

Criblage Phytochimique et Activités Biologiques de Quatre Plantes Utilisées au Mali dans la Prise en Charge du Paludisme Chez les Enfants

Korotoumou Traoré,

Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

Mahamane Haidara,

Adama Denou,

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

Fatoumata Kanadjigui,

Marie Nyoni Sogoba,

Birama Diarra,

Département de Médecine Traditionnelle (DMT)/INRSP, Bamako, Mali

Seydou Maiga,

Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

Rokia Sanogo,

DER des Sciences Pharmaceutiques, Faculté de Pharmacie, Université de Bamako, Mali Département de Médecine Traditionnelle, Institut National de Recherche en Santé Publique, Ministère de la Santé Publique, Bamako, Mali

Doi: 10.19044/esj.2019.v15n6p210 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n6p210](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n6p210)

Résumé

Contexte : Selon les résultats d'une enquête menée dans différentes zones écologiques et culturelles au Sud du Mali, beaucoup de plantes médicinales sont utilisées dans la prise charge du paludisme chez les enfants, dont *Annona senegalensis*, *Flueggea virosa*, *Gymnosporia senegalensis* et *Vitex doniana*. Nous avons approfondi les études sur la composition phytochimique, la sécurité d'emplois et les activités contre les symptômes du paludisme. **Objectifs :** Caractériser les métabolites secondaires, déterminer la toxicité aiguë, vérifier l'activité hémolytique et évaluer les propriétés antalgiques, antipyrétiques et antiinflammatoires des quatre plantes. **Méthodologie :** La composition phytochimique a été déterminée par des réactions colorées en tube. L'activité hémolytique a été évaluée par CCM, révélée par le sang humain. La toxicité aiguë et les activités biologiques ont

été déterminées *in vivo* chez les souris et les rats. **Résultats :** Les coumarines, stéroïdes, terpènes, tanins et flavonoïdes ont été caractérisés dans les extraits aqueux des quatre plantes. Ces extraits n'ont pas présenté de constituants qui provoquent l'hémolyse. Les décoctés administrés par voie orale à la dose de 2000 mg /Kg chez des souris n'ont pas provoqués d'effets toxiques et de mortalité. Les décoctés administrés par voie orale à la dose de 100 et 200 mg /Kg chez des souris ont montré des remarquables activités antalgique, anti-inflammatoire et chez les rats l'activité antipyrétique. **Conclusion:** Ces résultats préliminaires valident l'utilisation traditionnelle des quatre plantes dans la prise en charge des symptômes du paludisme chez les enfants.

Mots-clés: Plantes médicinales, sécurité, antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire

Phytochemical Screening and Biological Activities of Four Plants Used in Mali in the Taking Care of Malaria in Children

Korotoumou Traoré,

Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

Mahamane Haidara,

Adama Denou,

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

Fatoumata Kanadjigui,

Marie Nyoni Sogoba,

Birama Diarra,

Département de Médecine Traditionnelle (DMT)/INRSP, Bamako, Mali

Seydou Maiga,

Faculté des Sciences et Techniques (FST), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Mali

Rokia Sanogo,

DER des Sciences Pharmaceutiques, Faculté de Pharmacie, Université de Bamako, Mali Département de Médecine Traditionnelle, Institut National de Recherche en Santé Publique, Ministère de la Santé Publique, Bamako, Mali

Abstract

Introduction: According to the results of a survey conducted in different ecological and cultural areas in southern Mali, many medicinal plants are used by traditional paediatricians in taking charge of malaria in children. The survey highlighted the use of four plants, which we decided to carry out further study on phytochemical composition, safety of use and activity against symptoms of malaria. **Objectives:** To characterize secondary metabolites, to determine acute toxicity, to check haemolytic activity, and to evaluate the analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Annona senegalensis*, *Flueggea virosa*, *Gymnosporia senegalensis*, and *Vitex doniana*. **Methods:** The phytochemical composition of the aqueous extracts of the leafy twigs of the four plants was determined by coloured tube reactions. Haemolytic activity was assessed by TLC and revealed by human blood. Acute toxicity and biological activities were determined *in vivo* in mice and

rats. **Results:** Coumarins, sterols, tri-terpenes, tannins and flavonoids were characterized in the aqueous extracts of the leafy twigs of the four plants. These decocts did not show any constituents that cause haemolysis. Decoctions given orally at the dose of 2000 mg / kg in mice did not cause toxic effects and mortality. Decoctions administered orally at the dose of 100 and 200 mg / kg showed remarkable analgesic, anti-inflammatory (in mice), and antipyretic (in rat) activities. **Conclusion:** These preliminary results validate the traditional use of the four plants in the management of malaria symptoms in children.

