



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Activité larvicide de la scopolétine et de son dérivé isolé de l'extrait méthanolique de la racine de *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae)

Issoufou YOLIDJE^{1*}, Djibo ALFA KEITA¹, Idrissa MOUSSA¹ et Jean-Luc PIRAT²

¹Laboratoire des Substances Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni, BP 10667, Niamey, Niger.

²ICGM, ENSCM, CNRS, Univ. Montpellier, Montpellier, France.

*Auteur correspondant ; E-mail : yolidjeissouf@yahoo.com; Tel : +227 98395897

Received: 21-08-2023

Accepted: 27-07-2024

Published: 31-10-2024

RESUME

Les insecticides de synthèse comme les organochlorés, les carbamates, les organophosphorés, les pyrèthroïdes et de façon générale les larvicides de synthèse, utilisés contre les moustiques ou leurs larves, dans le cadre de la lutte contre les vecteurs du paludisme, ont des effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine. En plus, de nombreux cas de résistance ont été constatés aussi bien chez les moustiques que chez leurs larves. Ainsi, la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale ayant des propriétés insecticides, insectifuges ou larvicides et leur utilisation pourrait être une méthode alternative à l'emploi des molécules de synthèse. Le présent travail avait pour objectif principal l'étude des propriétés larvicides des composés isolés de l'extrait méthanolique des racines de *Xeromphis nilotica* sur des larves des anophèles. La décoction était la technique d'extraction utilisée suivie d'extraction liquide-liquide. La chromatographie sur colonne était utilisée dans la purification des fractions chloroformique et butanolique. Les analyses RMN et GC-MS des composés purs isolés étaient réalisées à l'aide du spectromètre Bruker et Shimadzu respectivement. L'activité larvicide était évaluée selon le protocole de l'OMS 1985. Trois composés ont été isolés et caractérisés à savoir la scopolétine (7-hydroxy-6-méthoxy coumarine) composé A, et ses deux dérivés glycosylés composés B et C. Les données spectroscopiques relatives à ces structures viennent enrichir la littérature. Les composés A (scopolétine) et B(monoglycoside) ont montré une importante activité larvicide vis-à-vis des larves des anophèles. Ces composés pourraient justifier l'utilisation traditionnelle de cette plante comme insectifuge vis-à-vis des moustiques.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Xeromphis nilotica*, Isolation, Activité larvicide, *Anophèles*

ABSTRACT

Synthetic insecticides such as organochlorines, carbamates, organophosphates, pyrethroids and synthetic larvicides in general, used against mosquitoes or their larvae in the fight against malaria vectors, have harmful effects on the environment and human health. In addition, numerous cases of resistance have been observed in both mosquitoes and their larvae. The search for new molecules of plant origin with insecticidal, repellent or larvicidal properties and their use could be an alternative method to the use of synthetic molecules. The main aim of the present work was to study the larvicidal properties of compounds isolated from *Xeromphis nilotica* on *Anopheles* larvae. Decoction was the extraction technique used, followed by liquid-liquid extraction. Column

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.
<https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v18i5.17>

9495-IJBSC

chromatography was used to purify the chloroformic and butanolic fractions. NMR and GC-MS analyses of isolated pure compounds were carried out using Bruker and Shimadzu spectrometers respectively. Larvicidal activity was assessed according to a WHO 1985 protocol. Three compounds were isolated and characterized, namely scopoletin (7-hydroxy-6-methoxy coumarin) compound A, and two glycosylated derivatives of scopoletin (monoglycoside and diglycoside, the sugars were not identified) compounds B and C. Spectroscopic data on these structures enrich the literature. Compounds A (scopoletine) and B (monoglycoside) have shown significant larvicidal activity against *Anopheles* larvae. These compounds could justify the traditional use of this plant as a mosquito repellent.

© 2024 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Xeromphis nilotica*, Isolation, Larvicidal activity, *Anopheles*.

