

Démarche ethnopharmacologique appliquée au paludisme

Formation en ethnopharmacologie appliquée
Metz - Septembre 2008
Olivia JANSEN - Université de Liège

PLAN

- Introduction
- Démarche de l'ethnopharmacologie appliquée dans la PEC du paludisme
- « Etude des propriétés antiplasmodiales de plantes utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au Burkina Faso »

Introduction : Le paludisme ou malaria

- Maladie parasitaire (*Plasmodium sp*)

P. vivax, *P. ovale*, *P. malariae*,
P. falciparum (formes graves - Afrique)

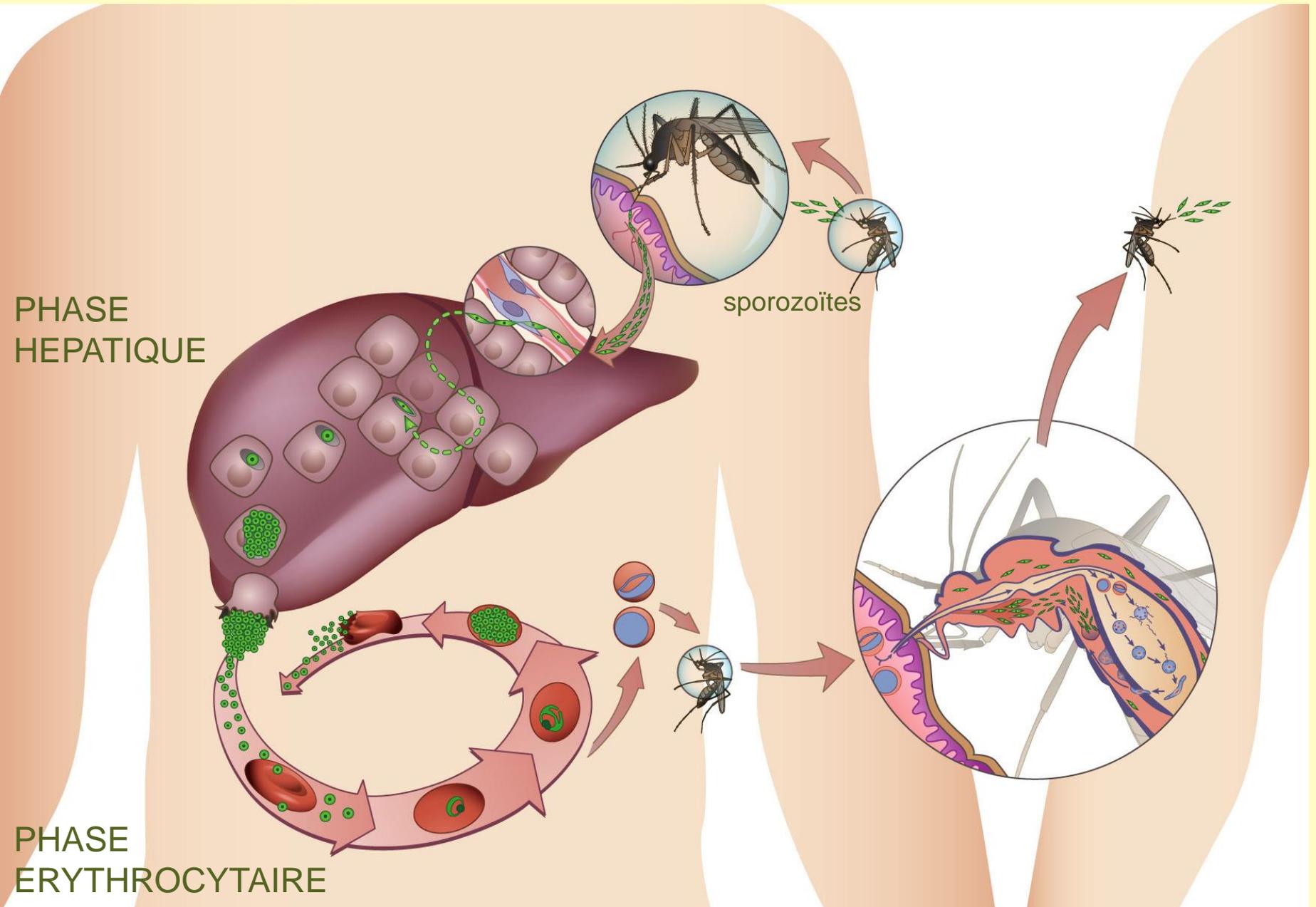


- Transmission par piqûre de moustique
→ Anophèle femelle (vecteur) dont *A. gambiae*



→ Reproduction asexuée chez l'homme (hôte intermédiaire)
Et Reproduction sexuée chez l'anophèle femelle (hôte définitif)

Cycle du Plasmodium



Physiopathologie et Signes cliniques

Phase hépatique asymptomatique

Symptomatologie liée aux schizogonies érythrocytaires

Éclatement des GR libérant parasites et hémozoïne

→ accès palustre : Fièvre, céphalées, myalgies

→ Anémie, Ictère

Autres symptômes : nausées, vomissements, diarrhée, douleurs gastro-intestinales, hépto- et splénomégalie.



Libération de mérozoïtes (Hémolyse)

Evolution vers formes chroniques : rechutes fréquentes - fièvres intermittentes
- paludisme grave

Accès pernicleux : Neuropaludisme (*P. falciparum*)

Obstruction des vaisseaux sanguins du cerveau par des hématies parasitées (augmentation de la cytoadhérence)

→ Réduction du flux sanguin et Défaut d'oxygénation cérébral

Convulsions - Manifestations neurologiques - Coma - Mort

Moyens de Prévention

■ Protection contre le vecteur

- Réduction de l'habitat du vecteur : Assainissement des zones (eaux stagnantes)
- Prévention des piqûres (moustiquaire imprégnées)
à combiner à d'autres moyen de lutte contre le vecteur :
- pulvérisation d'insecticide rémanent (! R)

■ Chimio prophylaxie :

- Femmes enceintes: Traitements préventifs intermittents en z. endémique
surtout SP (2 doses espacées d'au moins un mois)
- Voyageurs : dépend de la zone et des conditions de séjour (chloroquine + proguanil - atovaquone+proguanil - méfloquine - doxycycline)

■ Vaccin :

- plusieurs en phase clinique
- Nbeuses difficultés : plusieurs parasites – plusieurs stades de développement – diversité antigénique des parasites

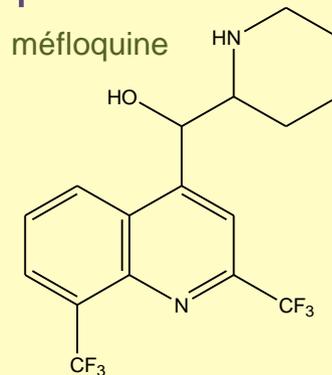
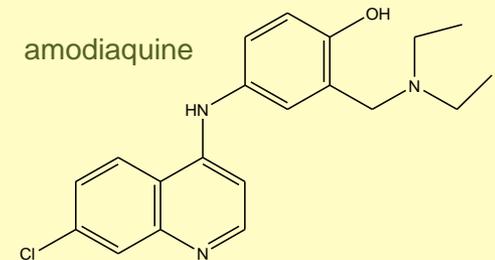
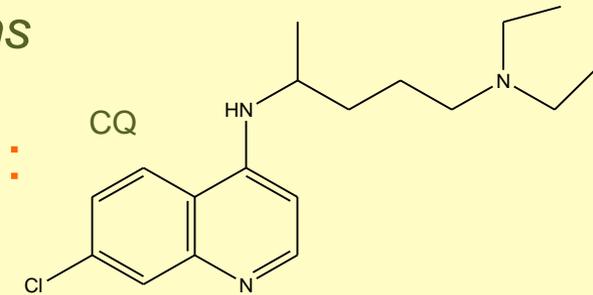
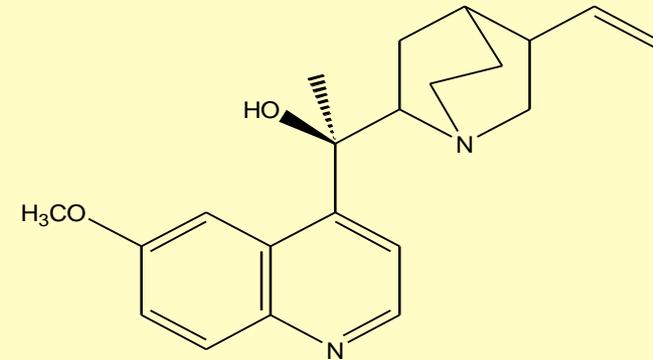
Traitements : Quinine - dérivés quinoléiques

