases including malaria, inflammatory diseases and liver diseases [21, 33, 34]. However, in vivo validation of safety and efficiency has never been achieved. The present study aimed to evaluate toxicity and anti-malarial efficacy of crude extract of this plant to validate its traditional use.

The results of the acute toxicity tests indicate that administration of up to 2 g/kg of ethanolic extracts of TML and TMR is safe in Albino Swiss mice. Thus, the dose tested in this study (100 mg/kg) was safe, and it can be assumed that the anti-malarial activities observed are not due to toxicity.

In vivo tests were achieved in two different experimental models for malaria based on *P. chabaudi* and *P. berghei*

infections in Swiss mice. Both models reflect two different clinical types of malaria observed in humans: uncomplicated and cerebral malaria, respectively [23, 24]. In the 4-day suppressive test performed in the *P. chabaudi* model, weight loss was higher in TML-treated mice compared to those that received CQ, suggesting a depressing effect of this crude extract on food intake or appetite. At D7, when *P. chabaudi* parasitaemia was the highest, CQ-treated mice controlled their parasitaemia and presented a significant weight loss compared to the other mice groups, suggesting that weight loss at D7 is not a key criterion in this model. In the most severe malaria model with *P. berghei*, administration of TML or TMR to mice induced similar weight changes compared to CQ or vehicle at D4, strengthening the safety of TML and TMR at the tested doses. Weight loss differences were observed between treatments at D9 when all untreated mice have died. CQ induced a lower weight loss compared to plant



extracts. This result suggests that *T. macroptera* extracts might not reduce the deleterious effect of the parasite in this model at a critical time for survival. It would be interesting to test a longer treatment with these plant extracts in this model.

To verify the direct antiparasite activity of *T. macroptera*, extracts were initially screened for their in vitro activity against *P. falciparum* FcB1 strain. IC_{50} values were 1.2 and 1.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for TML and TMR, respectively. These values reflect a good antiparasitic activity in vitro, assuming that $IC_{50} < 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ constitutes an accurate threshold for active plant extracts [35]. In line with the results observed, similar IC_{50} values were obtained for root crude extracts of *T. macroptera* in two independent studies from Burkina Faso and Guinea [17, 18]. In these studies, extracts displayed IC_{50} values

between 1 and 6.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ against *P. falciparum* K1 strain, a chloroquine-resistant strain as FcB1.

Antiplasmodial activity of *T. macroptera* extracts was confirmed in vivo in the *P. chabaudi* model. TML- and TMR-treated mice displayed about 40% chemosuppression at D7 when the peak of parasitaemia was reached in untreated mice. This significant result reflects an inhibitory activity on parasite replication in this model. This activity was not verified in the *P. berghei* model. However, significant increased survival of *P. berghei* infected mice treated with plant extracts and CQ was obtained in comparison with untreated mice. At D9, all untreated mice died whereas 66.7 and 50% of mice that received TML or TMR survived, respectively. This result indicates a very interesting ability to extend survival in this model characterized by a high mortality rate. However, survival to *P.*

Table 3 Putative identified features (m/z × RT pairs) using HRMS and MS/MS fragmentation patterns using MS-finder and DNP database

Peak no	RT (min)	m/z	MF	Δ Da	Putative ID	Found in	Chemical class
1	2.13	468.997 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₀ O ₁₃	0.007	Flavogallonic acid	<i>T. catappa</i> (Combretaceae)	Tannins
2	3.11	541.0167	C ₃₀ H ₁₈ O ₁₂	0.006	Unknown		
3	3.4	603.0075 [M+H]⁺	C₂₈H₁₀O₁₆	0.005	Terminalin	<i>T. oblongata</i> (Combretaceae)	Tannins
4	3.66	303.0150 [M+H] ⁺	C ₁₄ H ₆ O ₈	0.001	Ellagic acid	Many plants	Tannins
5	4.55	461.0644 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₄ O ₁₂	0.008	Ellagic acid; 2,8-di-me ether, 3-O-β-D-xylopyranoside	<i>T. superba</i> (Combretaceae)	Tannins
6	4.75	505.3547 [M+H]⁺	C₃₀H₄₈O₆	0.003	Oleaterminaloic acid C	<i>T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpenoids
7	4.9	519.3235 [M-H] ⁻	C ₃₀ H ₄₈ O ₇	0.009	Bellericagenin B	<i>T. bellerica</i> ; <i>T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpenoids
8	5.16	695.1531 [M-H]⁻	C₃₄H₃₀O₁₅	0.009	3,4,5-Tri-O-caffeoylquinic acid	Many plants	Lignans
9	5.89	501.3218 [M-H] ⁻	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	0.0003	Sericic acid	Many <i>Terminalia</i> sp.	Triterpenoids
10	6.01	343.0411 [M-H]⁻	C₁₇H₁₂O₈	0.005	Ellagic acid; 2,3,7-tri-me ether	Many plants	Tannins
11	6.65	487.3343 [M+H]⁺	C₃₀H₄₆O₅	0.0003	Oleaterminaloic acid B	<i>T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpenoids

Major peaks detected by CAD are in bold

berghei infection was not related to parasite elimination in TML- and TMR-treated mice. In this model, death is due to neuroinflammation related to influx of myeloid immune cells to the brain, oxidative stress, blood brain barrier permeability and neurodegeneration [36, 37]. Previous in vitro data demonstrated that *T. macroptera* extracts display anti-oxidant properties through radical scavenging and α-glucosidase inhibition [38–40]. Therefore, further in vivo studies would be of high interest to verify that survival of *P. berghei*-infected mice after *T. macroptera* treatment relies on the anti-oxidant properties of the plant.

Qualitative analysis by LC-CAD-MS of *T. macroptera* roots allowed to identify putatively 11 major peaks (Fig. 2, Table 3). The results are confirmed by several studies that have shown the presence of gallic acid, punicalagin, terflavin A, terchebulin, ellagic acid and their methoxylated derivatives in the roots of *T. macroptera* [41, 42]. Of the 11 compounds identified, only the antiplasmodial properties of flavogallonic acid and ellagic acid have been reported in the literature. These studies have shown moderate in vitro antiplasmodial activities on *P. falciparum* K1 and 3D7 strains (IC₅₀ of 8.35 and 8.89 μg/mL, respectively) of flavogallonic acid with a selectivity index greater than 168 on cells derived from the heart of newborn mice (NBMH) [43]. In addition, Verotta et al. showed that ellagic acid isolated from *Tristaniopsis callobuxus* (Myrtaceae) had significant antiplasmodial activity with an IC₅₀ between 0.331 and 0.480 μM, regardless of the level of resistance of the *Plasmodium* strain used [44]. Similar results were obtained by Banzouzi et al. with isolated ellagic acid from *Alchornea cordifolia* (Euphorbiaceae) [45] and by Soh et al. with commercial ellagic acid [46]. The antiplasmodial activity of ellagic acid has also been demonstrated

in vivo in mice infected with *Plasmodium vinckei petteri* using the Peters assay. Soh et al. demonstrated that ellagic acid inhibits parasitaemia when administered intraperitoneally at doses of 1, 50 and 100 mg/kg/day with more than 50% inhibition at the 1 mg/kg/day dose and 100% inhibition at the 50 and 100 mg/kg/day dose [46]. In addition, antioxidant activity of ellagic acid was recently demonstrated in a murine model of cirrhosis [47]. Such activity is of high importance in the survival of *P. berghei*-infected mice and could explain the higher survival rate obtained after *T. macroptera* treatment. Although these results brought interesting hypothesis regarding putative active compounds found in *T. macroptera*, further bioassay guided fractionation will be necessary to decipher pharmacological basis of its antiplasmodial activity including synergistic potential between tanins, lignans and terpenoids found in this plant.

Conclusions

The West-African plant *T. macroptera* demonstrated in this study in vitro and in vivo anti-malarial activities on two murine malaria models, including the experimental cerebral malaria model. This plant constitutes a promising starting point for bioguided isolation of new anti-malarial molecules that could be useful for both uncomplicated and severe malaria treatments. Finally, this study confirms both safety and anti-malarial activity of *T. macroptera*, thus validating its traditional use in West Africa.

Abbreviations

dH₂O: distilled water; D: day; DMT/NIRPH: Traditional Medicinal Department/ National Institute of Public Health; IC₅₀: 50% inhibitory concentration; RBC: red blood cell; SEM: standard error of mean; TML: *T. macroptera* leaves; TMR: *T.*

macroptera roots; WHO: World Health Organization; OECD: Organization for Economic Cooperation and Development.

Authors' contributions

MaH, MoH, RS, GB and AA designed the study and wrote the publication. MaH, AD and RS performed the field work and the acute toxicity test. MaH, AD and MoH prepared the plant extracts. SBD evaluated the in vitro antimalarial activity of the extracts and analysed the results. MaH and AA performed the antimalarial tests in mice models and analysed the data. GM, MaH and MoH achieved the UHPLC-HRMS profiling of the plant extract and the data analysis. All authors read and approved the final manuscript.

Author details

¹ UMR 152 PHARMA-DEV, IRD, UPS, Université de Toulouse, Toulouse, France.

² Faculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (JUSTTB), BP 1805, Bamako, Mali. ³ Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé, BP 1746, Bamako, Mali.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. Fatoumata Kanadjigui, Mrs. Korotoumou Traoré, Mr. Seydou Dembélé, Mr. Kassim Coulibaly and Mr. Ngolo Ballo for their technical support. We also thank the IRD training programme (IRD-DPF) and the Training Programme for Trainers (PFF) of Mali for their support. Finally, we thank Dr. Philippe Deloron for his careful reading and editing of the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

Mice studies (oral toxicity tests and antimalarial in vivo evaluation) were approved by the ethics committees, the National Institute for Research in Public Health (INRSP) ethics committee in Bamako, Mali, and the Midi-Pyrénées ethics committee for animal experimentation in Toulouse, France. Both studies were authorized with permit numbers 24/2016/CE-INRSP and APAFIS#5921-2016070118008477 v3 for Bamako and Toulouse, respectively. See "Methods" section "Animals and ethics statement".

Funding

The study was funded by IRD, Toulouse 3 University, and USTTB. Mahamane Haidara was funded by a Ph.D. grant from IRD ("Allocation de recherche pour une thèse au Sud" (ARTS) funding) and a grant from Training Program for Trainers (PFF) of Mali.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Received: 6 September 2017 Accepted: 31 January 2018

Published online: 05 February 2018

References

- WHO World malaria report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016.
- WHO. Artemisinin and artemisinin-based combination therapy resistance. Geneva: World Health Organization; 2017.
- Ashley EA, Dhorda M, Fairhurst RM, Amaratunga C, Lim P, Suon S, et al. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med*. 2014;371:411–23.
- Lu F, Culleton R, Zhang M, Ramaprasad A, von Seidlein L, Zhou H, et al. Emergence of indigenous artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Africa. *N Engl J Med*. 2017;376:991–3.
- Iwu MM. Handbook of African medicinal plants. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2014.
- Watt J, Breyer-Brandwijk M. The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa: being an account of their medicinal and other uses, chemical composition, pharmacological effects and toxicology in man and animal. Edinburgh: Livingstone; 1962.
- Burkill H. The useful plants of West Tropical Africa. Kew: Royal Botanic Gardens; 1985.
- Arbonnier M. Trees, shrubs and lianas of West African Dry Zones. Weikersheim: Margraf; 2004.
- Malterud KE. Ethnopharmacology, chemistry and biological properties of four Malian medicinal plants. *Plants*. 2017;6:11.
- Diallo D, Graz B, Falquet J, Tiaoré AK, Giani S, Mounkoro PP, et al. Malaria treatment in remote areas of Mali: use of modern and traditional medicines, patient outcome. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;100:515–20.
- Orwujekwe O, Ojukwu J, Uzochukwu B, Dike N, Ikeme A, Shu E. Where do people from different socio-economic groups receive diagnosis and treatment for presumptive malaria, in south-eastern Nigeria? *Ann Trop Med Parasitol*. 2005;99:473–81.
- Orwujekwe O, Hanson K, Uzochukwu B. Do poor people use poor quality providers? Evidence from the treatment of presumptive malaria in Nigeria. *Trop Med Int Health*. 2011;16:1087–98.
- Beiersmann C, Sanou A, Wladarsch E, De Allegri M, Kouyaté B, Müller O. Malaria in rural Burkina Faso: local illness concepts, patterns of traditional treatment and influence on health-seeking behaviour. *Malar J*. 2007;6:106.
- Silva O, Duarte A, Gabrita J, Pimentel M, Diniz A, Gomes E. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *J Ethnopharmacol*. 1996;50:55–9.
- Silva O, Duarte A, Pimentel M, Viegas S, Barroso H, Machado J, et al. Antimicrobial activity of *Terminalia macroptera* root. *J Ethnopharmacol*. 1997;57:203–7.
- Silva O, Feneira E, Vaz Pato M, Caniça M, Gomes ET. In vitro anti-*Neisseria gonorrhoeae* activity of *Terminalia macroptera* leaves. *FEMS Microbiol Lett*. 2002;211:203–6.
- Sanon S, Ollivier E, Azas N, Mahiou V, Gasquet M, Ouattara CT, et al. Ethnobotanical survey and in vitro antiparasitoid activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *J Ethnopharmacol*. 2003;86:143–7.
- Traore MS, Diane S, Diallo MST, Balde ES, Balde MA, Camara A, et al. In vitro antiprotozoal and cytotoxic activity of ethnopharmacologically selected guinean plants. *Planta Med*. 2014;80:1340–4.
- Smilkstein M, Sriwilajjaroen N, Kelly JX, Wilairat P, Riscoe M. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:1803–6.
- Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 1976;193:673–5.
- Pham AT, Dvergnes C, Togola A, Wangensteen H, Diallo D, Paulsen BS, et al. *Terminalia macroptera*, its current medicinal use and future perspectives. *J Ethnopharmacol*. 2011;137:1486–91.
- OECD. In: OECD guidelines for the testing of chemicals, Section 4: health effects. Test no. 425: acute oral toxicity: up-and-down procedure. Paris: OECD Publishing; 2008.
- Dumont ME, Del-Cas E, Maurois P, Slomianny C, Prensier G, Houcke-Lecomte M, et al. Histopathology of the liver and kidney during malaria: relation to malaria-induced dyslipoproteinemia. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1988;63:171–83.
- Shao BR, Ye XY, Chu YH. Comparison of effects of pyronaridine, amodiaquine, mefloquine and qinghaosu on rodent malaria. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1992;23:59–63.
- Knight DJ, Peters W. The antimalarial activity of N-benzyloxydihydrotriazines. I. The activity of dociguanil (BRL 50216) against rodent malaria, and studies on its mode of action. *Ann Trop Med Parasitol*. 1980;74:393–404.
- Chervin J, Perio P, Martins-Froment N, Phaireovilly C, Reybier K, Nepveu F, et al. Dereplication of natural products from complex extracts by regression analysis and molecular networking: case study of redox-active compounds from *Viola alba* subsp. *dehnhardtii*. *Metabolomics*. 2017;13:96.
- Tsugawa H, Kind T, Nakabayashi R, Yukihira D, Tanaka W, Cajka T, et al. Hydrogen rearrangement rules: computational MS/MS fragmentation and structure elucidation using MS-FINDER software. *Anal Chem*. 2016;88:7946–58.

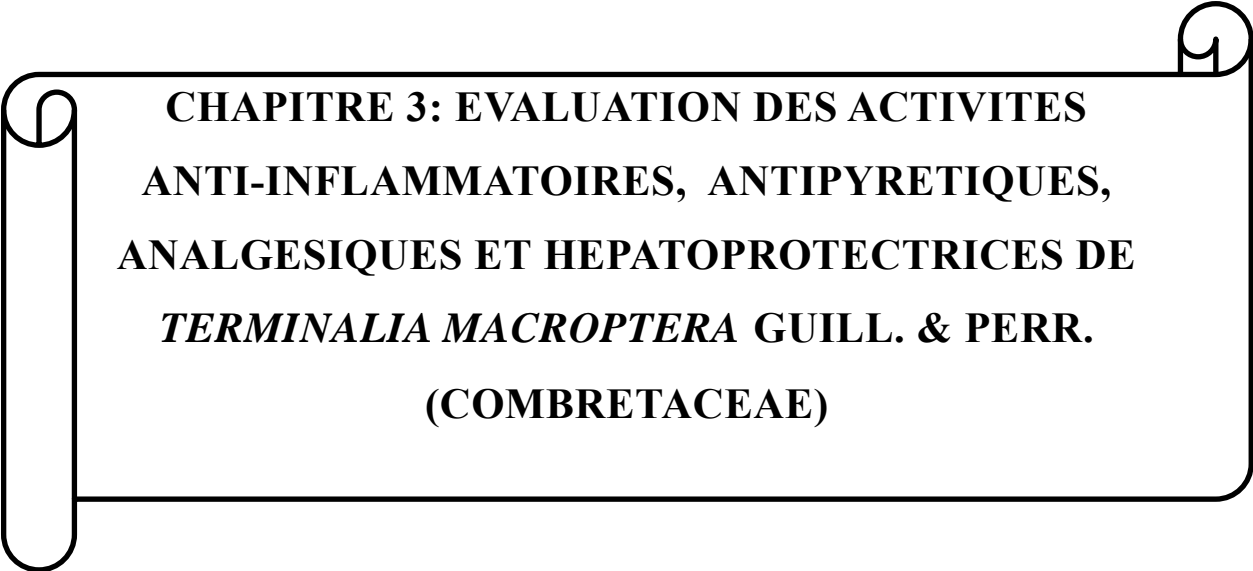
28. Tsugawa H, Cajka T, Kind T, Ma Y, Higgins B, Ikeda K, et al. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nat Methods*. 2015;12:523–6.
29. Aubouy A. Promotion of malaria home-based treatment in Africa: the dangers of creating a second health system. *Int Health*. 2011;3:219–20.
30. Ferrer BE, Webster J, Bruce J, Narh-Bana SA, Narh CT, Allotey NK, et al. Integrated community case management and community-based health planning and services: a cross sectional study on the effectiveness of the national implementation for the treatment of malaria, diarrhoea and pneumonia. *Malar J*. 2016;15:340.
31. WHO. WHO traditional medicine strategy: 2014–2023. Geneva: World Health Organization; 2013.
32. Abdullahi AA. Trends and challenges of traditional medicine in Africa. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8:115–23.
33. Nadebega P, Boussim JI, Nikiema JB, Poli F, Antognoni F. Medicinal plants in Baskoure, Kourittenga Province, Burkina Faso: an ethnobotanical study. *J Ethnopharmacol*. 2011;133:378–95.
34. Malgras D. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. Paris: Editions KARTHALA et ACCT; 1992.
35. O'Neill MJ, Bray DH, Boardman P, Phillipson JD, Warhuist DC. Plants as sources of antimalarial drugs Part. 1. In vitro test method for the evaluation of crude extracts from plants. *Planta Med*. 1985;51:394–8.
36. Isah MB, Ibrahim MA. The role of antioxidants treatment on the pathogenesis of malarial infections: a review. *Parasitol Res*. 2014;113:801–9.
37. Howland SW, Poh CM, Réniá L. Activated brain endothelial cells cross-present malaria antigen. *PLoS Pathog*. 2015;11:e1004963.
38. Zou YF, Ho GT, Malterud KE, Le NHT, Inngjerdigen KT, Barsett H, et al. Enzyme inhibition, antioxidant and immunomodulatory activities, and brine shrimp toxicity of extracts from the root bark, stem bark and leaves of *Terminalia macroptera*. *J Ethnopharmacol*. 2014;155:1219–26.
39. Zou YF, Barsett H, Ho GT, Inngjerdigen KT, Diallo D, Michaelsen TE, et al. Immunomodulating pectins from root bark, stem bark, and leaves of the Malian medicinal tree *Terminalia macroptera*, structure activity relations. *Carbohydr Res*. 2015;403:167–73.
40. Pham AT, Malterud KE, Paulsen BS, Diallo D, Wangensteen H. α -Glucosidase inhibition, 15-lipoxygenase inhibition, and brine shrimp toxicity of extracts and isolated compounds from *Terminalia macroptera* leaves. *Pharm Biol*. 2014;52:1166–9.
41. Silva O, Gomes ET, Wollender JL, Marston A, Hostettmann K. Application of high performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and electrospray mass spectrometry to the characterization of ellagitannins from *Terminalia macroptera* roots. *Pharm Res*. 2000;17:1396–401.
42. Silva O, Viegas S, de Mello-Sampayo C, Costa MJ, Serrano R, Cabrita J, et al. Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Terminalia macroptera* root. *Fito-terapia*. 2012;83:872–6.
43. Shuaibu MN, Wuyep PA, Yanagi T, Hirayama K, Tanaka T, Kouno I. The use of microfluorimetric method for activity-guided isolation of antiplasmodial compound from plant extracts. *Parasitol Res*. 2008;102:1119–27.
44. Verotta L, Dell'Agli M, Giolito A, Guerini M, Caballon P, Bosisio E. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Tristanopsis* species and identification of the active constituents: ellagic acid and 3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O-beta-D-glucopyranoside. *J Nat Prod*. 2001;64:603–7.
45. Banzouzi JT, Prado R, Menan H, Valentin A, Roumestani C, Mallie M, et al. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *J Ethnopharmacol*. 2002;81:399–401.
46. Soh PN, Witkowski B, OLAGNIER D, Nicolau M-L, Garcia-Alvarez M-C, Berry A, et al. In vitro and in vivo properties of ellagic acid in malaria treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:1100–6.
47. Ding Y, Wang L, Song J, Zhou S. Protective effects of ellagic acid against tetrachloride-induced cirrhosis in mice through the inhibition of reactive oxygen species formation and angiogenesis. *Exp Ther Med*. 2017;14:3375–80.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit





**CHAPITRE 3: EVALUATION DES ACTIVITES
ANTI-INFLAMMATOIRES, ANTIPYRETIQUES,
ANALGESIQUES ET HEPATOPROTECTRICES DE
TERMINALIA MACROPTERA GUILL. & PERR.
(COMBRETACEAE)**

1. Contexte et objectifs

Outre son utilisation pour traiter les cas de *sumaya blen* au Mali, *Terminalia macroptera* est une espèce largement utilisée dans toute l'Afrique de l'ouest, pour diverses affections. Les activités antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, antiplasmodiales, antiprolifératives, antitrypanosoma, antivirales, inhibitrice enzymatique, hémolytiques, immunomodulatrices et leishmanicides ont été recherchées par différents auteurs qui tous, ont utilisés des tests *in vitro*. L'activité antidiarrhéique a été recherchée par un test *in vivo*. La toxicité a été évaluée en utilisant des tests de cytotoxicité *in vitro* et des tests de toxicité aiguë *in vivo* (Voir tableau 11).

Dans le cadre de la formulation éventuelle d'un MTA nous avons souhaité approfondir les études pharmacologiques sur les feuilles et les racines de cette espèce par le biais de tests *in vivo* anti-inflammatoire, antipyrétique, antalgique et d'hépatoprotection.

L'objectif de ce chapitre est de recenser l'ensemble des usages de *Terminalia macroptera* à partir de données de la littérature, de dégager les utilisations les plus significatives de cette espèce pour lesquelles il existe une forte convergence d'usage, puis de procéder à une évaluation des extraits des feuilles et des racines de cette espèce en utilisant des tests *in vivo*.

Tableau 11: Les activités biologiques de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae) reportées dans la littérature

Parties utilisée	Activité recherchée	Test retenu pour l'activité	Référence
Ecorces	Antidiarrhéique	Modèle de diarrhée induit par l'huile de ricin chez le rat	[1]
Feuilles, écorces de tronc et écorces de racine	Antibactérienne	Micro-dilution, diffusion sur disque, et bio-autographique direct	[2-6]
Feuilles, écorces de tronc et écorces de racine	Antifongique	Diffusion sur disque	[6-7]
Feuilles, écorces de tronc et écorces de racine	Antioxydante	Anti-radicaux libres (DPPH, NO) par méthode	[2, 8-9]
Ecorces de racines	Antiplasmodiale	Fluorométrie	[10-11]
Racines	Antiproliférative	Méthode au bleu de trypan	[8]
Ecorces de racines	Antitrypanosoma	Fluorométrie	[10]
Racines	Antivirale	<i>In vitro</i> (virus) par titration	[12]
Feuilles, écorces de tronc et écorces de racine	Inhibitrice enzymatique	Inhibition (α -glucosidase, 15-lipoxygénase et xanthine oxydase)	[9]
Feuilles	Hémolytique	<i>In vitro</i> (globules rouges) en utilisant un test colorimétrique	[2]
Feuilles, écorces de tronc et écorces de racine	Immunomodulatrice	Fixation du complément	[9, 13]
Ecorces de racines	Leishmanicide	Fluorométrie	[10]
Ecorces de racines	Cytotoxicité	Fluorométrie	[8, 10]
Ecorces, racines	Toxicité	Toxicité aiguë (méthode de l'OMS)	[14]

Références consultées : (1-Etuk et al., 2009) ; (2-Karou et al., 2012) ; (3-Silva et al., 2012) ; (4-Silva et al., 2002) ; (5-Silva et al., 1997a) ; (6-Silva et al., 1996) ; (7-Batawila et al., 2005) ; (8-Tagne et al. 2015) ; (9-Zou et al., 2014) ; (10-Traoré et al., et al., 2014) ; (11-Sanon et al., 2003) ; (12-Silva et al., 1997b) ; (13-Zou et al., 2015) ; (Yakubu et al., 2015)

2. Matériel et méthodes

2.1 Principaux usages de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.

Une recherche a été entreprise en utilisant diverses ressources bibliographiques (au total 11 références ont été consultées dont 3 livres, 7 articles et un rapport), et en relevant systématiquement les usages de *Terminalia macroptera*, les parties utilisées, le mode de préparation et la posologie si ceux-ci étaient mentionnés.

Pour analyser ces données, deux indices ont été utilisés : le premier (I1) correspond au nombre de publications (extraits de la revue bibliographique) qui mentionne l'usage de l'espèce pour une pathologie donnée, et le deuxième (I2) est le nombre de pays dans lequel est reporté l'usage de cette espèce pour la pathologie donnée. Ces deux indices permettent de définir un score (S) de convergence d'usage bibliographique et de diffusion géographique (Chassagne, 2017)

$$S = I1 \times I2$$

2.2 Les extraits soumis à évaluation

Les extraits éthanoliques 90 % préparés dans le chapitre précédemment ont été soumis à l'évaluation.

2.3 Evaluation de l'activité antipyrétique

Le test antipyrétique *in vivo* est un test dont le principe est basé sur la capacité des médicaments à inhiber l'hyperthermie induite par un pyrogène exogène. Les pyrogènes exogènes peuvent des pathogènes infectieux (bactéries, virus, fungi) ou des produits chimiques (2,4-Dinitrophenol).

L'activité antipyrétique des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* a été évaluée en utilisant l'hyperthermie induite par injection sous-cutanée de la levure (fungi) chez des rats (Sasmal et al., 2012 ; Loux et al., 1972). C'est le test le plus fréquemment utilisé pour évaluer *in vivo* l'activité antipyrétique des extraits de plantes.

2.4 Evaluation de l'activité antalgique

Le test antalgique *in vivo* est un test dont le principe est basé sur la capacité des médicaments à inhiber la douleur induite par un stimulus douloureux. Les stimuli douloureux peuvent être chimique (acide acétique, chlorure de sodium, la phényle-quinone et le formol etc..) ou des thermique (plaque chauffante, bain chaud etc...)

L'activité antalgique des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* a été évaluée en utilisant la douleur induite par l'injection intrapéritonéale (IP) d'acide acétique chez des souris selon la méthode décrite par Siegmund et al., (1957). C'est le test le plus fréquemment utilisé pour évaluer *in vivo* l'activité antalgique périphérique des extraits de plantes.

2.5 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Le test anti-inflammatoire *in vivo* est un test dont le principe est basé sur l'inhibition de l'œdème induit par des agents phlogistiques (carraghénine, levure de bière, formol, dextran et l'albumine d'œuf, l'huile de croton etc..).

L'activité anti-inflammatoire des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* a été évaluée en utilisant l'œdème induite par l'injection de la carraghénine dans la patte postérieure droite des souris selon la méthode décrite par Winter et al., (1963). Ce modèle d'inflammation est largement utilisé pour évaluer *in vivo* l'activité anti-inflammatoire de différents produits.

2.6 Evaluation de l'activité hépatoprotectrice

Le principe du test hépatoprotecteur *in vivo* est basé sur la capacité des médicaments (ou des extraits de plantes) à protéger le foie des rongeurs (souris et rats) contre l'intoxication induite par un agent hépatotoxique (tétrachlorure de carbone CCl₄, paracétamol, éthanol).

L'intoxication induite par le CCl₄ chez les rats a été utilisée dans ce travail comme modèle animal pour évaluer l'activité hépatoprotectrice des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* selon la méthode décrite par Afzal et al. (2013).

2.7 Analyses statistiques utilisées pour ces tests

Les résultats ont été exprimés en moyenne (M) \pm déviation standard (DS). Les données ont été analysées en utilisant la version 6 du logiciel Graph Prism. L'analyse statistique a été réalisée par Anova, suivie par le test t de Dunnett. Les différences sont considérées comme significatives si la valeur p (p) est inférieure à 0.05 par rapport au groupe témoin négatif (eau distillée).

3. Résultats

3.1 Indications de *Terminalia macroptera* et convergences d'usages.

Six pays reportent 18 usages traditionnels (Voir tableau 12) : le Burkina Faso, la Guinée, la Guinée-Bissau, le Mali, Nigéria et le Sénégal. Les usages pour lesquels on observe la plus forte convergence sont les affections hépatiques (6 références provenant de 4 pays ; S=24), le paludisme (5 références provenant de 4 pays ; S=20) et la diarrhée (5 références provenant de 3 pays ; 15). Viennent ensuite les maladies vénériennes, le traitement de la douleur, les plaies, les cas d'asthénie, les troubles urinaires, les morsures de serpent et la fièvre, la toux et les infections vaginales (voir figure 7).

Cinquante-cinq recettes à base de *Terminalia macroptera* ont été relevées (voir annexe 4). Les racines et les feuilles (S=24), suivi des écorces de tronc (S=20) sont les organes de plante les plus employés dans la préparation des recettes (voir figure 8). La décoction (S=24) est le mode de préparation préférentiel (voir figure 9) utilisé dans les recettes à base de *Terminalia macroptera*.

L'eau est le solvant utilisé dans la préparation des recettes, dont la plupart sont des décoctions. Ce résultat est en accord avec les résultats de notre enquête auprès des tradipraticiens – herboristes du marché de Medina Coura Bamako (chapitre 2). L'usage important des décoctions est peut être lié au fait que, dans cette revue de la littérature, les organes les plus utilisés sont les écorces de tronc et les racines. La prépondérance de décoctions a aussi été mise en évidence dans une étude ethnobotanique visant à recenser les espèces médicinales menée dans la province de Baskoure, Kourittenga au Burkina Faso. (Nadembega et al., 2011)

Dans les publications analysées, la dose à respecter pour préparer la recette n'est pas précisée et il en est de même pour la posologie sauf dans la publication de Pham et al. (2011) ou la dose et la posologie sont précisées pour certaines affections. Nous reportons ici la dose et la posologie pour les trois indications (affections hépatiques, paludisme et diarrhée) les plus importantes de *Terminalia macroptera* reportées dans la littérature (affections hépatiques, paludisme et la diarrhée).

Dans le cas des affections hépatiques (hépatites)

- La décoction des écorces de tronc ou des écorces de racines est administrée par voie orale en raison de 2 quantités du décocté contenu dans le creux de la main (environ 50 mL) deux fois par jour pendant trois jours (Pham et al., 2011).
- Le jus de racine mélangé avec un peu d'eau peut aussi être utilisé en raison de 3 poignées de main (environ 75 mL) administrées par voie orale (Pham et al., 2011).
- Mélanger les écorces de tronc avec les écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae) et les écorces de racine de *Strophanthus sarmentosus* DC. (Apocynaceae). Boire trois à quatre quantités du décocté contenu dans le creux de la main (environ 75 – 100 mL) deux fois par jour pendant 5 jours (Pham et al., 2011).
- La décoction des feuilles de *Loranthus* est bue en raison de 3 à 4 quantités du décocté contenu dans le creux de la main (environ 75 – 100 mL) deux fois par jour pendant 3-4 jours. Le reste de la décoction est utilisée en bain corporelle (Pham et al., 2011).

La décoction des racines mélangées avec les racines de *Blighia sapida* K.D.Koenig est bue en raison d'une tasse de thé (environ 250 mL) deux fois par jour pendant 3 – 4 jours contre le paludisme (Pham et al., 2011).

La décoction des écorces interne de la racine ou de la racine est utilisée par voie orale en raison d'un verre de thé (environ 8 mL), une fois par jour pendant 3 jours ou jusqu'à amélioration pour le traitement de la diarrhée (Pham et al., 2011).

Tableau 12: Usages de *Terminalia macroptera* et pays d'origine de l'information.