INTRODUCTION

La majorité des agents vecteurs des maladies parasitaires et particulièrement les moustiques, prolifèrent dans les zones tropicale et subtropicale en raison des conditions climatiques qui leur sont favorables. C'est dans ces zones que se situe une bonne partie du continent africain. L'impact des moustiques sur la santé humaine et animale est très considérable (Pascal et al., 2001). En effet, les moustiques constituent des vecteurs de plusieurs maladies à l'homme et le plus morbide et mortel étant le paludisme (Seye et al., 2006 ; Youssef et al., 2011). Parmi les espèces de moustiques connues dans la transmission des maladies à l'homme, on peut citer ceux appartenant aux genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles*. Les *Culex* transmettent la filariose, les *Aedes* sont responsables de la fièvre jaune alors que les *Anopheles* transmettent le paludisme. Le paludisme est l'une des maladies qui cause le plus de décès dans le monde (Ginet et Roux, 1989). Selon l'OMS, en 2019, 229 millions de cas de paludisme ont été dénombrés dans le monde avec 409. 000 décès, les enfants âgés de moins de 5 ans et les femmes enceintes étant les plus touchés par cette maladie (OMS, 2005). Au Niger, 2 449 858 de cas de paludisme ont été enregistrés en 2020, avec environ 10% de décès (ANP, 2020). Deux espèces: *Anopheles gambiae* et *Anopheles funestus* sont à la base de la transmission du paludisme au Niger (Julvez et al., 1992). Une forte prolifération de ces espèces ayant d'ailleurs été constatée ces dernières années (Ahadji-Dabla et al., 2014). À côté de l'arsenal thérapeutique existant, à base de molécules de synthèse pour combattre les

parasites, il y a également la lutte contre les agents vecteurs à l'aide des insecticides de synthèse. Les insecticides de synthèse sont très efficaces sur les moustiques culicidés, mais présentent plusieurs inconvénients. En effet, en plus d'être néfaste à la vie aquatique, ils sont à l'origine de divers problèmes environnementaux mais on a également observé un phénomène de résistance des moustiques à ces insecticides (Aouinty et al., 2006 ; Cui et al., 2007 ; Daaboub et al., 2008). Aussi, ces dernières années les scientifiques tentent de trouver des méthodes alternatives efficaces de lutte contre les moustiques. La recherche de nouveaux produits non polluants pousse les chercheurs vers les produits naturels d'où le regain d'intérêt pour les plantes médicinales (Sinègre et al., 1977 ; Georghiou et al., 1975 ; Barbouche et al., 2001). L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps avec l'utilisation du pyrèthre, de la nicotine et de la roténone comme agents de lutte contre les insectes (Crosby et Tucker, 1966). Dans ce cadre, le présent travail concerne l'étude des propriétés larvicides des composés isolés de *Xeromphis nilotica* sur des larves des moustiques anophèles responsable du paludisme.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué des racines de *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae) achetées au marché de katako Niamey/Niger. Cet échantillon a été identifié au laboratoire Garba Mounkaila du Département de Biologie de l'Université Abdou Moumouni de Niamey.

Ces racines ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur mécanique.

Méthodes

Extraction et Fractionnement

Une décoction a été effectuée sur 100 g de racines sèches pulvérisées de *X. nilotica* avec 1L de méthanol pendant 2h à 64°C. Le méthanol a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir un extrait brut méthanolique.

Une prise d'essai de 10 g de cet extrait a été dissoute dans 100 mL d'eau distillée, puis fractionnée avec des solvants de polarités croissantes à l'aide d'une ampoule à décanter. Quatre fractions ont été obtenues : fraction à l'éther de pétrole (fraction I), au chloroforme (fraction II), à l'acétate d'éthyle (fraction III) et au n-butanol (fraction IV). Chaque étape de partition a été répétée trois fois avec 100 mL de solvant pour assurer l'épuisement. Seules les fractions chloroformique (0,28 g) et n-butanolique (6,9 g) de *X. nilotica* ont été purifiées sur colonnes ouvertes du gel de silice 60 F₂₅₄ (granulométrie 35-70 µm). La taille des colonnes, la masse de gel de silice ont été adaptées à la quantité de l'échantillon à séparer (30 g de gel de silice pour un gramme d'extrait brut). Le choix des conditions d'élution, le suivi des purifications et le regroupement des fractions sont effectués sur la base des analyses CCM.

Purification de la fraction chloroformique (II)

Pour purifier la fraction chloroformique de *X. nilotica*, le système retenu est M₀ (DCM/AcOEt : 8/2).