→ Schizonticide sanguin:
Empêche la dégradation de l'hème
(← dégradation de l'Hb - toxique) en hémotoxine

Quinine = premier médicament contre le palu
→ alcaloïde noyau quinoléine
→ isolé en 1820 de l'écorce de *Cinchona pubescens*

Dérivés obtenus par pharmacomodulation :

- amino-4 quinoléine : chloroquine, amodiaquine,
- amino-8 quinoléine : primaquine



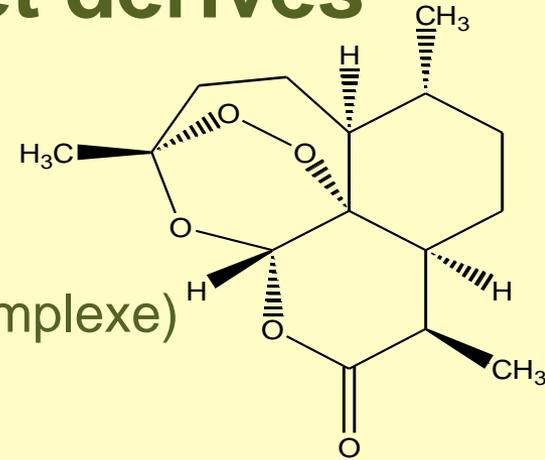
Autres : méfloquine

+ halofantrine et luméfantrine (pas de noyau quinoléine)

Traitements : Artémisinine et dérivés

Artémisinine :

- isolée de la plante chinoise *Artemisia annua*
- tjrs obtenue à partir de la plante (synthèse trop complexe)
- lactone sesquiterpénique - pont endoperoxyde
- peu soluble et peu biodisponible



→ plusieurs dérivés obtenus par hémisynthèse (**artéméther**, **artéther**, **artésunate**, **dihydroartémisinine**)

Efficaces, peu d'effets secondaires

... mais restent chers pour les populations

Risque de R (apparition de diminution de sensibilité dans certaines régions)

→ ACT : Artemisinin-based Combination Therapy

Traitements

Antibiotiques:

Tétracycline : **doxycycline**

Macrolides : **érythromycine, azythromycine et clindamycine**

→ utilisés en asso ou en cas de C-I

Antimétabolites :

inhibiteurs du métabolisme de l'ac.folique

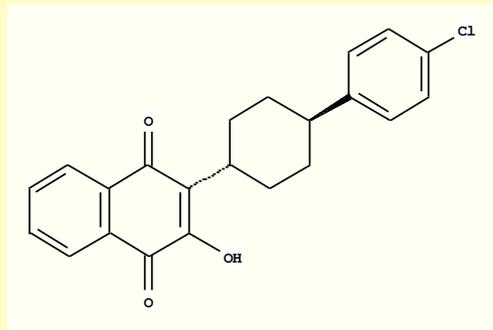
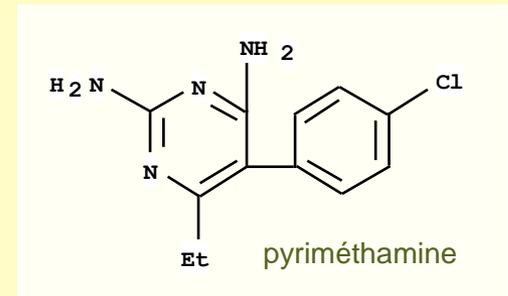
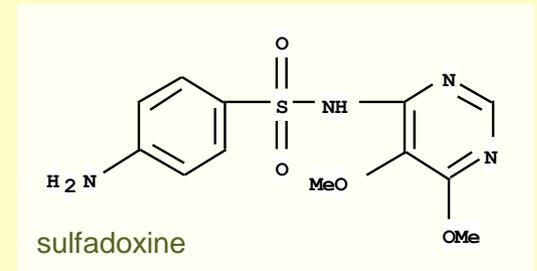
(co-facteur de la synthèse AN)

→ antifolique (**sulfadoxine**)

→ antifoliniques (**proguanil, pyriméthamine**)

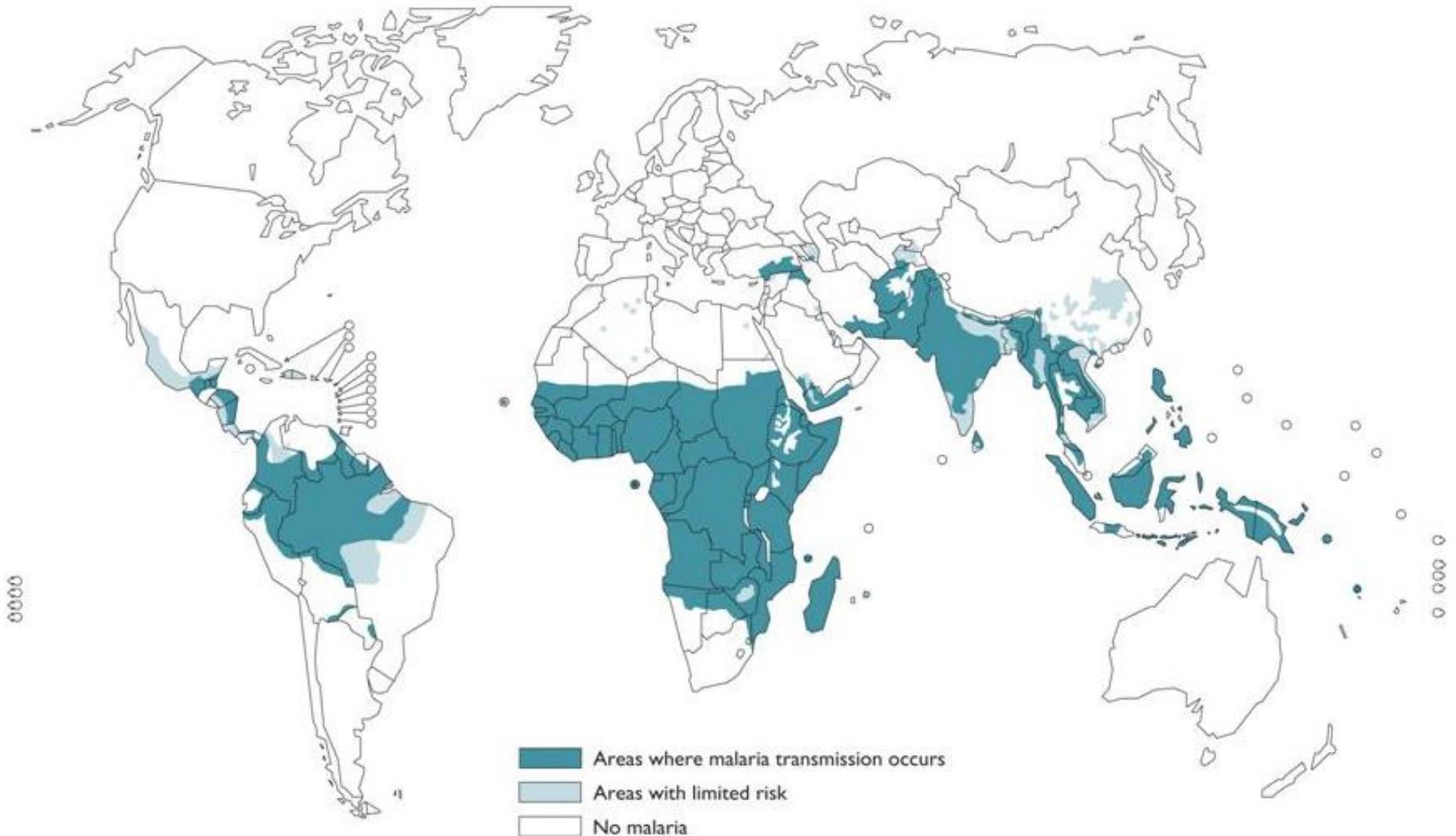
+ **l'atovaquone** (naphtoquinone)