Indications	Nombre de référence* (I1)	Nombre pays de citation (I2)	Score	Nom des pays
Affections hépatiques	6	4	24	Burkina Faso, Guinée-Bissau, Mali, Sénégal
Paludisme	5	4	20	Burkina Faso, Guinée Mali, Sénégal
Diarrhée	5	3	15	Burkina Faso, Mali, Nigéria
Maladie vénérienne	3	3	9	Guinée-Bissau, Mali, Sénégal
Douleur	3	2	6	Mali, Sénégal
Plaie	3	2	6	Mali, Sénégal
Asthénie	2	2	4	Mali, Sénégal
Troubles urinaires	2	2	4	Burkina Faso, Mali
Morsure de serpent	2	2	4	Mali, Sénégal
Fièvre	3	1	3	Mali
Toux	2	1	2	Mali
Infections vaginales	2	1	2	Mali
Aphrodisiaque	1	1	1	Sénégal
Conjonctivite	1	1	1	Sénégal
Ulcère gastrique	1	1	1	Burkina Faso
Furoncle	1	1	1	Mali
Absence ou retard des règles	1	1	1	Mali
Maladies de la peau	1	1	1	Burkina Faso

* : Références consultées : (Arbonnier, 2009) ; (Diniz et al., 1996) ; (Etuk et al., 2009) ; (Inngjerdingen et al., 2004) ; (Kerharo et Adam 1974) ; (Malgras, 1992) ; (Nadembega et al., 2011) ; (Pham et al., 2011) ; (Sanon et al., 2003) ; (Traoré et al., 2013) ; (Traoré M cité dans Prelude database)

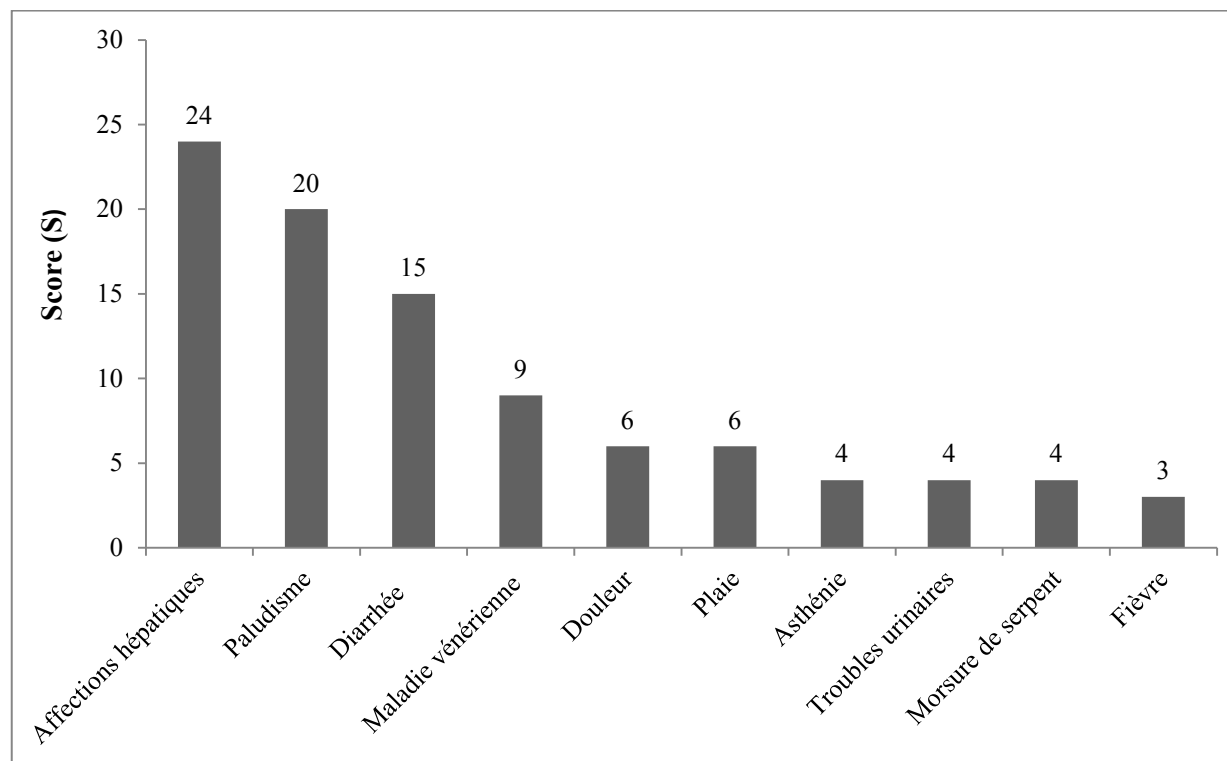


Figure 7: Score bibliographique obtenu pour chacun des usages de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Score > 2)

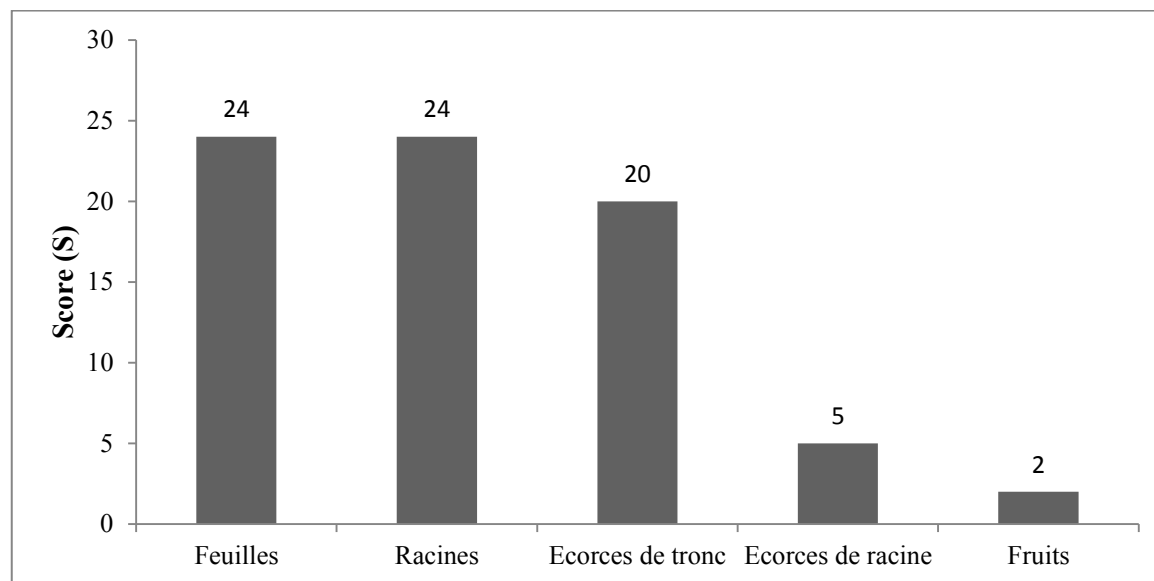


Figure 8 : Score bibliographique obtenu pour les différentes parties de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae) employées dans la préparation des recettes traditionnelles.

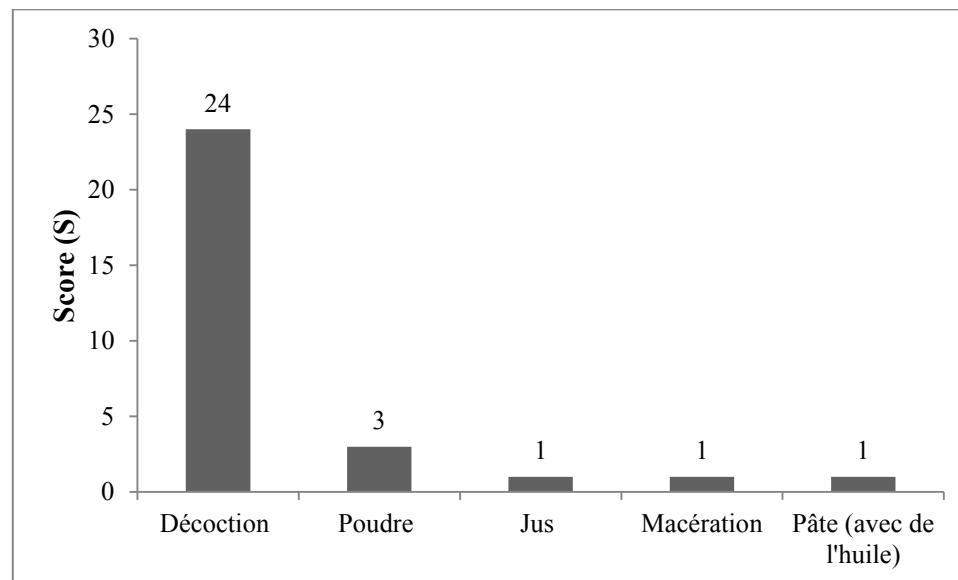


Figure 9: Score bibliographique obtenu pour les différents modes de préparations des recettes à base de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.

3.2 Activités antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire

Comparativement au contrôle négatif (eau distillée), les extraits éthanoliques des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* administrés par gavage à la dose de 400 mg/kg ont significativement réduits :

- **l'hyperthermie** provoquée par injection sous cutanée de la levure chez le rat. Les effets étaient plus prononcés à la 3^{ème} et 4^{ème} heure après administration des extraits.
- **la douleur** induite par injection IP d'acide acétique chez la souris avec respectivement 64.80 % et 78.2 % d'inhibition de la contorsion,
- **l'inflammation** induite par injection de la carraghénine dans la patte postérieure droite des souris avec respectivement 87.2 % et 77.6 % d'inhibition de l'œdème à la 5^{ème} heure après l'administration de la carraghénine.

3.3 Activité hépatoprotectrice

Les extraits de *Terminalia macroptera* (400 mg/kg) ont réduits significativement le taux des enzymes marqueurs hépatiques (ALAT, ASAT, phosphatase alcaline et de bilirubine totale) comparativement au groupe de rat traité par l'eau distillée et intoxiqué par le CCl₄.

4. Discussion et conclusion

Dans cette étude nous avons démontré les propriétés antipyrétiques et antalgiques des extraits éthanoliques des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* sur les modèles expérimentaux de fièvre et de douleur. Ces propriétés pourraient être bénéfiques pour atténuer les symptômes de fièvre et de douleur associés au paludisme (OMS, 2014), et pour toute manifestation pathologique, accompagnée d'un symptôme fébrile. Egalement, l'effet antalgique de *T. macroptera* pourrait trouver une application thérapeutique dans un grand nombre de pathologies pour lesquelles un symptôme douleur est présent.

Nos extraits ont aussi démontré des propriétés anti-inflammatoires sur un modèle expérimental d'inflammation. L'inflammation est la première réaction de l'organisme face à une agression (Pickup, 2004). L'effet anti-inflammatoire de *Terminalia macroptera*, pourrait donc, en partie, justifier son usage dans un certain nombre d'indications traditionnelles en particulier les affections de la peau et les plaies, les ulcères gastriques et les infections (furoncles, infection vaginale, maladies vénériennes). Cette propriété pourrait être également être bénéfique pour empêcher l'évolution du paludisme simple en paludisme cérébral.

En effet selon la théorie immunologique, la lésion cérébrale peut s'expliquer par une activation excessive des cellules immunitaires conduisant à la libération de cytokines pro-inflammatoires et la production de superoxyde nitrique (NO) entraînant la séquestration des lymphocytes T dans les capillaires sanguins du cerveau. C'est ce mécanisme physiopathologique, pro-inflammatoire, qui favoriserait le développement du neuropaludisme (Combes et al., 2006 ; Van der Heyde et al., 2006).

Par ailleurs il a été démontré que l'administration de levures, d'acide acétique et de carraghénine stimule la biosynthèse des prostaglandines via la voie de la cyclo-oxygénase (Aouey et al., 2016), des cytokines par les macrophages et les mastocytes (Ribeiro et al., 2000) et des leucotriènes via la voie de la lipo-oxygénase (Jain et al., 2001) et que dans les lésions inflammatoires il y a une augmentation de la biosynthèse des prostaglandines particulièrement de la prostaglandine PGE2 qui est un puissant vasodilatateur, un agent pyrétique et un hyperalgésique (Vane et Botting 1996).

Cela suggère que les activités antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires de l'extrait éthanolique des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* pourraient être liées à l'inhibition de la libération et de la biosynthèse des prostaglandines à l'instar des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) tels que l'indométacine qui possèdent des propriétés antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires grâce à l'inhibition des iso-enzymes des cyclooxygénases (COX) (Vane et Botting 1998).

Ces trois activités vont donc dans le sens de la validation des indications traditionnelles de cette espèce concernant la douleur, les fièvres, et aussi du paludisme, en tant qu'effets symptomatiques positifs contribuant au bien-être du patient.

Par ailleurs étant donné qu'il a été démontré *in vitro* que *Terminalia macroptera* possédait les propriétés antibactériennes sur différentes souches de bactéries telles que *Neisseria gonorrhoeae* (Silva et al., 2002), *Escherichia coli* (Silva et al., 1996), *Staphylococcus aureus* (Karou et al., 2012 ; Silva et al., 1997a ; Silva et al., 1996) et des propriétés antifongiques sur différentes souches de champignons tels *Candida albicans* (Batawila et al., 2005) pourraient justifier son utilisation dans le traitement des maladies vénériennes et des infections vaginales. Son effet antibactérien sur *Helicobacter pylori* (Silva et al., 2012) pourrait être bénéfique dans le traitement de l'ulcère gastrique dû à *Helicobacter pylori*.

Son effet antibactérien sur *Campylobacter coli* et *Shigella dysenteriae* (Silva et al., 1997a ; Silva et al., 1996) couplé à son effet antidiarrhéique *in vivo* sur un modèle de diarrhée induit par l'huile de ricin chez le rat pourrait justifier son utilisation dans le traitement des gastro-entérites (diarrhée) et enfin son effet immunomodulatrice (Zou et al., 2015 ; Zou et al., 2014) pourrait être bénéfique pour renforcer le système immunitaire enfin de lutter contre les maladies infectieuses et l'asthénie.

Enfin nous avons démontré la propriété hépatoprotectrice des extraits sur un modèle expérimental d'hépatite induit par le tétrachlorure de carbone. Nos résultats sont comparables à ceux de Sanogo et al., (1998) qui ont démontré que le décocté des racines de *Entada africana* Guill. & Perr. (Leguminosae) administré par voie orale à la dose de 100 mg/kg/j pendant 7 jours protège le foie des souris contre l'intoxication induit par CCl₄ en diminuant significativement le taux des enzymes marqueurs hépatiques (ASAT et ALAT) (Sanogo et al., 1998).

Cette espèce est utilisée au Mali à la fois contre les affections hépatique et le paludisme (Diarra et al., 2015 ; Arbonnier, 2009 ; Malgras, 1992 ; Adjanooun et al., 1981). Au Mali les racines de *Entada africana* entre dans la composition du MTA SAMANERE[®] utilisé dans le traitement des hépatites dont une demande d'autorisation de mise sur le marché pharmaceutique malien est en cours.

L'administration de CCl₄ induit des lésions hépatiques semblables à celles causées par l'hépatite virale aiguë (Sanogo et al., 1998 ; Clawson, 1989), et cette l'hépatotoxicité serait due à la production des radicaux trichlorométhyle et peroxy trichlorométhyle (Afzal et al., 2013 ; Tirkey et al., 2005).

Etant donné que plusieurs études ont démontré *in vitro* l'activité antiradicalaire des extraits des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* (Zou et al., 2014 ; Tagne et al., 2014 ; Karou et al., 2012), une hypothèse qui pourrait être formulée est que l'activité hépatoprotectrice de nos extraits soit due à l'inhibition de la production de ces radicaux libres.

Cette activité hépatoprotectrice, démontrée *in vivo* valide ainsi les usages de *T. macroptera* contre les hépatites, tels que relevés dans la littérature, ainsi que les recommandations des TH qui préconisent son utilisation dans le traitement de *Sumaya blen*.

Néanmoins pour toutes ces activités, il serait intéressant de refaire ces tests en utilisant des préparations traditionnelles, donc des décoctions à l'eau.

Ce travail s'est traduit par la rédaction d'un article en cours de soumission dans la revue scientifique *Journal of Ethnopharmacology*, et intitulé :

Article 3: Assessing in vivo anti-inflammatory, antipyretic, analgesic and hepatoprotective properties of Terminalia macroptera, an African medicinal plant.

Mahamane Haïdara^{a-b}, Mohamed Haddad^a, Adama Dénou^b, Korotoumou Traoré^d, Fatoumata Kanadjigui^c, Rokia Sanogo^{b-c}, Geneviève Bourdy^a

^aUMR 152 PHARMA-DEV, Université de Toulouse, IRD, UPS, France

^bFaculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

^cDépartement Médecine Traditionnelle, Bamako, Mali

^dAidemet Ong, BP 9279, Bamako, Mali

L'article est présenté ci-dessous dans sa forme manuscrite.

Assessing *in vivo* anti-inflammatory, antipyretic, analgesic and hepato-protective properties of *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae), an African medicinal plant

Mahamane Haïdara^{a,b}, Mohamed Haddad^a, Adama Dénou^b, Korotoumou Traoré^d, Fatoumata Kanadjigui^c, Rokia Sanogo^{b,c}, Geneviève Bourdy^a

^aUMR 152 PHARMA-DEV, Université de Toulouse, IRD, UPS, France

^bFaculté de Pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

^cDépartement Médecine Traditionnelle, Bamako, Mali

^dAidemet Ong, BP 9279, Bamako, Mali

Corresponding author; Mahamane Haïdara, smydos@yahoo.fr

Abstract

Background and objective: *Terminalia macroptera* (TM) is a medicinal plant used traditionally for the treatment of many diseases including inflammatory conditions like pains, fever and liver diseases in Mali. The aim of this study is to evaluate the antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective activities of ethanol extracts of leaves and roots *Terminalia macroptera* to confirm its use traditionally to treat inflammatory diseases and liver diseases

Materials and methods: Acute oral toxicity test was carried out in mice according to the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) guidelines-423. The anti-pyretic, antalgic, anti-inflammatory and hepatoprotective effects were studied by yeast-induced pyrexia test in rat, acetic acid-induced writhing test in mice, carrageenan-induced edema test in mice and CCl₄-induced hepatotoxicity test in rat respectively.

Results: The both crude extracts ethanol of *Terminalia macroptera* administered orally in mice at a dose of 2000 mg/kg did not cause mortality. The extracts caused a significant ($P < 0.05 - 0.0001$) reduction of pyrexia, pain, inflammation and hepatic marker enzymes (ALT, AST, ALP, TB) induced by different agents used.

Conclusion

Terminalia macroptera leaves and roots extracts demonstrated a low toxicity activity coupled with and *in vivo* antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective activities. Altogether these data support the traditional use of TM roots and leaves.

Keywords: *Terminalia macroptera*; antipyretic; analgesic; anti-inflammatory; hepatoprotective; Mali.

Introduction

Terminalia macroptera Guill. & Perr.(Combretaceae) is widely distributed from Senegal and Gambia eastward to western Ethiopia and Uganda, and southward to northeastern DR Congo (Sanogo et al., 2013) and roots, and leaves of this species are commonly used in folk medicine for treatment of inflammatory conditions, liver diseases, pain, malaria, wounds, fever, snake bite, diarrhea, dysentery, aphrodisiac, asthenia and sexually transmitted disease (Pharm et al., 2011; Nadembega et al., 2011, Inngjerdingen et al., 2004; Malgras et al., 1992). The root of this species has been reported to contain alkaloid, flavonoid, tannins, steroid, resin and saponin (Yakubu et al., 2014).

Quite a high number of *in vitro* studies have been undertaken in order to explore the pharmacological potential of this species, and its antiplasmodial (Traoré et al., 2014; Sanon et al., 2003), antimicrobial (Karou et al., 2012 ; Silva et al., 2012 ; Silva et al., 2002 ; Batawila et al., 2005 ; Silva et al., 1997 ; Silva et al., 1996), antiproliferative (Tagne et al., 2014), immunomodulatory (Zou et al., 2015 ; Zou et al., 2014) and antioxydant (Tagne et al., 2014 ; Zou et al., 2014 ; Karou et al.,2012)activities have been investigated. Still, at the best of our knowledge despite its wide use all over West Africa, no *in vivo* studies have been performed on the leaves and root of this species in order to validate its uses. Thus, this study was carried out to evaluate the *in vivo* antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective activities of this species to confirm its main traditional uses.

Materials and methods

Ethical aspects of research

The authorization and approval of the INRSP ethics committee were obtained for experimental studies using animals (Decision No. 24/2016 / CE-INRSP).

Plant collection

The leaves and roots of TM were collected in August 2015 from Siby village, Koulikoro region, Mali. A specimen of the plant with voucher number (3752/DMT) was deposited in the herbarium of DMT/NIRPH, Mali, and authenticated by specialists.

Preparation of extracts

TM leaves and roots were dried in the shade for two weeks and then ground to a powder. Powder from each sample (250 g) was macerated with 1000 mL ethanol (90%). The macerates were filtered after 24 h and the residues were taken up with 1000 mL of ethanol (90%). This operation was repeated three times. The filtrates were combined and evaporated *in vacuo* to dryness. The crude extracts of *Terminalia macroptera* leaves (TML) and *Terminalia macroptera* roots (TMR) were stored in the refrigerator at 4-8 °C until use.

Phytochemical Screening

The characterization of the different chemical groups, present in the plant material, was carried out by colored tube reactions as described previously (Somboro et al., 2011).

Animals

Albino Swiss mice (20 – 25 g) and rats (100 – 150 g) of either sex were obtained from the DMT/NIRPH animal house. The animals were maintained in standard laboratory conditions (25 °C and light/dark cycles i.e. 12/12 h) and were fed with standard food and tap water.

Acute toxicity assay

Acute oral toxicity tests were carried out according to the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) guidelines-423 (OECD, 2001). Female mice were fasted for 4 hours with free access to water. They were randomly divided into three groups of three mice and treated by the oral route with a single dose of TML and TMR crude ethanolic extracts (2000 mg/kg) or distilled water (20 mL/kg) used as a control group. The experimental animals were observed for the first four hours after treatment to record immediate deaths and once daily for 14 days to record late deaths.

Evaluation of antipyretic activity

The antipyretic activity of TML and TMR crude ethanolic extracts was evaluated using yeast-induced pyrexia in male rats (Loux et al., 1972). The rats were fasted for 16 hours with free access to water. At 0 h, the basal temperatures of the rats were taken using digital clinical thermometer. Thereafter, each animal was subcutaneously injected with 20% W/V aqueous suspension of yeast. The rectal temperature of animals was taken 24 hours after the yeast injection. Animals with an increase of 0.5 °C were selected and grouped into eight groups of five rats and treated by gavage. One group was treated with paracetamol (100 mg/kg) as the reference drug. A second group was given distilled water (10 mL/kg) as the control group. The remaining groups were treated with TML and TMR crude extracts (100, 200, and 400 mg/kg). The rectal temperature of the rats was taken hourly for 4 hours after administration of the treatments. The mean value for each group was calculated and compared with the control group.

Evaluation of analgesic activity

Analgesic activity was tested using albino Swiss mice (20 - 25 g) of either sex. Animals were randomized into eight groups of six mice. Group I and II were treated orally with distilled water (25 mL/kg) as the control group and paracetamol (100 mg/kg) as the reference drug, respectively. The remaining groups were treated orally with TML and TMR crude ethanolic extracts (100, 200 and 400

mg/kg). One hour after these treatments, the animals were treated by intraperitoneal injection (i.p.) with 1% acetic acid.

The number of abdominal constrictions (writhes) was counted for 20 minutes, starting 5 minutes after acetic acid injection (Siegmund et al., 1957). The mean value for each group was calculated and compared with the control group. The percentages of inhibition were calculated using the following formula:

$$\% \textit{Inhibition} = \frac{(Wc - Wt) \times 100}{Wc}$$

Where Wt = mean number of writhings in test animals and Wc = mean number of writhings in control.

Evaluation of anti-inflammatory activity

Acute inflammation was produced by the injection of carrageenan (an edematogenic agent) into the subplantar region of the right hind paw of the mice (Winter et al., 1963). Albino Swiss mice of either sex were randomized into eight groups of six mice. Group I and II were treated orally with distilled water (25 mL/kg) as the control group and indomethacin (8 mg/kg) as the reference drug, respectively, while the remaining groups were treated orally with TML and TMR crude ethanolic extracts (100, 200 and 400 mg/kg). One hour after the above treatments, 0.025 mL of 1% of carrageenan suspension was injected in the right hind paw of animals. The paw volume was measured using a sliding caliper. The measures were determined at 0 h (V_0 : before edematogenic agent injection) and 1, 3, and 5 h intervals later (V_T). The difference between V_T (1, 3 and 5 h) and V_0 was taken as the edema value. Average paw volume for each group was calculated and compared with the control group. The percentages of inhibition were calculated using the following formula:

$$\% \textit{Inhibition} = \frac{[(V_T - V_0)_{\textit{control}} - (V_T - V_0)_{\textit{treated group}}] \times 100}{(V_T - V_0)_{\textit{control}}}$$

Evaluation of hepatoprotective activity

The hepatoprotective activity of the extracts was evaluated by intraperitoneal injection of carbon tetrachloride (CCl_4) in male rats using the method described by Afzal et al. (Afzal et al., 2013). The rats were randomized into five groups of five rats and treated once daily for seven days. Group I received distilled water (10 mL/kg, orally) as the control group, Group II received distilled water (10 mL/kg, orally) as the treated control group and Group III received silymarin (100 mg/kg, orally) as reference hepatoprotective drug. Groups IV – V received the crude ethanolic extracts of TML and TMR (400 mg/kg, orally). One hour after treatment on Day 7, the rats of groups II – V were intoxicated by intraperitoneal administration of CCl_4 (0.5 mL/kg). After 24 hours, blood was collected and centrifuged at 2500 rpm. Alanine amino transferase (ALT), aspartate amino transferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and total bilirubin (TB) were measured in the serums, using a BS200 MINDRAY biochemistry automaton.

Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm SEM. The data were analyzed using the Graph Prism software version 6. The statistical analysis was performed by Anova, followed by the Dunnett's t-test. The differences are considered significant if the p-value (p) is less than 0.05 compared with the control group.

Results

Phytochemical screening

The phytochemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids, saponosides, anthracene derivatives, sterols and triterpenes in the leaves and roots powder.

Acute toxicity

In our study, TML and TMR extracts administered orally in mice at a dose of 2000 mg/kg did not cause mortality. Therefore, from these data, the LD₅₀ of TML and TMR extracts appears to be greater than 2000 mg/kg in mice and can be classified as category 5, considered non-toxic orally according to the OECD's Globally Harmonized System of Classification (OECD, 2001).

Antipyretic activity

The effect of crude extracts ethanol on yeast pyrexia in rats is shown in Figure 1. The crude extracts ethanol of *Terminalia macroptera* (100 - 200 - 400 mg / kg) significantly reduced (p <0.05 - 0.0001) yeast-induced pyrexia compared to distilled water. These effects were more pronounced at the 3rd and 4th hour after administration of the extracts. Paracetamol (100 mg / kg) used as a reference drug also significantly (P < 0.0001) presented similar results.

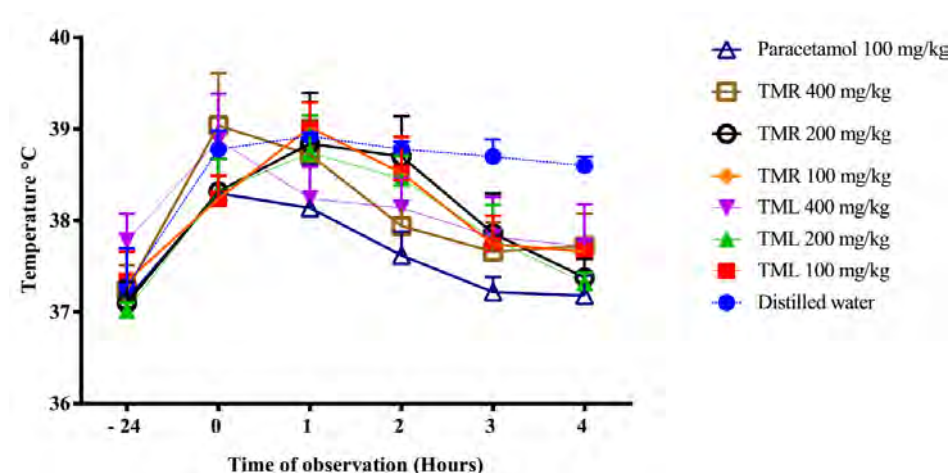


Figure 1: Effect of *Terminalia macroptera* extracts on yeast-induced pyrexia in rats. Data are expressed as the mean \pm SD, n = 6. P < 0.05 -0.0001 compared with control group. Two-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison tests.

Analgesic activity

The crude extracts ethanol of leaves and roots of *Terminalia macroptera* (100 - 200 – 400 mg/kg) and the paracetamol (100 mg/kg) used as a reference drug have significantly reduced ($p < 0.0001$) the number of contortions induced by acetic acid in comparison with distilled water (see Figure 2A). The maximum analgesic effect was obtained with the crude extract ethanol of roots (400 mg/kg) with $78.3 \pm 0.8\%$ inhibition (see Figure 2B).

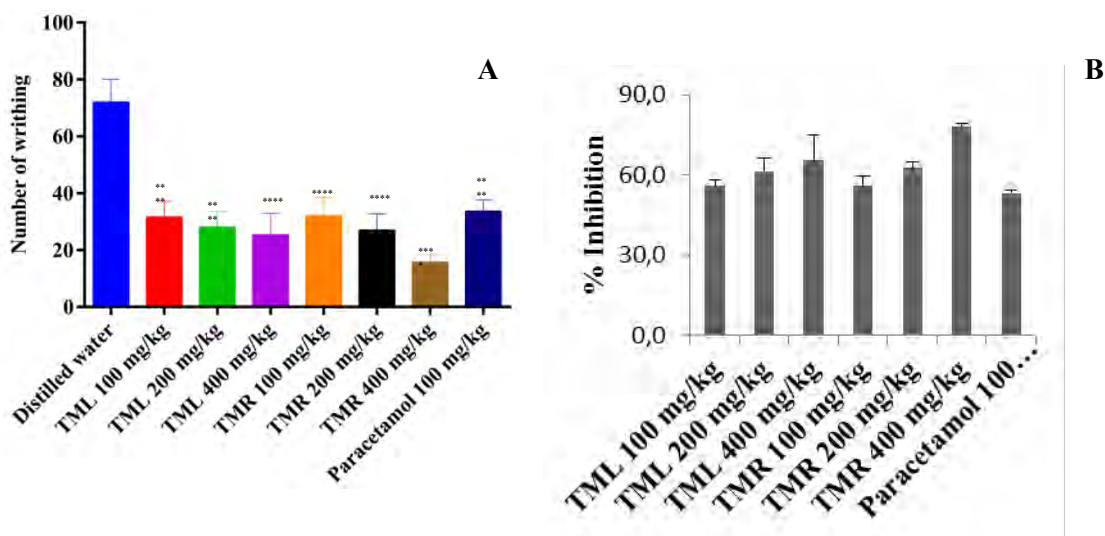


Figure 2: Effects of *Terminalia macroptera* extracts on acetic acid-induced writhing in mice. Figure 2A: Number of writhings. Figure 2.B: Percentage inhibition. Data are expressed as the mean \pm SD, $n = 6$. **** $P < 0.0001$ compared with control group. One-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison tests.

Anti-inflammatory activity

The crude extracts ethanol of leaves and roots of *Terminalia macroptera* (100 - 200 – 400 mg / kg) and Indomethacin (8 mg/kg) used as a reference drug have significantly decreased ($p < 0.05 - 0.0001$) edema induced by carrageenan injection compared to distilled water (see Figure 3A). The maximum anti-inflammatory effect ($92.6 \pm 7.6\%$) was obtained with the crude extract ethanol of leaves (400 mg/kg) at the 5th hour after carrageenan injection (see Figure 3B).

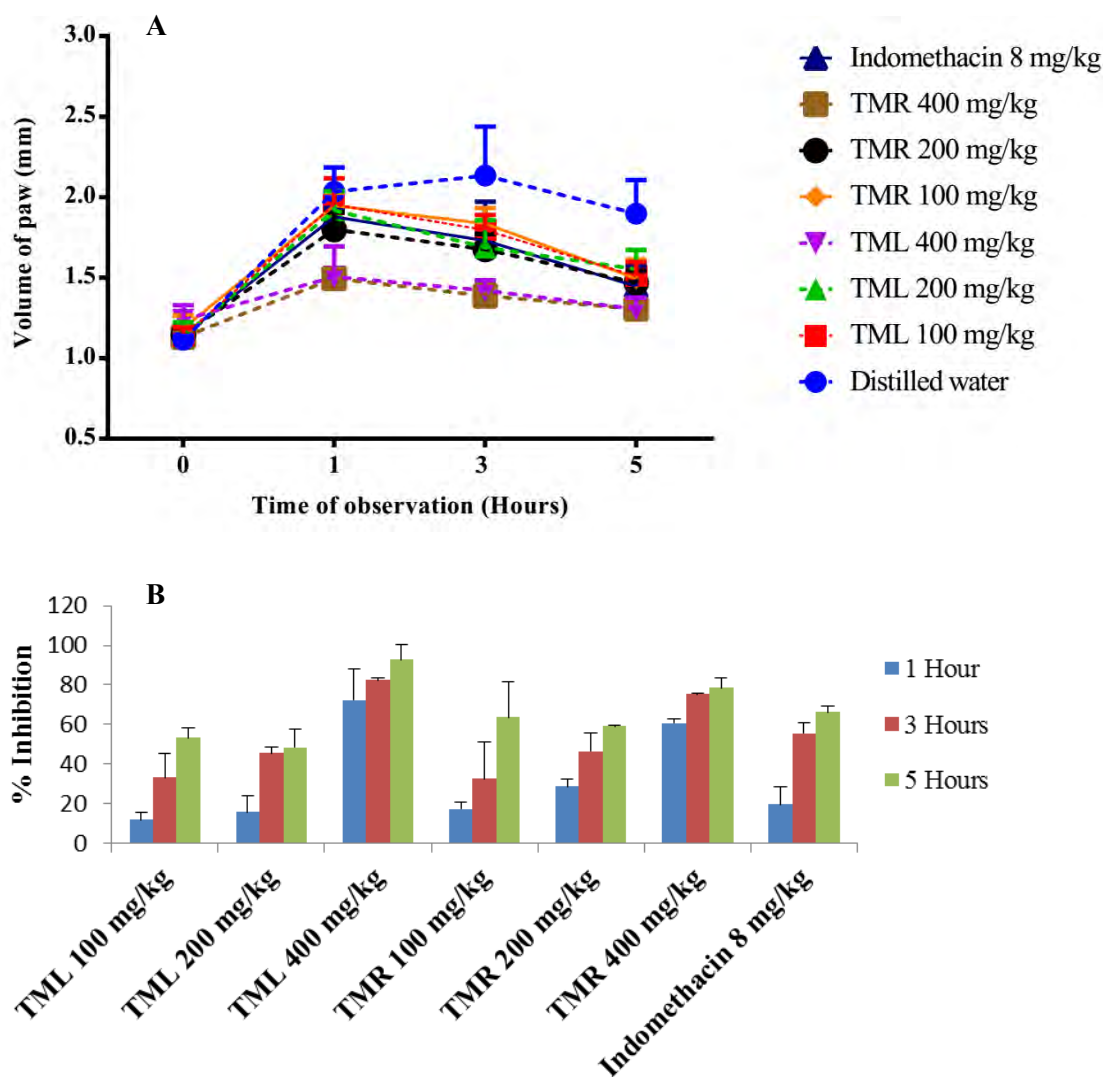


Figure 3: Effects of *Terminalia macroptera* extracts on carrageenan-induced edema in mice. Figure 3.A: Volume of paw. Figure 3.B: Percentage inhibition. Data are expressed as the mean \pm SD, n = 6. P <0.05 - 0.0001 compare with control group. Two-way ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison tests.