Keywords: Medicinal plants, analgesic, antipyretic, inflammatory

Introduction

L'OMS (2001) estime à plus de 80% la population africaine ayant toujours recours à la médecine traditionnelle en matière de soins de santé primaires. Des études conduites par le programme « Faire reculer le paludisme » en 1998 indiquent qu'au Ghana, au Mali, au Nigéria et en Zambie, le traitement de première intention pour 60% des enfants atteints de forte fièvre due au paludisme fait appel aux plantes médicinales, administrées à domicile (Guedje, Tadjouteu, & Dongmo, 2013).

Selon une étude en (RCI), 100% des enfants ont reçu des soins traditionnels soit avant ou de manière juxtaposée à la médecine moderne aux cours de leur hospitalisation (Konan, 2012).

Au Mali malgré les progrès accomplis dans le domaine de la prévention et du traitement du paludisme, l'Annuaire statistique du Système Local d'Information Sanitaire (SLIS) en 2014, révèle que le paludisme se situe toujours au 1^{er} rang des affections et représente 40,08% des motifs de consultations. Les enfants de 0 à 5 ans et les femmes enceintes constituent les cibles qui paient plus de tribut pour le paludisme. La prévalence palustre parmi les enfants âgés de 6 à 59 mois est de 52% (EDSM V, 2012-2013).

En plus des pertes en vies humaines, le paludisme coûte cher aux états à cause des dépenses de santé publique et la perte de capacité de travail (EDSM V, 2012-2013).

Une enquête menée en 2010 auprès des pédiatres traditionnelles sur la prise en charge des maladies infantiles dans différentes zones écologiques au Sud du Mali, a permis de recenser de nombreuses plantes médicinales utilisées dans le traitement du paludisme chez les enfants (Traoré, 2010). Une autre étude menée au Mali (Traoré, 2014) a confirmé en général la très forte utilisation des soins traditionnels chez les enfants, malgré la disponibilité et l'accessibilité de la médecine moderne. En effet, 96,7% des mères de ladite étude ont eu recours aux soins traditionnels pour traiter leurs enfants. Cette

situation reste invariable quel que soit le niveau d'instruction, les conditions socioculturelles ou la religion des parents.

Dans le cadre de la mise au point de nouveaux phytomédicaments pour la prise en charge du paludisme chez les enfants, la présente étude a pour but d'étudier la Phytochimie, la Sécurité d'emploi et les Activités antalgique, antiinflammatoire et antipyrétique des quatre plantes utilisées dans le traitement de la fièvre palustre chez les enfants, notamment *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) Royle (Phyllanthaceae), *Gymnosporia senegalensis* (Lam.) (Celastraceae) et *Vitex doniana* (Sweet) (Lamiaceae), dont l'enquête du 2010 avait mis en évidence l'utilisation par les pédiatres traditionnelles.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Les rameaux feuillés de *Annona senegalensis* (*A. senegalensis*), *Flueggea virosa* (*F. virosa*), *Gymnosporia senegalensis* (*G. senegalensis*), *Vitex doniana* (*V. Doniana*) ont été récoltés en juillet 2015 à Bamako (Mali). Les plantes ont été identifiées et authentifiées au Département de Médecine Traditionnelle de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (DMT/INRSP), sous les Numéros : *F. virosa* 1356/DMT, *G. senegalensis* 0239/DMT, *A. senegalensis* 281/DMT, *V. doniana* 2003/DMT.

Animals

Des souris Albinos Swiss pesant entre 20 - 25 g et des rats pesant entre 100 - 150 g, de l'un ou l'autre sexe, ont été obtenus auprès de l'animalerie du DMT/INRSP. Les animaux ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard (25 ° C) avec des cycles lumière/obscurité de 12/12 h) et ont été nourris avec une alimentation préparée au DMT, avec libre accès à l'eau du robinet.

Extractions

Pour les études de la toxicité et les activités biologiques (activité hémolytique, antalgique, antiinflammatoire et antipyrétique) nous avons utilisés la décoction qui est la forme traditionnelle la plus utilisé (88,88%) dans le traitement du paludisme des enfants (Traoré, 2010).

Les rameaux feuillés des 4 plantes ont été séchés à l'ombre pendant deux semaines puis ont été réduits en poudre. Deux cent cinquante grammes de poudre de chaque échantillon ont été bouillis dans de l'eau distillée (2500 mL) pendant 15 minutes. Les décoctés ont été filtrés. Les filtrats ont été évaporés à sec sous vide. Les extraits secs obtenus ont été stockés au réfrigérateur à 4-8 ° C jusqu'à l'utilisation.

Etudes phytochimiques

Les grandes familles de métabolites secondaires ont été recherchées dans les plantes suivant les méthodes classiques de caractérisation. Les tanins et polyphénols ont été identifiés par le test au FeCl₃ et le réactif de Stiasny ; les flavonoïdes par la réaction à la cyanidine ; les saponosides par le test de mousse; les tri-terpènes et stéroïdes par le test de Liebermann-Burchard et enfin les alcaloïdes par les tests de Mayer et Dragendorf (Bruneton J, 1999 ; Evans WC, 2002).

Les groupes chimiques ont été caractérisés par des réactions colorées et de précipitations en tube et par la chromatographie en couche mince.