- inspirée d'un dérivé du lapachol
isolé de *Tabebuia chryso-tricha*



La malaria dans le monde

Malaria risk areas, 2005



40% pop. Mondiale → 3-5 milliards de personnes

Quelques chiffres... alarmants

300 – 500 millions épisodes palustres/an (dont 60% en Afrique)

→ Impact social et éco majeur (absentéisme - cout de la PEC)

→ Mortalité et morbidité importante

Surtout : enfants < 5ans - femmes enceintes -immunodéprimées

→ 1 million de décès/an dont plus de 80 % en Afrique

(*P. falciparum* est le + présent sur ce continent)

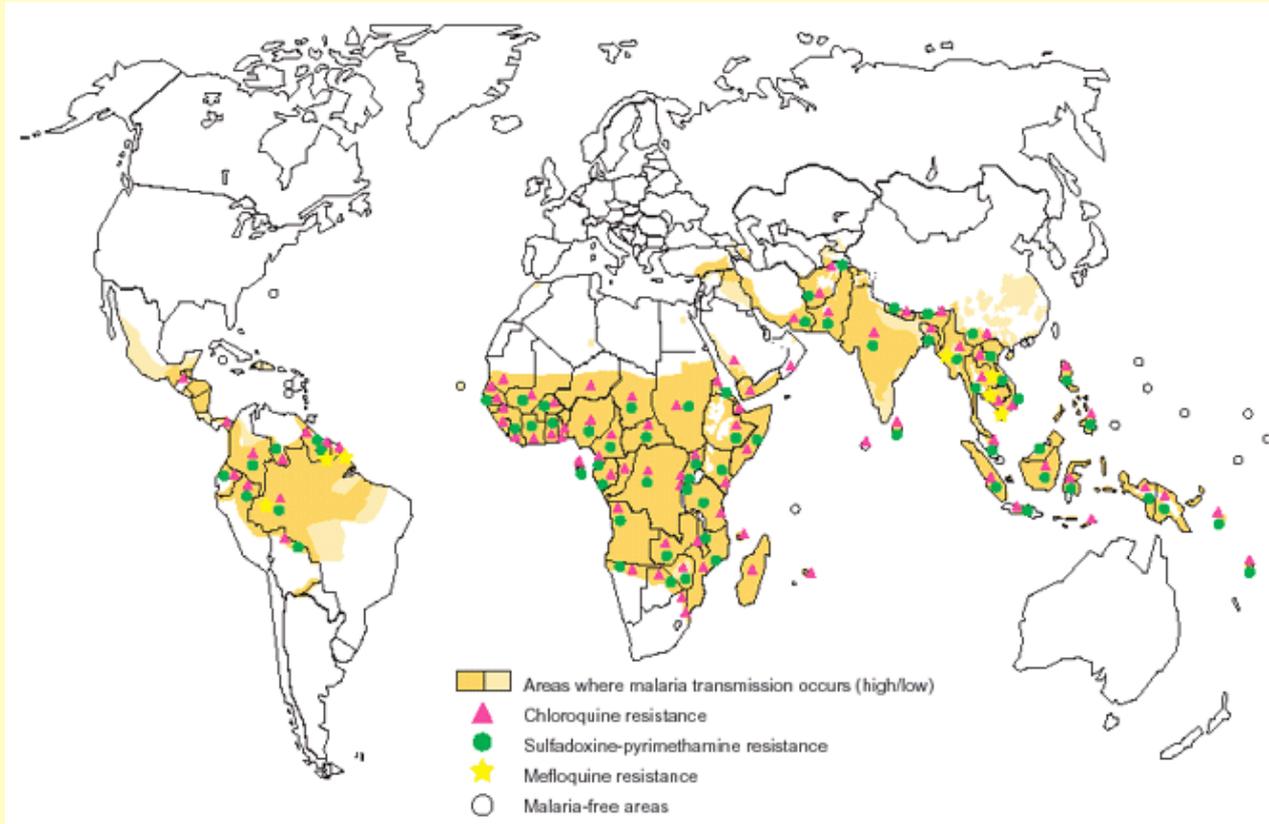
→ maladie responsable du plus de décès d'enfants en Afrique : 3X plus que le VIH ...

→ 1 enfant meure toutes les 30 sec. !!!

De manière plus générale, on considère aujourd'hui que la malaria est la 1^{ère} cause de mortalité et de morbidité dans la quasi-totalité des pays d'Afrique subsaharienne... et dans la majorité des pays touchés

Phénomène de résistances en augmentation...

A la CQ mais aussi à d'autres antipaludiques (méfloquine - SP - quinine)
Depuis 1990: aucune zone indemne en Afrique



Apparition de perte de sensibilité à l'artésunate ou artéméther seul !

→ nécessité de **recherche de nouveaux antipaludiques**

→ pour diminuer risques de R : **asso de plusieurs molécules agissant par des modes d'action différents** → ACT

Accès aux soins

■ Itinéraire thérapeutique de la PEC du palu en Afrique

1. cercle familial (méd. Populaire)
 2. TPS (méd. Traditionnelle)
 3. Structures de santé « modernes » : dispensaire, hôpital
- } Utilisation des plantes

■ Usage des médicaments

- apparition de résistance à la CQ (coût = 0,2\$)
- évolution des ttt chimiques :
- ACT recommandés (coût = 1\$)
- csqce sur l'accès au soin par le mdt



■ Usage des plantes/de la médecine traditionnelle

- Problème d'accessibilité aux ttt modernes (géogr. et coût)
- Raisons culturelles (étiologie, relation soignant-soigné)
- Recours mixte



Paludisme et médecine traditionnelle



Système de représentation traditionnelle de la maladie et de ses causes

→ Difficultés de transposition exacte entre concepts locaux et modernes

→ ex causes : climat, aliments, animaux, faute, sort, génie moustique

→ **Influence la conduite thérapeutique**

+ ! Représentation traditionnelle des plantes

Connaissance de la maladie :

→ par ses symptômes:

fièvres, frissons, courbatures, myalgies,

ictère et atteintes G-I (yeux jaunes; vomissements et selles jaunes)

convulsions - coma

= signifiant dont dérive une chaîne de représentations symboliques

→ Parfois difficile à distinguer d'autres pathologies à symptomatologie proche (ex: syndrome grippal - hépatites - épilepsie)

Paludisme et médecine traditionnelle

Ex de représentation traditionnelle au BF :

'Sumaya' (= frissons)

→ **malaria non compliquée**

Maladie du froid

-très fréquent :

Fièvre - faiblesse -
myalgies - diarrhée -
vomissements

Causes :

environnement sale,
climat (froid - pluie),
certains aliments...
(moustique)

Traitement : mélange
de plantes + CQ ou
Paracétamol

Note : peut évoluer en
'sumaya ba' si mal
soigné (ba = grand)

'Kono' (= oiseau)

→ **neuropaludisme**

Maladie chez les enfants <
5ans : Convulsions - Coma
- Mort

Causes : 'Maladie de
l'oiseau' qui passe au
dessus de la fe enceinte
ou de l'enfant

→ analogie au battement
d'aile;

Traitement : préparations
de plante (inhalation, bain,
boisson) - incantations -
massages - collier avec
plume - peu de recours à
la médecine moderne

**'Djoliban' (= 'le sang
est fini')**

→ **anémie sévère**

Maladie du sang épuisé:
yeux, paumes clairs -
fièvres - vomissements -
perte appétit

Causes: maladie
chronique, 'sumaya',
insuffisance alimentaire

Traitement : médecine
moderne?