Hepatoprotective Activity

The effect of TML and TMR extracts (400 mg /kg) on hepatic marker enzymes in CCl₄-induced hepatic injury in rats is shown in Figures 4. The levels of ALT, AST, ALP and TB were significantly increased in the rat group treated with distilled water and intoxicated by the intraperitoneal injection of CCl₄ compared with the rat group treated with distilled water and non-intoxicated ($p < 0.0001$). The crude ethanolic extracts of TML and TMR (400 mg/kg) significantly reduced the levels of ALT, AST, ALP and TB compared with the rat group treated with distilled water and intoxicated by CCl₄ ($p < 0.05 - 0.0001$). Silymarin (100 mg / kg) used as a reference drug, also produced similar results ($p < 0.05 - 0.0001$).

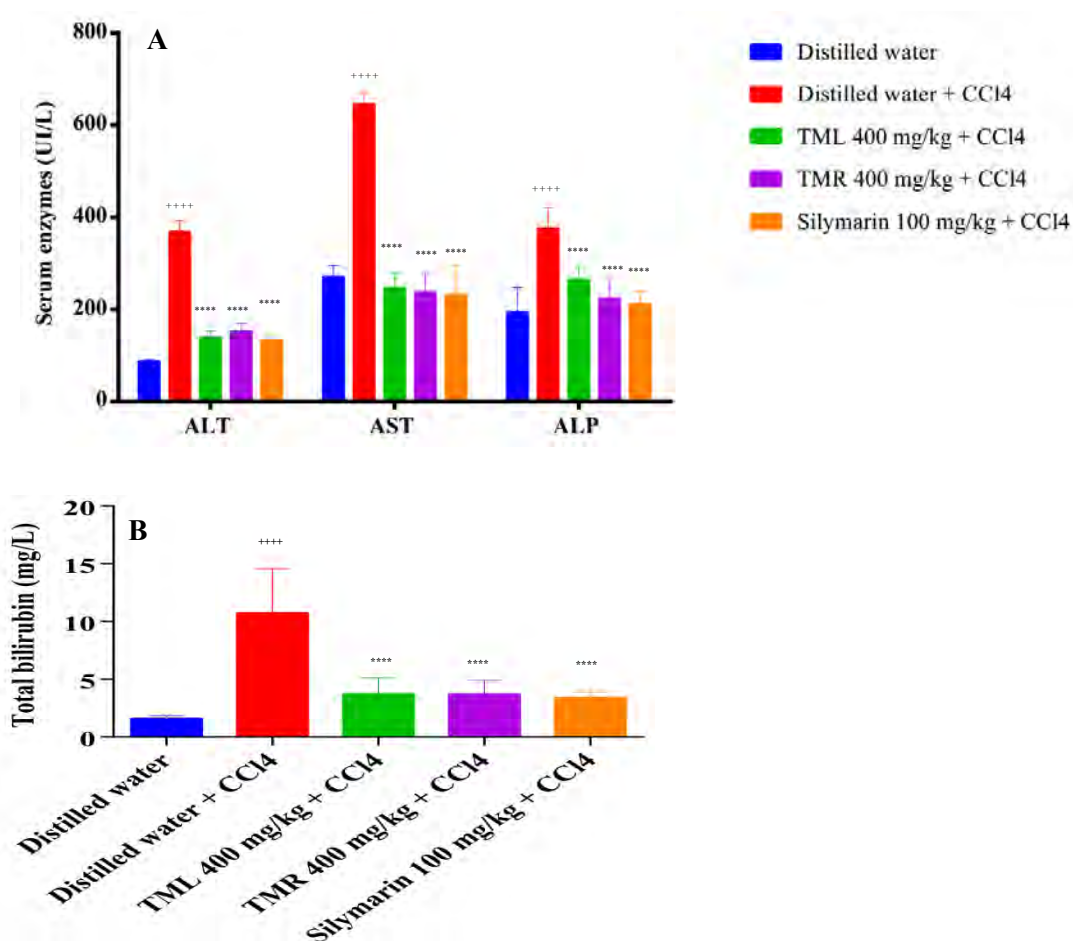


Figure 4: Effects of *Terminalia macroptera* extracts in CCl₄-intoxicated rats.

Figure 4.A: Serum levels of ALT, AST and ALP. Figure 4.B: Total bilirubin. Data are expressed as the mean \pm SD, n=5. ****P< 0.0001, compared with the normal control; ****P<0.0001, when compared with the CCl₄ model control. ANOVA followed by Dunnett's multiple comparison tests.

Discussion

The leaves and roots of *Terminalia macroptera* are used traditionally for the treatment of inflammatory conditions like pains, fever and liver diseases (Malgras, 1992). In The present study, the antipyretic, analgesic, anti-inflammatory and hepatoprotective properties of ethanolic extracts were investigated using different experimental models.

The yeast is an exogenous pyrogen whose subcutaneous injection in the rat causes hyperthermia due to the release of cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-6) which, having reached the blood vessels; stimulate the biosynthesis of prostaglandins (PGE 2) in the vicinity of the thermoregulatory hypothalamic center (Aouey et al., 2016, Ullah et al., 2016).

In the present study, the crude extracts ethanol of leaves and roots of *Terminalia macroptera* at different doses significantly reduced yeast - induced pyrexia in rats. These results suggest that these extracts may act on the mechanism of release and synthesis of prostaglandins.

Acetic acid test is a visceral pain model produces a painful reaction and acute inflammation in the peritoneal area and is a widely used for evaluating the peripheral analgesic activity of the extracts. Release of arachidonic acid and biosynthesis of prostaglandin via cyclooxygenase pathway (Ballou et al., 2000), or leukotrienes cysteinyl via the lipo-oxygenase pathway (Jain et al., 2001) or cytokines (tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1b and interleukin 8) by macrophages and mast cells (Ribeiro et al., 2000) plays a role in the nociceptive mechanism of this test. These chemical mediators stimulate the peripheral nociceptive neurons and induce the increase of vascular permeability (Ouédrago et al., 2012)

Regarding the results of our extracts in acetic acid-induced abdominal constriction assay, a prominent inhibition of writhing was observed. These results suggest that the analgesic effect of the crude extracts of *Terminalia macroptera* could be linked to the inhibition of the release and synthesis of the chemical mediators involved in the stimulation of peripheral nociceptive neurons.

Edema induced by the injection of carrageenan is an animal model widely used to evaluate the anti-inflammatory activity of substances. The injection of carrageenan causes the release of several chemical mediators responsible for the inflammatory process. This inflammatory response is biphasic: the early phase (0 to 2 hours after injection of carrageenan) results from the release of pro-inflammatory agent such as histamine, serotonin and kinins while the late phase (2 hours at 5 hours) is associated with the release of prostaglandin (Hassan et al., 2015, Di Rosa et al., 1971). In the present study, crude extracts ethanol of *Terminalia macroptera* showed anti-inflammatory activity by inhibiting carrageenan-induced edema. This anti-inflammatory activity of the extracts could be related to the inhibition of the release of mediators of inflammation.

Induced hepatotoxicity of CCl₄ in rats is an animal model widely used to evaluate the hepatoprotective activity of extracts and it has been shown that CCl₄ toxicity is induced through the generation of reactive intermediates: the trichloromethyl radical and the trichloromethyl peroxy radical (Afzal et al., 2013). Injection of CCl₄ in rats induces hepatic lesions similar to those caused by acute viral hepatitis and the evaluation of biochemical parameters (ALT, AST, ALP and TB) is an indirect way for the evaluation of hepatic condition (Sanogo et al., 1998).

In this study, the significant reduction ($p < 0.05 - 0.0001$) of ALT, AST, ALP and TB in serum by crude ethanolic extracts of TML and TMR (400 mg/kg) might be an indication of the stabilization of plasma membranes as well as repair of hepatic tissue damage caused by CCl₄. Thus, the hepatoprotective activity of TML and TMR extracts could be because of the inhibition of the production of the trichloromethyl and trichloromethyl peroxy radicals. Indeed, many studies have demonstrated *in vitro* the antiradical activity of extracts of the leaves and roots of TM (Zou et al., 2014, Tagne et al., 2014, Karou et al., 2012), but no other in-depth study has been performed to identify the type of molecules involved in this effect.

Conclusion

In conclusion, the results of the present study revealed the acute anti-inflammatory, peripheral analgesic, antipyretic and hepatoprotective activity of ethanol extracts of *Terminalia macroptera*. The results of this study support the ethnobotanical use of the plant in the treatment of inflammatory conditions and liver diseases.

Author contributions

Conceived and designed the study: RS, GB, MaH

Performed the field work: MaH

Performed the experiments: MaH, AD, KT, FK, MoH, RS

Analyzed the data: MaH, RS, GB, MoH

Wrote the paper: MaH, GB, MoH, RS

Acknowledgment

The authors are grateful to Dr. Amadou Makhan Sarr, Dr. Amadou Diakité, Dr Marie Nioni Sogoba, Dr. Salia Diarra, Dr Aboubacar Niaré, Dr. Birama Diarra, Mr. Seydou Dembélé, Mr. Kassim Coulibaly and Mr. N'golo Ballo for their technical support.

This publication was made possible through support provided by the IRD-DPF and by the Training Program for Trainers (PFF) of Mali.

Reference

- Afzal M, Khan R, Kazmi I, Anwar F. Hepatoprotective potential of new steroid against carbon tetrachloride-induced hepatic injury. *Molecular and cellular biochemistry*. 2013;378(1–2):275–81.
- Aouey B, Samet AM, Fetoui H, Simmonds MS, Bouaziz M. Anti-oxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of grapevine leaf extract (*Vitis vinifera*) in mice and identification of its active constituents by LC-MS/MS analyses. *Biomedicine & pharmacotherapy= Biomedecine & pharmacotherapie*. 2016;84:1088.
- Ballou, L.R., Botting, R.M., Goorha, S., Zhang, J., Vane, J.R., 2000. Nociception in cyclooxygenase isozyme-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 10272–10276.
- Batawila, K., Kokou, K., Koumaglo, K., Gbéassor, M., de Foucault, B., Bouchet, P., Akpagana, K., 2005. Antifungal activities of five Combretaceae used in Togolese traditional medicine. *Fitoterapia* 76, 264–268. doi:10.1016/j.fitote.2004.12.007
- Di Rosa, M.L., Giroud, J.P., Willoughby, D.A., 1971. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *The Journal of pathology* 104, 15–29.
- Hassan FI, Zezi AU, Yaro AH, Danmalam UH. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the methanol leaf extract of *Dalbergia saxatilis* Hook.F in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015 May 26;166:74–8.
- Hassan, F.I., Zezi, A.U., Yaro, A.H., Danmalam, U.H., 2015. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the methanol leaf extract of *Dalbergia saxatilis* Hook.F in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology* 166, 74–78. doi:10.1016/j.jep.2015.03.007
- Inngjerdingen K, Nergård CS, Diallo D, Mounkoro PP, Paulsen BS. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Journal of ethnopharmacology*. 2004;92(2):233–44.
- Jain, N.K., Kulkarni, S.K., Singh, A., 2001. Role of cysteinyl leukotrienes in nociceptive and inflammatory conditions in experimental animals. *European journal of pharmacology* 423, 85–92.
- Karou SD, Tchacondo T, Tchiboza MAD, Anani K, Ouattara L, Simporé J, et al. Screening Togolese medicinal plants for few pharmacological properties. *Pharmacognosy Research*. 2012;4(2):116–22.
- Loux JJ, Depalma PD, Yankell SL. Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicology and applied pharmacology*. 1972;22(4):672–5.
- Malgras D. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes. KARTHALA et ACCT. 22-24 Boulevard Arago, 75013 Paris; 1992. 478 p. (Economie et développement).
- Nadembega P, Boussim JI, Nikiema JB, Poli F, Antognoni F. Medicinal plants in Baskoure, Kourittenga Province, Burkina Faso: An ethnobotanical study. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011 Jan 27;133(2):378–95.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Guideline for the Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. N°423. 2001.

Ouédraogo, N., Lompo, M., Sawadogo, R.W., Tibiri, A., Hay, A.-E., Koudou, J., Dijoux, M.-G., Guissou, I.P., 2012. Étude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie* 10, 286–292.

Pham AT, Dvergsnes C, Togola A, Wangenstein H, Diallo D, Paulsen BS, et al. *Terminalia macroptera*, its current medicinal use and future perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011 Oct 11;137(3):1486–91.

Ribeiro, R.A., Vale, M.L., Thomazzi, S.M., Paschoalato, A.B., Poole, S., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., 2000. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 387, 111–118. doi:10.1016/S0014-2999(99)00790-6

Sanogo R, Germanò MP, D'Angelo V, Guglielmo M, De Pasquale R. Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytotherapy Research*. 1998;12(S1):S157–9.

Sanon S, Ollivier E, Azas N, Mahiou V, Gasquet M, Ouattara C., et al. Ethnobotanical survey and in vitro antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003 Jun;86(2–3):143–7.

Siegmund E, Cadmus R, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Experimental Biology and Medicine*. 1957;95(4):729–31.

Silva O, Duarte A, Cabrita J, Pimentel M, Diniz A, Gomes E. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology*. 1996 Jan 1;50(1):55–9.

Silva, O., Barbosa, S., Diniz, A., Valdeira, M., Gomes, E., 1997. Plant extracts antiviral activity against Herpes simplex virus type 1 and African swine fever virus. *International Journal of Pharmacognosy* 35, 12–16.

Silva, O., Gomes, E.T., Wolfender, J.-L., Marston, A., Hostettmann, K., 2000. Application of High Performance Liquid Chromatography Coupled with Ultraviolet Spectroscopy and Electrospray Mass Spectrometry to the Characterisation of Ellagitannins From *Terminalia Macroptera* Roots. *Pharmaceutical Research* 17, 1396–1401. doi:10.1023/A:1007598922712

Silva, O., Viegas, S., de Mello-Sampayo, C., Costa, M.J.P., Serrano, R., Cabrita, J., Gomes, E.T., 2012. Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Terminalia macroptera* root. *Fitoterapia* 83, 872–876. doi:10.1016/j.fitote.2012.03.019

Somboro, A.A., Patel, K., Diallo, D., Sidibe, L., Chalchat, J.C., Figueredo, G., Ducki, S., Troin, Y., Chalard, P., 2011. An ethnobotanical and phytochemical study of the African medicinal plant *Guiera senegalensis* JF Gmel. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 1639–1651.

Tagne RS, Telefo BP, Nyemb JN, Yemele DM, Njina SN, Goka SMC, et al. Anticancer and antioxidant activities of methanol extracts and fractions of some Cameroonian medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2014 Sep;7, Supplement 1:S442–7.

Traore MS, Diane S, Diallo MST, Balde ES, Balde MA, Camara A, et al. In vitro antiprotozoal and cytotoxic activity of ethnopharmacologically selected Guinean plants. *Planta medica*. 2014;80(15):1340–4.

Ullah, I., Khan, J.A., Shahid, M., Khan, A., Adhikari, A., Hannan, P.A., Javed, I., Shakeel, F., Farooq, U., 2016. Pharmacological screening of *Monothea buxifolia* (Falc.) A. DC. for antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16, 273.

Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indo-methacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. *Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1963;141(3):369–76.

Yakubu Y, Adoum OA, Wudil AM, Ladan Z. Toxicity study of ethanol root extract of *Terminalia macroptera* Guill. Perr.(Combretaceae) and assessment of some heavy metals. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2015;9(9):193–6.

Zou Y-F, Ho GTT, Malterud KE, Le NHT, Inngjerdigen KT, Barsett H, et al. Enzyme inhibition, antioxidant and immunomodulatory activities, and brine shrimp toxicity of extracts from the root bark, stem bark and leaves of *Terminalia macroptera*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014 Sep 11;155(2):1219–26.

Zou, Y.-F., Barsett, H., Ho, G.T.T., Inngjerdigen, K.T., Diallo, D., Michaelsen, T.E., Paulsen, B.S., 2015. Immunomodulating pectins from root bark, stem bark, and leaves of the Malian medicinal tree *Terminalia macroptera*, structure activity relations. *Carbohydrate Research* 403, 1

CHAPITRE 4 : ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE
PRÉLIMINAIRE DE *TERMINALIA MACROPTERA*
GUILL. & PERR. (COMBRETACEAE)

1. Contexte et objectif

Dans les chapitres précédents, nous avons démontré l'activité antiplasmodiale (*in vitro* et *in vivo*), antiinflammatoires, antipyrétiques, antalgiques et hépatoprotectrices des extraits éthanoliques 90 % des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* justifiant ainsi leurs rôles dans le traitement du paludisme et symptômes associés. Cependant les constituants chimiques qui pourraient être responsables de ces activités pharmacologiques n'ont pas été isolés.

L'objectif de ce chapitre est d'une part de caractériser les constituants chimiques présents dans de la poudre des feuilles et des racines par les réactions de coloration et de précipitation en tube, d'autre part d'exposer les résultats d'un travail préliminaire de déréplication² de l'extrait de racine de *T. macroptera*, extrait qui s'est montré le plus actif sur les modèles de paludisme (*in vitro* et *in vivo*) et sur les modèles *in vivo* d'inflammation et de pyrexie.

Ce travail préliminaire a ainsi permis de déterminer si la présence de certains composé(s) déjà connu(s) dans l'extrait étaient susceptibles d'être responsables des activités antiplasmodiale (*in vitro* et *in vivo*), antiinflammatoires, antipyrétiques, antalgiques et hépatoprotectrices.

Une analyse des métabolites présents dans l'extrait des racines a été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à un spectromètre de masse haute résolution (UHPLC-HRMS). Puis une analyse multivariée a été appliquée à ces profils UHPLC-HRMS. Finalement, les composés ont été identifiés en utilisant des bases de données spécifiques aux plantes et les données de la fragmentation MS/MS *in silico*. Cette technique a l'avantage de permettre l'identification rapide de composés avant l'isolement mais elle est limitée aux molécules déjà connues.

²La déréplication consiste à identifier, par des méthodes de chimie analytique précise, la présence de composés déjà connus dans un extrait avant même leur isolement physique.

2. Matériel et méthodes

2.1 Criblage phytochimique

Les grands groupes chimiques présents dans la poudre des feuilles et des racines ont été caractérisés par les réactions de coloration et de précipitation en tube par des réactifs chimiques spécifiques selon la méthode décrite par Somboro et al., (2011).

2.1.1 Polyphénols

2.1.1.1 Extraction

Projeter 2,5 g de poudre dans 50 mL d'eau distillée bouillante puis laissé infuser pendant 15mn. Filtrer sur coton et compléter le volume à 50 mL avec de l'eau distillée.

2.1.1.2 Caractérisation

➤ Tanins

Dans un tube à essai, introduire 5 mL de l'infusé à 5 % et 1 mL d'une solution de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre

➤ Flavonoïdes libres ou génines : réaction à la Cyanidine

A 5 mL de l'infusé 10 % ajouté 5 mL d'alcool chlorhydrique, 1 mL d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium, attendre la fin de la réaction.

L'apparition d'une coloration *rose-orangée* (flavones) ou *rose-violacée* (flavanones) ou *rouge* (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre.

2.1.2 Anthracénosides

➤ Extraction

A 1g de poudre végétale, ajouté (10 mL) de H₂SO₄ 10 % et chauffé pendant 5 mn au bain-marie. Ajouter 1 mL de FeCl₃ 10 %. Maintenir le tube à essai au bain-marie bouillant pendant 10 mn. Filtré à chaud puis laisser refroidir le filtrat. Agité le filtrat avec 5 mL de dichlorométhane sans former d'émulsion puis soutirer la phase dichlorométhane.

➤ **Caractérisation : réaction de Bornträger**

Ajouter 1 mL de NaOH 10 % ou KOH 10 % à la phase dichlorométhane.

L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de dérivés hydroxyanthracénique.

2.1.3 Saponosides

➤ **Extraction**

Porter à l'ébullition pendant 15 minutes, de la poudre végétale (1 g) dans de l'eau (100 mL) contenu dans un erlenmeyer de 250 mL. Filtrer le contenu et ajuster à 100 mL.

➤ **Caractérisation et dosage**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2, 3, etc jusque 10 mL du décocté à 1 % et ajuster le volume dans chaque tube à 10 mL avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de deux agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 15 minutes, mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse.

Indice de mousse (IM) est calculée par la formule suivante: $IM = \frac{1}{\text{Dilution}}$

$$\text{Dilution} = \left[\frac{1}{100} \right] \times \left[\frac{N}{10} \right] = \frac{N}{1000}$$

N : numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm

$$\frac{1}{100} = \text{Concentration du décocté (décocté à 1 \%)}$$

$$\text{Indice de mousse (IM)} = \frac{1}{\text{Dilution}} = \frac{1000}{N}$$

2.1.4 Oses et holosides, mucilages, les composés réducteurs

2.1.4.1 Extraction

Préparer un décocté à 10 % en faisant bouillir pendant 15 minutes de la poudre végétale (10 g) dans de l'eau distillée (100 mL).

2.1.4.2 Caractérisation

➤ Oses et holosides

Evaporé à sec le décocté à 10 % (5 mL) dans une capsule. Au résidu, ajouter du H₂SO₄ concentré (1 à 2 mL). Après 5 minutes, ajouter 3 à 4 gouttes d'éthanol saturé avec du thymol. La présence d'une coloration rouge révèle la présence d'oses et holosides.

➤ Mucilages

Introduire 1 mL du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajouter 5 mL de l'éthanol absolu. Après 10 minutes, la formation d'un précipité floconneux par mélange indique la présence de mucilages.

➤ Composés réducteurs

Evaporé à sec le décocté à 10 % (5 mL) dans une capsule. Reprendre le résidu par un mélange extemporané de 1 mL de réactif de Fehling (0,5 mL de réactif de A + 0,5 mL de réactif de B). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

2.1.5 Stérols et triterpènes, coumarines, caroténoïdes

2.1.5.1 Extraction

Introduire de la poudre végétale (1 g) et d'éther de pétrole (20 mL) dans un tube à essai, boucher et agiter le tube. Macérer pendant 24 h au frais. Filtrer la solution sur coton et compléter à 20 mL avec de l'éther de pétrole.

2.1.5.2 Caractérisation

➤ Stérols et triterpènes : Réaction de Liebermann-Burchard

Procéder à une évaporation à sec au bain-marie de l'extrait éthérique (10 mL). Reprendre le résidu avec de l'anhydride acétique (1 mL) puis du dichlorométhane (1 mL). Partager ce mélange dans deux tubes à essai dont l'un servira de témoin. Ajouter du H₂SO₄ concentré (1 à 2 mL) à l'aide d'une pipette au fond de l'autre tube sans agiter.

A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet et la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes

➤ **Coumarines**

Evaporer à sec l'extrait éthérique (5 mL). Reprendre le résidu avec de l'eau chaude (2 mL) puis partagé entre deux tubes à essai. Dans l'un des deux tubes, a été mise de l'ammoniaque à 25 % (0,5 mL). Mélanger et observer la fluorescence sous UV 366 nm.

Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajoutée de l'ammoniaque, indique la présence de coumarines.

➤ **Caroténoïdes : Réaction de Carr et Price**

Evaporer à sec l'extrait éthérique (5 mL) dans une capsule, ajouter sur le résidu, 2 à 3 gouttes d'une solution saturée de chlorure d'antimoine dans du chloroforme. La présence de caroténoïdes est caractérisée par l'apparition d'une coloration bleue devenant rouge par la suite.

2.1.6 Alcaloïdes

2.1.6.1 Extraction

➤ **En milieu aqueux acide**

Dans un erlenmeyer de 250 mL, introduire 2,5 g de poudre végétale séchée et 50 mL de H₂SO₄ à 10 %. Laisser en contact pendant au moins 15 mn sous agitation magnétique à la température du laboratoire puis filtrer la solution sur coton. Compléter le filtrat à 50 mL avec de l'eau distillée.

➤ **En milieu basique**

Dans un erlenmeyer de 250 mL, introduire 2,5 g de poudre végétale séchée et 10 mL de NaOH ou KOH à 10 %. L'objectif est de bien humecter la poudre de manière homogène. Laisser en contact pendant au moins 15 mn sous agitation magnétique. Ajouter 30 mL de dichlorométhane puis agiter pendant 15 mn. Filtrer directement dans une ampoule à décanter de 100 mL. Extraire la phase organique par 2 fois 10 mL de H₂SO₄ à 10 %. Réunir les 2 extraits aqueux (total = environ 20 mL)

2.1.6.2 Caractérisation

Introduire 1 mL de filtrat dans deux tubes à essais puis, ajouté au premier tube, 5 gouttes de réactif de Mayer et au second, 5 gouttes de Dragendorff. En présence d'alcaloïde il se forme un précipité jaune blanchâtre dans le tube 1 et rouge-orangé dans le tube 2.

En cas de réaction positive, confirmer ce résultat en introduisant 10 mL du filtrat dans une ampoule à décanter puis ajouter environ 10 mL de NaOH à 10 % ou KOH à 10 % et 20 mL (2 fois 10 mL) de dichlorométhane. Soutirer la phase dichlorométhane et séchée sur du sulfate de sodium anhydre puis la partagée à part égal dans deux tubes à essais préalablement taré. Evaporer à sec au bain marie puis reprendre les résidus contenus dans le premier avec 2 mL de HCl 10 %, repartis encore en deux tubes et réessayé les révélateurs généraux des alcaloïdes.

2.1.7 Hétérosides cardiotoniques

➤ Extraction

Solution à analyser : Introduire dans un tube à essai de la poudre végétale (1 g), d'éthanol à 60° alcoolique (10 mL) et d'une solution d'acétate neutre de plomb à 10 % (5 mL). Porter le mélange au bain-marie bouillant pendant 10 minutes puis filtrer. Agiter le filtrat avec 10 mL de dichlorométhane tout en évitant la formation d'une émulsion. Après agitation et séparation, partager la phase dichlorométhane entre 3 tubes à essai puis évaporer à sec. Reprendre le résidu de chaque tube avec de l'isopropanol (0,4 mL).

➤ Caractérisation

Introduire dans le tube 1 (1 mL du réactif de Baljet), tube 2 (1 mL du réactif de Kedde) et dans le tube 3 (1 mL du réactif de Raymond-Martoud). Ensuite, ajouter dans chaque tube 4 gouttes de KOH à 5 % dans l'éthanol à 60°. Après 10 minutes, en présence de cardénolide, les colorations suivantes se développent : (ube 1 : orangée) ; (tube 2 : rouge-violacée) (tube 3 : violet fugace)

2.2 Déréplication

2.2.1 Profilage UHPLC-HRMS

Les profils de métabolites ont été acquis en utilisant un instrument UHPLC-DAD-CAD-LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Royaume-Uni) équipé d'une source d'ionisation par électroébulisaison (ESI). Le système UHPLC consistait en une UHPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, Royaume-Uni) équipée d'une colonne Acquity BEH C18 (100 x 2,1 mm i.d., 1,7 μ m, Waters, USA). La phase mobile était composée de solvant A (0,1 % d'acide formique-eau) et de solvant B (0,1 % d'acide formique-acétonitrile) avec une élution en gradient (0-0,5 min, 95 % A, 0,5-12 min, 95-5% A: 12-15 min, 5% A, 15-15,5 min, 5-95 % A, 15,5-19 min, 95 % A). Le débit de la phase mobile était de 0,3 mL/min.

Le volume d'injection était de 2 μ L et la température de la colonne était maintenue à 40°C. L'ionisation par électroébulisaison a été appliquée en mode ions négatifs (NI) et ions positifs (PI) dans les conditions suivantes : tension capillaire à 3,0 kV et 4,2 kV respectivement pour NI et PI et température capillaire à 300 ° C.

La détection UV a été réalisée par un détecteur à barrette de diodes (DAD) de 210 à 400 nm. Les spectres de masse complets ont été enregistrés entre 100 et 1500 Da. Les spectres de masse CID (Collision Induced Dissociation) ont été obtenus en utilisant les paramètres suivant : énergie de collision normalisée à 35 %, largeur d'isolement 2Da, activation Q 0,250. L'étalonnage de masse externe a été accompli avant de commencer l'expérience. Le couplage au CAD (Charged Aerosol Detector) a été réalisé à l'aide d'un split 1:1 en sortie du détecteur DAD pour moitié au spectromètre de masse et moitié en CAD.

2.2.2 Traitement des données et analyses statistiques

Le traitement des données et l'analyse statistique ont été réalisés comme décrit précédemment par Chervin et al. (2017). En bref, les données brutes UHPLC-HRMS ont été traitées avec MS-Dial v.2.56 (Tsugawa et al., 2015) pour l'extraction de signaux de masse et l'alignement des pics. La liste de paires (m/z-RT) résultante a ensuite été exportée dans un format de fichier CSV (valeurs séparées par des virgules) pour procéder à l'analyse de données. La prédiction de la formule moléculaire et l'annotation des composés (paires m / z, RT) ont été calculées avec MS-FINDER 2.10 (Tsugawa et al., 2016). Le Dictionnaire des produits naturels (DNP, CRC press, v25: 2) a été sélectionné.

L'interrogation de base de données a été effectuée après un processus en trois étapes. Les composés déjà connus appartenant à au genre *Terminalia* ont d'abord été analysés, puis ceux appartenant à la famille des Combretaceae, et enfin, les molécules présentes dans toutes les bases de données des plantes ont été interrogées. Les résultats ont été présentés sous la forme d'une liste de composés triés en fonction d'une valeur de score pour chaque correspondance. Cette valeur est proportionnelle à l'écart en masse, le score du modèle isotopique théorique/expérimental et la fragmentation MS / MS expérimentale par rapport à la fragmentation *in silico* de la structure candidate. Les composés ayant un score élevé ont été retenus.

3. Résultats et discussion

3.1 Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique par les réactions de caractérisation en tube sont présentés dans le tableau 13. Les tanins, flavonoïdes, saponosides, dérivés anthracéniques, oses et holosides, mucilages et stérols et triterpènes ont été mis en évidence dans la poudre des feuilles et des racines. Par contre, dans nos conditions expérimentales, nous n'avons pas pu mettre en évidence la présence d'alcaloïdes, des composés réducteurs et des hétérosides cardiotoniques dans les deux échantillons.

Nos résultats obtenus sur les racines sont similaires à ceux de Yakubu et al., (2014) qui ont mis en évidence la présence des tanins, flavonoïdes, saponines dans l'extrait éthanolique des racines de *Terminalia macroptera* récoltée au Nigéria. La présence de certains métabolites secondaires tels que tanins, saponines et stérols ou triterpènes ont été signalés dans d'autres espèces de *Terminalia*, notamment *Terminalia arjuna* (Roxb. ex DC.) Wight & Arn. (Kumar et al., 2013 ; Akhter et al., 2012), *Terminalia catappa* L. (Neelavathi et al., 2013 ; Muhammad et Mudi, 2011), *Terminalia glaucescens* Planch. ex Benth. (Adebayo et Ishola, 2009), *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. (Kubmarawa et al., 2007).

3.2 Approche métabolomique basée sur UHPLC-HRMS

L'analyse qualitative par LC-CAD-MS de l'extrait éthanolique des racines de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae) a révélé la présence de 11 pics majoritaires. Ces pics sont numérotés de 1 à 11 sur la figure 10A.

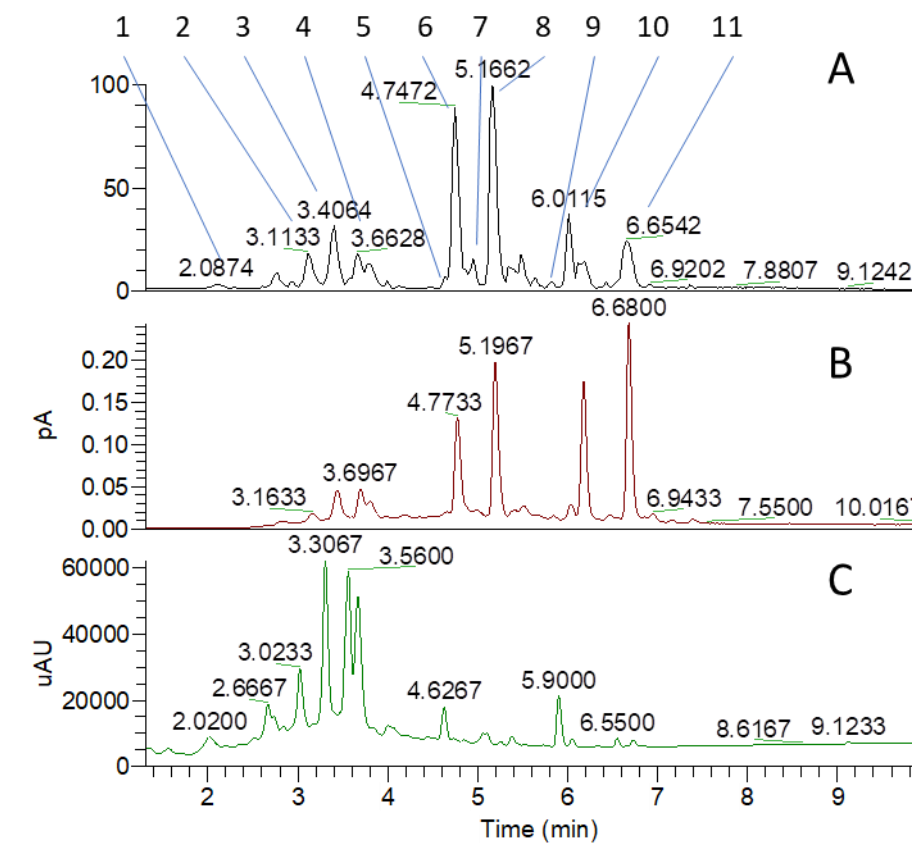


Figure 10: Approche multiplexée pour l’analyse de l’extrait TMR: A) Orbitrap-MS en mode ESI négatif; B) signaux du détecteur CAD; C) Chromatogramme PDA (200-400nm). Numérotation des pics suivant le tableau 14.