Les flavonoïdes ont été caractérisés par le test Shibata, les tanins et les polyphénols par le test de chlorure ferrique. Le test de Liebermann-Buchard a permis de caractériser les tri-terpènes et stéroïdes. La caractérisation des saponosides est basée sur l'apparition des mousses après agitation des extraits.

Evaluation de la toxicité

Test de l'activité hémolytique : Mode opératoire selon Paris et Moyses, 1965

Les extraits secs des décoctés à analyser ont été dissous à raison de 10 mg/mL, 20 mg/mL et 50 mg/mL dans du mélange méthanol : eau (1:1). Les chromatogrammes ont été obtenus avec les extraits aqueux des décoctés des quatre plantes dans le système de solvant acétate d'éthyle – méthylethylcétone - acide formique - eau (50-30-10-10). Les chromatogrammes ont été ensuite aspergés de sang, puis séchés à l'air libre. Les constituants provoquant l'hémolyse apparaissaient sous formes de taches blanches sur fond rouge.

Détermination de la dose toxique [OCDE, 2001]

Le test de toxicité aiguë par voie orale a été effectué selon les directives de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). Les souris ont été mises en jeun pendant 4 heures avec un accès libre à l'eau. Elles ont été divisées au hasard en cinq groupes de trois souris femelles et traités par voie orale avec une dose unique d'extraits bruts aqueux de rameaux feuillés des quatre plantes (2000 mg/kg) ou d'eau distillée (20 ml/kg) utilisée comme contrôle négatif. Les animaux ont été observés pendant les quatre premières heures après le traitement pour enregistrer des cas de morts immédiats et une fois par jour pendant 14 jours pour enregistrer des morts tardifs.

Activité antalgique

L'activité analgésique a été testée à l'aide de souris albinos Swiss (pesant de 20 à 25 g) de l'un ou l'autre sexe. Les animaux ont été randomisés

en dix groupes de six souris. Les groupes I et II ont été traités par voie orale respectivement avec de l'eau distillée (25 ml/kg) utilisée comme groupe contrôle négatif et le paracétamol (100 mg/kg) utilisé comme médicament de référence. Les groupes restants ont été traités par voie orale avec les décoctés (100, 200 mg/kg). Une heure après ces traitements, les animaux ont reçu par injection intrapéritonéale (IP) une solution d'acide acétique à 1%. Le nombre de contorsions a été compté pendant 20 minutes, en commençant 5 minutes après l'injection d'acide acétique (Siegmund, Cadmus, & Lu, 1957). La valeur moyenne pour chaque groupe a été calculée et comparée au groupe contrôle négatif. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés en utilisant la formule suivante:

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

- Wc représente la moyenne du nombre de contorsions des souris du groupe contrôle négatif ;
- Wt est la moyenne du nombre de contorsion des souris des groupes traités par les extraits et le paracétamol.

Activité anti-inflammatoire

L'inflammation aiguë a été produite par l'injection de carraghénine dans la région sous-plantaire de la patte postérieure droite des souris (Winter, Risley, & Nuss, 1963). Les souris Albinos Swiss de l'un ou l'autre sexe ont été randomisées en dix groupes de six souris. Les groupes I et II ont été traités par voie orale respectivement avec de l'eau distillée (25 ml/kg) utilisée comme groupe contrôle négatif et l'indométacine (8 mg/kg) utilisé comme médicament de référence, tandis que les groupes restants ont été traités par voie orale avec les décoctés des plantes (100 et 200 mg/kg). Une heure après les traitements, 0,025 ml d'une suspension de carraghénine à 1% ont été injectées dans la patte postérieure droite des animaux. Le volume de la patte a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. Les mesures ont été déterminées à 0 h (V0): avant injection de la carraghénine) et à des intervalles de 1, 3 et 5 h plus tard (VT). La différence entre VT (1, 3 et 5 h) et V0 a été prise comme valeur d'œdème. Le volume moyen de la patte pour chaque groupe a été calculé et comparé au groupe contrôle négatif. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(VT - V0) \text{ contrôle négatif} - (VT - V0) \text{ groupe traité}] \times 100}{(VT - V0) \text{ contrôle négatif}}$$

Activité antipyrétique

L'activité antipyrétique des décoctés a été évaluée en utilisant la pyrexie induite par la levure chez les rats mâles ((Loux, Depalma, & Yankell, 1972). Les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures avec un accès libre à l'eau. À 0 h, les températures basales des rats ont été prises en utilisant un thermomètre

clinique numérique. Ensuite, chaque animal a reçu par voie sous-cutanée une suspension aqueuse à 20% de levure. La température rectale des animaux a été prise 24 heures après l'injection de levure. Les animaux avec une augmentation de température de 0,5 ° C ont été sélectionnés et regroupés en huit groupes de cinq rats et traités par gavage. Un groupe a été traité avec du paracétamol (100 mg/kg) comme médicament de référence. Un deuxième groupe a reçu de l'eau distillée (10 ml/kg) utilisée comme groupe contrôle négatif. Les groupes restants ont été traités avec les décoctés (100 et 200 mg/kg). La température rectale des rats a été prise chaque heure pendant 4 heures après l'administration des traitements. La valeur moyenne pour chaque groupe a été calculée et comparée au groupe contrôle négatif.

Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats a été réalisée par comparaison de chaque lot d'animaux traités par rapport aux témoins en utilisant le test t de Dunnett à l'aide du logiciel Graph Prism version 6. Les différences sont considérées comme significatives si la valeur de « p » est inférieure à 0,05 par rapport au groupe contrôle négatif.

n = 5. *P < 0.05; **P < 0.01; *** P < 0.001 et **** P < 0.0001.

Résultats

Phytochimie

Tableau 1 : Groupes chimiques des rameaux feuillés de *Annona senegalensis* (AS), *Flueggea virosa* (FG), *Gymnosporia senegalensis* (GS), *Vitex Doniana* (VD)

Groupes chimiques	Rameaux feuillés des plantes			
	A S	F V	G S	V D
Alcaloïdes	-	-	-	-
Tanins	+++	+++	+++	+++
Tanins catéchiques	+++	+++	+++	+++
Tanins galliques	-	-	-	-
Anthocyanes	++	-	-	-
Flavonoïdes	+++	++	++	+
Anthraquinones	+++	++	++	+++
O-hétérosides	+	+++	++	++
C-hétérosides	+	+	-	-
Stérols et triterpènes	++	+++	+++	+++
Caroténoïdes	-	-	+++	-
Coumarines	++	++	+++	++
Hétérosides cardiotoniques	-	-	-	-
Composés réducteurs	-	-	-	-
Oses et Holosides	-	+	+	-
Mucilages	+++	++	+	-
Saponosides	++	++	++	+

++++ Très abondant; +++ abondant; ++ présence modérée; + faible; - absent.

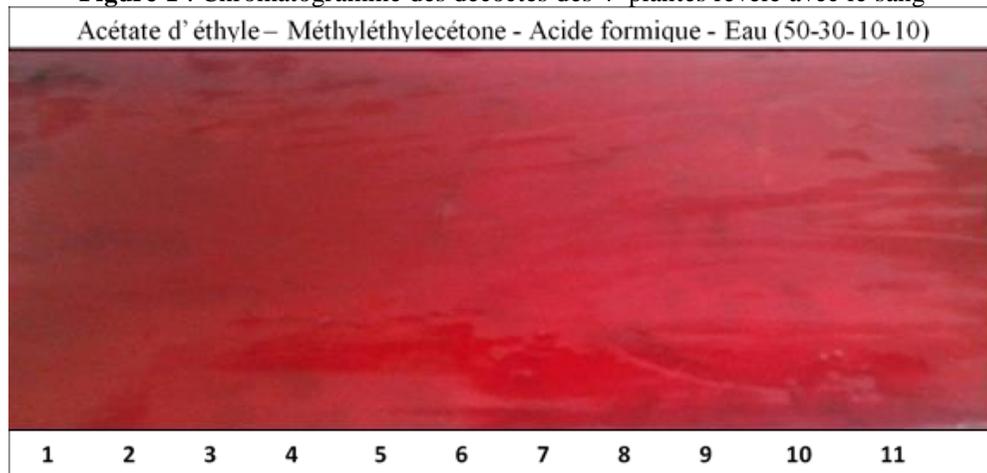
Les analyses phytochimiques des extraits des rameaux feuillés des quatre plantes *A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis*, *V. doniana* donnent des résultats qui sont repris dans le tableau 1. L'analyse de ces résultats montre que tous les extraits étudiés contiennent des flavonoïdes, des anthraquinones, des tanins, des stérols et tri-terpènes, des coumarines. Nous avons noté l'absence des alcaloïdes, des composés réducteurs, les glycosides cardiotoniques, les dérivés cyanogéniques, et les C-hétérosides dans nos extraits.

Evaluation de la sécurité d'emploi

Test de l'activité hémolytique

Le chromatogramme obtenu avec les extraits aqueux des décoctés des rameaux feuillés des quatre plantes, révélés avec du sang humain prélevé sur le citrate de sodium, n'a pas présenté de constituants qui provoquent l'hémolyse (Figure 1).

Figure 1 : Chromatogramme des décoctés des 4 plantes révélé avec le sang



F. virosa (1 = 10 mg/mL; 2 = 20mg/mL ; 3 = 50mg/mL) ; *G. senegalensis* (3 = 10 mg/mL ; 4 = 20mg/mL ; 5 = 50mg/mL) *A. senegalensis* (6 = 10 mg/mL; 7 = 20mg/mL ; 8 = 50mg/mL) ; *V. doniana* (9 = 10 mg/mL ; 11 = 20mg/mL ; 12 = 50mg/mL)

Détermination de la dose toxique [OCDE, 2001] (toxicité aigüe)

L'administration orale des décoctés des rameaux feuillés de *G. senegalensis*, *A. senegalensis*, *F. virosa* et *V. doniana* à la dose de 2000 mg/Kg p.c. aux souris n'a pas changé le comportement des animaux et il n'y a pas provoqué de mort au cours des 14 jours d'observation.