Paludisme et médecine traditionnelle



Traitement :

80% population se soigne avec les plantes (cadre familial ou TPS)

✓ Plantes les plus fréquemment utilisées:

- les plus proches : concession, jardins de case, bois du village
 - choix des plantes : pas au hasard - représentation symbolique :
 - théorie des signatures : ex. plante à fleur jaune (*Cassia* sp, *Cochlospermum* sp.)
 - bcp de plantes amères
 - espèces herbacées sont destinées souvent aux traitements des enfants.
- Elles sont svt aromatiques (chasseurs de génie).

✓ Mode de préparation : décoction, infusion, macération

Souvent mélange → synergies et antagonismes.

✓ Mode d'administration : boisson, bain, inhalation, lavements (enfants)

→ nombreuses plantes utilisées dans le traitement tradi du palu

→ besoin d'avoir des données d'efficacité et de toxicité
sur les remèdes traditionnels



Position de l'OMS

Ambitieux programmes de lutte contre le paludisme intègrent plusieurs aspects préventifs et curatifs : Partenariat Roll Back Malaria (UNICEF/WHO/PNUD)

▪ Concernant la PEC du palu : recommandations sur les médicaments

→ Si R à une molécule atteint 10% : changement de protocole de TTT

→ ACT remplace la CQ en première intention dans la PEC du palu à *P. falciparum* afin d'éviter le développement de R

ex : artéméther – luméfantrine (COARTEM°) - artésunate – amodiaquine (ASAQ°)

→ demande de retrait des monothérapies à base d'artémisinine

→ Conséquence pour l'accès au soin car cout élevé par rapport au pouvoir d'achat de ceux qui en ont besoin

▪ Concernant la médecine traditionnelle :

Reconnaissance de la place des préparations traditionnelles comme l'une des voies de contrôle de différentes maladies prioritaires dont le paludisme dans les pays du Sud

→ doit s'appuyer sur des résultats scientifiques pour certifier l'efficacité des préparations utilisées et leur non toxicité → évaluation MT

+ Intégration dans les systèmes de soins de santé nationaux

Position des Ministères de la Santé

Concernant la PEC du paludisme :

En 2005, 34 pays africains ont changé leur politique et recommandé ACT mais 10 seulement l'ont mise en œuvre faute de moyens suffisants

Concernant la MT :

Tous les pays africains ont engagé une politique nationale de valorisation des pharmacopée et médecine traditionnelles

→ **Intégration de la médecine traditionnelle dans les systèmes de soins de santé nationaux.**

→ Assurer sécurité, efficacité et qualité des médts issus de la MT

→ Elaboration de phcopées et monographies nationales

→ Elaboration de normes et méthodologie pour l'évaluation des remèdes et Soutien à la recherche clinique

→ Règlementation sur les médicaments à base de plantes (AMM) et les praticiens (conditions d'exercice)

→ Promouvoir un usage correct de la MT :

→ Education et Formation TPS - renforcement liens MT-MMod

La problématique d'*Artemisia annua*

Artémisinine et dérivés hémisynthétiques

tjrs obtenue à partir de la plante (synthèse trop complexe)



→ Initialement produite en Chine

→ problème de disponibilité suite aux recommandations de l'OMS d'utiliser les ACT (croissance de la demande mondiale)

→ augmentation du cout

→ étudier les possibilités de cultiver AA et d'en extraire l'artémisinine sur place dans les pays concernés afin d'assurer une production locale d'ACT

→ Difficultés :

L'ethnopharmacologie : approche intéressante pour améliorer la PEC du paludisme

Constat : Le paludisme sévit tjrs !

la majorité des pop se soignent avec les plantes (causes financières ou culturelles...)

→ savoirs locaux à valoriser via l'ethnopharmacologie

Difficultés et solutions :

1- apparition de résistance croissantes aux mdts dispo

→ recherche de nouvelles substances actives contre Plasmodium (cher et long)

→ **Ethnopharmacologie** : Sélection d' sp. végétales sur base de l'usage local tradi dans le traitement de la malaria

2- problème général d'accès au soin par le mdt

une alternative : améliorer la qualité de la med tradi et valoriser les remèdes après les avoir validés pour leur non toxicité et leur efficacité (initiative encouragée par l'OMS)

→ démarche de **l'ethnopharmacologie appliquée**

Démarche de l'ethnopharmacologie appliquée et prise en charge du paludisme

Du terrain... Enquêtes ethnobotaniques -
Recherche bibliographiques -
Critères de sélection des plantes à
investiguer -
Collecte des échantillons de plantes



En passant par le labo...



Réalisation d'extraits -
Tests pharmacologiques d'efficacité
et de toxicité



Au terrain...

Valorisation :
formation sur les plantes médicinales -
mise au point de MTA

Enquêtes ethnobotaniques

- Reprendre l'itinéraire thérapeutique

- enquête auprès des femmes,

- Sur lieux d'échanges (marché),

- puis vers les TPS (spécialistes)

- ! Perception traditionnelle de la maladie... et des plantes !

- **RIGUEUR** et **PRECISION** dans la collecte des informations!

- À compiler dans base de données

- Identification des sp : systématique botanique + nom vernaculaire – herbier -photos

- Lieu, période et moment de récolte

- Description précise du mode de préparation (macération, décoction, infusion; plantes fraîches ou sèches; qtités; solvant; ajout d'ingrédients (jus citron, potasse)
! souvent mélanges de plantes !

- Mode d'administration (voie orale, lavements, bain, inhalations, etc...) ; posologie



Recherches bibliographiques

- Synonymies botaniques (www.ipni.org; www.tropicos.org; www.aluka.org)
- Utilisation traditionnelle de la plante dans d'autres pays?
Pour quelles indications?
- Composition chimique de la plante (+ chimiotaxonomie)
(présence de substances toxiques ou connues pour leur activité?)
- Propriétés pharmacologiques de la plante
→ utilisation traditionnelle est-elle déjà validée ?
(ex: propriétés antiplasmodiales démontrées)
- Données de toxicité?
- MTA? Formulation?



- Rassembler un maximum de données. (long et rigoureux)
www.scirus.com; pubmed; livres ; (google) ...
- Remplissage de la banque de données

Sélection des plantes à investiguer

Selon différents critères:

→ à partir des données ethnobotaniques

- Nombre de citations
- Utilisation seul ou en mélange
- ...

→ mais aussi des données biblio

- propriétés antiplasmodiales démontrées ?
- phytochimie bien connue ?
- Chimiotaxonomie ex: Asteraceae

→ Autres critères :

Possibilité de valorisation (éviter racines, pl. en voie de disparition ou toxique cn) Disponibilité - Endémicité

Système de « scoring » ?



Collecte des échantillons de plantes

■ Identification

- herbier à déposer
- photos



■ Récolte:

- Importance du lieu (sol, exposition...),
- de la période (saison sèche ou des pluies, etc),
- du moment de la journée (variation de la composition)
- développement de la plante

→ ENQUETES!



Respect de BP de récolte :

Ex: ne pas écorcer l'arbre tout autour,
ne pas prélever plus de 3 racines,
laisser les arbres trop jeunes

Ne pas prélever plus d'1/3 des feuilles d'une plante



Se renseigner sur la législation locale en matière de collecte de plantes

Séchage des échantillons de plantes :

- Utilisation de la plante fraîche ou sèche?
→ ENQUÊTES!

- **Séchage :**

- Permet la conservation de la drogue
- Provoque une modification de la composition chimique de la drogue et de ses propriétés pharmacologiques potentielles

- **Conditions de séchage :**

en bouquet, au sol ou en séchoir

→ Local ventilé, à l'abri de la lumière et de la poussière

→ Bien étaler la récolte de manière à avoir un séchage correct

→ Vérifier l'aspect visuel après le séchage (moisissures, feuilles jaunes,...)



Note : cryoconservation N₂ liq + lyophilisation

Protocoles de recherche

- Préparation des extraits
- Tests permettant de déceler une activité antiplasmodiale
 - in vitro
 - in vivo
- Validation (?) de l'utilisation traditionnelle
- Tests de toxicité (sur cellules saines - mutagénicité - in vivo)
- Fractionnement bioguidé pour isoler PA et détermination de structure

Préparation des extraits

Prépa traditionnelles = solutions aqueuses ou hydro-alcooliques

Difficile de reproduire parfaitement la méthode traditionnelle

→ qualité de l'eau : pH, dureté, ...