La majorité des pics ayant un temps de rétention inférieure à 4 minutes (figure 10C) absorbent aux UV (200 – 400 nm). Cinq pics majoritaires ont été identifiés en utilisant le détecteur CAD (figure 10B) et se situent au-delà de 4 minutes. La méthode de déréplication par MSfinder a permis d’annoter ces composés majoritaires, retrouvés pour la plupart au sein de la famille des Combretaceae. Les cinq composés majoritaires identifiés sont la terminaline (3), l’acide oleatermaloïque C (6), l’acide-Tri-O-caffeoylquinique (8), l’acide ellagiqueTri-Me éther (10) et l’acide oleatermaloïqueB (11) (Voir tableau 14).

Les 10 composés identifiés (figure 11) appartiennent principalement à la famille des tanins et des triterpénoïdes, familles caractérisées par ailleurs dans les racines et les feuilles par le test de criblage phytochimique (Voir tableau 13).

Ces résultats sont confirmés par plusieurs travaux ayant mis en évidence la présence de l'acide gallique, la punicalagine, la terflavine A, la terchebuline, l'acide ellagique, l'acide 3,38-di-O-methylellagique et l'acide 3,38,4,48-tetra-O-methylellagique dans les racines de *Terminaliamacroptera* (Voir tableau 15).

Cependant, mis à part pour l'acide ellagique, les propriétés antiinflammatoires, antalgiques, antipyrétiques et hépatoprotectrices des composés identifiés n'ont pas été étudiées. Rogerio et al. (2006) ont démontré que l'acide ellagique administré par voie orale à des doses de 1, 10 et 100 mg/kg chez des souris possède des propriétés antalgiques, antipyrétiques et antiinflammatoires en réduisant significativement la douleur induite par l'acide acétique, l'inflammation induite par la carraghénine et la pyrexie induite par le lipopolysaccharide.

Girish et Pradhan, (2012) ont démontré que l'acide ellagique à une dose de 50-100 mg/kg, administrée par voie orale chez des souris possède des propriétés hépatoprotectrices. Le foie des rats a ainsi été protégé contre l'intoxication induite par le CCl₄ en réduisant le taux des transaminases. Ces résultats suggèrent que les activités antalgiques, antipyrétiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrices des extraits éthanoliques à 90 % des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* pourraient être dues, au moins en partie, à la présence de l'acide ellagique.

Par ailleurs, parmi les 10 composés identifiés, seules les propriétés antiplasmodiales de l'acide flavogallonique et l'acide ellagique ont été reportées dans la littérature. Ainsi, des travaux ont montré une activité antiplasmodiale *in vitro* modérée sur des souches de *Plasmodium falciparum* K1 et 3D7 (CI₅₀ de 8.35 µg/mL et 8.89 µg/mL, respectivement) de l'acide flavogallonique avec un indice de sélectivité sur les cellules dérivées du cœur de souris nouveau-né (NBMH) supérieur à 168 (Shuaibu et al., 2008). De plus, Verotta et al. (2001) ont montré que l'acide ellagique isolé de *Tristaniopsis callobuxus* Brongn. & Gris (Myrtaceae), possédait une activité antiplasmodiale importante avec une CI₅₀ comprise entre 0.103 et 0.145 µg/mL (équivalent à une concentration comprise entre 0.331 - 0.480 µM) quel que soit le niveau de résistance de la souche de *Plasmodium* utilisée.

Des résultats similaires ont été obtenus par Banzouzi et al., (2002) avec de l'acide ellagique isolée de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll.Arg. (Euphorbiaceae) et par Soh et al., (2009) avec de l'acide ellagique commercial. L'activité antiplasmodiale de l'acide ellagique a également été démontrée *in vivo* sur des souris infectées par *Plasmodium vinckei petteri* en utilisant le test Peters.

Ainsi, les travaux de Soh et al. (2009) montrent que l'acide ellagique inhibe la parasitémie lorsqu'il est administré par voie intrapéritonéale à des doses de 1, 50 et 100 mg/kg/j avec plus de 50 % d'inhibition pour la dose de 1 mg/kg/j et 100 % d'inhibition à la dose de 50 et 100 mg/kg/j. En revanche, Reddy et al. (2007) n'ont trouvé aucune activité antiplasmodiale de l'acide ellagique extrait de *Punica granatum* L. (Lythraceae). Par ailleurs, en dehors des molécules caractérisées dans l'extrait de racines de *T. macroptera*, d'autres molécules isolées des espèces de la famille des Combretaceae ont également démontré des propriétés antiplasmodiales (voir tableau 16), antalgiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrices (voir tableau 17).

Tableau 13: Les constituants chimiques identifiés dans la poudre des feuilles et des racines *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.(Combretaceae)

Constituants chimiques	Feuilles	Racines
Tanins	+	+
Flavonoïdes	+	+
Stérols et terpènes	+	+
Saponosides (indice de mousse)	+ (100)	+ (333,3)
Oses et holosides	+	+
Mucilages	+	+
Dérivés anthracéniques	+	+
Hétéroside cardiotoniques	-	-
Coumarines	+	-
Composés réducteurs	-	-
Caroténoïdes	-	-
Alcaloïdes	-	-

+ : Présence ; - : Absence

Tableau 14 : Propositions d'identifications structurales des pics détectés par HRMS et MS / MS en utilisant les bases de données MS finder et DNP ;

N° de pic	RT	m/z	MF	Δ Da	Tentative d'identification des composés	Trouvé dans	Classe chimique	Activité biologique	*Référence
1	2.13	468.997 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₀ O ₁₃	0.007	Flavogallonic acid	<i>T. catappa</i> (Combretaceae)	Tanins	<i>Antiplasmodiale in vitro</i>	[1]
2	3.11	541.0167		0.006	Inconnu				
3	3.4	603.0075 [M+H] ⁺	C ₂₈ H ₁₀ O ₁₆	0.005	Terminalin	<i>T. Oblongata</i> (Combretaceae)	Tanins	Non rapportée	
4	3.66	303.0150 [M+H] ⁺	C ₁₄ H ₆ O ₈	0.001	Ellagic acid	ubiquitaire	Tanins	<i>Antiplasmodiale, antiinflammatoire, antalgique, antipyrétique, hépatoprotectrice</i>	[2-6]
5	4.55	461.0644 [M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	0.008	Ellagic acid Di-Me ether, -O-β-D-xylopyranoside	<i>Terminalia superba</i> (Combretaceae)	Tanins	Non rapportée	
6	4.75	505.3547 [M+H] ⁺	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	0.003	Oleaterminaloic acid C	<i>T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpénoïdes	Non rapportée	
7	4.9	519.3235 [M-H] ⁻	C ₃₀ H ₄₈ O ₇	0.009	Bellericagenin B	<i>T. bellerica; T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpénoïdes	Non rapportée	
8	5.16	695.1531 [M+H ₂ O-H] ⁻	C ₃₄ H ₃₀ O ₁₅	0.009	Tri-O-caffeoylquinic acid	ubiquitaire	Lignanes	Non rapportée	
9	5.89	501.3218 [M-H] ⁻	C ₃₀ H ₄₈ O ₆	0.0003	Sericic acid	<i>Terminalia</i> sp.	Triterpénoïdes	Non rapportée	
10	6.01	343.0411 [M-H] ⁻	C ₁₇ H ₁₂ O ₈	0.005	Ellagic acid Tri-Me ether	ubiquitaire	Tanins	Non rapportée	
11	6.65	487.3343 [M+H] ⁺	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	0.0003	Oleaterminaloic acid B	<i>T. arjuna</i> (Combretaceae)	Triterpénoïdes	Non rapportée	

*(1-Shuaibu et al., 2008) ; (2-Soh et al., 2009); (3-Banzouzi et al., 2002); (4-Verotta et al. 2001), (5-Girish et Pradhan, 2012) ; (6-Rogério et al., 2006)

Tableau 15 : La composition chimique de *Terminalia macroptera* rapportée dans la littérature

Partie de la plante	Constituants phytochimiques	Molécules isolées	Références
Racines	Saponines, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes et stéroïdes	α,β -punicalagin (1), α,β -terchebulin (2), gallic acid (3), ellagic acid (4), terflavin A (5), 3,38di-O-methylellagic acid (6) and 3,4,38,48-tetra-O-methylellagic acid (7).	[1-3]
Ecorces	Tanins, flavonoïdes	Arjungenin (1), sericic acid (2), arjunic acid (3), terminolic acid (4), galloylarjunolic acid (5), arjunglucoside 1 (6), sericoside (7), 23-galloylarjtmolic acid (8), 28-O- p-u- glucopyranosyl ester (9), isoterchebulin (10), 4,6-O-isoterchebuloyl-D-glucose (11) , 2,3-O-(S)-hexahydroxydiphenoyl-D-glucose (12), punicalagin (13), terflavin A (14), terflavin B (15) , 15 2-O-galloyl-punicalin (16), puniacortein C (17), vanillic acid (18), 4-O- β -D-(6'-O-galloyl) glucopyranoside (19), 3,3',4'-tri-O-methylellagic acid (20) and 24-deoxy-sericoside chebuloside II (21)	[4-7]
Ecorces de tronc	Alcaloïdes, glucosides cyanogéniques, anthraquinones, terpenoïdes, flavonoïdes, tannis et saponines		[8]

Références mentionnées dans le tableau 14 : (1-Yakubu et al., 2015) ; (2-Silva et al., 2012) ; (3-Silva et al., 2000) ; (4-Etuk et al., 2009) ; (5-Conrad et al., 2001a) ; (6-Conrad et al., 2001b) ; (7-Conrad et al., 1998) ; (8-Akpovona et al., 2016).

Tableau 16: Activité antipaludique et cytotoxicité des molécules isolées des espèces de la famille des Combretaceae

Espèces	Molécule isolée	Classe des molécules	Activité antiplasmodiale, CI ₅₀ en µg/mL (µM) / souche utilisée	Cytotoxicité, CC ₅₀ en µg/mL (µM) / lignée cellulaire utilisée	Indice de sélectivité	*Référence
<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr.	Quercétine	Flavonoïdes	(6.6) / K1	68.1 / L6	ND	[1]
	Procyanidine B2	Flavonoïdes	(5.3) / K1	34 / L6	11	
	Kaempferol	Flavonoïdes	(20.4) / K1	31.7 / L6	5.5	
<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr. et <i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	Castalagine	Tanins	9.63 (10.3) / K1	>1500 (1606) / NBMH	>142–155	[2]
	Punicalagine	Tanins	8.79 (8.1) / K1	>1500 (1384) / NBMH	>159–171	
	Terchebuline	Tanins	8.49 (8.2) / K1	≥1500 (1384) / NBMH	≥ 169–177	
<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel.	Guieranone A	Alcaloïdes	1.29±0.04 (4.08±0.13) / W2	4.26 (13.48) / THP1	3.30	[3]
	Harmane	Alcaloïdes	3.29±0.24 (18.10±1.32) / W2	>50 (>275) / THP1	>15.19	[3]
	Harmane	Alcaloïdes	2.2 / D6	49 / THP1	22.27	[4]
	Tetrahydroharmane	Alcaloïdes	3.9 / D6	90 / THP1	23.08	[4]
	Tetrahydroharmane	Alcaloïdes	1.4 / W2	90 / THP1	64.28	[4]

*Références mentionnées dans le tableau 15: (1-Attoua et al., 2011) ; (2-Shuaibi et al., 2008) ; (Fiot et al., 2006) ; (Ancolio et al., 2002)

Tableau 17 : Activités antalgiques, antiinflammatoires et hépatoprotectrices des molécules isolées de la famille des Combretaceae

Espèces	Molécule isolée	Classe	Activité pharmacologique	Modèle retenu	*Référence
<i>Terminalia catappa</i> L.	Corilagine	Tanins	Hépatoprotectrice	<i>In vivo</i> : Hépatotoxicité-galactosamine et lipopolysaccharide	[1]
	Punicalagine	Tanins	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-carraghénine	[2]
	Punicaline	Tanins	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-carraghénine	[2]
<i>Terminalia belerica</i> Roxb.	Acide gallique	Tanins	Hépatoprotectrice	<i>In vivo</i> : Hépatotoxicité-CCl4	[3]
<i>Combretum molle</i> R.Br. ex G.Don	β -d-glucopyranosyl 2 α , 3 β , 6 β -trihydroxy-23-galloyloléane-12-ène-28-oate	Triterpénoïdes	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-carraghénine	[4]
	Combregénine	Triterpénoïdes	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-carraghénine	[4]
	Arjungénine	Triterpénoïdes	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-carraghénine	[4]
	glucoside d'acide mollique	Triterpénoïdes	Antiinflammatoire	<i>In vivo</i> : Œdème-albumine d'œuf	[5]
<i>Combretum molle</i> R.Br. ex G.Don	Glucoside d'acide mollique	Triterpénoïdes	Antalgique	<i>In vivo</i> : douleur-acide acétique et plaque chauffante	[5]
<i>Combretum quadrangulare</i> Kurz	1-O-Galloyl-6-O-(4-hydroxy-3,5-dimethoxy)benzoyl- β -D-glucose	Tanins	Hépatoprotectrice	<i>In vitro</i> : Hépatotoxicité-D-galactosamine/TNF- α	[6]

*Références mentionnées dans le tableau 16 : (1-Kinoshita et al., 2007) ; (2-Fahmy et al., 2015) ; (3-Jadon et al., 2007) ; (4-Ponou et al., 2008) ; (5-Ojewole, 2008) ; (Roy et al., 2014)

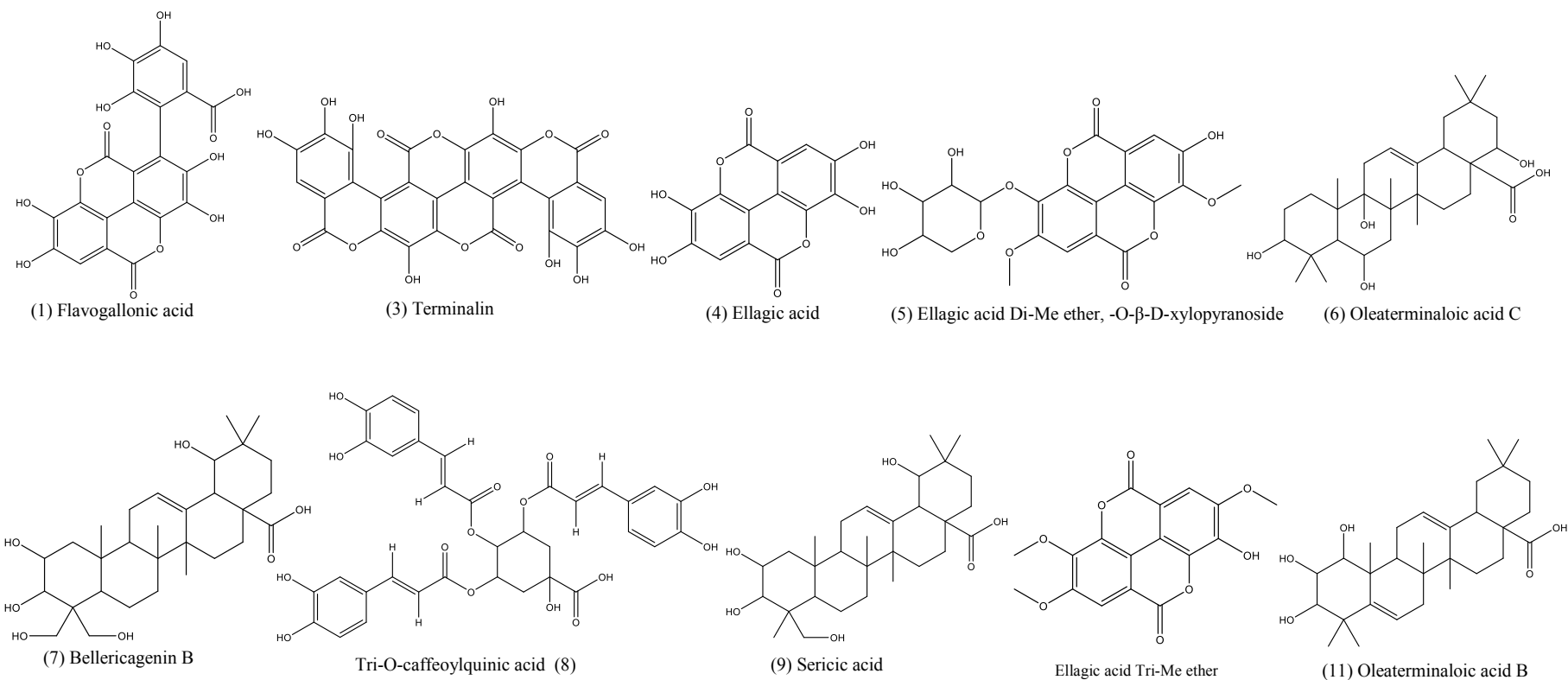


Figure 11 : Structure chimique des 10 composés identifiés dans l'extrait éthanolique 90 % des racines par Déréplication

**CHAPITRE 5 : CONTROLE DE QUALITE DE LA
POUDRE DES FEUILLES ET DES RACINES DE
TERMINALIA MACROPTERA GUILL. & PERR.
(COMBRETACEAE)**

1. Contexte et objectif

Les médicaments à base de plantes sont généralement facilement disponibles, moins coûteux et ont peu ou pas d'effets secondaires. Cependant l'un des inconvénients est la falsification de la matière première par des corps étranger dans le but d'augmenter le poids.

Cette étude a pour but de fournir les critères de diagnose pour contrôler la qualité de la poudre des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* en déterminant les paramètres botaniques et physicochimiques. Ces paramètres vont permettre de définir les standards de pharmacopée pour éviter les falsifications.

2. Matériel et méthodes

2.1 Contrôle botanique

2.1.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique a porté sur la description morphologique des feuilles et des racines et sur la description des caractères organoleptiques (la taille, la couleur, l'odeur et la saveur) de la poudre des feuilles et des racines.

2.1.2 Analyse histologique

Les structures anatomiques des feuilles et des racines ont été déterminées selon la méthode décrite dans la Pharmacopée Européenne (Pharmacopée Européenne, édition en vigueur).

- Des coupes transversales fines des feuilles ou des racines sont trempées dans une solution d'hypochlorite de sodium pendant au moins 10 mn en agitant de temps en temps. Les coupes sont ensuite retirées de ce bain, lavées deux fois à l'eau distillée puis plongées dans le réactif de Mirande (Carmino-vert) et laissées en contact pendant 3 mn environ.
- Les coupes sont ensuite lavées deux fois à l'eau distillée, puis la coupe nettoyée et colorée est montée entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine tout en évitant la formation de bulles d'air.
- La préparation est examinée au faible grossissement, puis au fort grossissement.
- Les éléments histologiques de la coupe objet de l'examen sont photographiés grâce à un appareil photo de marque NIKON couplé au microscope de marque LYCA.

2.1.3 Examen microscopique de la poudre

Les structures anatomiques des feuilles et des racines ont été déterminées selon la méthode décrite dans la Pharmacopée Européenne (Pharmacopée Européenne, édition en vigueur).

- Une petite quantité de la poudre à l'aide d'une spatule est prélevée puis placée dans un verre de montre, et triturée avec l'hydrate de chloral;
- Une petite quantité de ce mélange est montée sur une lame de verre propre, recouverte d'une lamelle. On appuie légèrement pour homogénéiser la préparation, puis on absorbe les bavures à l'aide d'un papier buvard ;
- L'examen se fait avec au microscope au faible grossissement, puis au fort grossissement.
- Les éléments caractéristiques de la poudre objet de l'examen sont photographiés grâce à un appareil photo de marque NIKON couplé au microscope de marque LYCA

2.2 Contrôle physicochimique

2.2.1 Teneur en eau:

Le principe consiste en la détermination de la perte en masse d'une quantité connue de poudre par dessiccation à l'étuve ou au four réglée à la température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h.

Cinq verres de montre sont tarés, puis on y introduit des prises d'essai (PE) de 2 à 3 g (pesées au mg près). Les verres de montre (contenant les poudres) ont été pesés avant de les introduire dans l'étuve réglée à $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pour une dessiccation pendant 24 h. Au sortir de l'étuve les poudres sont laissées à refroidir dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et ensuite pesées.

Le résultat est exprimé en pourcentage en eau qui est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Eau} = \frac{\text{Masse eau}}{\text{Prise d'essai}} \times 100$$

2.2.2 Teneur en cendre totale

Les cendres proviennent des tissus de la plante ou des éléments étrangers (sable, terre...) adhérant à la drogue végétale. Elles sont obtenues par calcination complète de la matière végétale dans l'air. La teneur en cendres est obtenue par dosage pondéral des cendres blanches obtenues par calcination de la drogue végétale dans un four.

Trois creusets en fer ou en porcelaine sont tarés (T) et des prises d'essai (PE) sont introduites. Les creusets contenant les poudres (M) sont pesés avant d'être introduits dans le four réglé à 600 °C pour une calcination pendant 6 h. Au sortir du four les cendres sont laissées à refroidir dans un dessiccateur contenant un desséchant (chlorure de calcium, anhydride phosphorique) et ensuite pesées (M').

Le résultat est exprimé en pourcentage de cendres totales qui est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Cendres totales} = \frac{\text{Masses cendres (Mct)} \times 100}{\text{Prise d'essai (PE)}}$$

2.2.3 Teneur en cendre insoluble dans l'acide chlorhydrique

C'est une évaluation du contenu en constituants siliceux de la matière végétale. Les cendres sont obtenues à partir de l'action de l'acide chlorhydrique dilué à 10 % sur les cendres totales.

Les cendres totales sont introduites dans un erlenmeyer et ajouté 20 ml d'acide chlorhydrique à 10 %. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn au bain-marie. Après refroidissement, on recueille et on lave la matière non soluble sur un papier filtre sans cendre, puis on transfère le filtre dans un creuset sec préalablement taré (T).

Le creuset contenant le papier filtre est ensuite séché à l'étuve (1-2 heures) et pesé (M) puis calciné pendant 6 heures au four à la température de 600 °C. Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset contenant les cendres est pesé (M').

Le résultat est exprimé en pourcentage de cendres insoluble dans l'acide chlorhydrique qui est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique} = \frac{\text{Masse cendres} \times 100}{\text{Prise d'essai}}$$

3. Résultats

3.1 Etude botanique

3.1.1 Description morphologique

❖ Feuilles

Feuilles caduques, dépourvues de stipules, alternes, disposées de façon spiralée sur le rameau, dispersées le long des branches, mais fréquemment rassemblées en touffes à l'extrémité (Voir figure 12).

Feuilles, subsessiles ou à pétiole court (0 à 2 cm de long), décurrent, glabres, simples et entières, elliptiques à obovales, mesurant de 1 à 37 cm de long et 6 à 17 cm de diamètre dans sa plus grande largeur ; le limbe, épais, coriace, d'un vert terne, à base graduellement atténuée et à apex arrondi, obtus ou courtement acuminé ; la nervation est pennée avec 12 à 15 paires de nervures secondaires, nettement apparentes sur les deux faces ; absence de 2 glandes à la base de la nervure médiane (Voir figure 13).



Figure 12 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. - Sommités feuillues

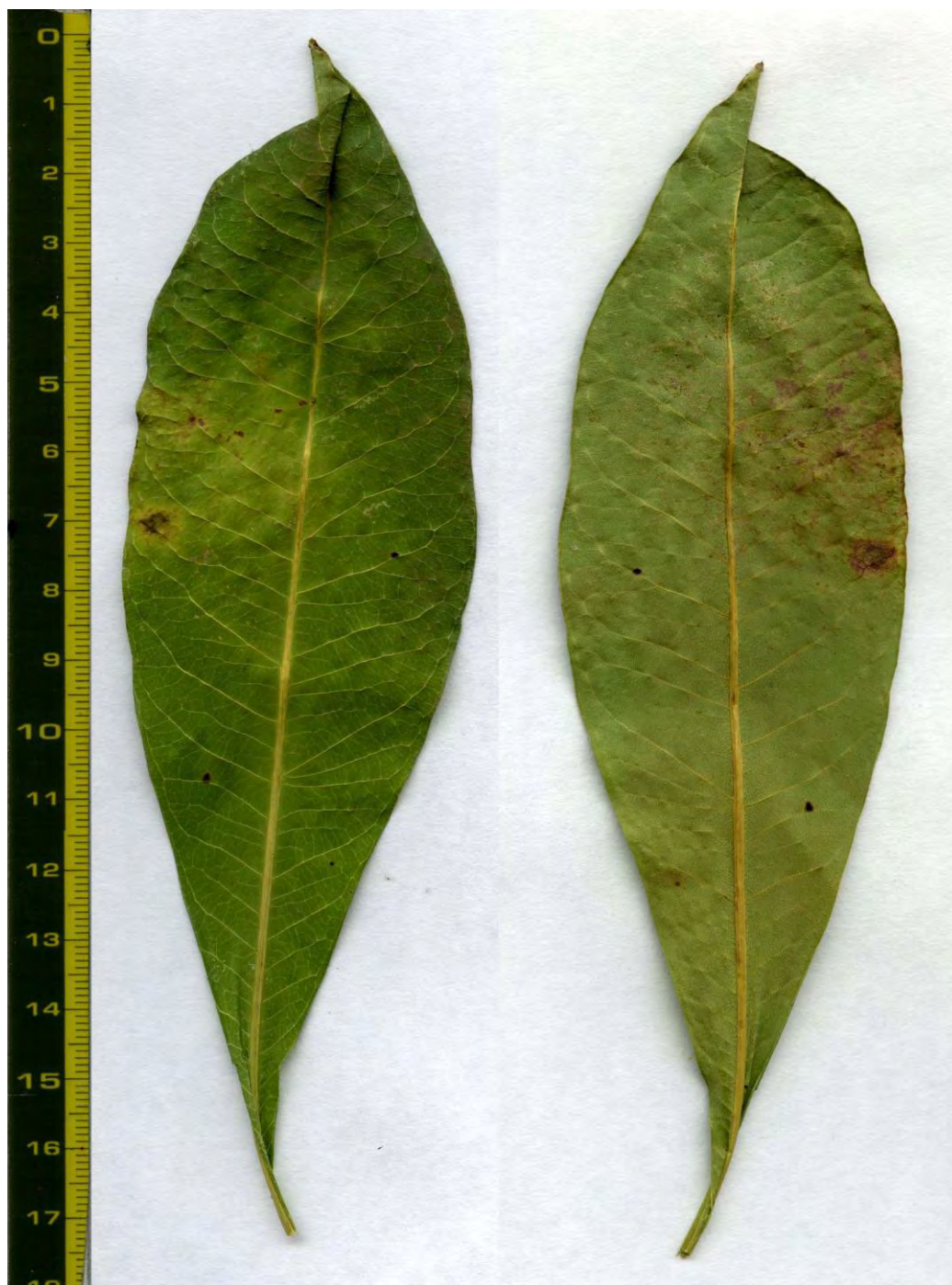


Figure 13 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Feuille

A gauche : face supérieure

A droite : face inférieure

❖ Racines

Fragments de taille variable pouvant atteindre jusqu'à 1 m de long et un diamètre voisin de 30 cm ; la surface externe est grisâtre, couverte de plaques écailleuses qui s'exfolient très facilement (Voir figure 14) ; la section extrêmement fibreuse, montre un anneau externe, fin et grisâtre, et un système conducteur brun-jaune clair composé de deux anneaux concentriques striés radialement: l'un correspond au phloème, très fibreux, et occupe environ $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{3}$ de la section (Voir figure 16B), l'autre, central, au xylème et occupe environ la moitié de la section. Des punctuations, correspondant à des amas fibreux, placées sur des cercles concentriques parcourent la section au niveau du système conducteur (Voir figure 16A). La section longitudinale montre une structure extrêmement fibreuse (Voir figure 15).



Figure 14 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine



Figure 15 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine

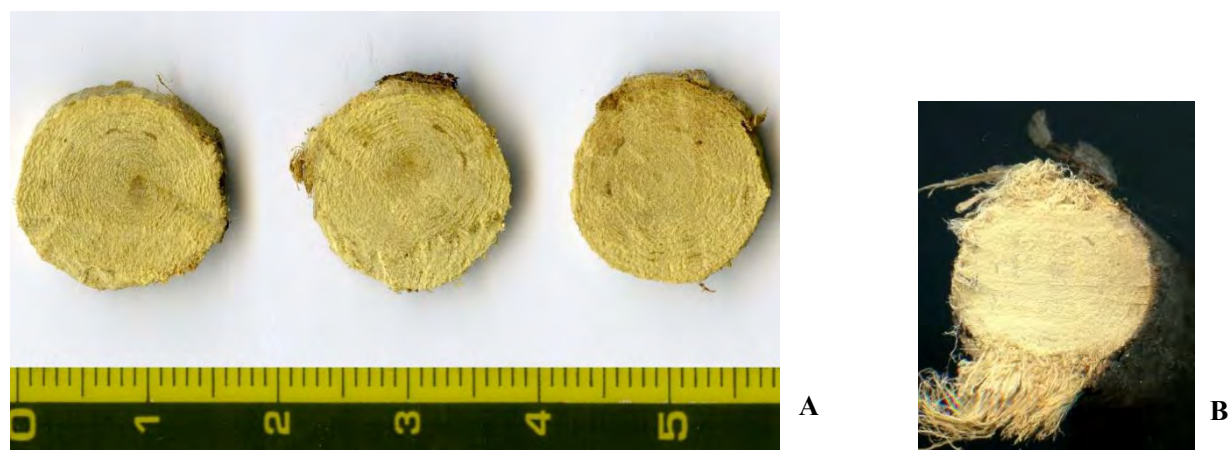


Figure 16 : *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. – Racine (section)

3.1.2 Caractères organoleptiques des poudres

L'évaluation des caractères organoleptiques de la poudre des feuilles et des racines a révélé que la poudre de feuille était de couleur verte et celle des racines de couleur beige. Les deux poudres étaient fines avec une odeur non caractéristique et un goût peu amer

3.1.3 Histologie

3.1.3.1 Feuilles

Montée dans le réactif de Mirande (Carmino-vert), la section transversale d'une feuille présente une nervure médiane avec une face supérieure légèrement convexe et une face inférieure nettement bombée et un limbe étroit (Voir figure 17).



Figure 17 : *Terminalia macroptera*-Section transversale de la nervure principale de la feuille (vue générale)

❖ **Nervure médiane**

Les tissus sont, de la face supérieure à la face inférieure,

- l'épiderme supérieur cuticularisé glabre composé de cellules plus ou moins isodiamétriques
- le parenchyme collenchymateux dans les parties les plus externes composé de cellules arrondies à ovoïdes dont certaines contiennent des macles d'oxalate de calcium
- le système conducteur composé d'un arc libéro-ligneux surmonté de deux arcs surnuméraires inversés, donnant à l'ensemble l'aspect d'un anneau plus ou moins fermé.
 - Des amas de fibres péricycliques entourent le système conducteur
 - Les arcs libéro-ligneux, de structure secondaire, sont traversés par de nombreux rayons médullaires unisériés contenant de petites macles d'oxalate de calcium. Les éléments de structure primaire (bois et liber) sont encore nettement visibles en bordure des arcs secondaires
 - Du liber interne (ou pérимédullaire) en amas bordent le pourtour intérieur des arcs de bois
 - Des canaux lysigènes à mucilage se situent sur le pourtour interne de l'arc de bois avant le liber interne ; fréquemment un seul canal apparaît au centre de l'arc principal; cependant, plus la section transversale est proche du pétiole, plus le nombre de canaux est important, de 3 à 6 (Voir figure 18).

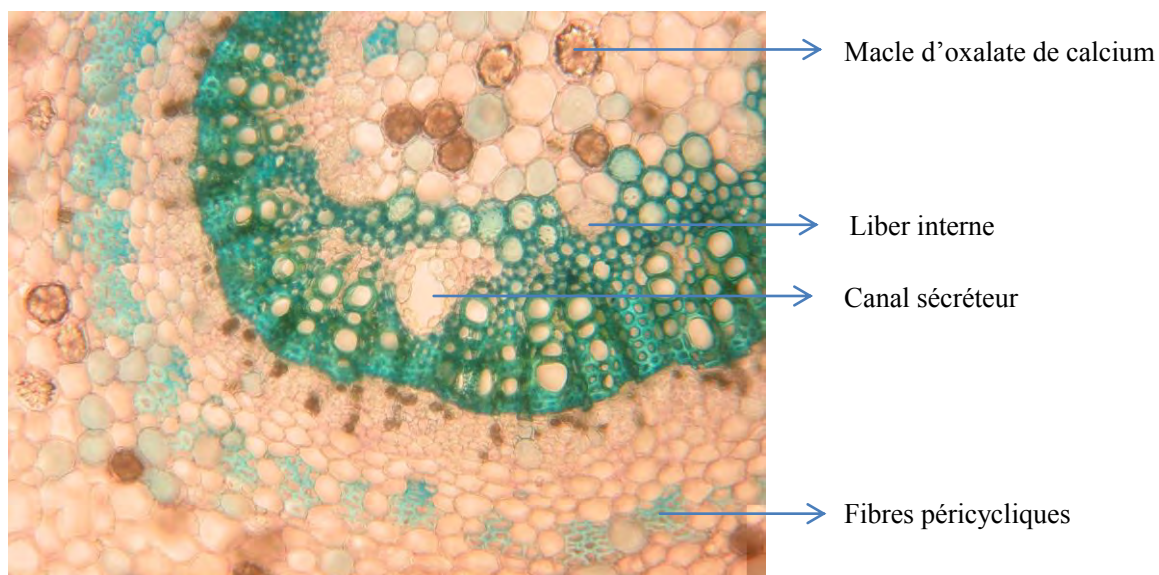
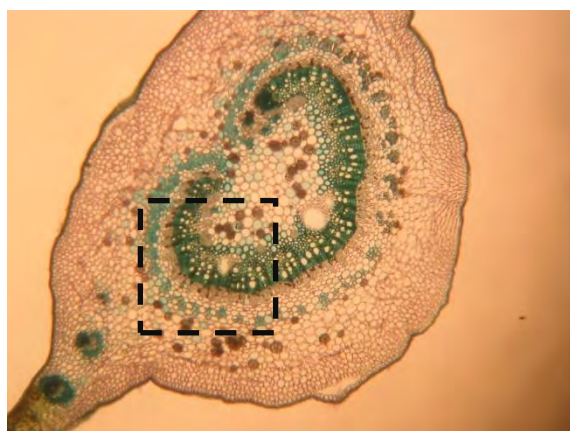
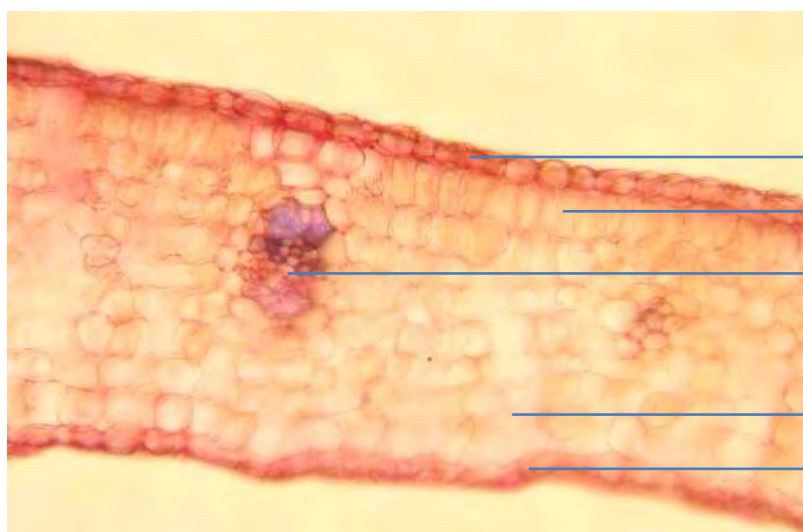
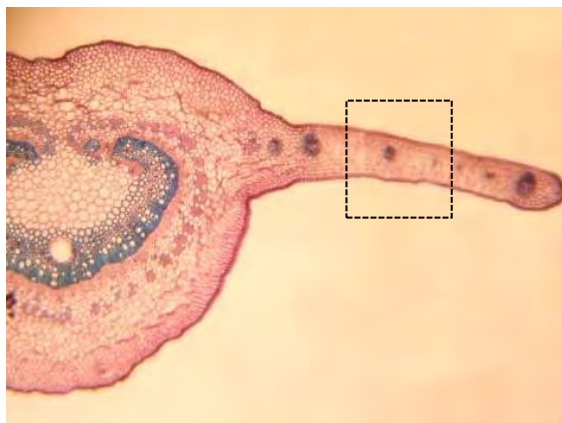


Figure 18 : *Terminalia macroptera* -détail de la section transversale de la nervure médiane.