Activité analgésique

Les extraits (100 - 200mg/kg) des quatre plantes et le paracétamol (100 mg/kg) ont significativement ($p < 0,0001$) réduit le nombre de contorsions induites par l'acide acétique par rapport à l'eau distillée. Le meilleur effet

analgésique a été obtenu avec le décocté de *G. senegalensis* (100 mg/kg) avec 56,7% d'inhibition (voir tableau 2).

Tableau 2: Effets des extraits de *A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis* et *V. doniana* sur la contorsion induite par l'acide acétique chez les souris.

Traitements	Doses (mg/kg)	Nombre moyen de contorsion (M±DS)	% Inhibition
Eau distillée	25 mL/kg	72±8,18	
<i>Annona senegalensis</i>	100	61,6±10,21	14,4
<i>Annona senegalensis</i>	200	39,2±4,15****	45,6
<i>Flueggea virosa</i>	100	35,4±3,64****	50,8
<i>Flueggea virosa</i>	200	40,8±6,72****	43,3
<i>Gymnosporia senegalensis</i>	100	31,2±7,01****	56,7
<i>Gymnosporia senegalensis</i>	200	38,2±9,03****	46,9
<i>Vitex doniana</i>	100	47,6±8,70****	33,9
<i>Vitex doniana</i>	200	32,6±4,66****	54,7
Paracétamol	100	33,66±4,16****	53,3

Les données sont exprimées en moyenne ± DS, *P < 0.05; **P < 0.01; *** P < 0.001 et **** P < 0.0001 comparé au groupe de contrôle négatif (test de comparaison multiple de Dunnett)

Activité anti-inflammatoire

Les décoctés des quatre plantes et l'indométacine administrés par voie orale chez la souris ont réduit significativement ($p < 0,5 - 0,0001$) l'œdème provoqué par l'injection de la carraghénine comparativement au groupe contrôle négatif (voir tableau 3). La meilleure activité anti-inflammatoire a été obtenue à la 5^{ème} heure avec l'extrait aqueux de *F. virosa* (200 mg/kg) avec un pourcentage d'inhibition de 88,7% (voir tableau 3).

Tableau 3: Effets des extraits *A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis* et *V. doniana* sur l'œdème induite par injection de la carraghénine chez les souris.

Traitements (doses)	Volume moyen de l'œdème de la patte (mm)			% Inhibition		
	1 Heure	3 Heures	5 Heures	1 Heure	3 Heures	5 Heures
Eau distillée (25mL/kg)	0,92±0,1	1,05±0,3	0,81±0,2			
<i>A. senegalensis</i> (100mg/kg)	0,67±0,3	0,55±0,09**	0,33±0,2**	27,17	47,62	59,26
<i>A. senegalensis</i> (200mg/kg)	1,08±0,6	0,49±0,1***	0,18±0,08****	-17,39	53,33	77,78
<i>F. virosa</i> (100mg/kg)	0,78±0,2	0,54±0,1**	0,26±0,1***	15,22	48,57	67,9
<i>F. virosa</i> (200mg/kg)	0,88±0,2	0,26±0,2****	0,094±0,04****	4,35	75,24	88,4
<i>G. senegalensis</i> (100mg/kg)	0,52±0,4*	0,34±0,1****	0,13±0,1****	44,02	67,62	83,95
<i>G. senegalensis</i> (200mg/kg)	0,83±0,2	0,4±0,09****	0,37±0,09**	9,78	61,9	53,83
<i>V. doniana</i> (100mg/kg)	0,84±0,1	0,69±0,2*	0,63±0,2	9,13	34,29	22,72
<i>V. doniana</i> (200mg/kg)	0,81±0,5	0,66±0,3*	0,57±0,2	11,74	37,14	29,14
Indométacine (8mg/kg)	0,74±0,04	0,62±0,2*	0,34±0,1**	19,57	40,95	58,02

Les données sont exprimées en moyenne ± DS, *P < 0.05; **P < 0.01; *** P < 0.001 et **** P < 0.0001 comparé au groupe de contrôle négatif (test de comparaison multiple de Dunnett)

Activité antipyrétique

Le résultat de l'activité antipyrétique des extraits est présenté dans le tableau 4. Les décoctés des quatre plantes ont considérablement réduit l'hyperthermie induite par la levure par rapport au groupe contrôle (eau distillée). À la troisième heure, nos quatre plantes ont un effet antipyrétique comparable à celui du médicament de référence (paracétamol).