Pour ce faire, 0,28 g d'extrait chloroformique dissous dans CH₂Cl₂ est mélangé à une égale quantité de gel de silice (granulométrie 35-70 µm); l'ensemble est concentré sous vide puis séché jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Ce mélange est déposé au-dessus de la colonne contenant du gel de silice (9 g), préparée dans M₀ (DCM/AcOEt : 8/2).

L'élution a été faite successivement avec les systèmes M₀ (DCM/AcOEt : 8/2) et M₀/MeOH : 8/2. Des sous fractions de 10 mL

sont collectées et l'évolution de la séparation est suivie par CCM. Les plaques sont visualisées sous la lumière UV-Visible (254 et 366 nm) puis révélées par une solution d'acide sulfurique (MeOH / H₂SO₄ : 10/2,5) après chauffage à 100°C pendant 3min. Les contenus des tubes de même composition ont été rassemblés, donnant ainsi trois sous fractions 1, 2 et 3. Seule la sous fraction 2 a été purifiée par CCM préparative sur une plaque normale (20 x 20) de gel de silice avec le système M₀ (DCM/AcOEt : 8/2) conduisant à l'obtention d'un composé pur A.

Purification de la fraction n-butanolique (IV)

Une prise d'essai de 2 g d'extrait dissoute dans quelques millilitres de méthanol est mélangée à 2 g de gel de silice (granulométrie 35-70 µm); l'ensemble est concentré sous vide puis séché jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Ce mélange est déposé au-dessus de la colonne contenant du gel de silice (60 g) et préparée avec le système l'éluant M₀ (DCM/AcOEt : 8/2). Des sous fractions de 10 mL sont collectées. Le suivi de la composition des fractions est effectué par chromatographie sur couche mince de gel de silice sur support aluminium. Les plaques sont visualisées sous lumière UV-Visible (254 et 365 nm) puis révélées par une solution d'acide sulfurique dans le méthanol (MeOH / H₂SO₄ : 10/2,5) après chauffage des plaques à 100°C pendant 3 min. Les contenus des tubes de même composition sont rassemblés. Au total cinq sous fractions (0, 1, 2, 3 et 4) ont été obtenues.

Les sous-fractions 1 (100 mg) et 3 (160 mg) ont à nouveau été purifiées par chromatographie sur colonne (CC) en utilisant le système M₀/MeOH, 9/1 et 8/2, puis sur plaques analytiques 20x20 de gel de silice dans le système M₀/MeOH, 9 : 1 comme phase mobile, permettant ainsi l'obtention des composés purs B et C. Des hydrolyses totale et partielle ont été réalisées sur les composés B et C avec les acides sulfurique et acétique pour l'identification de leurs structures (Shaw et al., 2003).

Analyse par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C des composés A, B et C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker 400MHz. Pour ce faire, après séchage sous vide à l'aide d'une pompe à palettes, l'échantillon (10 mg) placé dans un tube à hémolyse est solubilisé dans 1 mL de solvant deutéré : CDCl_3 pour A et MeOD pour les composés B et C. Cette solution est placée dans un tube RMN puis dans le spectromètre pour enregistrement des spectres de chaque composé. Pour obtenir les spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C des composés A, B et C, les données ont été traitées par le logiciel MestReNOVA.

Activité larvicide des composés A et B

L'activité larvicide des composés purs A et B a été évalué sur les larves d'*Anophèles gambiae* à des concentrations de 1mg/mL selon le Protocol de l'OMS 1985. 20 larves sont introduites dans chaque concentration et le comptage a été réalisé après 24h et 48h d'exposition.

RESULTATS

Rendement du fractionnement

Les résultats du fractionnement de l'extrait méthanolique avec l'éther de pétrole (0,027%), le chloroforme (0,280%), l'acétate d'éthyle (0,041%) et le n-butanol (6,900%) (Tableau 1), montrent que les meilleurs rendements sont obtenus avec le chloroforme et le n-butanol. Les faibles rendements sont obtenus avec les fractions éther de pétrole et acétate d'éthyle.

Détermination des structures des composés A, B et C

La mise à profit des techniques chromatographiques sur les fractions les moins complexes issues de la colonne de gel de silice 60, de la phase chloroformique et la phase au n-butanol de l'extrait méthanolique de *X. nilotica* a permis d'isoler trois composés annoter A, B, et C.