❖ **Limbe**

Le limbe, bifacial comprend, de la partie supérieure à la partie inférieure (Voir figure 18),

- L'épiderme supérieur, cuticularisée, constitué de cellules plus ou moins isodiamétriques
- Le parenchyme palissadique composé généralement d'une assise comprenant des cellules allongées et d'un faible diamètre ;
- Le parenchyme lacuneux occupant environ le tiers de la section ; l'assise sous-jacente au parenchyme palissadique comprend des cellules faiblement allongées et d'un diamètre plus élevé que le parenchyme palissadique ; certains auteurs (Tilney, 2002) qualifient cette assise de « palissadic-like »
- De nombreuses macles d'oxalate de calcium se rencontrent dans tous les parenchymes
- L'épiderme inférieur, composé de cellules épidermiques et de stomates



- Epiderme supérieur
- Parenchyme palissadique
- Nervure secondaire
- Parenchyme lacuneux
- Epiderme inférieur

Figure 19 : *Terminalia macroptera* - détail de la section transversale du limbe

3.1.3.2 Racines

Montée dans le réactif de Mirande (Carmino-vert), la section transversale d'une racine présente une forme circulaire. La dessiccation de la racine provoque une rupture des tissus au niveau du cambium. L'examen de la section transversale nécessite, de ce fait, deux montages distincts : l'un composé de la partie externe de la racine, du suber jusqu'au cambium, et l'autre de la partie centrale, du cambium au centre de la section.

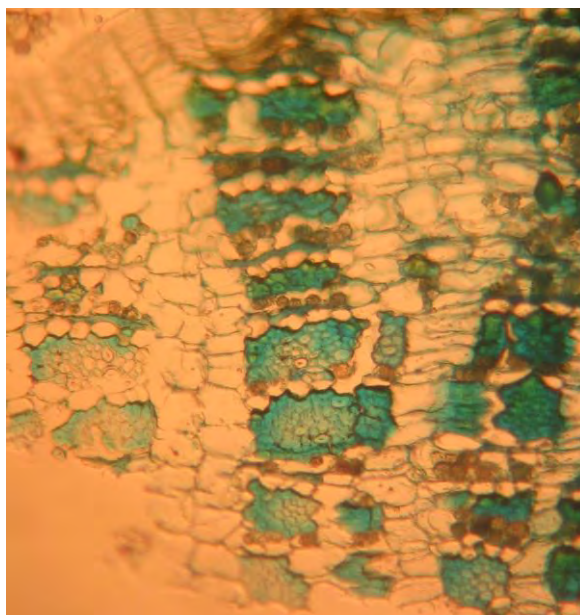


Figure 20 : *Terminalia macroptera* - Section transversale de l'écorce de la racine

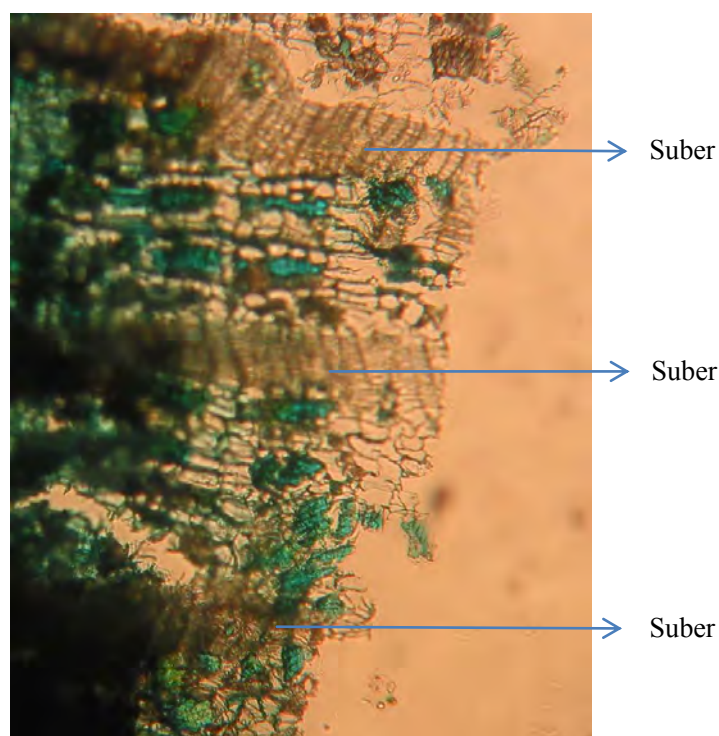


Figure 21 : *Terminalia macroptera* -Section transversale de l'écorce de la racine – Détail subers successifs

Le tissu de revêtement de structure secondaire comprend

- Le suber fortement développé composé de cellules superposées aplaties et étroites
- L'assise génératrice subéro-phellodermique peu visible
- Le phelloderme réduit,

Le parenchyme cortical est quasiment inexistant du fait de la formation d'assises génératrices subéro-phellodermiques successives qui occupent toute l'écorce externe ; la présence du parenchyme cortical se signale par des restes de parois lignifiées et écrasées entre le suber et le liber

Le liber secondaire est fortement développé. Il comprend

- Un parenchyme libérien aux cellules souvent légèrement lignifiées et contenant de nombreuses macles d'oxalate de calcium de taille variable et des grains d'amidon, ovoïdes de 2 à 10 μm de longueur; il est fréquemment écrasé ne montrant plus que les restes des parois lignifiées ;

- Des amas de tubes criblés peu visibles situés dans la partie la plus profonde de la section
- Des fibres lignifiées à paroi épaissie et lumière étroite disposées en amas et réparties en strates successives dans le liber
- Des rayons médullaires unis à plurisériés

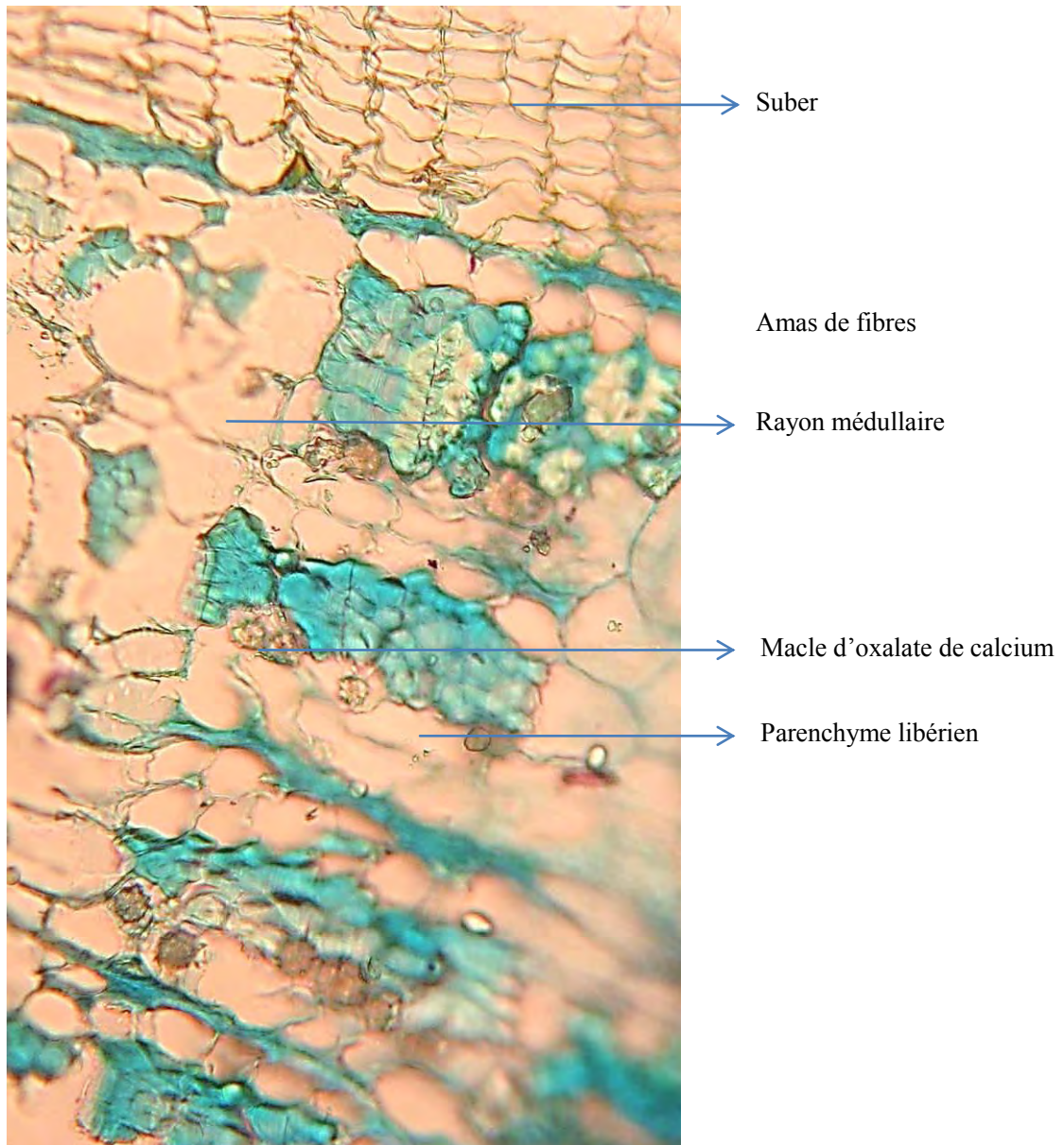


Figure 22 : *Terminalia macroptera*- détail section transversale de la partie externe de la racine

La section longitudinale (Voir figure 22) montre que les macles d'oxalate de calcium sont souvent situées le long des fibres et se répartissent des files de cellules

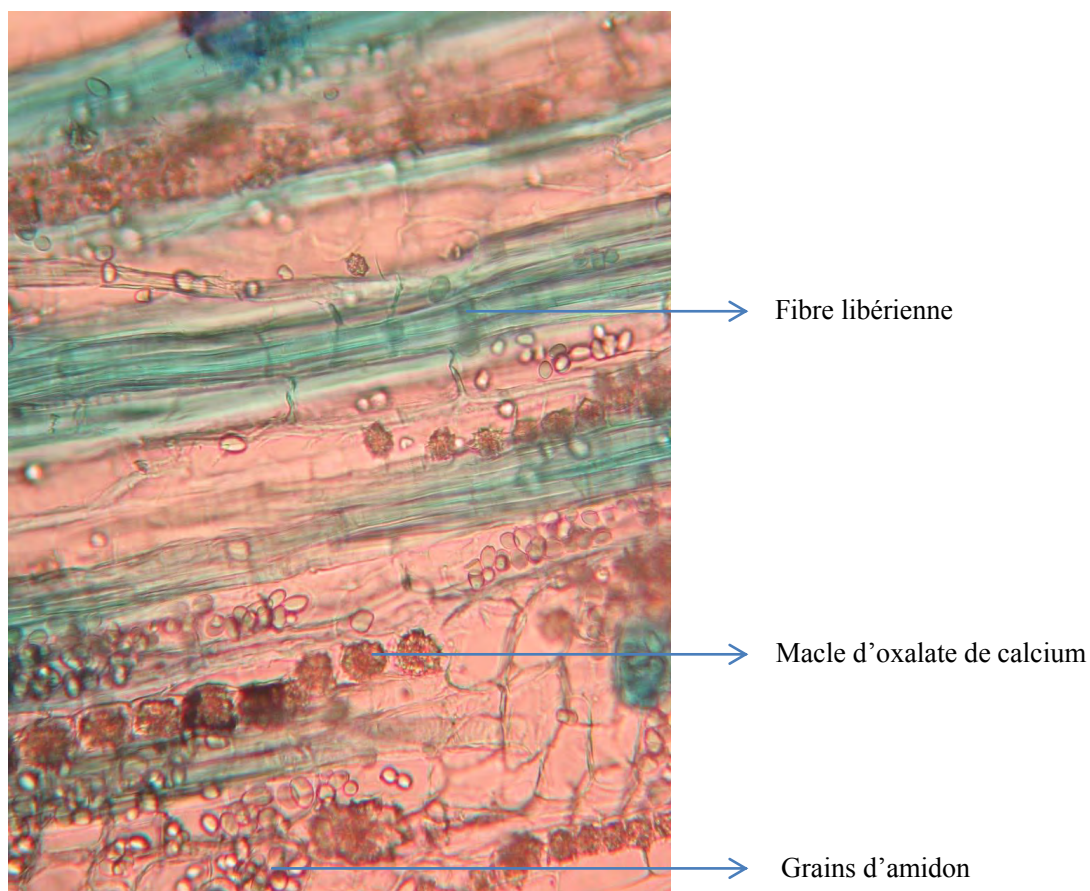


Figure 23 : *Terminalia macroptera*- détail section longitudinale de la partie externe de la racine

Le cambium sépare la partie externe du bois. Le bois est entièrement lignifié. Il est constitué de :

- vaisseaux d'un diamètre pouvant être supérieur à 300 μ m, isolés ou associés par 2 ou 3 ;
- parenchyme ligneux lignifié, constitué de cellules à paroi légèrement et régulièrement épaissie et ponctuées
- fibres ligneuses à paroi très épaissie et lumière étroite, groupés en amas et disposées en strates concentriques
- rayons médullaires uni, bi ou trisériés.

Des macles d'oxalate de calcium dont certaines de fort diamètre (plus de 200 μ m de diamètre) et des grains d'amidon ovoïdes (environ 10 μ m de long) sont présents dans tous les parenchymes.

Dans certaines préparations, des canaux verticaux à mucilage sont présents ; ils sont disposés en strates.

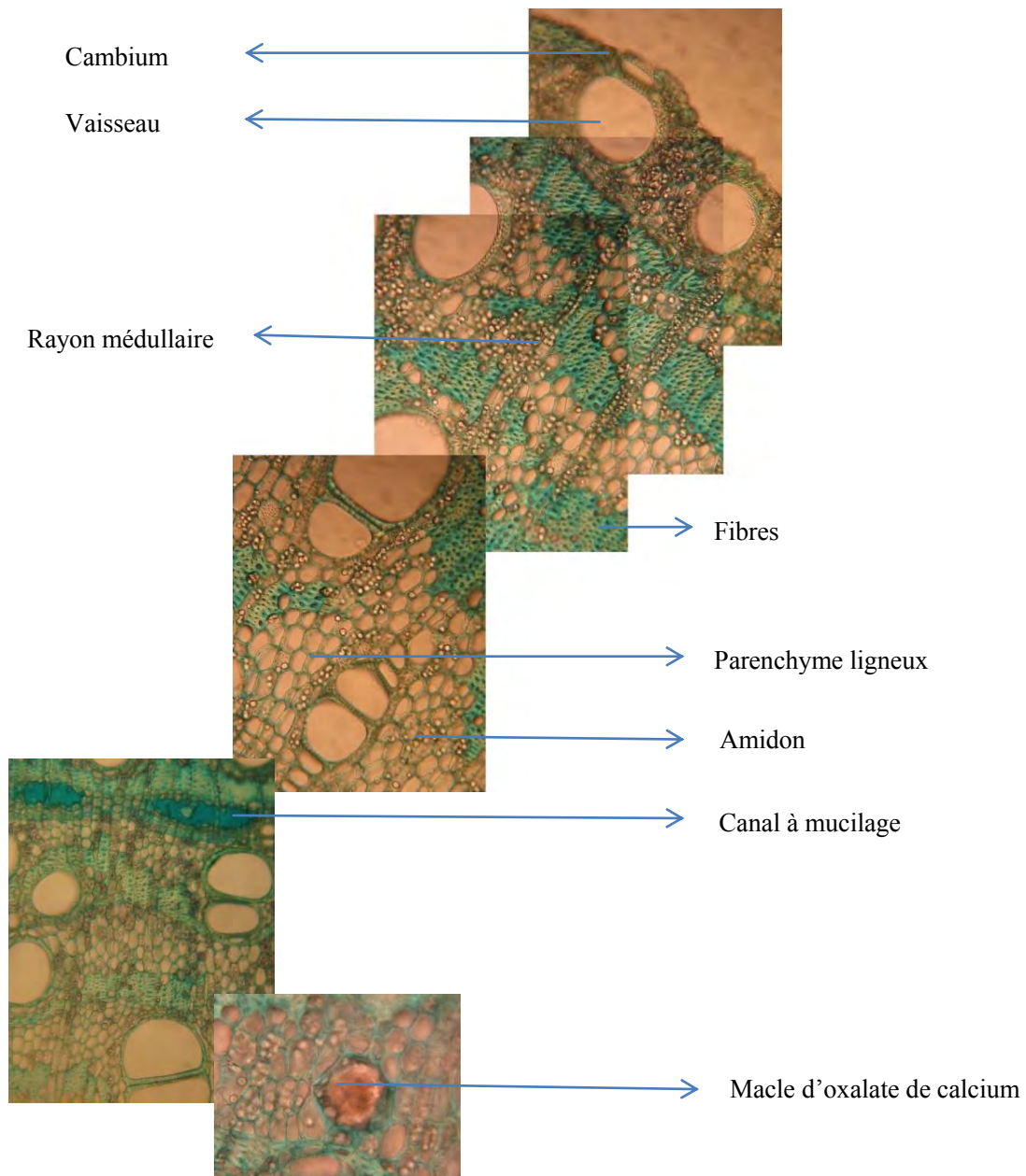


Figure 24 : *Terminalia macroptera* - Section transversale de la racine – Détail du bois

3.1.4 Microscopie des poudres

3.1.4.1 Poudre des feuilles

La poudre des feuilles montée dans la solution d'hydrate de chloral a montré la présence :

- Des macles d'oxalate de calcium (environ 50-60 μm de diamètre) provenant des parenchymes (Voir figure 25A) ou de très petites tailles et souvent alignées provenant des rayons médullaires (Voir figure 25B)
- Des fibres libériennes en amas (Voir figure 25C) associées ou non à des vaisseaux conducteurs (Voir figure 25D)
- Des fragments d'épiderme supérieur, vus de face, à cellules polyédriques et quelques stomates (Voir figure 25E) accompagné de parenchyme palissadique et des fragments d'épiderme inférieur à cellules lobées portant des stomates de type anomocytique (Voir figure 25F) à 3 à 4 cellules annexes

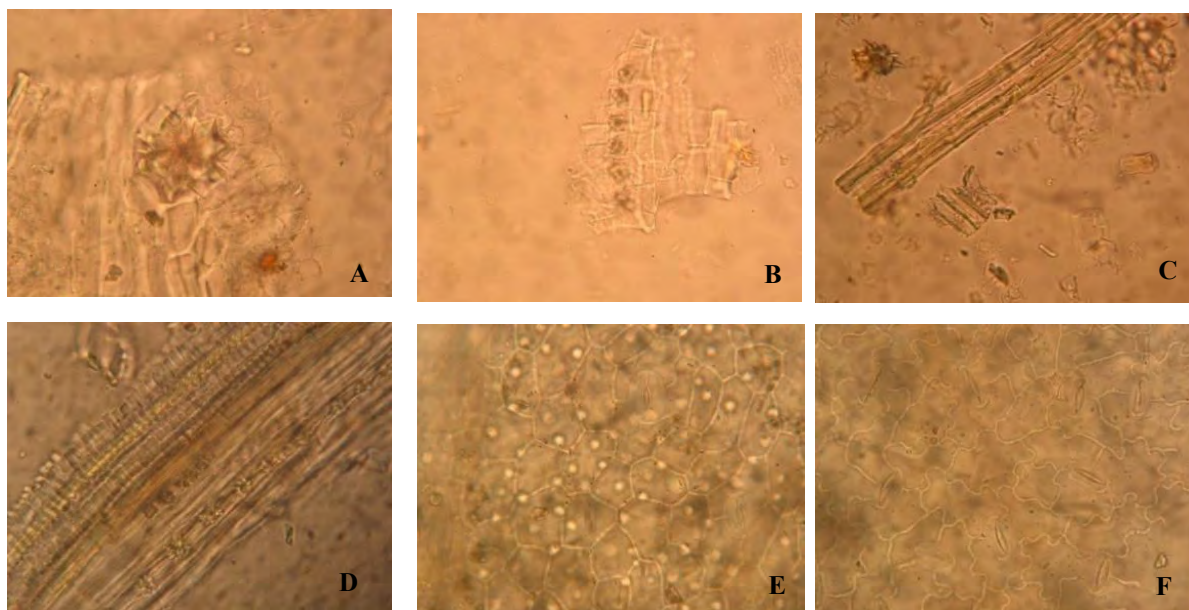


Figure 25 : Eléments microscopiques de la poudre des feuilles de *Terminalia macroptera*

3.1.4.2 Poudre des racines

La poudre de racine, montée dans la solution d'hydrate de chloral a montré la présence :

- Des Macles d'oxalate de calcium libres (diamètre parfois supérieur à 150 μ m) provenant des parenchymes (Voir figure 26A) ou en files, de taille beaucoup plus modeste et inclus dans des cellules provenant des rayons médullaires (Voir figure 26B)
- De vaisseaux, de large diamètre, à ponctuation aréolée (Voir figure 26C)
- Des fragments de suber à cellules polyédriques à paroi fine et à contenu orangé (Voir figure 26D)
- Des fragments des rayons médullaires à cellules plus ou moins rectangulaires, à paroi légèrement et régulièrement épaissie et ponctuée (Voir figure 26E)
- De nombreux amas de fibres longues et étroites, non septées, à paroi fortement lignifiée et lumière étroite (Voir figure 26F)
- De nombreux grains d'amidon ovoïdes d'environ 10 μ m de long généralement isolées ou associés par 2 à 3 grains libres ou inclus dans des cellules parenchymateuses (Voir figure 26G).

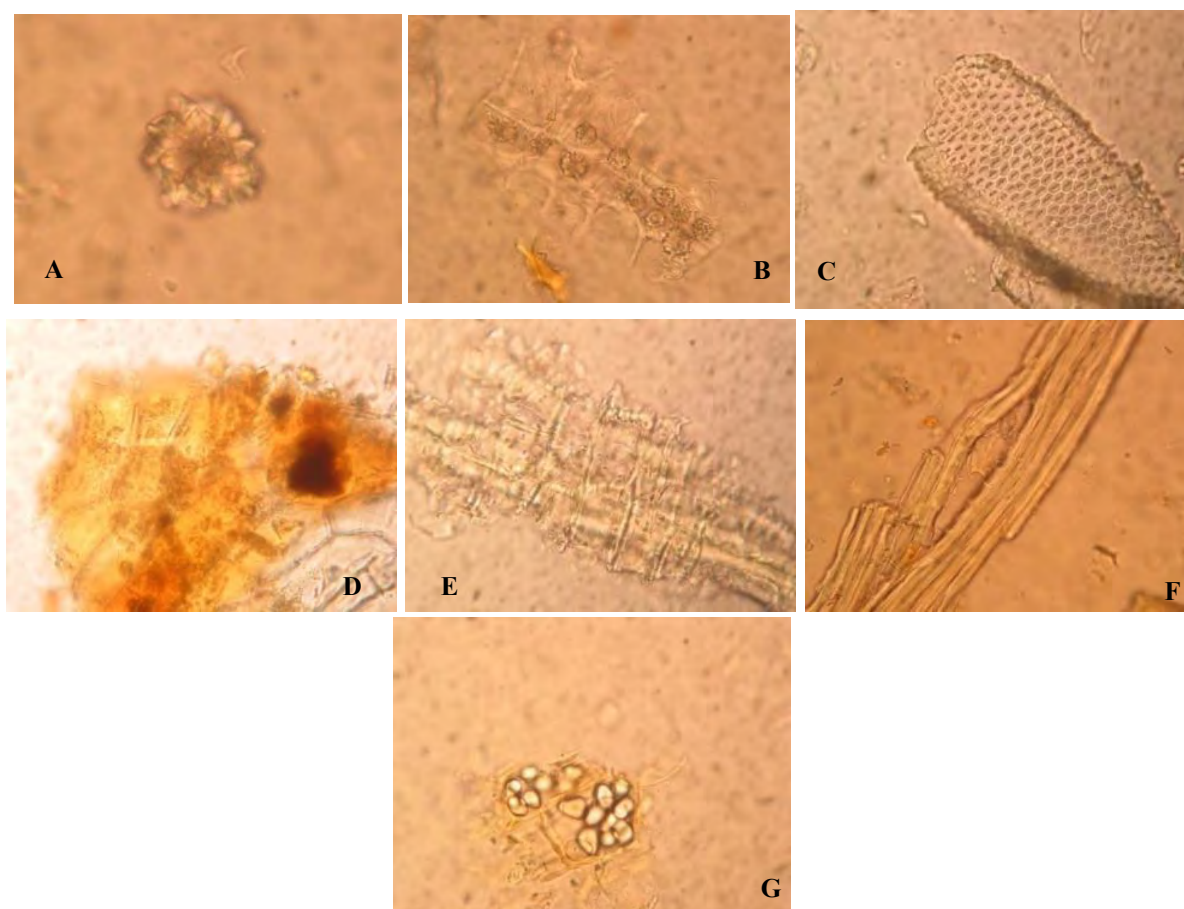


Figure 26 : Eléments microscopiques de la poudre des racines de *Terminalia macroptera*

3.2 Etude physicochimique

La teneur en eau était $7.7 \pm 0.5\%$ et $8.3 \pm 0,3\%$ respectivement pour les feuilles et les racines. Les teneurs en cendres totales et en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique étaient de 3.44 ± 0.1 et 0.4% respectivement pour les feuilles et $7.17 \pm 0.1\%$ et 1.7% respectivement pour les racines. Les teneurs en cendres totales et en cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique étaient plus élevées dans les racines que les feuilles

4. Discussion

Du point de vue morphologique, nous avons retrouvé tous les signes caractéristiques retenus par Hutchinson et Dalziel dans Flora of West Tropical Africa (Hutchinson et Dalziel, 1954).

Des nectaires foliaires existent chez les Combretaceae. Nous n'en avons pas retrouvé dans *T. macroptera* rejoignant ainsi la description de Guillemain et al. (1830) qui, dans la description princeps de l'espèce, signale «Folia..., in petiolo decurrentia, eglandulosa ,... ».

Cependant, Arbonnier dans Arbres, Arbustes et lianes des Zones sèches d'Afrique de l'Ouest, signale la présence sur la face inférieure (de la feuille) de deux glandes à la base de la nervure primaire (Arbonnier, 2009). Tilney (2002) est également en faveur de la présence de nectaires extra-floraux chez les Terminalia ; mais il précise qu'ils ne sont plus perceptibles chez les feuilles adultes.

Du point de vue anatomique, la nervure centrale et le pétiole ont été étudiés chez les Combretaceae de l'Afrique de l'Ouest par Tilney (2002). Nous retrouvons dans l'espèce étudiée,

➤ **les éléments caractéristiques de la famille des Combretaceae, à savoir,**

La présence de :

- d'un arc libéro-ligneux surmonté de deux arcs surnuméraires inversés donnant l'aspect d'un anneau plus ou moins complet
- de liber pérимédullaire ou liber interne; les arcs de liber externe et de liber interne ont tendance à se rejoindre en bordure des arcs
- collenchyme abondant dans les parties externes du parenchyme
- macles d'oxalate de calcium de grande taille dans les parenchymes et de petites tailles dans le liber et les rayons médullaires

➤ **les éléments caractéristiques du genre *Terminalia***

- canaux à mucilage, ce qui permet de le différencier du genre *Combretum* (absence de canaux)
- absence de (poils sécréteurs, alors qu'ils sont présents dans le genre *Combretum*

➤ **les éléments caractéristiques de l'espèce *Terminalia macroptera***

- Nous n'avons pas trouvé de poils tecteurs sur les échantillons examinés

Verhoeven et Van der Schijff (1973), dans leur étude anatomique des feuilles de Combretaceae d'Afrique du Sud, indiquent que toutes les Combretaceae possèdent des poils tecteurs dits « poils de Combretaceae » : longs, unicellulaires, à extrémité pointue, à paroi épaisse et à base bulbeuse. Il est même précisé que lorsqu'ils ne sont pas perceptibles, ils existent dans les tiges jeunes ou les parties de la fleur.

Tilney (2002) fait la même remarque et précise que, dans certaines espèces (*T. macroptera*, n'est pas mentionné dans ce travail) seules les feuilles jeunes portent des poils tecteurs.

Ce fait devrait être vérifié sur des organes jeunes de *T. macroptera*. Les rameaux et feuilles examinés sont tous à l'âge adulte et la présence de poils tecteurs n'a pu être décelée même dans la drogue pulvérisée.

- Les épidermes présentent une différence nette entre l'épiderme supérieur, finement cuticularisée, à cellules à paroi rigide et faiblement stomatifère et l'épiderme inférieur à cellules à paroi sinueuse et portant de nombreux stomates anomocytiques.

La présence de stomates anomocytiques est fréquente chez les *Terminalia*, cependant leur localisation à la face supérieure semble relativement rare. Par contre, la forme des cellules sinueuses à la face inférieure différentes de celle de la face supérieure a déjà été signalée dans plusieurs espèces de *Terminalia* de l'Afrique de l'Ouest (Tilney, 2002).

Les références consultées ne font pas état de petits cristaux aciculaires dans l'épiderme supérieur mais il est souvent noté la présence importante de cristallisation d'oxalate de calcium (Tilney, 2002 ; Guillemin et al. (1830).

Le bois des Combretaceae a été étudié par de nombreux auteurs en raison de l'utilisation de ces essences comme matériaux de construction. Cependant la plupart des travaux concernent le tronc et les branches et non pas la racine.

Il est à remarquer la présence, dans *Terminalia macroptera*, de canaux sécréteurs à mucilage, retrouvés dans certains échantillons et pas dans d'autres.

Ce type d'éléments a été décrit dans d'autre espèce du même genre comme dans *Terminalia ivorensis* A.Chev.(Lamb et Ntima, 1971) qui signale que des « Traumatic gum ducts » sont présents de façon occasionnelle.

L'origine traumatique des canaux n'a pas pu être établie sur les échantillons que nous avons examinés. Cependant, si nous adhérons aux explications de Mirioni (1965) sur l'anatomie de Combretaceae fossiles, « les canaux sécréteurs ont une origine pathologique en raison de leur développement lysigène qui est prouvé par l'absence de cellules sécrétrices. » Or, les canaux que nous avons observés, n'ont pas de cellules sécrétrices bordantes et peuvent donc être qualifiés de lysigènes.

Le tissu de revêtement de la racine est constitué par plusieurs assises concentriques subéro-phellodermiques qui forment des couches successives de tissu mort qui s'exfolie.

L'origine de ce « périderme » semble profond et non superficiel ce qui engendre les couches successives et, de ce fait, la disparition du parenchyme cortical.

La teneur en eau était inférieure à 10% dans les deux échantillons. Une teneur en eau élevée (généralement supérieure à 10%) favorise la croissance des bactéries, des levures ou des champignons pendant le stockage du matériel végétal (Chanda, 2014). La forte teneur en cendre insoluble dans l'acide chlorhydrique dans la poudre des racines que dans celle des feuilles pourrait être due à une contamination du matériel végétal par des éléments siliceux (sable, poussière) (Chanda, 2014).

5. Conclusion

Les paramètres botaniques et physicochimiques ont été déterminés, permettant de vérifier l'authenticité de la poudre des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera*. Les caractères diagnostiques de la drogue pulvérisée peuvent donc être définis de la manière suivante :

- **Feuille adulte pulvérisée**

Présence de

- stomates anomocytiques
- stomates sur les 2 faces - adaxiale et abaxiale - de la feuille,
- cellules épidermiques adaxiales à paroi rigide et cellules épidermiques abaxiales à paroi sinueuse
- amidon en grains ovoïdes d'environ 10µm de long
- nombreuses macles d'oxalate de calcium pouvant atteindre 100µm de diamètre

Absence de poils tecteurs ou de poils sécréteurs

- **Racine pulvérisée**

Présence de

- fibres longues et étroites, en amas, à paroi épaissie et lumière réduite
- vaisseaux à ponctuations aréolés larges (plus de 300µm de diamètre)
- macles d'oxalate de calcium de plus de 150µm de diamètre
- amidon en grains ovoïdes d'environ 10µm de long



DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

Au Mali, la recherche sur les plantes médicinales a été très dynamique depuis l'indépendance avec la création en 1968 sous l'égide du ministère de la santé d'un département de médecine traditionnelle (DMT) dont l'un des objectifs est d'évaluer et de valoriser les produits de la médecine traditionnelle sous forme de médicament traditionnel amélioré (MTA), et en particulier en ce qui concerne les antipaludiques. Nos travaux s'inscrivent en ce sens, visant à valoriser l'usage traditionnel d'une espèce très utilisée au Mali pour la pathologie *sumaya blen*, aussi appelé paludisme grave par les guérisseurs traditionnels.