Tableau 3: Effets des extraits de *A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis* et *V. doniana* sur l'hyperthermie induite par injection de la levure chez les rats

Extraits (Doses)	Température (°C)					
	T-24 Heures	0 Heure	1 Heure	2 Heures	3 Heures	4 Heures
E D (25mL/kg)	37,7±0,4	38,9±0,65	39,6±0,29	39,4±0,43	39,8±0,7	39,7±0,45
A S (200mg/kg)	36,9±0,15	38,1±0,61	38±0,49****	37,8±0,30****	37,7±0,4****	37,6±0,49****
F V (200mg/kg)	37,4±0,67	38,3±0,17	38,5±0,85**	38,4±0,53*	38,1±0,5****	37,7±0,36****
M S (100mg/kg)	37±0,47	37,9±0,72	38,6±0,61*	38,4±0,72*	37,9±0,75****	37,8±0,8****
V D (200mg/kg)	36,4±0,78	38±0,64	37,8±0,46****	37,5±0,45****	37,4±0,79****	37,4±0,79****
Paracétamol 100mg/kg	37±0,33	38,2±0,32	38,1±0,49***	37,6±0,36****	37,2±0,24****	37,2±0,29****

Les données sont exprimées en moyenne ± DS, n = 5. * P <0,05; ** P <0,01; *** P <0,001 et **** P <0,0001 comparé au groupe contrôle négatif (test de comparaison multiple de Dunnett).

Discussions

Etude phytochimique

Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins, des flavonoïdes, et polyphénols, des saponosides et des tri-terpènes dans les extraits des quatre plantes. Des études antérieures ont montré les effets anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des tanins, des flavonoïdes, des saponosides et des tri-terpènes (Akindede & Adeyemi, 2007 ; Bose et al., 2007; Ableto et al., 2007).

Le rapprochement de la relation entre constituants actifs et pratiques traditionnelles de soins nous permet de dire que :

Les tanins, les flavonoïdes, les saponosides et les tri-terpènes pourraient être à l'origine de la prise en charge des symptômes du paludisme (fièvres palustres, inflammations et douleurs)

Les tri-terpènes ont des propriétés anti-malariques ; donc pourraient justifier l'utilisation de ces plantes dans le traitement du paludisme et même des accès pernecieux.

Les flavonoïdes possèdent une forte activité antiparasitaire sur un large spectre de parasites comme le genre *Plasmodium* et manifestent des activités antispasmodiques (Portet et al., 2007).

La présence de ces composés chimiques dans l'extrait des rameaux feuillés des quatre plantes pourrait être responsable des propriétés pharmacologiques observées.

Sécurité d'emploi

Activité hémolytique

L'absence de constituants provoquant l'hémolyse est un atout pour l'utilisation thérapeutique de nos plantes. Ces résultats confirment l'innocuité et sécurité d'emploi de la forme traditionnelle d'utilisation (décocté) de chacune des quatre plantes.

Détermination de la dose toxique [OCDE, 2001] (toxicité aigüe)

Pour toutes les plantes, avec une dose de 2000 mg/ kg, aucune mortalité ou aucun signe de toxicité aigüe n'a été constaté chez les souris testées. Les DL₅₀ des extraits des décoctés des rameaux feuillés d'*A. senegalensis*, *G. senegalensis*, *F. virosa*, *V. Doniana* sont donc supérieures à la dose limite testée (Adebiyi, Elsa, Agaie, & Etuk, 2006) et peuvent être classée dans la catégorie 5, considérée comme non toxique par voie orale selon le Système de Classification Harmonisé Global de l'OCDE.

De nombreux travaux ont confirmé une sécurité d'emploi des feuilles de ces plantes. Tanko et al., (2008) ont trouvé une DL₅₀ de 1264.9 mg/kg avec l'extrait méthanolique des feuilles de *F. virosa* en administration intrapéritonéale chez des rats. Un résultat similaire a été obtenu par Yerima, Magaji, Yaro, Tanko, & Mohammed. (2009) avec une DL₅₀ de 1265 mg/kg. Dawang (2015) et Assob et al., (2011) ont trouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *V. doniana* n'était pas toxique jusqu'à 5000 mg/kg. L'extrait aqueux de feuilles de *G. senegalensis* administré par voie orale chez la souris n'était pas toxique (Sanogo, Maiga, & Diallo, 2006). Cependant, les extraits d'éthanol de feuille ou de tige administrée à des souris et des rats ont révélé certains signes de toxicité (Da Silva et al., 2011). En 2007, Ogbadoyi, Abdulganiy, Adama, & Okogun, ont trouvé que les feuilles de *A. senegalensis* n'étaient pas toxiques jusqu'à 5000 mg/Kg pc.