→ ajout de différents ingrédients (citron, potasse,...) qui peuvent modifier les propriétés extractives du solvant

Svt extraits à chaud → modification chimique éventuelle peut révéler une activité

Choix des solvants et méthode d'extraction :

→ influence sur les subst. extraites et donc sur l'activité potentielle de l'extrait

→ Ex solvants: dichlorométhane, éther, acétate d'éthyle
 méthanol, éthanol
 eau

→ À froid ou à chaud

→ Extrait brut - extrait alcaloïdique - HE - ...

Note : Extraits organiques svt plus actifs que extrait aqueux ? PQ ?

→ Préparations traditionnelles non filtrées

→ Rôle de « prodrug » de certains hétérosides extraits par l'eau et hydrolysés par métabolisation

Tests pharmacologiques

Pour valider ou non utilisation traditionnelle dans le TTT du palu

→ Tests permettant de détecter une activité antiplasmodiale (screening)

→ **in vitro** :

- parasites entiers (*P. falciparum* : souches CQ-S et CQ-R)

→ culture sur sang humain - phase intraérythrocytaire

→ évaluation de la survie du parasite

(microscopie - cytométrie de flux - [³H] hypoxanthine - colorimétrie)

Critères de sélection : IC₅₀ < 10µg/ml... 100µg/ml

→ tests de potentialisation (plante - plante ou plante-CQ)

(isobogrammes : évaluation des synergies – antagonismes - additions)

- « cible biologique » : interaction drogue-protéines (enzymes- récepteurs)

→ **in vivo** : modèles murins (*P. berghei*) (métabolisation - tolérance)

Tests de toxicité

Toxicité :

En principe, ne doit pas poser problème car utilisation en médecine traditionnelle mais prudence quand même ...

ex : notion de toxicité chronique mal maîtrisée par population et TPS...

→ prudence !

Tests :

- Cellules saines (fibroblastes - monocytes) → calcul IS

- Mutagénicité (Test d'Ames)

Certains à déconseiller ex: *Nauclea latifolia*?

- In vivo...

Fractionnement bioguidé et Détermination des PA



Extraction

Extraits bruts

Fractionnement

HPLC-CPC-CCM-...

Fractions

Essais
biologiques

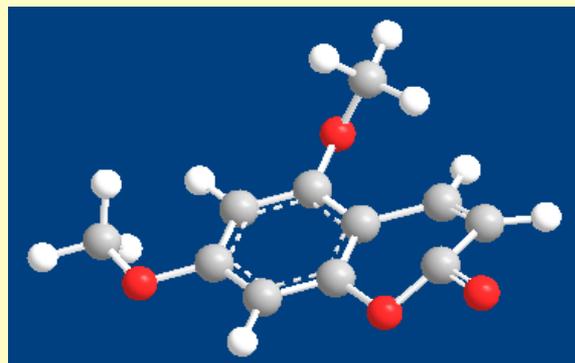
Isolement

Principe actif
isolé

Molécule

Détermination de
structure
(UV/MS/NMR)

Synthèse,
pharmacomodulation...



Valorisation des recherches

1. Nouvelles molécules actives potentiellement utilisables en thérapeutique (nécessaire mais cher et long)

→ une alternative de valorisation des recherches :
Améliorer la qualité des remèdes traditionnels est une priorité puisque la majorité des pop y ont recours.

2. Valorisation des remèdes traditionnels

→ Plante entière (ou extrait brut?) souvent plus intéressant à valoriser que PA seul car synergie de différents PA de la plante
ex *Mitragyna inermis* : extr. alcaloïdique total est plus actif que subst. purifiées

→ Besoin de **données d'efficacité et de sécurité** pour la mise au point de MTA efficaces et sûrs

→ tests en labo + biblio + ! données toxico !

→ évaluation clinique des remèdes

(ex : *Mitragyna inermis* - cas au BF - *Argemone mexicana*)

→ Besoin de **Standardisation** :

→ Mise au point de méthodes d'identification et de dosage des PA

→ Standardisation des méthodes de culture et de récolte

Mise au point de MTA

Assurer la sécurité et l'efficacité du MTA

→ Besoin de garantir la qualité

→ Elaboration de normes : monographies

(identification macro- et microscopique, identification - dosage de PA)

→ Standardisation des méthodes de production et du produit fini

Assurer une bonne acceptabilité par les populations

→ formulation galénique

→ compromis prix/qualité (coût du contrôle)

Note: Lutte antivectorielle :

→ possibilité de valorisation de **crèmes** ou **savons** ou **bougies** à partir de plantes à propriétés insectifuges ou insecticides

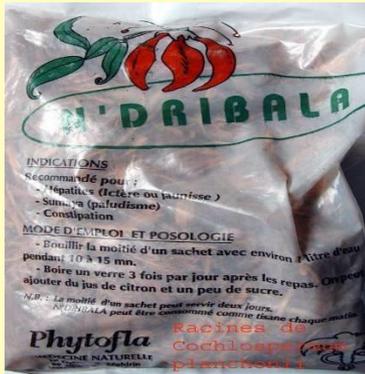
Ex: *Hyptis suaveolens*, *Azadirachta indica*, *Eucalyptus sp.*, *Cympobogon sp.*

Exemples de MTA

✓ Valorisation Plante seule

Argemone mexicana

Cochlospermum planchonii (N'dribala)



✓ Valorisation Mélange de plantes :

'Saye' : *Phyllanthus amarus*, *Cassia allata*, *Cochlospermum planchonii*



Potentialisation de la CQ par l'association à des plantes médicinales

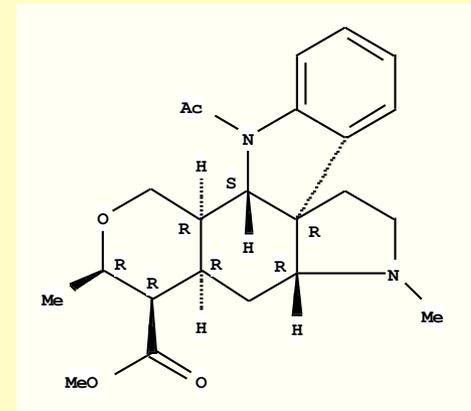
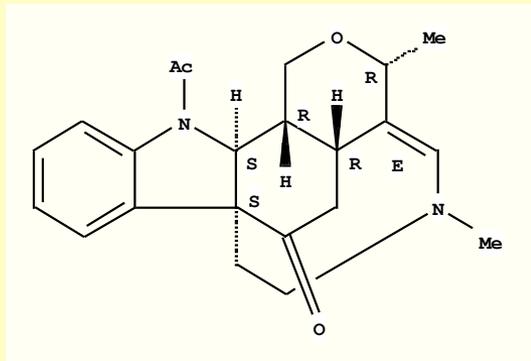
Exemples de travaux à Madagascar

Strychnos myrtoides : asso à la CQ pour lever la R

→ Extrait alcaloïdique potentialise la CQ

→ Isolement de 2 alcaloïdes : strychnobrasiline et malagashanine

Faiblement antiplasmodiales mais potentialise CQ ++



→ Une idée qui fait son bout de chemin... (coût de la CQ très accessible pour les populations)

→ Illustre la complémentarité entre méd. moderne et traditionnelle

« Etude des propriétés
antiplasmodiales de plantes utilisées
dans le traitement traditionnel du
paludisme au Burkina Faso »

Contexte

- Burkina Faso

- Association Jardins du Monde

Objectifs: Recensement et valorisation des plantes médicinales au profit des populations

→ besoin de confirmation scientifique par rapport à l'utilisation de certaines plantes utilisées contre le palu.

- Laboratoire de Pharmacognosie de l'ULg

Méthodologie

- Enquêtes (sp. traditionnellement utilisée contre palu au BF)
- Sélection (sp. à investiguer en laboratoire)
- Récolte (au BF)
- Etude des propriétés antiplasmodiales de différents extraits (MeOH – DCM – H₂O)
- Etude de la cytotoxicité des extraits actifs
 - calcul index sélectivité
- Fractionnement bioguidé des extraits actifs (1-2 sp sélect)
 - Isolement PA → à valoriser?
 - Possibilités de Valorisation locale?