Pour ce faire nous avons essayé de circonscrire le domaine d'activité des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* à l'aide de tests *in vitro* et *in vivo* pertinents, et d'évaluer leur toxicité. Bien que les organes de cette espèce soient utilisés traditionnellement sous forme d'extrait aqueux, (majoritairement en décoction) pour des raisons techniques et dans le but d'extraire le maximum de composés, nous avons préparé pour évaluation des extraits éthanoliques 90 %.

1- Activités pharmacologique de *Terminalia macroptera*

1.1- *En ce qui concerne le paludisme simple*

Les extraits éthanoliques 90 % des feuilles et des racines *Terminalia macroptera* sont actifs *in vitro* sur des souches de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistantes FcB1 avec une CI_{50} de 1.2 $\mu\text{g/mL}$ et 1.6 $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

Les extraits éthanoliques des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* (100 mg/kg) administrés per os ont réduit la parasitémie (37.2 % et 46.4 % respectivement) chez les souris infectées par *Plasmodium chabaudi chabaudi* au septième jour de l'infection comparativement aux souris non traitées.

Ces résultats montrent que l'extrait des racines est plus actif que l'extrait des feuilles sur le paludisme simple induit par infection des souris par Plasmodium chabaudi chabaudi

Terminalia est un genre bien étudié spécialement pour l'activité antiplasmodiale en raison de son utilisation traditionnelle contre le paludisme dans des régions endémiques (Iyamah et al., 2015 ; Traoré et al., 2014 ; Nadembega et al., 2011 ; Okpekon et al., 2004 ; Malgras, 1992).

Terminalia avicennioides Guill. & Perr. Les extraits ont démontrés des propriétés antiplasmodiales *in vitro* ($CI_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$) et ou *in vivo*.

- ***In vitro*** : l'extrait dichlorométhane des feuilles ($CI_{50} = 1.6 \mu\text{g/mL}$) et des écorces ($3.6 \mu\text{g/mL}$) ont démontré une activité antiplasmodiale sur la souche de *Plasmodium falciparum* K1 (Sanon et al., 2013), un résultat similaire a été obtenu avec l'extrait méthanol-eau (1 :1) des feuilles avec une CI_{50} de $3.5 \mu\text{g/mL}$ (Ouattara et al., 2014).
- ***In vivo*** : l'extrait méthanolique des écorces (200 mg/kg, voie orale) a démontré une activité antiplasmodiale sur un modèle de paludisme simple en réduisant la parasitémie induite (84 % d'inhibition au 5^{ème} jour de l'infection) dans le test Peterschez des souris infectées par *Plasmodium berghei berghei* NK 65 (Omonkhua et al., 2013).

Terminaliaglaucescens Planch. ex Benth. L'extrait méthanolique des feuilles a démontré une activité antiplasmodiale *in vitro* sur des souches FcB1 ($3.5 \mu\text{g/mL}$) (Okpekon et al., 2004).

Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb. et de ***Terminalia chebula*** Retz. Les extraits aqueux des fruits (250 mg/kg, voie orale) ont démontré des propriétés antiplasmodiales *in vivo* sur un modèle de paludisme simple en inhibant (53.40 % et 68.89% d'inhibition respectivement au 5^{ème} jour de l'infection) la parasitémie chez des souris infectées par *Plasmodium berghei* P – line. Par contre ces extraits ne sont pas actifs ($CI_{50} > 10 \mu\text{g/mL}$) *in vitro* sur des souches de *Plasmodium falciparum* K1 (Pinmai et al., 2011).

Nos résultats comparés aux résultats de ces différentes études montrent que :

- L'effet antiplasmodial *in vitro* des extraits éthanoliques 90 % des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* est équivalent à celui des extraits des feuilles de *Terminalia avicennioides* et de *Terminaliaglaucescens* ($CI_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$) par contre ils sont plus actifs que les extraits des fruits de *Terminalia bellirica* et de *Terminalia chebula*.
- Les extraits des écorces de *Terminalia avicennioides* (200 mg/kg, 84 % d'inhibition de la parasitémie) et des fruits de *Terminalia bellirica* (250 mg/kg, 53.40 %) et de *Terminalia chebula* (250 mg/kg, 68.89 %) sont plus actifs *in vivo* sur des modèles de paludisme simple que les extraits éthanoliques 90 % des feuilles (100 mg/kg, 37.2 %) et des racines (100 mg/kg, 46.4 %) de *Terminalia macroptera*. Cependant ces extraits sont administrés à des doses 2 fois et 2.5 fois plus élevées que les extraits de *Terminalia macroptera*.

Il serait donc intéressant de tester d'autres doses (200 – 400 mg/kg) pour les extraits de *Terminalia macroptera* enfin de déterminer la dose efficace 50 (c'est-à-dire la dose qui provoque 50 % d'inhibition de la parasitémie) dans le cas du paludisme simple.

Lorsque nos résultats sont comparés à ceux des MTA Malarial5[®] et *SUMAFURA TIEMOKO BENGALY[®]*, nous constatons que :

- **In vitro** : les extraits éthanoliques 90 % des feuilles (CI₅₀ = 1.2 µg/mL, souche de *Plasmodium falciparum* FcB1) et des racines (CI₅₀ = 1.6 µg/mL, souche de *Plasmodium falciparum* FcB1) de *Terminalia macroptera* ont un effet antiplasmodial équivalent à celui de l'extrait méthanolique de *SUMAFURA TIEMOKO BENGALY[®]* (CI₅₀ = 1 µg/mL, K1) (Diallo et al., 2007) par contre ils sont plus efficaces que le décocté lyophilisé du Malarial5[®] (CI₅₀ = 470 µg/mL, souche de *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistante FCZ) (Gasquet et al., 1993).
- **In vivo** : les extraits éthanoliques 90 % des feuilles (100 mg/kg, 37.2 % d'inhibition de la parasitémie au 7^{ème} jour de l'infection) et des racines (100 mg/kg, 46.4 %) de *Terminalia macroptera* sont plus efficaces que le décocté lyophilisé (200 mg/kg, 13 %) du Malarial5[®] (Gasquet et al., 1993).

1.2- En ce qui concerne le neuropaludisme

L'infection de certaines souches de souris (C57BL/6, ou Swiss) avec la souche *Plasmodium berghei* ANKA conduit au développement d'une maladie neuro-vasculaire, le paludisme cérébral expérimental entraînant la mort 7 à 10 jours après l'inoculation du parasite (Basir et al., 2012 ; Martins et al., 2009 ; Amani et al., 1998).

Les extraits éthanoliques des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* (100 mg/kg) administrés per os ont également permis d'améliorer la survie des souris infectées par *P. berghei* ANKA avec 50 à 66.6 % de survie respectivement au jour 9 post-infection avec les feuilles et les racines.

Ces résultats montrent que l'extrait des racines est plus actif que l'extrait des feuilles sur le neuropaludisme induit par infection des souris par Plasmodium berghei ANKA.

Nous n'avons pas trouvé de travaux sur l'activité antiplasmodiale *in vivo* des espèces de *Terminalia* sur des souris infectées par *Plasmodium berghei* ANKA (neuropaludisme).

Cependant d'autres espèces ont démontré des activités antiplasmodiales *in vivo* sur des souris infectées par *Plasmodium berghei ANKA*. C'est le cas de :

- *Adansonia digitata* L. (Malvaceae) dont l'extrait aqueux des écorces de tronc (100 mg/kg/j pendant 4 jours, per os) a démontré une activité antiplasmodiale en améliorant la survie des souris infectées par *Plasmodium berghei ANKA* avec 20 % de survie au 10^{ème} jour post-infection (Musila et al., 2013).
- Un résultat similaire a été obtenu avec l'extrait aqueux des racines de *Canthium glaucum* Hiern (Rubiaceae) et l'extrait aqueux des écorces de tronc *Zanthoxylum chalybeum* Engl. (Rutaceae) avec 20 % de survie (Musila et al., 2013).
- *Ancistrocladus abbreviatus* Airy Shaw (Ancistrocladaceae) dont l'extrait dichlorométhane-ammoniacal (98 :2) des racines et des écorces de tronc (100 mg/kg/j pendant 4 jours, per os) ont démontré une activité antiplasmodiale en améliorant la survie des souris infectées par *Plasmodium berghei ANKA* avec 33.33 % de survie au 7^{ème} jour post-infection (François et al., 1997).
- Un résultat similaire a été obtenu avec l'extrait dichlorométhane des racines de *Triphyophyllum peltatum* (Hutch. & Dalziel) Airy Shaw (Dioncophyllaceae) avec 16.6 % de survie au 7^{ème} jour post-infection par contre l'extrait dichlorométhane-Ammoniacal (98 :2) des écorces de tronc a été plus actif avec 66.66 % de survie au 7^{ème} jour post-infection (François et al., 1997).

Lorsque nos résultats sont comparés aux résultats de ces études, nous remarquons que les extraits éthanoliques des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* sont plus efficaces contre le neuropaludisme induit par *Plasmodium berghei ANKA* que l'extrait :

- aqueux des écorces de *Adansonia digitata*
- aqueux des racines de *Canthium glaucum*
- aqueux des écorces de tronc de *Zanthoxylum chalybeum*
- dichlorométhane-ammoniacal (98 :2) des racines et des écorces de tronc *Ancistrocladus abbreviatus*
- dichlorométhane des racines de *Triphyophyllum peltatum*

Par contre ils sont équivalents à l'extrait dichlorométhane-Ammoniacal (98 :2) des écorces de tronc *Triphyophyllum peltatum*

1.3- En ce qui concerne les propriétés antalgiques, antipyrétiques et antiinflammatoires

• Propriété antalgique

Les extraits éthanoliques 90 % (100, 200 et 400 mg/kg, per os) des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* ont démontré une activité antalgique avec une dose efficace 50 inférieure ou égale à 100 mg/kg (56 % et 55.6 % d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique respectivement).

Ces résultats montrent que les feuilles et les racines sont équivalentes dans le test de douleur induite par l'acide acétique.

Cette propriété antalgique de *Terminalia macroptera* n'a jamais été rapportée auparavant par d'autres équipes selon notre revue de la littérature.

Cependant d'autres espèces de *Terminalia* ont démontré des propriétés antalgiques. C'est le cas de :

- *Terminalia arjuna* (Roxb. ex DC.) Wight & Arn. L'extrait méthanolique des feuilles (100 mg/kg, per os) a démontré une activité antalgique *in vivo* avec 50.79 % d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique (Biswas et al., 2011).
- Un résultat similaire a été obtenu avec l'extrait éthanolique des fruits (200 mg/kg per os) de *Terminalia bellirica* avec 61.89 % d'inhibition. (Sharma et al., 2010).

Lorsque nos résultats sont comparés à ces résultats nous constatons que l'activité antalgique des extraits des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* est équivalente à celle de l'extrait des feuilles de *Terminalia arjuna* et de l'extrait des fruits de *Terminalia bellirica* dans le test de douleur induite par injection de l'acide acétique chez des souris.

• Propriété antiinflammatoire

Les extraits éthanoliques 90 % (100 mg/kg, per os) des feuilles et des racines *Terminalia macroptera* ont démontré une activité antiinflammatoire avec respectivement 29.25 % et 36.27 % d'inhibition de l'œdème à partir de la 3^{ème} heure après injection de la carraghénine.

La dose efficace 50 pour les feuilles est comprise entre 200 – 400 mg/kg (10.33 - 61.96 % d'inhibition de l'œdème à partir de la 1^{ème} heure après l'injection de la carraghénine) et pour les racines elle est inférieure ou égale à 100 mg/kg (60.43 % d'inhibition de l'œdème à partir de la 5^{ème} heure après l'injection de la carraghénine).

Ces résultats montrent que les racines sont plus efficaces que les feuilles.

Cette propriété antiinflammatoire de *Terminalia macroptera* n'a jamais été rapportée auparavant par d'autres équipes selon notre revue de la littérature.

Cependant d'autres espèces de *Terminalia* ont démontré des propriétés antiinflammatoires. C'est le cas de :

- ***Terminalia arjuna*** dont l'extrait méthanolique des feuilles (100 mg/kg, per os) a démontré une activité antiinflammatoire *in vivo* avec 75 % d'inhibition de l'œdème à partir de la 3^{ème} heure après injection de la carraghénine (Biswas et al., 2011)
- ***Terminalia brownii* Fresen.** L'extrait méthanolique des écorces (150 mg/kg) a démontré une activité antiinflammatoire *in vivo* avec 14.65 % d'inhibition de l'œdème à la 3^{ème} après injection de la carraghénine (Mbiri, 2014)

Lorsque nos résultats sont comparés à ces résultats nous constatons que les extraits des feuilles et racines de *Terminalia macroptera* moins actifs que l'extrait des feuilles de *Terminalia arjuna* dans le test d'œdème induit par injection de la carraghénine dans la patte des souris par contre ils sont plus actifs que l'extrait des fruits de *Terminalia brownii*.

- **Propriété antipyrétique**

Les extraits éthanoliques 90 % (100, 200 et 400 mg/kg, per os) ont démontré une activité antipyrétique en réduisant la pyrexie induite par la levure à partir de la 3^{ème} heure après l'administration des traitements pour les doses de 100 et 200 mg/kg (feuilles et racines), à partir de la 2^{ème} heure pour la dose de 400 mg/kg (feuilles) et à la 1^{ère} heure pour la dose de 400 mg/kg (racines).

Ces résultats montrent que les racines sont plus efficaces que les feuilles

Cette propriété antipyrétique de *Terminalia macroptera* n'a jamais été rapportée auparavant par d'autres équipes selon notre revue de la littérature.

Cependant d'autres espèces de *Terminalia* ont démontré des propriétés antipyrétiques. C'est le cas de *Terminalia bellirica* dont l'extrait éthanolique des fruits (200 mg/kg, per os) a démontré une activité antipyrétique en réduisant la pyrexie induite par la levure à partir de la 1^{ère} heure après administration des traitements (Sharma et al., 2010).

Ce résultat comparé à nos résultats montre que l'extrait des fruits de *Terminalia bellirica* est plus actif que les extraits des feuilles et des racines de *Terminalia macroptera* la pyrexie induite par injection de la levure chez des rats.

- **Propriété hépatoprotectrice**

Les extraits éthanoliques 90 % (400 mg/kg, per os) ont démontré une activité hépatoprotectrice en réduisant le taux des enzymes marqueurs hépatiques (transaminases, bilirubine et phosphatase alcaline) comparativement au groupe de rats traités intoxiqués par CCl₄ et traités par l'eau distillée.

Ces résultats montrent que les racines et les feuilles sont équivalentes dans le test d'intoxication des rats induite par le CCl₄.

Cette propriété hépatoprotectrice de *Terminalia macroptera* n'a jamais été rapportée auparavant par d'autres équipes selon notre revue de la littérature.

Cependant d'autres espèces de *Terminalia* ont démontré des propriétés hépatoprotectrices doses dépendantes en réduisant les transaminases et la phosphatase alcaline. C'est le cas de : des fruits (200, 400 et 800 mg/kg) de *Terminalia bellirica* (Jadon et al., 2007) et des feuilles (20, 50 et 100 mg/kg) de *Terminalia catappa* L. (Gao et al., 2004).

Nos résultats sont similaires aux résultats de ces études mais avec une activité observée avec les feuilles de *Terminalia catappa* à des doses plus faibles.

Il serait donc intéressant de faire une courbe dose réponse avec un plus grand nombre de doses, et avec des doses inférieures à celles testées

Conclusion générale pour les activités.

L'ensemble des résultats obtenus pour les activités évaluées au cours de ce travail de thèse valident les usages traditionnels de *Terminalia macroptera*, en particulier *sumaya blen*, (paludisme et symptômes ictériques associés), les hépatites, les ictères. Dans le domaine du paludisme, l'activité *in vivo* de *Terminalia macroptera* sur le paludisme simple n'est pas très élevée, mais par contre il serait très intéressant d'approfondir les travaux sur le neuropaludisme étant donné qu'actuellement il n'y a pas de vrai traitement satisfaisant et que ce sont des cas mortels. *Terminalia macroptera* pourrait alors venir en complément d'un traitement conventionnel antipaludique.

Les autres activités mises en évidence, et en particulier l'activité anti-inflammatoire pourrait participer à l'activité de *Terminalia macroptera* sur le neuropaludisme et mériterait également d'être approfondie. Enfin les activités antalgiques et antipyrétiques font de *Terminalia macroptera* une espèce médicinale pouvant être utilisée en appoint chaque fois qu'une pathologie se manifeste avec une composante symptomatique de douleur et/ou de fièvre.

2- Composition chimique de *Terminalia macroptera*

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence des polyphénols (tanins, flavonoïdes) dans les feuilles et racines de *Terminalia macroptera*. La déréplication de l'extrait éthanolique des racines a permis d'identifier 11 composés majoritaires appartenant principalement à la famille des tanins et des triterpénoïdes, deux familles qui ont été mises en évidence par le criblage phytochimique.

La présence des tanins et des triterpènes ont été signalés dans d'autres espèces de *Terminalia*. C'est le cas par exemple de *Terminalia arjuna* (Kumar et al., 2013 ; Akhter et al., 2012), *Terminalia catappa* (Neelavathi et al., 2013 ; Muhammad et Mudi, 2011), *Terminalia glaucescens* (Adebayo et Ishola, 2009), *Terminalia avicennioides* (Kubmarawa et al., 2007).

Il serait intéressant de faire une déréplication du mode de préparation traditionnel décoction pour savoir si les mêmes constituants passent dans l'extrait aqueux.

3- Formulation d'un MTA avec *Terminalia macroptera*, contribution à la rédaction du dossier d'autorisation pour un MTA catégorie 2.

Nous avons montré dans le chapitre 1 que dix espèces communément utilisées au Mali dans le traitement du paludisme et/ou d'autres affections ont fait l'objet de nombreuses études qui valident ainsi, en partie, leurs utilisations traditionnelles.

Certaines de ces espèces sont déjà formulées sous forme de MTA (voir introduction et chapitre 2), et d'autres espèces pourraient être des potentiels candidats pour le développement de MTA catégorie 2 (médicaments traditionnels actuellement utilisés dans la communauté préparé à l'avance et composé de matière première brute). En particulier, dans le domaine du paludisme, actuellement un MTA est commercialisé (Malarial 5[®]) et un autre le sera très prochainement (*SUMAFURA TIEMOKO BENGALY*[®]), pour des cas de paludisme simple.

Les résultats de cette étude montrent que *Terminalia macroptera*, traditionnellement utilisée pour *sumaya blen*, paludisme "grave" pourrait aussi faire l'objet d'une demande d'autorisation pour une formulation de MTA de catégorie 2, avec comme principales indications le paludisme et symptômes associés (fièvre, douleur, ictères)

Dans ce contexte, nos travaux visant à valider les indications traditionnelles de cette espèce (chapitre 2), déterminer sa toxicité (chapitre 2), à donner des éléments de contrôle de qualité en identifiant les constituants chimiques (chapitre 4), et en déterminant les paramètres

physicochimiques et botaniques (chapitre 5) pourraient donc être intégrés pour servir de base à la constitution du dossier administratif requis pour les MTA de catégorie 2 (Willcox et al., 2012) , qui comprend les volets suivants :

- un dossier administratif,
- un dossier pharmaceutique qui comprend la monographie complète de la plante, les méthodes et étapes de préparation et de production, un rapport d'expert sur les bonnes pratiques de fabrication
- un rapport analytique d'expert sur la bonne qualité de la matière première et des produits fini
- un rapport d'expert sur l'utilisation traditionnelle (preuve d'utilisation)

Il serait alors nécessaire d'envisager les études complémentaires suivantes :

- faire un fractionnement bio-guidé enfin d'identifier les composés responsables de l'activité antiplasmodiale,
- déterminer la toxicité subchronique des extraits
- la CCM des extraits enfin de déterminer les marqueurs chimiques
- Comparer le profil des feuilles et racines pour voir les pics communs enfin de cibler les composés actifs contenus dans les feuilles et racines
- Evaluer l'activité antiplasmodiale *in vivo* sur un autre modèle expérimental de paludisme simple et en testant des doses supérieures à 100 mg/kg
- Refaire la déréplication avec le décocté aqueux qui est la forme d'utilisation traditionnelle.

Nous proposons ainsi un nouveau MTA qui sera nommé **WÔLO-TISANE**[®] à base des racines de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr.

- **Indications** : Hépatites, fièvre, douleur et comme adjuvant en cas de paludisme grave
- **Présentation** : Paquet de 6 sachets unidoses de 20 g de poudre
- **Mode d'emploi et Posologie** : Faire bouillir le contenu d'un sachet (10 g) dans 125 mL d'eau pendant 10 minutes. Boire le décocté filtré 2 fois par jours pendant 3 jours pour un adulte et une fois par jour pour un enfant.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abiodun, O., Gbotosho, G., Ajaiyeoba, E., Happi, T., Falade, M., Wittlin, S., Sowunmi, A., Brun, R., Oduola, A., 2011. In vitro antiparasitic activity and toxicity assessment of some plants from Nigerian ethnomedicine. *Pharmaceutical biology* 49, 9–14. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.490224>
- Abiodun, O.O., Gbotosho, G.O., Ajaiyeoba, E.O., Happi, C.T., Hofer, S., Wittlin, S., Sowunmi, A., Brun, R., Oduola, A.M.J., 2010. Comparison of SYBR Green I-, PicoGreen-, and [3H]-hypoxanthine-based assays for in vitro antimalarial screening of plants from Nigerian ethnomedicine. *Parasitol. Res.* 106, 933–939. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1743-z>
- Adebayo, E.A., Ishola, O.R., 2009. Phytochemical and antimicrobial screening of crude extracts from the root, stem bark, and leaves of *Terminalia glaucescens*. *African journal of pharmacy and pharmacology* 3, 217–221.
- Adjanohoun, E., M.R.A. Ahyi, J.J. Floret, S. Guinko, M. Koumaré, A. M. R. Ahyi, J. Raynal, 1981. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali., Paris, Agence de Coopération Culturelle et Technique. ed. Paris.
- Adzu, B., Salawu, O.A., 2009. Screening *Diospyros mespiliformis* extract for antimalarial potency. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 3. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v3i2.44513>
- Afzal, M., Khan, R., Kazmi, I., Anwar, F., 2013. Hepatoprotective potential of new steroid against carbon tetrachloride-induced hepatic injury. *Molecular and cellular biochemistry* 378, 275–281.
- Ajibesin, K.K., Ekpo, B.A., Bala, D.N., Essien, E.E., Adesanya, S.A., 2008. Ethnobotanical survey of Akwa Ibom State of Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology* 115, 387–408. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.021>
- Akhter, S., Hossain, M.I., Haque, M.A., Shahriar, M., Bhuiyan, M.A., 2012. Phytochemical screening, antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of the bark extract of *Terminalia arjuna*. *European Journal of Scientific Research* 86, 543–552.
- Amani, V., Boubou, M.I., Pied, S., Marussig, M., Walliker, D., Mazier, D., Rénia, L., 1998. Cloned Lines of *Plasmodium berghei* ANKA Differ in Their Abilities To Induce Experimental Cerebral Malaria. *Infection and Immunity* 66, 4093–4099.
- Anand, A.C., Puri, P., 2005. Jaundice in malaria. *Journal of gastroenterology and hepatology* 20, 1322–1332.
- Ancolio, C., Azas, N., Mahiou, V., Ollivier, E., Di Giorgio, C., Keita, A., Timon-David, P., Balansard, G., 2002. Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome. *Phytotherapy research* 16, 646–649.
- Antonisamy, P., Duraipandiyani, V., Ignacimuthu, S., 2011. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraantha* Lam. in mouse and rat models. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 63, 1070–1077. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01300.x>
- Aouey, B., Samet, A.M., Fetoui, H., Simmonds, M.S., Bouaziz, M., 2016. Anti-oxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of grapevine leaf extract (*Vitis vinifera*) in mice and identification of its active constituents by LC-MS/MS analyses. *Biomedicine & pharmacotherapy= Biomedecine & pharmacotherapie* 84, 1088.
- Arbonnier M, 2009. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d’Afrique de l’ouest, 3e édition. ed. Éd. Quae ; Paris , MNHN, Muséum national d’histoire naturelle, Versailles.
- Asase, A., Oteng-Yeboah, A.A., Odamtten, G.T., Simmonds, M.S.J., 2005. Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.020>
- Attioua, B., Lagnika, L., Yeo, D., Antheaume, C., Kaiser, M., Weniger, B., Lobstein, A., Vonthron-Sénécheau, C., 2011. In vitro antiparasitic and antileishmanial activities of flavonoids from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 11, 1–6.
- Bah, S., Jäger, A.K., Adersen, A., Diallo, D., Paulsen, B.S., 2007. Antiparasitic and GABA(A)-benzodiazepine receptor binding activities of five plants used in traditional medicine in Mali, West Africa. *J Ethnopharmacol* 110, 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.019>

- Banzouzi, J.-T., Prado, R., Menan, H., Valentin, A., Roumestan, C., Mallie, M., Pelissier, Y., Blache, Y., 2002. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 399–401.
- Bapela, M.J., Meyer, J.M., Kaiser, M., 2014. In vitro antiplasmodial screening of ethnopharmacologically selected South African plant species used for the treatment of malaria. *Journal of ethnopharmacology* 156, 370–373.
- Basir, R., Rahiman, S.F., Hasballah, K., Chong, W., Talib, H., Yam, M., Jabbarzare, M., Tie, T., Othman, F., Moklas, M., Abdullah, W., Ahmad, Z., 2012. Plasmodium berghei ANKA Infection in ICR Mice as a Model of Cerebral Malaria. *Iranian Journal of Parasitology* 7, 62–74.
- Batawila, K., Kokou, K., Koumaglo, K., Gbéassor, M., de Foucault, B., Bouchet, P., Akpagana, K., 2005. Antifungal activities of five Combretaceae used in Togolese traditional medicine. *Fitoterapia* 76, 264–268. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.12.007>
- Bero, J., Ganfon, H., Jonville, M.-C., Frédéricich, M., Gbaguidi, F., DeMol, P., Moudachirou, M., Quetin-Leclercq, J., 2009. In vitro antiplasmodial activity of plants used in Benin in traditional medicine to treat malaria. *Journal of Ethnopharmacology* 122, 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.004>
- Biswas, M., Biswas, K., Karan, T.K., Bhattacharya, S., Ghosh, A.K., Haldar, P.K., 2011. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of *Terminalia arjuna* leaf. *Journal of Phytology* 3.
- Boyom, F.F., Fokou, P.V.T., Yamthe, L.R.T., Mfopa, A.N., Kemgne, E.M., Mbacham, W.F., Tsamo, E., Zollo, P.H.A., Gut, J., Rosenthal, P.J., 2011. Potent antiplasmodial extracts from Cameroonian Annonaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 134, 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.01.020>
- Builders, M., Alemika, T., Aguiyi, J., 2014. Antimalarial Activity and Isolation of Phenolic Compound from *Parkia biglobosa*. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 9, 78–85.
- Cellule de Planification et de Statistiques (CPS/SSDSPF), 2013. Enquête Démographique et de Santé (EDSM-V), Mali.
- Chanda, S., 2014. Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2.
- Chassagne François, 2017. Cancer du foie au Cambodge : état des lieux épidémiologiques ; description des médecines traditionnelles utilisées et évaluation de quelques espèces médicinales sélectionnées. Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Chenniappan, K., Kadarkarai, M., 2010. In vitro antimalarial activity of traditionally used Western Ghats plants from India and their interactions with chloroquine against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Research* 107, 1351–1364. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2005-9>
- Chervin, J., Perio, P., Martins-Froment, N., Pharkeovilay, C., Reybier, K., Nepveu, F., Fabre, N., Talou, T., Bonzon-Ponnet, V., Marti, G., 2017. Dereplication of natural products from complex extracts by regression analysis and molecular networking: case study of redox-active compounds from *Viola alba* subsp. *dehnhardtii*. *Metabolomics* 13, 96.
- Chianese, G., Yerbanga, S.R., Lucantoni, L., Habluetzel, A., Basilico, N., Taramelli, D., Fattorusso, E., Tagliatalata-Scafati, O., 2010. Antiplasmodial Triterpenoids from the Fruits of *Neem*, *Azadirachta indica*. *J. Nat. Prod.* 73, 1448–1452. <https://doi.org/10.1021/np100325q>
- Christian, A.G., Ahunna, A.G., Nwakaego, E.M., Chimsorom, C.K., Chile, A.E., 2015. Antimalarial potential of the ethanolic leaf extract of *Pseudocedra kotschyi*. *Journal of Acute Disease* 4, 23–27. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(14\)60077-9](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(14)60077-9)
- Clawson, G.A., 1989. Mechanisms of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathology and immunopathology Research* 8, 104–112.
- Combes, V., Coltel, N., Faille, D., Wassmer, S.C., Grau, G.E., 2006. Cerebral malaria: role of microparticles and platelets in alterations of the blood–brain barrier. *International Journal for Parasitology* 36, 541–546. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.02.005>

- Deharo, E., Bourdy, G., Quenevo, C., Munoz, V., Ruiz, G., Sauvain, M., 2001. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *Journal of Ethnopharmacology* 77, 91–98.
- Diallo S, Dussart T, 2008. L'importance de la médecine traditionnelle au Mali. *Santé Décision Management* 11, 57–64. <https://doi.org/doi:10.3166/sdm.11.1-2.57-64>
- Diallo, D., Diakité, C., Mounkoro, P.P., Sangaré, D., Graz, B., Falquet, J., Giani, S., 2007. La prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de sante de Kendie (Bandiagara) et de Finkolo (Sikasso) au Mali. *Mali Medical* 12, 1–8.
- Diarra, N., van't Klooster, C., Togola, A., Diallo, D., Willcox, M., de Jong, J., 2015. Ethnobotanical study of plants used against malaria in Sélingué subdistrict, Mali. *Journal of ethnopharmacology* 166, 352–360. [nerg](https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.010)
- Diniz, M.A., Silva, O., Paulo, M.A., Gomes, E.T., 1996. Medicinal uses of plants from Guinea-Bissau, in: van der Maesen, L.J.G., van der Burgt, X.M., van Medenbach de Rooy, J.M. (Eds.), *The Biodiversity of African Plants: Proceedings XIVth AETFAT Congress 22–27 August 1994*, Wageningen, The Netherlands. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 727–731. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0285-5_90
- Direction des Ressources Humaines Secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille, 2017. *Annuaire-statistique 2017 des Ressources Humaines du secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille. Mali.*
- Drabo, K., Tarnagda, Z., Zeba, A., Seri, L., Ouedraogo, J., Kabore, I., Rouamba, J., Guiguemde, T., 2004. Représentations et pratiques en matière de paludisme chez les personnes en charge des enfants de moins 5 ans en milieu rural de la province du Houet. *Sciences et techniques, Sciences de la santé* 27.
- Dzoyem, J.P., Kuete, V., McGaw, L.J., Eloff, J.N., 2014. The 15-lipoxygenase inhibitory, antioxidant, antimycobacterial activity and cytotoxicity of fourteen ethnomedicinally used African spices and culinary herbs. *Journal of ethnopharmacology* 156, 1–8.
- Ettebong, E.O., Edwin, U.P., Edet, E.C., Samuel, E.U., Ezekiel, A.O., Dornu, T.V., 2014. In vivo antiplasmodial activities of *Nauclea latifolia*. *Asian Journal of Medical Sciences (ISSN 2091-0576)* 6, 6–11. <https://doi.org/10.3126/ajms.v6i3.11361>
- Etuk, E.U., Ugwah, M.O., Ajagbonna, O.P., Onyeyili, P.A., 2009. Ethnobotanical survey and preliminary evaluation of medicinal plants with antiarrhoea properties in Sokoto state, Nigeria. *J. Med. Plants Res* 3, 763–766.
- Fahmy, N.M., Al-Sayed, E., Abdel-Daim, M.M., Singab, A.N., 2017. Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of *Terminalia Muelleri Benth.* (Combretaceae). *Drug Development Research* 78, 146–154. <https://doi.org/10.1002/ddr.21385>
- Fiot, J., Sanon, S., Azas, N., Mahiou, V., Jansen, O., Angenot, L., Balansard, G., Ollivier, E., 2006. Phytochemical and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera senegalensis* JF Gmel (Combretaceae). *Journal of ethnopharmacology* 106, 173–178.
- Francois, G., Timperman, G., Eling, W., Assi, L.A., Holenz, J., Bringmann, G., 1997. Naphthylisoquinoline alkaloids against malaria: evaluation of the curative potentials of dioncophylline C and dioncopeltine A against *Plasmodium berghei* in vivo. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 41, 2533–2539.
- Gansané, A., Sanon, S., Ouattara, L.P., Traoré, A., Hutter, S., Ollivier, E., Azas, N., Traore, A.S., Guissou, I.P., Sirima, S.B., Nebié, I., 2009. Antiplasmodial activity and toxicity of crude extracts from alternatives parts of plants widely used for the treatment of malaria in Burkina Faso: contribution for their preservation. *Parasitology Research* 106, 335–340. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1663-y>
- Gao, J., Tang, X., Dou, H., Fan, Y., Zhao, X., Xu, Q., 2004a. Hepatoprotective activity of *Terminalia catappa* L. leaves and its two triterpenoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56, 1449–1455. <https://doi.org/10.1211/0022357044733>