Activités biologiques

Dans cette étude nous avons démontré les propriétés antipyrétiques et antalgiques des extraits aqueux (décocté) des rameaux feuillés d'*A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis*, *V. doniana* 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 ces quatre plantes 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 d'*A. senegalensis*, *F. virosa*, *G. senegalensis*, *V. doniana*,

pourrait donc, en partie, justifier leurs usages dans la prise en charge du paludisme des enfants. Cette propriété pourrait 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 d'oxyde 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 neuro-paludisme (Combes, Coltel, Faille, Wassmer, & Grau, 2006; van der Heyde, Nolan, Combes, Gramaglia, & Grau, 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, Samet, Fetoui, Simmonds, & Bouaziz, 2016) des cytokines par les macrophages et les mastocytes (Ribeiro et al., 2000) et des leucotriènes via la voie de la lipo-oxygénase (Jain, Kulkarni, & Singh, 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 & Botting, 1996).

Cela suggère que les activités antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires de l'extrait aqueux (décocté) des rameaux feuillés de *F. virosa*, *G. senegalensis*, *A. senegalensis*, *V. doniana* 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 de cyclooxygénases (COX) (Vane & Botting, 1996).

Des études antérieures ont montré les effets anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques des quatre plantes. En effet, l'extrait aqueux de la racine (200 – 400 mg/kg) de *F. virosa* administré par voie orale a démontré une activité anti-inflammatoire en inhibant l'inflammation induite par l'albumine chez des souris. Le pourcentage d'inhibition était respectivement de 24,1% et 27,6% à la 5^{ème} heure après administration de l'albumine. Les mêmes extraits ont démontré une activité antipyrétique en réduisant la pyrexie induite par la levure chez des rats 2 heures après administration des extraits (Ezeonwumelu et al., 2012). Lorsque nos résultats sont comparés à ces résultats, nous constatons que notre extrait de *F. virosa* (200 mg/kg) avec 88,4% d'inhibition de l'œdème des pattes induit par la carraghénine à la 5^{ème} heure et une réduction de la pyrexie à la 1^{ère} heure après administration des extraits est plus actif que celui testé par Ezeonwumelu et al., 2012 sur des modèles expérimentaux d'inflammation et de pyrexie.

L'extrait aqueux des feuilles de *G. senegalensis* (120 mg / kg, per os) a démontré une activité antalgique *in vivo* avec 72% d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique. Ces extraits ont présentés également une activité anti-inflammatoire significative à la dose de 120 mg / kg, per os, avec 51% d'inhibition de l'œdème des pattes à la 5^{ème} heure (Sanogo et al., 2006). Lorsque nos résultats sont comparés à ces résultats nous constatons que notre extrait de *G. senegalensis* avec 56,7 % d'inhibition de la douleur induite par l'acide acétique est moins actif que celui *testé* par (Sanogo et al., 2006) sur le modèle expérimental de douleur induite par l'acide acétique. Par contre avec 83,6 % d'inhibition de l'œdème de la patte des souris induit par la carraghénine, il est plus actif que celui testé par (Sanogo et al., 2006). Yeo et al., (2011) ont démontré l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de feuilles de *A. senegalensis in vivo* sur un modèle expérimental d'inflammation différent de celui que nous avons utilisé.

Ces trois activités vont donc dans le sens de la validation des indications traditionnelles de ces quatre plantes concernant la douleur, les fièvres, et aussi le paludisme, en tant que traitements symptomatiques positifs contribuant au bien-être du patient.

Conclusion et perspectives

Les extraits de *F. virosa*, *G. senegalensis*, *V. doniana* et *A. senegalensis* ont montré des propriétés antipyrétiques, analgésiques et anti-inflammatoires. Ces résultats préliminaires, qui corroborent les données existantes dans la littérature, valident l'utilisation traditionnelle de ces plantes dans le traitement symptomatique du paludisme chez les enfants. En perspective, nous envisageons d'évaluer l'activité antiplasmodiale des quatre plantes et d'identifier le principe actif responsable de l'activité antiplasmodiale.

Remerciements

Nous remercions l'Ong *Aidemet* (Aide au Développement de la Médecine Traditionnelle) pour son assistance technique et financière à la réalisation de ce travail.

References:

1. Adebisi, R. A., Elsa, A. T., Agaie, B. M., & Etuk, E. U. (2006). Antinociceptive and antidepressant like effects of *Securidaca longepedunculata* root extract in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 107(2), 234–239.
2. Adjatin, A., Dansi, A., Badoussi, E., Loko, Y. L., Dansi, M., Azokpota, P., Akpagana, K. (2013). Phytochemical screening and toxicity of