Prospection :

Démarche ethnopharmacologique

BUT: recenser les plantes traditionnellement utilisées dans le traitement de la malaria au BF (et dans la ss-rég°)

→ **Données ethnobotaniques**

SOURCES:

- Enquêtes ethnobotaniques de JDM (Boulkiemdé et Sanguié)
- Thèses locales sur le sujet
- Conseils (Profs. Nikiéma JB, Nacoulma O., Millogo J.)
- Livres de références :

* TRAORE Dominique, Médecines et magies africaines ou Comment le noir se soigne, Ed. Présences africaines, 1983

* POUSSET J-L : Plantes médicinales d'Afrique, comment les reconnaître et les utiliser ?, 2004, Edisud

* ARBONNIER Michel, Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest, 2^e édition CIRAD, MNHN, 2002

→ **72 sp recensées dans le traitement tradi du palu**

Sélection

- **BUT**: Sélectionner les sp les plus intéressantes à tester

- **CRITERES DE SELECTION :**

1. Ethnopharmacologie

2. Données biblio :

→ Elimination des espèces trop connues ou déjà étudiées sur le plan antiplasmodial (sauf si étude ancienne et PA non identifié)

+ lien de chimiotaxonomie (ex. Bauhinia, Dicoma)

3. Autres critères de sélection:

- Disponibilité

- Possibilité de valorisation (cadre partenariat JDM)

→ éviter les racines, les plantes toxiques cn,

→ possibilité de plantations

→ **13 sp sélectionnées – 17 échantillons vég. récoltés**

	<i>Espèces</i>	<i>Famille</i>	<i>Echantillon</i>	<i>Lieu de récolte (* = Herboriste)</i>
1	<i>Bauhinia rufescens</i>	FABACEAE	Feuilles Tiges	Koudougou Koudougou
2	<i>Bergia suffruticosa.</i>	ELATINACEAE	Plante entière	Koudougou*
3	<i>Boswellia dalzielii</i>	BURSERACEAE	Feuilles	Kassou
4	<i>Crossopteryx febrifuga</i>	RUBIACEAE	Feuilles	Banfora
5	<i>Dicoma tomentosa</i>	ASTERACEAE	Plante entière	Banfora*
6	<i>Dyschoriste perrottetii</i>	ACANTHACEAE	Parties aériennes	Koudougou*
7	<i>Ficus thonningii</i>	MORACEAE	Feuilles	Godin
8	<i>Gardenia sokotensis</i>	RUBIACEAE	Feuilles	Godin
9	<i>Jatropha gossypifolia</i>	EUPHORBIACEAE	Feuilles	Bonyolo
10	<i>Loeseneriella africana</i>	CELASTRACEAE	Feuilles	Banfora
11	<i>Psorospermum senegalense</i>	CLUSIACEAE	Feuilles	Banfora
12	<i>Vitellaria paradoxa</i>	SAPOTACEAE	Feuilles Ecorces Ecorces 2	Réo Godin Réo
13	<i>Waltheria indica</i>	STERCULIACEAE	Racines Tiges feuillées	Réo Réo



Récolte et séchage

- Région du Centre Ouest

→ Provinces du Boulkiemdé (Koudougou)
et du Sanguié (Réo)

→ JDM

- Région des Cascades (Sud-Ouest)

→ Province de la Comoé

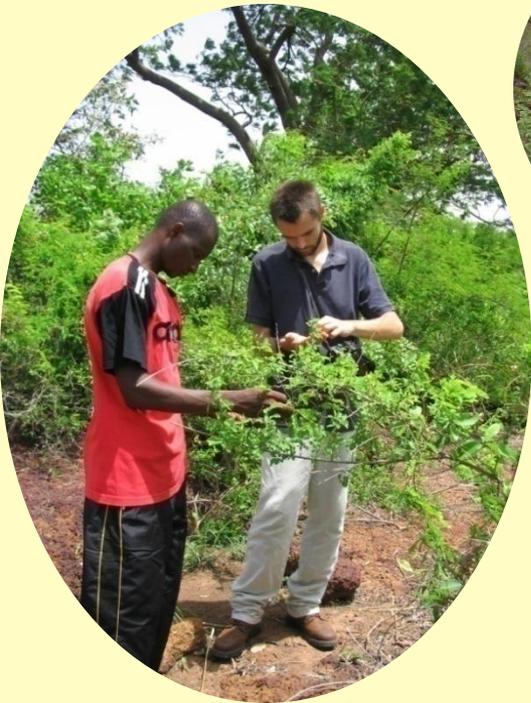
→ Dr Dakyuo Z.

- **Lavage**: à l'eau claire

- **Séchage**: pièce ventilée

Sauf * : récolté chez des herboristes





Extraits pour tests antiplasmodium

2 g poudre de plante

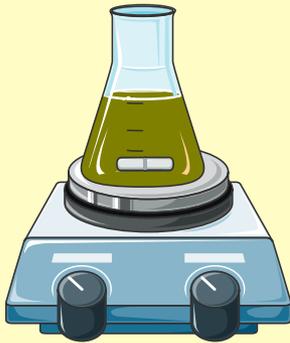
+ 25 ml de solvant (MeOH ou CH_2Cl_2)

→ 30 min à froid

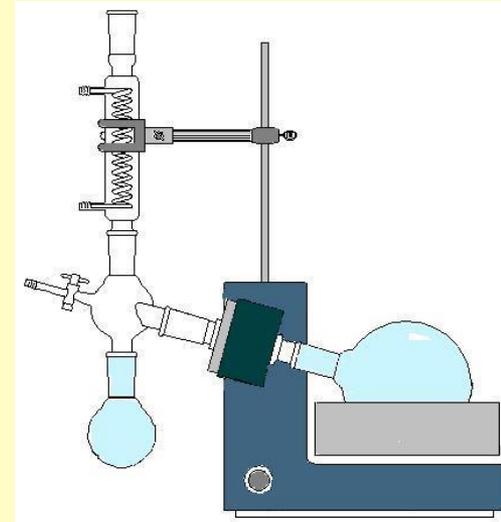
→ Filtrer

→ Recommencer 2 X

→ Évaporation filtrat à sec



Filtration



Extraits aqueux : 2 g poudre de plante

→ Décoction 1H (100ml eau)

→ lyophilisation

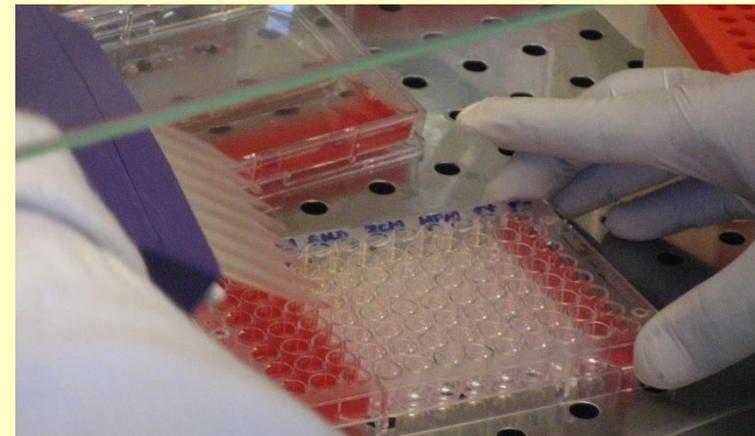
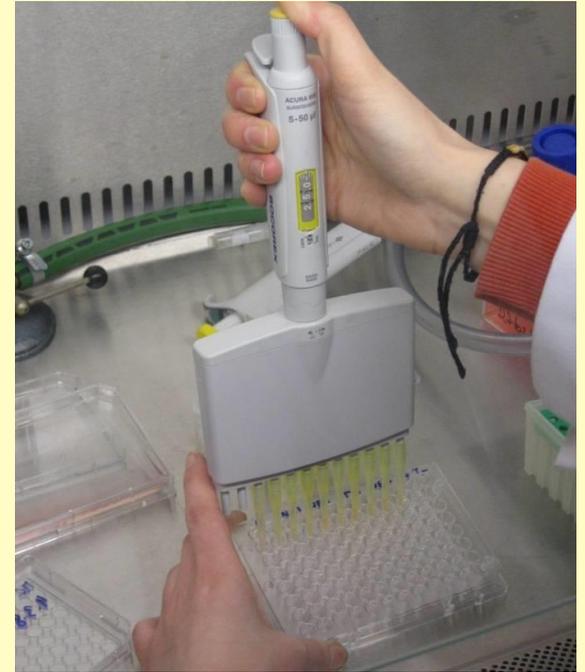
Rendements d'Extraction