- Gasquet, M., Delmas, F., Timon-David, P., Keita, A., Guindo, M., Koita, N., Diallo, D., Doumbo, O., 1993. Evaluation in vitro and in vivo of a traditional antimalarial, "Malarial 5." FITOTERAPIA-MILANO- 64, 423–423.
- Girish, C., Pradhan, S.C., 2012. Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon-tetrachloride-induced liver toxicity in mice. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* 3, 149.
- Graz, B., Willcox, M.L., Diakite, C., Falquet, J., Dackuo, F., Sidibe, O., Giani, S., Diallo, D., 2010. Argemone mexicana decoction versus artesunate-amodiaquine for the management of malaria in Mali: policy and public-health implications. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104, 33–41.
- Grønhaug, T.E., Glaeserud, S., Skogsrud, M., Ballo, N., Bah, S., Diallo, D., Paulsen, B.S., 2008. Ethnopharmacological survey of six medicinal plants from Mali, West-Africa. *J Ethnobiol Ethnomed* 4, 26. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-4-26>
- Guedje, N.M., Tadjouteu, F., Dongmo, R.F., 2013. MEDECINE TRADITIONNELLE AFRICAINE (MTR) ET PHYTOMEDICAMENTS: DEFIS ET STRATEGIES DE DEVELOPPEMENT. *HEALTH SCIENCES AND DISEASES*; Vol 13, No 3 (2012): HEALTH SCIENCES AND DISEASE.
- Guillemin, J.A., Perrottet, G.S., Richard, A., 1830. *Florae senegambiae tentamen*.
- Haïdara Mahamane, 2013. Caractérisation sur un modèle cellulaire d'hépatocarcinome humain de l'effet cytotoxique des extraits de *Entada africana* Guill et Perr., *Erythrina senegalensis* DC. et *Securidaca longipedunculata* Fresen utilisés en médecine traditionnelle au Mali. Toulouse.
- Hofmann Sarah, Buser Andreas, Taegtmeyer Anne, 2016. Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase. *SWISS MEDICAL FORUM – FORUM MÉDICAL SUISSE* 16, 241–244. <https://doi.org/https://doi.emh.ch/10.4414/fms.2016.02584>
- Howland, S.W., Poh, C.M., Rénia, L., 2015. Activated Brain Endothelial Cells Cross-Present Malaria Antigen. *PLOS Pathogens* 11, e1004963. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004963>
- Hutchinson J, Dalziel JM, 1954. *Flora of West Tropical Africa* 1.
- Idro, R., Marsh, K., John, C.C., Newton, C.R.J., 2010. Cerebral Malaria: Mechanisms of Brain Injury and Strategies for Improved Neurocognitive Outcome. *Pediatric Research* 68, 267.
- Inngjerdingen, K., Nergård, C.S., Diallo, D., Mounkoro, P.P., Paulsen, B.S., 2004. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Journal of ethnopharmacology* 92, 233–244.
- Institut National de la Statistique (INSTAT), 2015. ANNUAIRE STATISTIQUE DU MALI 2014. Mali.
- Isah, M.B., Ibrahim, M.A., 2014. The role of antioxidants treatment on the pathogenesis of malarial infections: a review. *Parasitology Research* 113, 801–809. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3804-1>
- Iyamah, P.C., Idu, M., 2015. Ethnomedicinal survey of plants used in the treatment of malaria in Southern Nigeria. *J Ethnopharmacol* 173, 287–302. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.008>
- Jadon, A., Bhadauria, M., Shukla, S., 2007a. Protective effect of *Terminalia bellerica* Roxb. and gallic acid against carbon tetrachloride induced damage in albino rats. *Journal of ethnopharmacology* 109, 214–218.
- Jain, N.K., Kulkarni, S.K., Singh, A., 2001. Role of cysteinyl leukotrienes in nociceptive and inflammatory conditions in experimental animals. *European journal of pharmacology* 423, 85–92.
- Kaou, A.M., Mahiou-Leddet, V., Hutter, S., Aïnouddine, S., Hassani, S., Yahaya, I., Azas, N., Ollivier, E., 2008. Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.001>
- Karou, S.D., Tchacondo, T., Tchibozo, M.A.D., Anani, K., Ouattara, L., Simporé, J., de Souza, C., 2012. Screening Togolese medicinal plants for few pharmacological properties. *Pharmacognosy Research* 4, 116–122. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.94737>
- Kerharo, J. & J. G. Adam., 1974. *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques.*, Vigot Frères, ed. Paris.
- Kinoshita, S., Inoue, Y., Nakama, S., Ichiba, T., Aniya, Y., 2007. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb,

- Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin. *Phytomedicine* 14, 755–762. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.12.012>
- Knight, D., Peters, W., 1980. The antimalarial activity of N-benzyloxydihydrotriazines: I. The activity of clociguanil (BRL 50216) against rodent malaria, and studies on its mode of action. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 74, 393–404.
- Koudouvo, K., Karou, D.S., Kokou, K., Essien, K., Aklikokou, K., Glitho, I.A., Simporé, J., Sanogo, R., De Souza, C., Gbeassor, M., 2011b. An ethnobotanical study of antimalarial plants in Togo Maritime Region. *J Ethnopharmacol* 134, 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.12.011>
- Koudouvo, K., Karou, S.D., Ilboudo, D.P., Kokou, K., Essien, K., Aklikokou, K., de Souza, C., Simporé, J., Gbéassor, M., février 2011a. In vitro antiplasmodial activity of crude extracts from Togolese medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4, 129–132. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60052-7](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60052-7)
- Kubmarawa, D., Ajoku, G.A., Enwerem, N.M., Okorie, D.A., 2007. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of 50 medicinal plants from Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 6.
- Kumar, C., Kumar, R., Nehar, S., 2013. Phytochemical properties, total antioxidant status of acetone and methanol extract of *Terminalia arjuna* Roxb. bark and its hypoglycemic effect on Type-II diabetic albino rats. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2.
- Lamb AFA, Ntima OO, 1971. *Terminalia ivorensis*. Commonwealth Forestry Institute. Department of Forestry. University of Oxford.
- Lamien-Meda, A., Kiendrebeogo, M., Compaoré, M., Meda, R.N.T., Bacher, M., Koenig, K., Pacher, T., Fuehrer, H.-P., Noedl, H., Willcox, M., Novak, J., 2015. Quality assessment and antiplasmodial activity of West African *Cochlospermum* species. *Phytochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.09.006>
- Loux, J.J., Depalma, P.D., Yankell, S.L., 1972. Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicology and applied pharmacology* 22, 672–675.
- Madara, A.A., Ajayi, J.A., Salawu, O.A., Tijani, A.Y., 2010. Anti-malarial activity of ethanolic leaf extract of *Piliostigma thonningii* Schum. (Caesalpinaceae) in mice infected with *Plasmodium berghei berghei*. *African Journal of Biotechnology* 9, 3475–3480. <https://doi.org/10.5897/AJB2010.000-3204>
- Mahlo, S.M., McGaw, L., Eloff, J., 2013. Antifungal activity and cytotoxicity of isolated compounds from leaves of *Breonadia salicina*. *Journal of ethnopharmacology* 148, 909–913.
- Malgras D, 1992. Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes., KARTHALA et ACCT. ed, Economie et développement. 22-24 Boulevard Arago, 75013 Paris.
- Martins, Y.C., Smith, M.J., Pelajo-Machado, M., Werneck, G.L., Lenzi, H.L., Daniel-Ribeiro, C.T., Carvalho, L.J. de M., 2009. Characterization of cerebral malaria in the outbred Swiss Webster mouse infected by *Plasmodium berghei* ANKA. *International Journal of Experimental Pathology* 90, 119–130. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2008.00622.x>
- Mbiri, J.W., 2014. Evaluation of the antinociceptive, antipyretic and anti-inflammatory properties of methanolic bark extracts of *Terminalia brownii* in wistar rats.
- Médecins sans frontières, 2008. Améliorer l'accès aux traitements efficaces contre le paludisme au Mali.
- Melariri, P., Campbell, W., Etusim, P., Smith, P., 2011. Antiplasmodial properties and bioassay-guided fractionation of ethyl acetate extracts from *Carica papaya* leaves. *Journal of parasitology research* 2011, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2011/104954>
- Mesfin, A., Giday, M., Animut, A., Teklehaymanot, T., 2012. Ethnobotanical study of antimalarial plants in Shinile District, Somali Region, Ethiopia, and in vivo evaluation of selected ones against *Plasmodium berghei*. *Journal of Ethnopharmacology* 139, 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.006>

- Mesia, G., Tona, G., Nanga, T., Cimanga, R., Apers, S., Cos, P., Maes, L., Pieters, L., Vlietinck, A., 2008. Antiprotozoal and cytotoxic screening of 45 plant extracts from Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology* 115, 409–415.
- Messi, A.N., Ngo Mbing, J., Ndongo, J.T., Nyegue, M.A., Tchinda, A.T., Yemeda, F.L., Frédéric, M., Pegnyemb, D.E., 2016. Phenolic compounds from the roots of *Ochna schweinfurthiana* and their antioxidant and antiplasmodial activities. *Phytochemistry Letters* 17, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.07.011>
- Mirioni, H., 1965. Etude Anatomique de Quelques Bois Tertiaires de Colombie. *BOLETÍN DE GEOLOGÍA*.
- Muganza, D.M., Fruth, B., Lami, J.N., Mesia, G., Kambu, O., Tona, G., Kanyanga, R.C., Cos, P., Maes, L., Apers, S., 2012. In vitro antiprotozoal and cytotoxic activity of 33 ethnopharmacologically selected medicinal plants from Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology* 141, 301–308.
- Muhammad, A., Mudi, Y., 2011. Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Terminalia catappa*, leaf extracts. *Biokemistri* 23.
- Musila, M.F., Dossaji, S.F., Nguta, J.M., Lukhoba, C.W., Munyao, J.M., 2013. In vivo antimalarial activity, toxicity and phytochemical screening of selected antimalarial plants. *Journal of Ethnopharmacology* 146, 557–561. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.01.023>
- Muthaura, C., Keriko, J., Mutai, C., Yenesew, A., Gathirwa, J., Irungu, B., Nyangacha, R., Mungai, G., Dereese, S., 2015a. Antiplasmodial potential of traditional antimalarial phytotherapy remedies used by the Kwale community of the Kenyan Coast. *Journal of ethnopharmacology* 170, 148–157.
- Muthaura, C., Keriko, J., Mutai, C., Yenesew, A., Gathirwa, J., Irungu, B., Nyangacha, R., Mungai, G., Dereese, S., 2015b. Antiplasmodial potential of traditional phytotherapy of some remedies used in treatment of malaria in Meru–Tharaka Nithi County of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* 175, 315–323.
- Muthaura, C., Rukunga, G., Chhabra, S., Mungai, G., Njagi, E., 2007. Traditional antimalarial phytotherapy remedies used by the Kwale community of the Kenyan Coast. *Journal of ethnopharmacology* 114, 377–386.
- N’Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., Aké-Assi, L., 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). *Sciences & Nature* 6.
- Nadembega, P., Boussim, J.I., Nikiema, J.B., Poli, F., Antognoni, F., 2011b. Medicinal plants in Baskoure, Kourittenga Province, Burkina Faso: an ethnobotanical study. *J Ethnopharmacol* 133, 378–395. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.010>
- Nassirou, R.S., Ibrahim, M.L., Ilagouma, A.T., Mahamadou, A., Mamoudou, M., Abdoulaye, A., Oukem-Boyer, O.O.M., Ikhiri, K., 2015. Évaluation in vitro de l’activité antiplasmodiale d’extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger. *Journal of Applied Biosciences* 89, 8291–8300.
- Neelavathi, P., Venkatalakshmi, P., Brindha, P., 2013. Antibacterial activities of aqueous and ethanolic extracts of *Terminalia catappa* leaves and bark against some pathogenic bacteria. *International journal of Pharmacy and pharmaceutical sciences* 5, 114–120.
- Nergard, C.S., Ho, T.P., Diallo, D., Ballo, N., Paulsen, B.S., Nordeng, H., 2015. Attitudes and use of medicinal plants during pregnancy among women at health care centers in three regions of Mali, West-Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 11, 73. <https://doi.org/10.1186/s13002-015-0057-8>
- Nguta, J.M., Mbaria, J.M., 2013. Brine shrimp toxicity and antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Msambweni district of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* 148, 988–992. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.05.053>
- Nordeng, H., Al-Zayadi, W., Diallo, D., Ballo, N., Paulsen, B.S., 2013. Traditional medicine practitioners’ knowledge and views on treatment of pregnant women in three regions of Mali. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine* 9, 67. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-67>

- Ojewole, J.A., 2008. Analgesic and antiinflammatory effects of mollic acid glucoside, a 1α -hydroxycycloartenoid saponin extractive from *Combretum molle* R. Br. ex G. Don (Combretaceae) leaf. *Phytotherapy research* 22, 30–35.
- Okokon, J., Davis, K.A., Azare, B.A., 2015. Antipyretic and antimalarial activities of *Solenostemon monostachyus*. *Pharmaceutical biology* 1–6. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1070880>
- Okpekon, T., Yolou, S., Gleye, C., Roblot, F., Loiseau, P., Bories, C., Grellier, P., Frappier, F., Laurens, A., Hocquemiller, R., 2004. Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *Journal of Ethnopharmacology* 90, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.029>
- Oluwayemi IO, Brown BJ, Oyedeji OA, Oluwayem MA, 2013. Neurological sequelae in survivors of cerebral malaria. *Pan African Medical Journal* 88, 1–9. <https://doi.org/doi:10.11604/pamj.2013.15.88.1897>
- Omonkhua, A., Cyril-Olutayo, M., Akanbi, O., Adebayo, O., 2013. Antimalarial, hematological, and antioxidant effects of methanolic extract of *Terminalia avicennioides* in *Plasmodium berghei*-infected mice. *Parasitol Res* 112, 3497–3503. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3530-0>
- Ondo, J., Lekana-Douki, J., Bongui, J., Zang Edou, E., Zatra, R., Toure-Ndouo, F., Elomri, A., Lebibi, J., Seguin, E., 2012. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts and fractions of *Vitex madiensis*, medicinal plant of Gabon. *Tropical Medicine & International Health* 17, 316–321.
- Organisation de Coopération pour le Développement Economique (OCDE), 2001. LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë
- Organisation mondiale de la Santé (OMS), 2013. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023.
- Organisation mondiale de la Santé (OMS), 2014. Prise en charge du paludisme. Guide du participant.
- Organisation mondiale de la Santé (OMS), 2016. Ressources humaines pour la santé : stratégie mondiale à l'horizon 2030.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), A., 2003. Médecine traditionnelle: Rapport du Secrétariat.
- Ouattara, L.P., Sanon, S., Mahiou-Leddet, V., Gansané, A., Baghdikian, B., Traoré, A., Nèbié, I., Traoré, A.S., Azas, N., Ollivier, E., others, 2014. In vitro antiplasmodial activity of some medicinal plants of Burkina Faso. *Parasitology research* 113, 405–416. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3669-8>
- Paloque, L., Ramadani, A.P., Mercereau-Puijalon, O., Augereau, J.-M., Benoit-Vical, F., 2016. *Plasmodium falciparum*: multifaceted resistance to artemisinins. *Malaria Journal* 15, 149. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1206-9>
- Pham, A.T., Dvergnes, C., Togola, A., Wangenstein, H., Diallo, D., Paulsen, B.S., Malterud, K.E., 2011a. *Terminalia macroptera*, its current medicinal use and future perspectives. *Journal of Ethnopharmacology* 137, 1486–1491. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.08.029>
- Pharmacopée Européenne, 3ème édition. ed, 1997.
- Pickup, J.C., 2004. Inflammation and Activated Innate Immunity in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 27, 813. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.3.813>
- Pinmai, K., Hiriotte, W., Soonthornchareonnon, N., Jongsakul, K., Sireeratawong, S., Tor-Udom, S., 2011. In vitro and in vivo antiplasmodial activity and cytotoxicity of water extracts of *Phyllanthus emblica*, *Terminalia chebula*, and *Terminalia bellerica*. *Journal of the Medical Association of Thailand* 93, 120.
- Ponou, B.K., Barboni, L., Teponno, R.B., Mbiancha, M., Nguéléfack, T.B., Park, H.-J., Lee, K.-T., Tapondjou, L.A., 2008. Polyhydroxyoleanane-type triterpenoids from *Combretum molle* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry Letters* 1, 183–187. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2008.09.002>
- Pousset JL, 2006. PLACE DES MÉDICAMENTS TRADITIONNELS EN AFRIQUE. *Politiques Nationales. Méd. Trop*, 606–609.
- Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N., 2008. Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia* 79, 598–601. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007>
- Programme National de lutte contre le Paludisme (PNLP), 2013. PLAN STRATEGIQUE DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME 2013-2017. Mali.
- Programme National de lutte contre le Paludisme (PNLP), 2016. DIRECTIVES NATIONALES POUR LA PRISE EN

CHARGE DES CAS DE PALUDISME AU MALI.

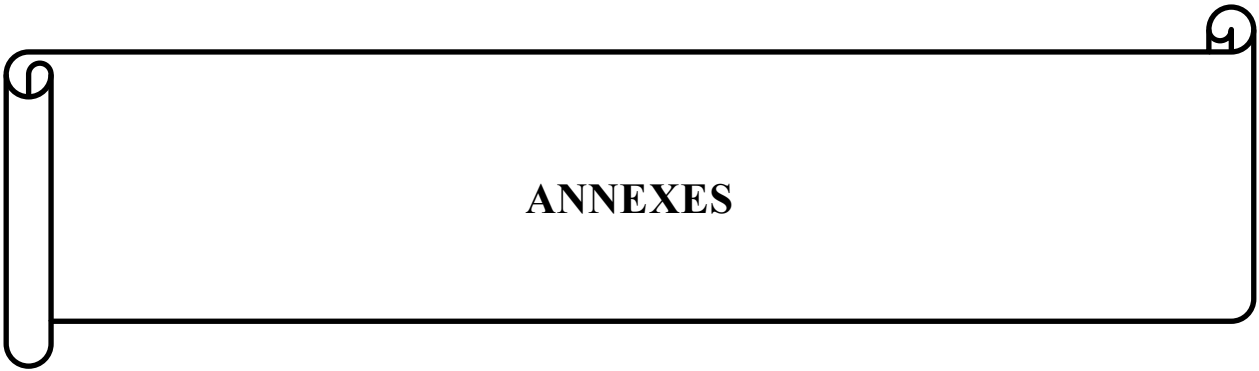
- Reddy, M.K., Gupta, S.K., Jacob, M.R., Khan, S.I., Ferreira, D., 2007. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta medica* 53, 461–467.
- Ribeiro, R.A., Vale, M.L., Thomazzi, S.M., Paschoalato, A.B., Poole, S., Ferreira, S.H., Cunha, F.Q., 2000. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *European Journal of Pharmacology* 387, 111–118. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00790-6](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00790-6)
- Roche, S.P., Kobos, R., 2004. Jaundice in the adult patient. *American family physician* 69, 299–308.
- Rogério, A.P., Fontanari, C., Melo, M.C.C., Ambrosio, S.R., de Souza, G.E.P., Pereira, P.S., França, S.C., da Costa, F.B., Albuquerque, D.A., Faccioli, L.H., 2006b. Anti-inflammatory, analgesic and anti-oedematous effects of *Lafoensia pacari* extract and ellagic acid. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 58, 1265–1273. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.9.0014>
- Rogers, W.O., Sem, R., Tero, T., Chim, P., Lim, P., Muth, S., Socheat, D., Arie, F., Wongsrichanalai, C., 2009. Failure of artesunate-mefloquine combination therapy for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in southern Cambodia. *Malaria journal* 8, 10.
- Roy, R., Singh, R.K., Jash, S.K., Sarkar, A., Gorai, D., 2014. *Combretum quadrangulare* (Combretaceae): Phytochemical Constituents and Biological activity. *Indo American J. Pharm. Res* 4, 3416–3430.
- Sangaré, D., 2003. Etude de la prise en charge du paludisme par les thérapeutes traditionnels dans les aires de santé de Kendie (Bandiagara) et de Finkolo (Sikasso). Thèse de Pharmacie, Université de Bamako, Mali.
- Sanogo, R., Germanò, M.P., D'Angelo, V., Guglielmo, M., De Pasquale, R., 1998. Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytotherapy Research* 12, S157–S159. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(1998\)12:1+3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(1998)12:1+3.0.CO;2-H)
- Sanon, S., Gansane, A., Ouattara, L.P., Traore, A., Ouedraogo, I.N., Tiono, A., Taramelli, D., Basilico, N., Sirima, S.B., 2013. In vitro antiplasmodial and cytotoxic properties of some medicinal plants from western Burkina Faso. *African Journal of Laboratory Medicine* 2, 7 pages. <https://doi.org/10.4102/ajlm.v2i1.81>
- Sanon, S., Ollivier, E., Azas, N., Mahiou, V., Gasquet, M., Ouattara, C., Nebie, I., Traore, A., Esposito, F., Balansard, G., Timon-David, P., Fumoux, F., 2003. Ethnobotanical survey and in vitro antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology* 86, 143–147. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00381-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00381-1)
- Sasmal, S., Majumdar, S., Gupta, M., Mukherjee, A., Mukherjee, P.K., 2012. Pharmacognostical, phytochemical and pharmacological evaluation for the antipyretic effect of the seeds of *Saraca asoca* Roxb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 2, 782–786.
- Serge, K.B., Serges, O.-A.A., Armel, M.N., Francis, F., Alfred, T., 2012. In vitro antiplasmodial activity of seven plants commonly used against malaria in Burkina Faso. *Journal of Medicinal Plants Research* 6, 2284–2288.
- Sharma, U.S., Sharma, U.K., Singh, A., 2010. Screening of *Terminalia bellirica* fruits extracts for its analgesic and antipyretic activities. *Jordan Journal of Biological Sciences* 3, 121–124.
- Shuaibu, M.N., Wuyep, P.A., Yanagi, T., Hirayama, K., Tanaka, T., Kouno, I., 2008. The use of microfluorometric method for activity-guided isolation of antiplasmodial compound from plant extracts. *Parasitology research* 102, 1119–1127.
- Siegmund, E., Cadmus, R., Lu, G., 1957. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Experimental Biology and Medicine* 95, 729–731.
- Silva, O., Barbosa, S., Diniz, A., Valdeira, M., Gomes, E., 1997a. Plant extracts antiviral activity against Herpes simplex virus type 1 and African swine fever virus. *International Journal of Pharmacognosy* 35, 12–16.
- Silva, O., Duarte, A., Cabrita, J., Pimentel, M., Diniz, A., Gomes, E., 1996. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 50, 55–59. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(95\)01323-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(95)01323-7)
- Silva, O., Duarte, A., Pimentel, M., Viegas, S., Barroso, H., Machado, J., Pires, I., Cabrita, J., Gomes, E., 1997b.

- Antimicrobial activity of *Terminalia macroptera* root. *Journal of Ethnopharmacology* 57, 203–207. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00068-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00068-8)
- Silva, O., Ferreira, E., Vaz Pato, M., Caniça, M., Gomes, E.T., 2002. In vitro anti-*Neisseria gonorrhoeae* activity of *Terminalia macroptera* leaves. *FEMS Microbiology Letters* 211, 203–206. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)00674-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)00674-2)
- Silva, O., Gomes, E.T., Wolfender, J.-L., Marston, A., Hostettmann, K., 2000. Application of High Performance Liquid Chromatography Coupled with Ultraviolet Spectroscopy and Electrospray Mass Spectrometry to the Characterisation of Ellagitannins From *Terminalia Macroptera* Roots. *Pharmaceutical Research* 17, 1396–1401. <https://doi.org/10.1023/A:1007598922712>
- Silva, O., Viegas, S., de Mello-Sampayo, C., Costa, M.J.P., Serrano, R., Cabrita, J., Gomes, E.T., 2012. Anti-*Helicobacter pylori* activity of *Terminalia macroptera* root. *Fitoterapia* 83, 872–876. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.03.019>
- Singh, N., Kaushik, N.K., Mohanakrishnan, D., Tiwari, S.K., Sahal, D., 2015. Antiplasmodial activity of medicinal plants from Chhotanagpur plateau, Jharkhand, India. *Journal of Ethnopharmacology* 165, 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.038>
- Smilkstein, M., Sriwilaijaroen, N., Kelly, J.X., Wilairat, P., Riscoe, M., 2004. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 48, 1803–1806.
- Soh, P.N., Benoit-Vical, F., 2007. Are West African plants a source of future antimalarial drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 114, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.012>
- Soh, P.N., Witkowski, B., Oagnier, D., Nicolau, M.-L., Garcia-Alvarez, M.-C., Berry, A., Benoit-Vical, F., 2009. In vitro and in vivo properties of ellagic acid in malaria treatment. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 53, 1100–1106.
- Somboro, A.A., Patel, K., Diallo, D., Sidibe, L., Chalchat, J.C., Figueredo, G., Ducki, S., Troin, Y., Chalard, P., 2011a. An ethnobotanical and phytochemical study of the African medicinal plant *Guiera senegalensis* JF Gmel. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 1639–1651.
- Tagne, R.S., Telefo, B.P., Nyemb, J.N., Yemele, D.M., Njina, S.N., Goka, S.M.C., Lienou, L.L., Kamdje, A.H.N., Moundipa, P.F., Farooq, A.D., 2014. Anticancer and antioxidant activities of methanol extracts and fractions of some Cameroonian medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 7, Supplement 1, S442–S447. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60272-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60272-8)
- Tilney, P.M., 2002. A contribution to the leaf and young stem anatomy of the Combretaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138, 163–196.
- Tirkey, N., Pilkhwal, S., Kuhad, A., Chopra, K., 2005. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacology* 5, 2. <https://doi.org/10.1186/1471-2210-5-2>
- Togola, A., Austerheim, I., Theis, A., Diallo, D., Paulsen, B., 2008. Ethnopharmacological uses of *Erythrina senegalensis*: a comparison of three areas in Mali, and a link between traditional knowledge and modern biological science. *J Ethnobiology Ethnomedicine* 4, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-4-6>
- Togola, A., Diallo, D., Dembélé, S., Barsett, H., Paulsen, B.S., 2005. Ethnopharmacological survey of different uses of seven medicinal plants from Mali, (West Africa) in the regions Doila, Kolokani and Siby. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1, 7. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-1-7>
- Trager, W., Jensen, J.B., 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193, 673–675.
- Traoré Malick, n.d. Le Recours à la Pharmacopée Traditionnelle Africaine dans le Nouveau Millénaire : << Cas des Femmes Herboristes de Bamako >>.
- Traore, M.S., Baldé, M.A., Diallo, M.S.T., Baldé, E.S., Diané, S., Camara, A., Diallo, A., Balde, A., Keita, A., Keita, S.M., Oularé, K., Magassouba, F.B., Diakitè, I., Diallo, A., Pieters, L., Baldé, A.M., 2013. Ethnobotanical survey on medicinal plants used by Guinean traditional healers in the treatment of malaria. *J Ethnopharmacol* 150, 1145–

1153. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.048>
- Traore, M.S., Diane, S., Diallo, M.S.T., Balde, E.S., Balde, M.A., Camara, A., Diallo, A., Keita, A., Cos, P., Maes, L., 2014. In vitro antiprotozoal and cytotoxic activity of ethnopharmacologically selected Guinean plants. *Planta Med* 80, 1–5.
- Tsugawa, H., Cajka, T., Kind, T., Ma, Y., Higgins, B., Ikeda, K., Kanazawa, M., VanderGheynst, J., Fiehn, O., Arita, M., 2015. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature methods* 12, 523–526.
- Tsugawa, H., Kind, T., Nakabayashi, R., Yukihira, D., Tanaka, W., Cajka, T., Saito, K., Fiehn, O., Arita, M., 2016. Hydrogen rearrangement rules: computational MS/MS fragmentation and structure elucidation using MS-FINDER software. *Analytical chemistry* 88, 7946–7958.
- Van der Heyde, H.C., Nolan, J., Combes, V., Gramaglia, I., Grau, G.E., 2006. A unified hypothesis for the genesis of cerebral malaria: sequestration, inflammation and hemostasis leading to microcirculatory dysfunction. *Trends in parasitology* 22, 503–508.
- Vane, J.R., Botting, R.M., 1996. Mechanism of Action of Anti-Inflammatory Drugs. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 25, 9–21. <https://doi.org/10.3109/03009749609097226>
- Vane, J.R., Botting, R.M., 1998. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflammation Research* 47, 78–87. <https://doi.org/10.1007/s000110050284>
- Verhoeven, R.L., Van der Schijff, H.P., 1973. A key to the South African Combretaceae based on anatomical characteristics of leaf. *Phytomorphology* 23, 65–74.
- Verotta, L., Dell’Agli, M., Giolito, A., Guerrini, M., Cabalion, P., Bosisio, E., 2001. In vitro antiplasmodial activity of extracts of *Tristaniopsis* species and identification of the active constituents: ellagic acid and 3, 4, 5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O-β-d-glucopyranoside. *Journal of natural products* 64, 603–607.
- Vonthron-Sénécheau, C., Weniger, B., Ouattara, M., Bi, F.T., Kamenan, A., Lobstein, A., Brun, R., Anton, R., 2003. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of ethnobotanically selected Ivorian plants. *Journal of Ethnopharmacology* 87, 221–225. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00144-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00144-2)
- Willcox, M., Sanogo, R., Diakite, C., Giani, S., Paulsen, B.S., Diallo, D., 2012. Improved traditional medicines in Mali. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 18, 212–220.
- Willcox, M.L., Graz, B., Falquet, J., Diakite, C., Giani, S., Diallo, D., 2011. A “reverse pharmacology” approach for developing an anti-malarial phytomedicine. *Malar. J.* 10 Suppl 1, S8. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-S1-S8>
- Willcox, M.L., Graz, B., Falquet, J., Sidibé, O., Forster, M., Diallo, D., 2007. *Argemone mexicana* decoction for the treatment of uncomplicated falciparum malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101, 1190–1198.
- Winter, C.A., Risley, E.A., Nuss, G.W., 1963. Anti-inflammatory and antipyretic activities of indo-methacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. *Journal of pharmacology and Experimental Therapeutics* 141, 369–376.
- World Health Organization (WHO), 2017. World malaria report 2017.
- Yakubu, Y., Adoum, O.A., Wudil, A.M., Ladan, Z., 2015. Toxicity study of ethanol root extract of *Terminalia macroptera* Guill. Perr.(Combretaceae) and assessment of some heavy metals. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* 9, 193–196.
- Yetein, M.H., Houessou, L.G., Lougbégnon, T.O., Teka, O., Tente, B., 2013. Ethnobotanical study of medicinal plants used for the treatment of malaria in plateau of Allada, Benin (West Africa). *Journal of Ethnopharmacology* 146, 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.022>
- Zou, Y.-F., Barsett, H., Ho, G.T.T., Inngjerdigen, K.T., Diallo, D., Michaelsen, T.E., Paulsen, B.S., 2015. Immunomodulating pectins from root bark, stem bark, and leaves of the Malian medicinal tree *Terminalia macroptera*, structure activity relations. *Carbohydrate Research* 403, 167–173.

<https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.05.004>

Zou, Y.-F., Ho, G.T.T., Malterud, K.E., Le, N.H.T., Inngjerdingen, K.T., Barsett, H., Diallo, D., Michaelsen, T.E., Paulsen, B.S., 2014. Enzyme inhibition, antioxidant and immunomodulatory activities, and brine shrimp toxicity of extracts from the root bark, stem bark and leaves of *Terminalia macroptera*. *Journal of Ethnopharmacology* 155, 1219–1226. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.004>



ANNEXES

ANNEXE N°1: MALARIA PLANT DATA BASE COMMUNITY: MpDBc (WEBSITE IN CONSTRUCTION, TO BE LAUNCHED 2018)

I. Introduction

Objectives:

The Malaria Plant Community Database has been designed to register and synthesize published (or soon to be published) information and grey literature (literature outside of commercial or academic publishing) on antimalarial medicinal plants: their traditional use and/or their *in vitro/in vivo* biological activity, and/or toxicity.

MpDBc is therefore a contribution that could serve as a decision-making tool in the search for natural substances with antimalarial activity and/or validation and integration of traditional pharmacopoeia in health care systems.

Malaria Plant Community data is obtained from journals, reviews, reports, books and proceedings from conferences, reporting the use of plants against malaria together with, possibly, their antimalarial evaluation, through *in vivo* and/or *in vitro* tests/clinical tests, published all over the world.

Ethnobotanical publications reporting antimalarial medicinal plants uses are welcomed for inclusion, as well as pharmacological ones dealing with antimalarial activity of plant extracts and of pure compounds isolated from medicinal plants. Only publications reporting plant species with Latin binomial are integrated.

The database is not a substitute for published material, as it displays only relevant data from the publication (considered to be the baseline for result interpretation).

a. What data is found in MpDBc ?

- Complete reference of the publication,
- Country of origin of the research,
- Latin name of the species and family,
- Traditional antimalarial recipe, its mode of preparation and its mode of administration,
- Antimalarial evaluation results (*in vivo*, *in vitro*)
- Toxicity
- Comments from expert compiler.

II. MpDBc background

According to the W.H.O., traditional medicine and medicinal plants are the primary health resource for more than 80% of the world population. Medicinal plants have given and still provide a huge amount of natural substances used to create commercialized drugs, but are also widely used in the form of traditional remedies and/or phytotherapeutic preparations. In the field of malaria, medicinal plants have been used for centuries, as indicated by written pharmacopoeias. As an example, *Artemisia annua* L., a Chinese medicinal herb, is nowadays the source of a first line antimalarial compound, Artemisinin (its discovery led to the attribution of the 2015 Nobel Prize). This plant has been reported for its use against fever in ancient Chinese pharmacopoeias dating from the IVth century. This is also the case of the *Cinchona* tree, discovered in South America centuries ago, which Quinine comes from. In the fight against malaria, medicinal plants still play a highly important role,

as source of commercialized drugs; but also in the form of numerous homemade remedies and/or phytoproducts prepared and sold locally in endemic countries.

Indeed many scientific studies confirm the fact that in areas where manufactured drugs are not available, or too expensive, the first treatment in cases of febrile episodes is medicinal plants. Over 1200 plant species have been described in scientific literature for use in malaria treatment. Moreover, it has been shown that over 75 % of people in endemic areas choose medicinal plants as a first line therapy to treat malaria symptoms.

Recently, strong financial efforts have been invested in the fight against malaria through the implementation of integrated programs resulting in a dramatic decrease in malaria cases and mortality. Unfortunately, this situation is fragile, strongly dependent upon international support. Also, due to the permanent evolution of parasites and vectors (the *Anopheles* mosquito transmitting the parasite) there is a constant need for new drugs. Thus, medicinal plants and traditional antimalarial treatments still continue to be invaluable in the fight against disease.

Publications about antimalarial screening of selected species began in 1947, with the research of Spencer et al. working on a *Plasmodium* bird model *in vivo*, in South America. Then, almost 30 years later, the *in vitro* culture of *P. falciparum* amplified the screening process leading to bioassay-guided fractionation of plant extracts in the search for new antimalarial drugs from natural resources. Many articles now aim to explore the pharmacological relevance of plants and remedies used against malaria.