- Crassocephalum rubens* and *Crassocephalum crepidioides* consumed as vegetable in Benin. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 2(8), 1–13.
3. Akindele, A. J., & Adeyemi, O. O. (2007). Antipyretic activity of *Byrsocarpus coccineus* Schum. and Thonn. (Connaraceae). *Int. J. Pharmacol.*, 3(4), 357–361.
 4. 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*, 84, 1088–1098.
 5. Assob, J. C., Kamga, H. L., Nsagha, D. S., Njunda, A. L., Nde, P. F., Asongalem, E. A., Penlap, V. B. (2011). Antimicrobial and toxicological activities of five medicinal plant species from Cameroon Traditional Medicine. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1), 70.
 6. Bose, A., Mondal, S., Gupta, J. K., Ghosh, T., Dash, G. K., & Si, S. (2007). Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome rutidosperma*. *Fitoterapia*, 78(7-8), 515–520.
 7. Bruneton J. 1999. *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales*. Technique & documentation-Lavoisier 1120 p.
 8. 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(5), 541–546.
 9. Da Silva, G., Taniça, M., Rocha, J., Serrano, R., Gomes, E. T., Sepodes, B., & Silva, O. (2011). In vivo anti-inflammatory effect and toxicological screening of *Maytenus heterophylla* and *Maytenus senegalensis* extracts. *Human & experimental toxicology*, 30(7), 693–700.
 10. Dawang, N. D. (2015). Phytochemical Constituents and Toxicological Study of *Vitex doniana* Leaf. IOSR, *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10, 23–27.
 11. Evans WC. 2002. *Pharmacognosy*. Saunders Elsevier 585 p.
 12. Ezeonwumelu, J. O. C., Omar, A. N., Ajayi, A. M., Okoruwa, A. G., Tanayen, J. K., Kiplagat, D. M., Onchweri, A. N. (2012). Phytochemical screening, acute toxicity, anti-inflammatory and antipyretic studies of aqueous extract of the root of *Flueggea virosa* (Roxb. ex Willd.) in rats. *International Journal of Pharmacy and Biomedical Sciences*, 3, 128.
 13. Frederico AV, Higor FL, Elson AC, et al. (2009) Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract

- from *Anacardium occidentale* L., Brazil. *J Pharmaceut Sci* 45: 437–42.
14. Guedje, N. M., Tadjouteu, F., & Dongmo, R. F. (2013). Medecine Traditionnelle Africaine (MTR) et Phytomedicaments: Defis et Strategies de Developpement. *Health Sciences and Diseases*, 13(3).
 15. 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(1), 85–92.
 16. Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales* (4e ed.). Lavoisier, p 1289.
 17. Konan, A. (2012). *Place de la médecine traditionnelle dans les soins de santé primaires à Abidjan (Côte d'Ivoire)* (PhD Thesis), Université Toulouse III, Faculté de Médecine, p 118.
 18. Loux, J. J., Depalma, P. D., & Yankell, S. L. (1972). Antipyretic testing of aspirin in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 22(4), 672–675.
 19. Ogbadoyi, E. O., Abdulganiy, A. O., Adama, T. Z., & Okogun, J. I. (2007). In vivo trypanocidal activity of *Annona senegalensis* Pers. leaf extract against *Trypanosoma brucei*. *Journal of ethnopharmacology*, 112(1), 85–89.
 20. OMS, 2014. Prise en charge du paludisme. Guide du participant.
 21. Organization for Economic Co-operation and Development. OECD Guideline for the Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. N°423. 2001.
 22. Pickup, J. C. (2004). Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes care*, 27(3), 813–823.
 23. Ribeiro, R. A., Vale, M. L., Thomazzi, S. M., Paschoalato, A. B., Poole, S., Ferreira, S. H., & Cunha, F. Q. (2000a). 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(1), 111–118.
 24. Sanogo, R., Maiga, A., & Diallo, D. (2006). Activites analgesique et anti-inflammatoire des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereospermum kuntrianum* et *Tricrilia emetica* utilisees dans le traitement traditionnel des dysmenorrhées au Mali. *Pharm Med Trad Afr*, 14, 123–36.
 25. Siegmund, E., Cadmus, R., & Lu, G. (1957). A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 95(4), 729–731.
 26. Tanko, Y., Okasha, M. A., Magaji, G. M., Yerima, M., Yaro, A. H., Saleh, M. I. A., & Mohammed, A. (2008). Anti-diabetic properties of

- Securinega virosa* (Euphorbiaceae) leaf extract. *African Journal of Biotechnology*, 7(1).
27. Traoré C.O. (2014). *Essai de monographie des soins infantiles traditionnels dans la Commune 2 du District de Bamako : Cas de Medina-Coura*. Thèse FMPOS Mali, p 130.
 28. Traoré, K (2010). *Etude du traitement traditionnel des maladies infantiles au Mali dans le milieu Miniaka, Malinke et Bambara : Enquête ethnobotanique, phytochimie et activité antioxydant*. DEA FST Mali, p 103.
 29. 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(11), 503–508.
 30. Vane, J. R., & Botting, R. M. (1996). Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 25(sup102), 9–21.
 31. 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(3), 369–376.
 32. Yeo, D., Dinica, R., Yapi, H. F., Furdui, B., Praisler, M., Djaman, A. J., & N'Guessan, J. D. (2011). Evaluation of the anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Annona senegalensis* leaves. *Therapie*, 66(1), 73–80.
 33. Yerima, M., Magaji, M. G., Yaro, A. H., Tanko, Y., & Mohammed, M. M. (2009). Analgesic and antiinflammatory activities of the methanolic leaves extract of *Securinega virosa* (Euphorbiaceae). *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 47–53.