RENDEMENTS d'EXTRACTION				
Espèces		EAU	MeOH	DCM
<i>Bauhinia rufescens</i>	Feuilles	33,4 %	24,20 %	2,24 %
<i>Bauhinia rufescens</i>	Tiges	27,1 %	7,10 %	0,70 %
<i>Bergia suffruticosa</i>	Pl. entière	16,7 %	12,68 %	1,24%
<i>Boswellia dalzielii</i>	Feuilles	15,8 %	24,71%	4,65 %
<i>Crossopteryx febrifuga</i>	Feuilles	31,9 %	29,99 %	4,02 %
<i>Dicoma tomentosa</i>	Pl. entière	2,6 %	4,09 %	3,85 %
<i>Dyschoriste perrottetii</i>	Pl. entière	8,3 %	7,28 %	4,75 %
<i>Ficus thonningii</i>	Feuilles	25,6 %	10,55 %	1,83 %
<i>Gardenia sokotensis</i>	Feuilles	23,3 %	17,94 %	9,11 %
<i>Jatropha gossypifolia</i>	Feuilles	27,5 %	8,84 %	2,77 %
<i>Loeseneriella africana</i>	Feuilles	30,0 %	13,15 %	2,91 %
<i>Psorospermum senegalense</i>	Feuilles	24,3 %	22,28 %	2,79 %
<i>Vitellaria paradoxa</i>	Feuilles	16,2 %	22,63 %	5,36 %
<i>Vitellaria paradoxa</i>	Ecorces	25,2 %	17,14 %	3,71 %
<i>Vitellaria paradoxa</i>	Écorces lot 2	16,2 %	19,09 %	4,13 %
<i>Waltheria indica</i>	Tiges feuill.	23,8 %	10,47 %	1,33 %
<i>Waltheria indica</i>	Racines	33,4 %	15,27 %	0,61%

Tests antiplasmodium

Souche : *P. falciparum* 3D7 (CQ-sens.)

1. Extraits mis en solution dans le DMSO (C = 10 mg/ml)
2. Boîte 96-puits :
Dilution de la S° mère extraits avec milieu culture (de 2 en 2)
3. Suspension parasitée
(H = 1% et P = 2% (ring))
C= 100 μ g/ml - 0,78 μ g/ml
4. t = 48 h - congel. 24h



Drogue de référence: artémisinine (IC₅₀: 5 ng/ml)

Tests antiplasmodium

Révélation colorimétrique ($A_{630 \text{ nm}}$)

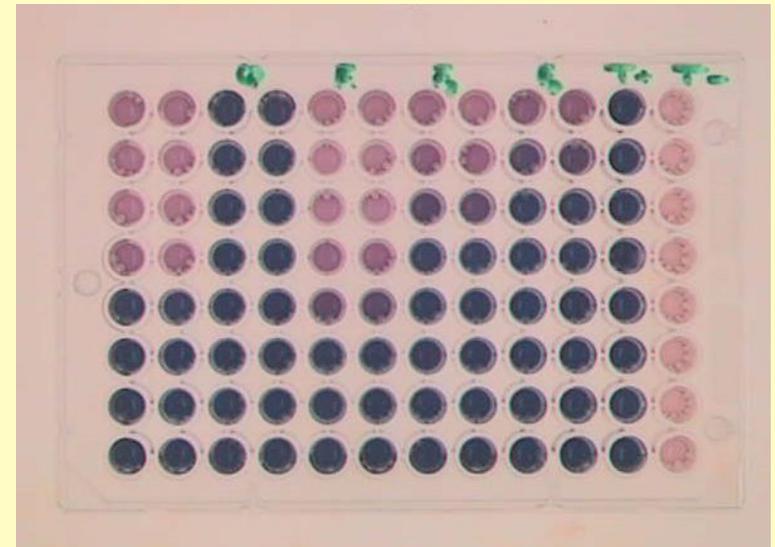
Inhibition de la croissance plasmodiale
calculée en % par rapport à un T+ non
traité fixé à 100% de croissance

Calcul IC 50 : par régression linéaire

Critères de sélection:

- ❖ $IC_{50} \leq 15 \mu\text{g/ml}$: bonne activité
- ❖ $15 \mu\text{g/ml} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$: activité modérée
- ❖ $IC_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$: inactivité

Chaque condition en duplicate; $n \geq 2$



<i>P. falciparum</i> 3D7		Extr DCM (µg/ml)			EXTR MeOH (µg/ml)			EXTR. H ₂ O (µg/ml)		
		IC 50	σ	n	IC 50	σ	n	IC 50	σ	n
Bauhinia rufescens	fe.	52,96	7,43	3	> 100	-	2	> 100	-	2
Bauhinia rufescens	tg.	> 100	-	2	> 100	-	2	> 100	-	2
Bergia suffruticosa	pl.	19,53	2,5	3	> 100	-	2	> 100	-	2
Boswellia dalzielli	pl.	41,01	11,30	3	18,85*	1,93	3	> 100	-	2
Crossopteryx febrifuga	fe.	56,86	5,15	3	> 100	-	2	> 100	-	2
Dicoma tomentosa	pl.	7,90	0,26	3	7,04	1,15	3	21,87	6,33	3
Dyschoriste perrottetii	pl.	> 100	-	2	> 100	-	2	> 100	-	2
Ficus thonningii	fe.	58,74	9,65	3	> 100	-	2	> 100	-	2
Gardenia sokotensis	fe.	14,01	3,60	3	27,62	8,83	3	> 100	-	2
Jatropha gossypifolia	fe.	35,66	2,86	3	87,65	7,84	3	> 100	-	2
Loeseneriella africana	fe.	> 100	-	2	> 100	-	2	> 100	-	2
Psorospermum senegalense	fe.	10,03	2,00	3	80,46	13,61	3	> 100	-	2
Vitellaria paradoxa	éc 1	43,94	13,44	4	78,11	12,25	3	> 100	-	2
Vitellaria paradoxa	éc. 2	81,24	10,19	3	> 100	-	2	> 100	-	2
Vitellaria paradoxa	fe. 2	55,45	12,60	4	> 100	-	2	> 100	-	2
Waltheria indica	t.f.	33,73	13,44	4	57,21	11,64	2	> 100	-	2
Waltheria indica	rac.	29,71	6,23	3	62,09	14,80	2	> 100	-	2

En Résumé...