Currently, in the field of the use and effectiveness evaluation of antimalarial medicinal plants, the difficulty is to retrieve complete information in a synthetic form. As a matter of fact, literature is partly referenced in international databases (such as Pubmed, Science Direct) partially accessible *online*, but also in books, “grey literature”, etc. Scattered information is a hindrance to draw definitive conclusions and make decisions, so the aim of Malaria plant DB community is to fill this gap, by completing as much as possible data about antimalarial plants, their uses and evaluation.

III. Partners and community involved in MpDBc

MpDBc was initially designed by two researchers from the UMR152 Pharmadev UPS -IRD Toulouse (Geneviève Bourdy and Eric Deharo), with the support of the IRD (A. Cheype).

Community involved in the database development (non-exhaustive list):

- Faculté de Pharmacie (FAPH) Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)

Département de Médecine Traditionnelle

Director : Rokia Sanogo PhD. Mahamane Haïdara.

Bamako, Mali

- LMI LAVI: Laboratorio Mixto Internacional Andino Amazonico de Quimica de la Vida. IRD - Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH)

Director : Rosario Rojas, PhD. –Michel Sauvain PhD.

LID, laboratorio de investigacion y de Desarrollo

Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Pérou.

➤ Área Curricular de Farmacia, Facultad de Ciencias, UNAL. Universidad Nacional de Colombia.

Director : Giovanni GARAVITO QF MSc PhD.

Bogotá, Colombia

➤ Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB), Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

Director: Alberto Giménez Turba,

Universidad Mayor de San Andrés (UMSA)

La Paz, Bolivia

➤ Institut Malgache de Recherches Appliquées.

Director:Philippe Rasaonaivo

Antananarivo, Madagascar

➤The Hebrew University of Jerusalem.

Pr. Hagai Ginsburg

Institute of Life Sciences,

Jerusalem, Israel

➤CYTED : Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo.

➤LAWEN : Corporación para la Investigación Multidisciplinaria y el Desarrollo Sustentable de la Flora Chilena.

➤RITAM : Research Initiative for Traditional Antimalarial Methods (Merlin Wilcox et col.)

➤TRAMIL: Traditional Medicine in the Caribbean Islands, (Emmanuel Nossin, Lionel Germosen-Robineau et col.)

ANNEXE N°2 : Les espèces utilisées dans le traitement du paludisme et des affections hépatiques au Mali

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Rubiaceae	<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze	9	64,3
Opiliaceae	<i>Opilia amentacea</i> Roxb.	9	64,3
Combretaceae	<i>Combretum micranthum</i> G. Don	9	64,3
Combretaceae	<i>Guiera senegalensis</i> J. F. Gmel.	8	57,1
Rubiaceae	<i>Sarcocephalus latifolius</i> (Sm.) E.A.Bruce	8	57,1
Leguminosae	<i>Parkia biglobosa</i> (Jacq.) G.Don	7	50,0
Combretaceae	<i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr.	6	42,9
Leguminosae	<i>Cassia sieberiana</i> DC.	6	42,9
Bixaceae	<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A.Rich.	6	42,9
Leguminosae	<i>Erythrina senegalensis</i> DC.	6	42,9
Phyllanthaceae	<i>Flueggea virosa</i> (Roxb. ex Willd.) Royle	6	42,9
Compositae	<i>Gymnanthemum coloratum</i> (Willd.) H. Rob. & B. Kahn	6	42,9
Meliaceae	<i>Khaya senegalensis</i> (Desv.) A.Juss.	6	42,9
Meliaceae	<i>Trichilia emetica</i> Vahl	6	42,9
Olacaceae	<i>Ximenia americana</i> L.	6	42,9
Leguminosae	<i>Entada africana</i> Guill. & Perr	5	35,7
Polygalaceae	<i>Securidaca longipedunculata</i> Fresen.	5	35,7
Combretaceae	<i>Combretum glutinosum</i> Perr. ex DC.	5	35,7
Leguminosae	<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	5	35,7
Leguminosae	<i>Tamarindus indica</i> L.	5	35,7
Papaveraceae	<i>Argemone mexicana</i> L.	4	28,6
Zygophyllaceae	<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile	4	28,6
Leguminosae	<i>Bauhinia reticulata</i> DC.	3	21,4
Leguminosae	<i>Bauhinia thonningii</i> Schum.	4	28,6
Leguminosae	<i>Burkea africana</i> Hook.	4	28,6
Caricaceae	<i>Carica papaya</i> L.	4	28,6
Combretaceae	<i>Combretum molle</i> R.Br. ex G.Don	4	28,6
Boraginaceae	<i>Cordia myxa</i> L.	4	28,6
Ebenaceae	<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. ex A.DC.	4	28,6
Leguminosae	<i>Faidherbia albida</i> (Delile) A.Chev.	4	28,6
Rubiaceae	<i>Feretia apodanthera</i> Delile	4	28,6
Combretaceae	<i>Pteleopsis suberosa</i> Engl. & Diels.	4	28,6
Anacardiaceae	<i>Sclerocarya birrea</i> (A.Rich.) Hochst.	4	28,6
Leguminosae	<i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby	4	28,6
Anacardiaceae	<i>Spondias mombin</i> L.	4	28,6
Combretaceae	<i>Terminalia macroptera</i> Guil. & Perr.	4	28,6
Sapotaceae	<i>Vitellaria paradoxa</i> C.F.Gaertn.	4	28,6
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i> L.	3	21,4
Leguminosae	<i>Bobgunnia madagascariensis</i> (Desv.) J.H.Kirkbr. & Wiersema	3	21,4
Capparaceae	<i>Boscia angustifolia</i> A. Rich.	3	21,4

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Apocynaceae	<i>Calotropis procera</i> (Aiton) Dryand.	3	21,4
Malvaceae	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn.	3	21,4
Malvaceae	<i>Cola cordifolia</i> (Cav.) R.Br.	3	21,4
Leguminosae	<i>Cordyla pinnata</i> (A.Rich.) Milne-Redh.	3	21,4
Rubiaceae	<i>Crossopteryx febrifuga</i> (Afzel. ex G.Don) Benth.	3	21,4
Moraceae	<i>Ficus sycomorus</i> L.	3	21,4
Moraceae	<i>Ficus thonningii</i> Blume	3	21,4
Rubiaceae	<i>Gardenia ternifolia</i> Schumach. & Thonn.	3	21,4
Anacardiaceae	<i>Lannea acida</i> A.Rich	3	21,4
Verbenaceae	<i>Lippia chevalieri</i> Moldenke	3	21,4
Rubiaceae	<i>Pavetta crassipes</i> K.Schum.	3	21,4
Poaceae	<i>Pennisetum pedicellatum</i> Trin.	3	21,4
Leguminosae	<i>Pericopsis laxiflora</i> (Baker) Meeuwen	3	21,4
Meliaceae	<i>Pseudocedrela kotschy</i> (Schweinf.) Harms	3	21,4
Leguminosae	<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir.	3	21,4
Euphorbiaceae	<i>Ricinus communis</i> L.	3	21,4
Malvaceae	<i>Sterculia setigera</i> Delile	3	21,4
Bignoniaceae	<i>Stereospermum kunthianum</i> Cham.	3	21,4
Rutaceae	<i>Vepris heterophylla</i> (Engl.) Letouzey	3	21,4
Lamiaceae	<i>Vitex madiensis</i> subsp. madiensis	3	21,4
Leguminosae	<i>Xeroderris stuhlmannii</i> (Taub.) Mendonca & Sousa	3	21,4
Rhamnaceae	<i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	3	21,4
Leguminosae	<i>Acacia senegal</i> (L.) Willd.	2	14,3
Leguminosae	<i>Acacia seyal</i> Delile	2	14,3
Leguminosae	<i>Acacia tortilis</i> subsp. <i>raddiana</i> (Savi) Brenan	2	14,3
Malvaceae	<i>Adansonia digitata</i> L.	2	14,3
Leguminosae	<i>Azelia africana</i> Pers.	2	14,3
Euphorbiaceae	<i>Alchornea cordifolia</i> (Schum. & Thonn.) Müll. Arg.	2	14,3
Annonaceae	<i>Annona senegalensis</i> Pers.	2	14,3
Gentianaceae	<i>Anthocleista djalonensis</i> A.Chev.	2	14,3
Leguminosae	<i>Bauhinia rufescens</i> Lam.	2	14,3
Oxalidaceae	<i>Biophytum umbraculum</i> Welw.	2	14,3
Sapindaceae	<i>Blighia sapida</i> K.D.Koenig	2	14,3
Malvaceae	<i>Bombax costatum</i> Pellegr. & Vuillet	2	14,3
Phyllanthaceae	<i>Bridelia ferruginea</i> Benth.	2	14,3
Phyllanthaceae	<i>Bridelia micrantha</i> (Hochst.) Baill.	2	14,3
Vitaceae	<i>Cissus quadrangularis</i> L.	2	14,3

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	2	14,3
Bixaceae	<i>Cochlospermum planchonii</i> Hook.f. ex Planch.	2	14,3
Burseraceae	<i>Commiphora africana</i> (A.Rich.) Endl.	2	14,3
Araliaceae	<i>Cussonia arborea</i> Hochst. ex A.Rich.	2	14,3
Poaceae	<i>Cymbopogon giganteus</i> Chiov.	2	14,3
Leguminosae	<i>Daniellia oliveri</i> (Rolfe) Hutch. & Dalziel	2	14,3
Leguminosae	<i>Detarium microcarpum</i> Guill. & Perr.	2	14,3
Leguminosae	<i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight & Arn.	2	14,3
Leguminosae	<i>Entada abyssinica</i> A.Rich.	2	14,3
Moraceae	<i>Ficus dicranostyla</i> Mildbr.	2	14,3
Moraceae	<i>Ficus platyphylla</i> Delile	2	14,3
Rubiaceae	<i>Gardenia aqualla</i> Stapf & Hutch.	2	14,3
Rubiaceae	<i>Gardenia sokotensis</i> Hutch.	2	14,3
Apocynaceae	<i>Holarrhena floribunda</i> (G.Don) T.Durand & Schinz	2	14,3
Phyllanthaceae	<i>Hymenocardia acida</i> Tul.	2	14,3
Euphorbiaceae	<i>Jatropha curcas</i> L.	2	14,3
Apocynaceae	<i>Landolphia heudelotii</i> A.DC.	2	14,3
Ochnaceae	<i>Lophira lanceolata</i> Tiegh. ex Keay	2	14,3
Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	2	14,3
Anacardiaceae	<i>Ozoroa insignis</i> Delile	2	14,3
Sapindaceae	<i>Paullinia pinnata</i> L.	2	14,3
Hypericaceae	<i>Psorospermum febrifugum</i> Spach	2	14,3
Rubiaceae	<i>Psydrax acutiflora</i> (Hiern) Bridson	2	14,3
Simaroubaceae	<i>Quassia undulata</i> (Guill. & Perr.) D.Dietr.	2	14,3
Leguminosae	<i>Senna italica</i> Mill.	2	14,3
Malvaceae	<i>Sida acuta</i> Burm.f.	2	14,3
Loganiaceae	<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	2	14,3
Combretaceae	<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	2	14,3
Menispermaceae	<i>Tinospora bakis</i> (A.Rich.) Miers	2	14,3
Phyllanthaceae	<i>Uapaca togoensis</i> Pax	2	14,3
Malvaceae	<i>Waltheria indica</i> L.	2	14,3
Rutaceae	<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timler	2	14,3
Leguminosae	<i>Acacia gourmaensis</i> A.Chev.	1	7,1
Leguminosae	<i>Acacia hockii</i> De Wild.	1	7,1
Leguminosae	<i>Acacia macrostachya</i> DC.	1	7,1
Leguminosae	<i>Acacia mellifera</i> (M.Vahl) Benth.	1	7,1

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Leguminosae	<i>Acacia polyacantha</i> subsp. <i>campylacantha</i> (A.Rich.) Brenan	1	7,1
Leguminosae	<i>Acacia sieberiana</i> DC.	1	7,1
Compositae	<i>Acanthospermum hispidum</i> DC.	1	7,1
Leguminosae	<i>Albizia glaberrima</i> (Schum. & Thonn.) Benth.	1	7,1
Amaryllidaceae	<i>Allium sativum</i> L.	1	7,1
Gentianaceae	<i>Anthocleista procera</i> Lepr. ex Bureau	1	7,1
Phyllanthaceae	<i>Antidesma venosum</i> E.Mey. ex Tul.	1	7,1
Leguminosae	<i>Arachis hypogaea</i> L.	1	7,1
Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	1	7,1
Poaceae	<i>Bambusa vulgaris</i> Schrad.	1	7,1
Leguminosae	<i>Berlinia grandiflora</i> (Vahl) Hutch. & Dalziel	1	7,1
Arecaceae	<i>Borassus aethiopum</i> Mart.	1	7,1
Capparaceae	<i>Boscia senegalensis</i> Lam.	1	7,1
Burseraceae	<i>Boswellia dalzielii</i> Hutch.	1	7,1
Phyllanthaceae	<i>Bridelia scleroneura</i> Müll.Arg.	1	7,1
Capparaceae	<i>Capparis decidua</i> (Forssk.) Edgew.	1	7,1
Capparaceae	<i>Capparis indica</i> (L.) Druce	1	7,1
Capparaceae	<i>Capparis tomentosa</i> Lam.	1	7,1
Meliaceae	<i>Carapa procera</i> DC.	1	7,1
Leguminosae	<i>Cassia arereh</i> Delile	1	7,1
Lauraceae	<i>Cassytha filiformis</i> L.	1	7,1
Cannabaceae	<i>Celtis toka</i> (Forssk.) Hepper & J.R.I.Wood	1	7,1
Pedaliaceae	<i>Ceratotheca sesamoides</i> Endl.	1	7,1
Poaceae	<i>Chrysopogon nigritanus</i> (Benth.) Veldkamp	1	7,1
Vitaceae	<i>Cissus populnea</i> Guill. & Perr.	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus aurantiaca</i> Swingle	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr.	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	1	7,1
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	1	7,1
Rutaceae	<i>Clausena anisata</i> (Willd.) Hook.f. ex Benth.	1	7,1
Menispermaceae	<i>Cocculus pendulus</i> (J.R.Forst. & G.Forst.) Diels	1	7,1
Combretaceae	<i>Combretum aculeatum</i> Vent.	1	7,1
Combretaceae	<i>Combretum adenogonium</i> Steud. ex A.Rich.	1	7,1
Combretaceae	<i>Combretum collinum</i> Fresen.	1	7,1
Combretaceae	<i>Combretum lecardii</i> Engl. & Diels	1	7,1
Combretaceae	<i>Combretum nigricans</i> Lepr. ex Guill. & Perr.	1	7,1
Boraginaceae	<i>Cordia sinensis</i> Lam.	1	7,1
Costaceae	<i>Costus spectabilis</i> (Fenzl) K.Schum.	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Croton gratissimus</i> Burch.	1	7,1

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Euphorbiaceae	<i>Croton macrostachyus</i> Hochst. ex Delile	1	7,1
Cyperaceae	<i>Cyperus esculentus</i> L.	1	7,1
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	1	7,1
Leguminosae	<i>Dalbergia boehmii</i> Taub.	1	7,1
Leguminosae	<i>Dalbergia melanoxylon</i> Guill. & Perr.	1	7,1
Leguminosae	<i>Delonix regia</i> (Hook.) Raf.	1	7,1
Leguminosae	<i>Detarium senegalense</i> J.F.Gmel.	1	7,1
Acanthaceae	<i>Dicliptera paniculata</i> (Forssk.)I.Darbysh.	1	7,1
Leguminosae	<i>Dolichos schweinfurthii</i> Harms	1	7,1
Compositae	<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	1	7,1
Leguminosae	<i>Erythrina sigmoidea</i> Hua	1	7,1
Myrtaceae	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia balsamifera</i> Aiton	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i> L.	1	7,1
Rubiaceae	<i>Fadogia erythrophloea</i> (K.Schum. & K.Krause) Hutch. & Dalziel	1	7,1
Moraceae	<i>Ficus asperifolia</i> Miq.	1	7,1
Moraceae	<i>Ficus ischnopoda</i> Miq.	1	7,1
Moraceae	<i>Ficus sur</i> Forssk.	1	7,1
Moraceae	<i>Ficus vallis-choudae</i> Delile	1	7,1
Rubiaceae	<i>Fleroya rubrostipulata</i> (K.Schum.) Y.F.Deng	1	7,1
Lamiaceae	<i>Gmelina arborea</i> Roxb.	1	7,1
Malvaceae	<i>Gossypium barbadense</i> L.	1	7,1
Malvaceae	<i>Grewia cissoides</i> Hutch. & Dalziel	1	7,1
Malvaceae	<i>Grewia damine</i> Gaertn.	1	7,1
Malvaceae	<i>Grewia mollis</i> Juss.	1	7,1
Compositae	<i>Gymnanthemum thomsonianum</i> (Oliv. & Hiern) H.Rob.	1	7,1
Celastraceae	<i>Gymnosporia senegalensis</i> (Lam.) Loes.	1	7,1
Hypericaceae	<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. ex Poir.	1	7,1
Convolvulaceae	<i>Hewittia malabarica</i> (L.) Suresh	1	7,1
Malvaceae	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	1	7,1
Lamiaceae	<i>Hoslundia opposita</i> Vahl	1	7,1
Lamiaceae	<i>Hoslundia opposita</i> Vahl	1	7,1
Arecaceae	<i>Hyphaene thebaica</i> (L.) Mart.	1	7,1
Lamiaceae	<i>Hyptis spicigera</i> Lam.	1	7,1
Poaceae	<i>Imperata cylindrica</i> (L.) Raeusch.	1	7,1
Convolvulaceae	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	1	7,1
Convolvulaceae	<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Jatropha gossypifolia</i> L.	1	7,1
Bignoniaceae	<i>Kigelia africana</i> (Lam.) Benth.	1	7,1
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i> L.	1	7,1

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Lythraceae	<i>Lawsonia inermis</i> L.	1	7,1
Sapindaceae	<i>Lecaniodiscus cupanioides</i> Planch. ex Benth.	1	7,1
Apocynaceae	<i>Leptadenia lancifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Decne.	1	7,1
Lamiaceae	<i>Leucas martinicensis</i> (Jacq.) R.Br.	1	7,1
Verbenaceae	<i>Lippia multiflora</i> Moldenke	1	7,1
Leguminosae	<i>Lonchocarpus laxiflorus</i> Guill. & Perr.	1	7,1
Rubiaceae	<i>Macrosphyra longistyla</i> (DC.) Hiern	1	7,1
Capparaceae	<i>Maerua angolensis</i> DC.	1	7,1
Capparaceae	<i>Maerua crassifolia</i> Forssk.	1	7,1
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L.	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	1	7,1
Chrysobalanaceae	<i>Maranthes polyandra</i> (Benth.) Prance	1	7,1
Phyllanthaceae	<i>Margaritaria discoidea</i> (Baill.) G.L.Webster	1	7,1
Bignoniaceae	<i>Markhamia tomentosa</i> (Benth.) K.Schum. ex Engl.	1	7,1
Leguminosae	<i>Mimosa pigra</i> L.	1	7,1
Dipterocarpaceae	<i>Monotes kerstingii</i> Gilg	1	7,1
Musaceae	<i>Musa × paradisiaca</i> L.	1	7,1
Acanthaceae	<i>Nelsonia canescens</i> (Lam.) Spreng.	1	7,1
Bignoniaceae	<i>Newbouldia laevis</i> (P.Beauv.) Seem.	1	7,1
Ochnaceae	<i>Ochna schweinfurthiana</i> F.Hoffm.	1	7,1
Lamiaceae	<i>Ocimum basilicum</i> L.	1	7,1
Olaceae	<i>Olox subscorpioides</i> Oliv.	1	7,1
Salicaceae	<i>Oncoba spinosa</i> Forssk.	1	7,1
Poaceae	<i>Oxytenanthera abyssinica</i> (A.Rich.) Munro	1	7,1
Chrysobalanaceae	<i>Parinari curatellifolia</i> Planch. ex Benth.	1	7,1
Leguminosae	<i>Parkinsonia aculeata</i> L.	1	7,1
Rubiaceae	<i>Pavetta corymbosa</i> (DC.) F.N.Williams	1	7,1
Rubiaceae	<i>Pavetta oblongifolia</i> (Hiern) Bremek.	1	7,1
Nitrariaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	1	7,1
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (Kuntze) Exell	1	7,1
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus reticulatus</i> Poir.	1	7,1
Leguminosae	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth.	1	7,1
Compositae	<i>Polydora serratuloides</i> (DC.) H.Rob.	1	7,1
Leguminosae	<i>Prosopis africana</i> (Guill. & Perr.) Taub.	1	7,1
Proteaceae	<i>Protea madiensis</i> Oliv.	1	7,1
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	1	7,1
Hypericaceae	<i>Psorospermum senegalense</i> Spach	1	7,1
Leguminosae	<i>Pterocarpus lucens</i> Guill. & Perr.	1	7,1
Leguminosae	<i>Pterocarpus santalinoides</i> DC.	1	7,1
Apocynaceae	<i>Saba comorensis</i> (Bojer ex A.DC.) Pichon	1	7,1
Apocynaceae	<i>Saba senegalensis</i> (A.DC.) Pichon	1	7,1

ANNEXE N°2 : (Suite)

Famille	Nom scientifique	Nombre de citation	Fréquence (%)
Salicaceae	<i>Salix mucronata</i> Thunb.	1	7,1
Rubiaceae	<i>Sarcocephalus pobeguinii</i> Hua ex Pobég.	1	7,1
Leguminosae	<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.	1	7,1
Leguminosae	<i>Senna obtusifolia</i> (L.) H.S.Irwin&Barneby	1	7,1
Euphorbiaceae	<i>Shirakiopsis elliptica</i> (Hochst.) Esser	1	7,1
Solanaceae	<i>Solanum incanum</i> L.	1	7,1
Loganiaceae	<i>Strychnos innocua</i> Delile	1	7,1
Leguminosae	<i>Stylosanthes erecta</i> P.Beauv.	1	7,1
Leguminosae	<i>Stylosanthes fruticosa</i> (Retz.) Alston	1	7,1
Myrtaceae	<i>Syzygium guineense</i> (Willd.) DC.	1	7,1
Lamiaceae	<i>Tectona grandis</i> L.f.	1	7,1
Combretaceae	<i>Terminalia albida</i> Scott-Elliot	1	7,1
Combretaceae	<i>Terminalia brownii</i> Fresen.	1	7,1
Combretaceae	<i>Terminalia laxiflora</i> Engl.	1	7,1
Combretaceae	<i>Terminalia mollis</i> M.A.Lawson	1	7,1
Combretaceae	<i>Terminalia superba</i> Engl. & Diels	1	7,1
Dilleniaceae	<i>Tetracera alnifolia</i> Willd.	1	7,1
Leguminosae	<i>Tetrapleura tetraptera</i> (Schum. & Thonn.) Taub.	1	7,1
Apocynaceae	<i>Thevetia nerifolia</i> Juss. ex Steud.	1	7,1
Zygophyllaceae	<i>Tribulus terrestris</i> L.	1	7,1
Annonaceae	<i>Uvaria chamae</i> P.Beauv.	1	7,1
Compositae	<i>Vernonia amygdalina</i> Delile	1	7,1
Lamiaceae	<i>Vitex doniana</i> Sweet	1	7,1
Lamiaceae	<i>Vitex madiensis</i> Oliv.	1	7,1
Apocynaceae	<i>Voacanga africana</i> Stapf ex Scott-Elliot	1	7,1
Annonaceae	<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A.Rich.	1	7,1
Rhamnaceae	<i>Ziziphus mucronata</i> Willd.	1	7,1

ANNEXE N°3 : Questionnaire de l'enquête auprès des tradipraticiens de santé du marché de Médina Coura, Bamako (Mali)

1. Identification des tradipraticiens de santé (TPS)

- Prénoms et Nom:
- Age :.....
- Sexe :
- Ethnie :

2. Sumaya

- *Comment reconnaissez-vous sumaya*.....
- *Est-ce qu'il y a d'autres pathologies qui ressemblent à sumaya si oui lesquelles*.....
- *Comment se distinguent-elles de sumaya*
- Quelles sont les causes de *sumaya*.....
- A quel moment de l'année *sumaya* est beaucoup plus fréquent.....
- Quels sont les groupes à risques.....
- *Il y a combien de types de sumaya*
 - Comment appelle-t-on ces différents types de *sumaya*.....
 - Comment se caractérisent-ils.....
- Est-ce que *sumaya* peuvent évoluer vers une complication : si oui
- Quels sont les complications qui peuvent survenir
- Combien de cas de *sumaya* avez-vous traité dans ce dernier mois

3. Traitements

- Quels sont les traitements les plus fréquents que vous proposez.....
- Combien coûte ces traitements.....

4. Terminalia macroptera Guill. & Perr. (Combretaceae)

- Quels sont les indications de cette plante.....
- Comment utilisez-vous cette plante.....

ANNEXE N°4 : Les recettes à bases de *Terminalia macroptera* Guill. & Perr. (Combretaceae)

N° recette	Pays	Partie utilisée	Préparation / voie administration	Indications	Références
1	Mali	Non spécifiée	Non spécifiée	Absence ou retard des règles	Traoré M cité dans Prelude database
2	Burkina Faso	Feuilles	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Nadembega et al., 2011
3	Mali	Feuilles	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Pham et al., 2011
4	Mali	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Pham et al., 2011
5	Mali	Racines	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Pham et al., 2011
6	Mali	Fruits	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Pham et al., 2011
7	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Affections hépatiques	Malgras, 1992
8	Sénégal	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Affections hépatiques	Kerharo et Adam 1974
9	Mali	Racines	Non spécifiée / Non spécifiée	Affections hépatiques	Arbonnier, 2010
10	Guinée-Bissau	Racines	Non spécifiée	Affections hépatiques	Diniz et al., 1996
11	Sénégal	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Aphrodisiaque	Kerharo et Adam 1974
12	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Asthénie	Malgras, 1992
13	Sénégal	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Asthénie	Kerharo et Adam 1974
14	Sénégal	Racines	Jus / Application locale	Conjonctivite	Kerharo et Adam 1974

ANNEXE N°4 : (Suite)

N° recette	Pays	Partie utilisée	Préparation / voie administration	Indications	Référence
15	Burkina Faso	Racines	Macération / Orale	Diarrhée	Nadembega et al., 2011
16	Mali	Racines	Décoction / Orale	Diarrhée	Pham et al., 2011
17	Mali	Non spécifiée	Non spécifiée	Diarrhée	Traoré M cité dans Prelude database
18	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Diarrhée	Malgras, 1992
19	Nigeria	Ecorces	Non spécifiée	Diarrhée	Etuk et al., 2009
20	Mali	Feuilles	Décoction / Orale	Douleur	Pham et al., 2011
21	Mali	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Douleur	Pham et al., 2011
22	Mali	Racines	Décoction / Orale	Douleur	Pham et al., 2011
23	Mali	Fruits	Décoction / Orale	Douleur	Pham et al., 2011
24	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Douleur	Malgras, 1992
25	Sénégal	Feuilles	Non spécifiée / Orale	Douleur	Kerharo et Adam 1974
26	Mali	Feuilles	Décoction / Orale	Fièvre	Pham et al., 2011
27	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Fièvre	Malgras, 1992
28	Mali	Feuilles	Non spécifiée / Non spécifiée	Fièvre	Arbonnier, 2009
29	Mali	Ecorces de tronc interne (carbonisé) + huile de Lannea microcarpa	Pâte /Application locale	Furoncles	Inngjerdingen et al., 2004

ANNEXE N°4 : (Suite)

N° recette	Pays	Partie utilisée	Préparation / voie administration	Indications	Références
30	Mali	Racines	Poudre / Application locale	Infections vaginales	Pham et al., 2011
31	Mali	Racines	Décoction / Non spécifiée	Infections vaginales	Malgras, 1992
32	Guinée-Bissau	Racines	Non spécifiée	Maladie vénérienne	Diniz et al., 1996
33	Mali	Feuilles	Décoction / Orale ou bain	Maladie vénérienne	Malgras, 1992
34	Sénégal	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Maladie vénérienne	Kerharo et Adam 1974
35	Burkina Faso	Racines	Macération / Orale	Maladies de la peau	Nadembega et al., 2011
36	Mali	Fruits (avec fruits de Ficus sur + écorce de racine interne de Balanites aegyptiaca)	Poudre / Application	Morsure de serpent	Inngjerdingen et al., 2004
37	Sénégal	Non spécifiée	Non spécifiée	Morsure de serpent	Kerharo et Adam 1974
38	Burkina Faso	Ecorces de tronc	Macération / Orale	Paludisme	Nadembega et al., 2011
39	Burkina Faso	Ecorces de racine	Décoction / Orale	Paludisme	Sanon et al., 2003
40	Guinée	Feuilles	Décoction / Orale	Paludisme	Traoré et al., 2013
41	Guinée	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Paludisme	Traoré et al., 2013
42	Mali	Feuilles	Décoction / Orale	Paludisme	Pham et al., 2011
43	Sénégal	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Paludisme	Kerharo et Adam 1974

ANNEXE N°4 : (Fin)

N° recette	Pays	Parties utilisées	Préparation / voie administration	Indications	Références
44	Mali	Feuilles	Décoction / Orale	Plaie	Pham et al., 2011
45	Mali	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Plaie	Pham et al., 2011
46	Mali	Racines	Décoction / Orale	Plaie	Pham et al., 2011
47	Mali	Fruits	Décoction / Orale	Plaie	Pham et al., 2011
48	Mali	Racines	Poudre / Application locale	Plaie	Malgras, 1992
49	Mali	Ecorces	Poudre / Application locale	Plaie	Malgras, 1992
50	Sénégal	Racines	Jus / Application locale	Plaie	Kerharo et Adam 1974
51	Burkina Faso	Racines	Macération / Orale	Rétention urinaire	Nadembega et al., 2011
52	Mali	Ecorces de tronc	Décoction / Orale	Toux	Pham et al., 2011
53	Mali	Non spécifiée	Non spécifiée	Toux	Traoré M cité dans Prelude database
54	Mali	Racines	Décoction / Non spécifiée	Troubles urinaires	Malgras, 1992
55	Burkina Faso	Racines	Macération / Orale	Ulcère gastrique	Nadembega et al., 2011

Annexe 5. Documents relatifs aux autorisations éthiques et légales obtenues pour les travaux expérimentaux sur des animaux.

MINISTERE DE LA SANTE
ET DE L'HYGIENE PUBLIQUE

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE
EN SANTE PUBLIQUE (INRSP)
BP 1771 / Tel 20 21 43 20/20 21 42 31

COMITE D'ETHIQUE DE L'INRSP
BP 1771/ Tél : 66 76 63 37 / 76 18 72 60
- Bamako



REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi

DECISION N° 24/2016 /CE-INRSP

LE PRESIDENT DU COMITE D'ETHIQUE DE L'INRSP

Vu l'arrêté n°2013-1223/MS-SG du 03 avril 2013 portant nomination des membres du Comité d'Ethique de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) ;

Vu les recommandations issues de sa session ordinaire du 21 septembre 2016 relative à l'examen d'un protocole de recherche intitulé "**Evaluation des activités biologiques chez les rongeurs de Terminalia macroptera Guill. Et Perr. utilisée traditionnellement dans la prise en charge du Paludisme au Mali (Afrique de l'Ouest)**";

Vu les corrections apportées audit protocole conformément aux recommandations formulées par les membres.

DECIDE

Article 1^{er} : Le protocole intitulé "**Evaluation des activités biologiques chez les rongeurs de Terminalia macroptera Guill. Et Perr. utilisée traditionnellement dans la prise en charge du Paludisme au Mali (Afrique de l'Ouest)**", jugé conforme à l'éthique et aux droits humains, est approuvé par le comité d'éthique de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

Article 2/ : Toute modification intervenant dans l'exécution dudit Protocole est portée à la connaissance du Comité d'Ethique de l'INRSP dans un délai maximum de quinze (15) jours.

Article 3/ : La présente décision valable pour toute la durée de l'étude, sera enregistrée et communiquée partout où besoin sera.

Ampliations :

Présidente/CE 1
Archives/CE..... 1
IRD..... 1
Intéressé 1

Bamako, le 27 décembre 2016
P/LE PRESIDENT DU COMITE / P.I
LA VICE-PRESIDENTE DU COMITE, P.O



Docteur Aly LANDOURE



MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE,
DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Paris, le 11 AVR. 2017

Direction générale
de la recherche
et de l'innovation

Service de la performance,
du financement et de la
contractualisation avec les
organismes de recherche

Département de la culture
scientifique et des relations
avec la société

Cellule Animaux utilisés à des
Fins Scientifiques – AFIS –

Affaire suivie par
Virginie Vallet
Chargée de mission
Responsable de la cellule AFIS

Mél.
virginie.vallet-erdtmann
@recherche.gouv.fr

Plateforme
apafis.demat@recherche.gouv.fr

1 rue Descartes
75231 Paris Cedex 05

Objet : Notification d'autorisation de projet utilisant des animaux à des fins scientifiques

En application des dispositions du code rural et de la pêche maritime, notamment ses articles R.214-87 à R.214-126, le projet :

- référencé sous le numéro APAFIS#5921-2016070118008477 v3,
- ayant pour titre : Paludisme et inflammation,
- déposé par l'Établissement Utilisateur : UMR152-UPS IRD PharmaDev, numéro d'agrément C3155503, dont la responsable est Madame Agnès COSTE,
- et dont la responsabilité de la mise en œuvre générale du projet et de sa conformité à l'autorisation est assurée par Madame Agnès COSTE,

est autorisé.

L'autorisation de projet est accordée, sous réserve de la validité de l'agrément de l'Établissement Utilisateur, pour une durée de 5 ans à compter de l'autorisation.

Le projet précité a été évalué sur le plan éthique par le Comité d'éthique en expérimentation animale N°122 et a reçu un avis favorable.

Ce projet fera l'objet, à l'issue de sa réalisation, d'une appréciation rétrospective. Il vous appartiendra de prendre contact directement avec le Comité d'éthique.

Pour la ministre et par délégation
l'adjointe au chef du service de la performance, du
financement et de la contractualisation avec les
organismes de recherche



Christine COSTE

Madame Agnès COSTE
UMR152-UPS IRD PharmaDev