Sur 13 espèces testées :

✓ 8 sp. actives:

→ 3 sp. : bonne activité ($IC_{50} < 15 \mu\text{g/ml}$)

Dicoma tomentosa, *Psorospermum senegalense*, *Gardenia sokotensis*

→ 5 sp. : activité modérée ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$)

Bergia suffruticosa, *Boswellia dalzielii*, *Waltheria indica*, *Jatropha gossypifolia*, *Vitellaria paradoxa* (1)

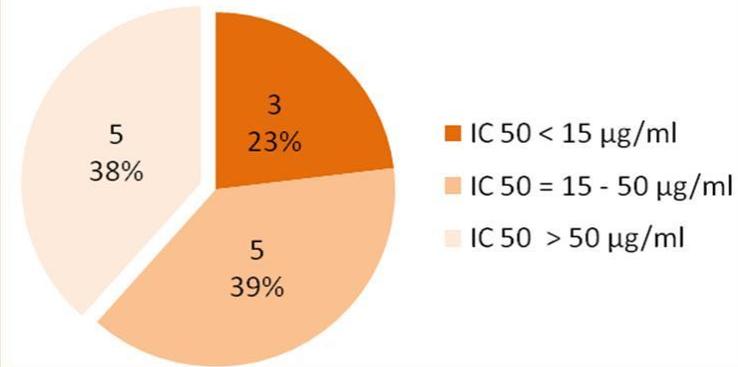
→ confirmation usage traditionnel contre le paludisme

Première sélection :

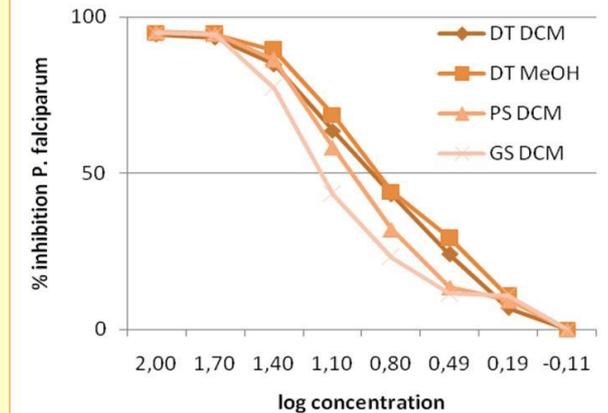
→ Pour les extraits dont $IC_{50} < 15 \mu\text{g/ml}$

→ cytotoxicité sur fibroblastes humains

Classification of studied species according to their antiplasmodial activities



Inhibition curves of *P. falciparum* growth against log concentration of extracts



Test de cytotoxicité

Souche WI 38 : fibroblastes humains normaux

BUT : calculer **index de sélectivité** afin de déterminer un différentiel de toxicité plasmodium vs cellules saines

$$IS = IC_{50} \text{ WI } 38 / IC_{50} \text{ 3D7}$$

Mode op :

Jour 1: Ensemencement des boîtes 96-puits (8000 cell./p)

Jour 2 : Traitement par des dilutions d'extraits

Jour 4 : Révélation colorimétrique par le WST-1 ($A_{450 \text{ nm}}$)

→ Inhibition de la croissance cellulaire calculée en % par rapport à un T+ non traité fixé à 100% de croissance

Calcul IC 50 : par régression linéaire

Chaque condition en triplicate; $n \geq 2$

RESUME EXTRAITS ACTIFS

Espèces	Extraits	IC 50 WI 38 (µg/ml)	IC 50 3D7 (µg/ml)	INDEX SELECT.	RENDEMENT d'extraction
<i>Dicoma tomentosa</i>	DT DCM	17,03	7,90	2,16	3,85 %
	DT MeOH	15,96	7,04	2,27	4,09 %
	DT aq	ND	21,87	ND	2,60 %
<i>Gardenia sokotensis</i>	GS DCM	12,67	14,01	0,90	9,11 %
<i>Psorospermum senegalense</i>	PS DCM	36,39	10,03	3,63	2,79 %

***Dicoma tomentosa* Cass.**

(ASTERACEAE)

Botanique : pas de syn.

Ethnobotanique: = Gômtigda (Mooré)

Toute la plante en décoction contre le paludisme des enfants avec inflammation de la rate (**lavements**) [1]

Tiges feuillées : aussi contre le paludisme des adultes en **usage interne** [2]

Phytochimie :

- Plusieurs **lactones sesquiterpéniques** isolées de *D. tomentosa* et *Dicoma sp.* (cf *artémisinine* ?)
- Plusieurs **flavonoïdes** (génines + hétérosides) isolés (quercétine, eupatine, eupatolitine,...)

Pharmacologie: **pas de données** pour *D. tomentosa*

Note : Rapport de l'activité antiplasmodiale de *D. anomala*



Psorospermum senegalense

Spach. (CLUSIACEAE)

Botanique : = *P. corymbiferum* Hochr = *P. lanatum* Hochr
= *P. guineense* Hochr. = *Vismia guineensis* Choisy !

Parfois classé dans fam. HYPERICACEAE ou GUTTIFERAE

Ethnobotanique: = Wilpenduugu (Mooré)

Tiges feuillées en décoction (bains, un peu en boisson) en association avec *Guiera senegalensis*, *Fadogia agrestis* et *Gardenia sokotensis* [1]

Feuilles : paludisme en usage interne ; **Racines et Ecorces** : paludisme, mais **toxique pour le rein et le foie** en Us. Int. [3]

AUTRES USAGES : Feuilles: calmantes, névralgies, toux et bronchite, dermatose, épilepsie; *P. Guineense* inscrit au FTN Mali contre les dermatoses en Us.Ext. (gale, lèpre, eczéma)



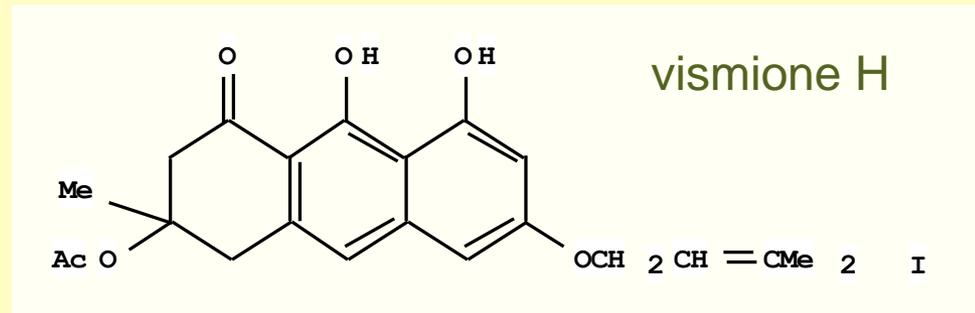
Psorospermum senegalense

Spach. (CLUSIACEAE)



Phytochimie :

- Pas d'études sur *P. senegalense* ni *P. guineense*
- *Vismia guineensis* : isolement anthraquinones, vismiones, flavonoides, xanthones ,benzophenones, bianthrones,...



Pharmacologie:

- Racines et écorces toxiques pour le foie et le rein
- *Vismia guineensis* → déjà étudié :
→ Vismione H et dérivés : propriétés antiplasmodiales prometteuses

Gardenia sokotensis

RUBIACEAE



Botanique : = *G. mossica* A. Chev.
= *Randia lucida* A. Chev. (obsolètes)

Ethnobotanique: = Tang-ra-kweenga (Mooré)

Tiges feuillées : utilisée contre la fièvre [1]

Tiges feuillées : contre le palu avec douleurs gastro-intestinales [2]

Rameaux feuillés : paludisme, ictère, coliques [3]

Tiges feuillées se trouvent chez les herboristes sur les marchés à Koudougou, utilisé contre le palu (JDM)

AUTRES USAGES: Tiges feuillées :

→ asthénie, courbatures fébriles, faiblesse, convulsions, céphalées, épilepsie, appendicite, fièvres, frissons, vomissement, fièvre bilieuse hématurique, ictère, gastro entérite, retard staturo pondéraux

Gardenia sokotensis

RUBIACEAE



Phytochimie :

Présence de **triterpènes**, **caroténoïdes** et **flavonoïdes** (Traoré, 2006)

Pharmacologie:

Extrait CH₂Cl₂/EtOH (7:3) présente une activité *in vivo* intéressante sur *P. berghei* ; 'extrait aqueux est faiblement actif (Traoré, 2006)

Note: *Gardenia sp* : Triterpènes antiplasmodiaux isolés des rameaux de *G. saxatilis* (Suksamrarn, 2003)

Perspectives :

Fractionnement bioguidé

→ *Dicoma tomentosa*

→ Rechercher lactones sesquiterpéniques à propriétés antiplasmodiales ou autre PA

→ tests sur *P. falciparum* + cytotoxicité

Tests sur souche CQ résistantes + Essais de potentialisation de la CQ (*D. tomentosa* ; *P. Senegalense*)

Test antiplasmodial in vivo (*D. tomentosa* ; *P. Senegalense*)

Merci pour votre attention !

Le débat est ouvert...