Le composé A a été isolé lors de la purification de la fraction chloroformique de *X. nilotica*. Quant aux composés B et C, ils ont été obtenus suite à la purification de la fraction n-butanolique. Les spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C des composés A, B et C ont été enregistrés sur

un spectromètre Shimadzu 400MHz puis traités par le logiciel MestReNOVA afin de d'élucider leurs structures.

Identification du composé A

Le composé A (40 mg) a été obtenu sous forme de cristaux jaunes. Les données de son spectre ^1H -RMN à 400 MHz dans le chloroforme deutérié (CDCl_3) sont consignées dans le Tableau 2.

Ce spectre présente deux doublets à $\delta_{\text{H}} = 6,26$ ppm (1H, d, $J=9,2$ Hz) et à $\delta_{\text{H}} = 7,59$ ppm (1H, d, $J=9,2$ Hz) intégrant chacun pour un proton 1H caractéristiques des protons H-3 et H-4 ; respectivement du cycle pyrone d'une coumarine (Abdurrahman et al., 2016 ; Bayoumi et al., 2008 et Andreae, 1948). Le spectre présente deux singulets de protons aromatiques à $\delta_{\text{H}} = 6,91$ ppm et à $\delta_{\text{H}} = 6,84$ ppm attribuables à H-5 et H-8 respectivement du cycle en C-6 (Figure 1). Un singulet qui intègre pour trois protons à $\delta_{\text{H}} = 3,95$ ppm, a été attribué aux protons du groupe méthoxy en C-6 sur la coumarine. Ainsi, ce spectre RMN ^1H du composé A présente des signaux caractéristiques d'une coumarine 6,7-dioxygénée (Kayser et Kolodziej, 1995).

Le spectre RMN ^{13}C dans le chloroforme deutéré du composé A est constitué des signaux correspondants à 10 atomes de carbone (Tableau 3). Un signal à $\delta_{\text{C}} = 56,10$ ppm à champ faible, attribuable au carbone d'un méthyle (O- CH_3) (Kayser et Kolodziej, 1995). Les signaux de quatre carbones de méthine C-3, C-4, C-5, C-8 apparaissent à 113,08 ; 143,05 ; 107,15 ; 102,88 ppm et cinq carbones quaternaires sont C-2, C-6, C-7, C-9, C-10 et sont apparus à 161,62 ; 149,38 ; 143,70 ; 111,18 ; 149,92 ppm respectivement.

Le spectre de masse obtenu après analyse en GC-MS du composé A, révèle la présence d'un ion moléculaire m/z 192 $[\text{M}]^+$ (Figure 2). Ces données ^1H -RMN et ^{13}C -RMN qui précèdent sont cohérentes avec l'hypothèse d'une structure de type coumarine. Ainsi le composé A a été identifié comme étant la scooletine (7-hydroxy-6-méthoxy coumarine) (Kayser et Kolodziej, 1995 ; Bayoumi et al., 2008 ; Abdurrahman et al., 2016).

Identifications des composés B et C

Les composés B (30 mg) et C (13 mg) se présentent sous forme de cristaux blancs, seuls leurs spectres protons ont été enregistrés (Figure 3). Ces spectres présentent chacun un multiplet entre $\delta = 3,23$ ppm et $4,93$ ppm. Ce signal a été attribué aux protons de sucre. Ces données montrent que B et C sont des hétérosides. Ces derniers ont donc été hydrolysés avec l'acide acétique (CH_3COOH) et l'acide sulfurique (H_2SO_4) pour déterminer la structure de l'aglycone de chaque composé.

Le spectre RMN ^1H du composé B obtenu dans le méthanol deutéré $\text{MeOH-}d_4$ a montré deux doublets à des déplacements chimiques respectifs $\delta = 7,96$ ppm (1H,d, $J = 9,5$ Hz) et $\delta = 6,33$ (1H,d, $J = 9,5$ Hz), ces signaux ont été attribués à H-3 et H-4 respectivement du noyau coumarin (Abdurrahman et al.; 2016). Un singulet intégrant pour trois protons a été obtenu à $\delta = 3,82$ ppm, ce signal est attribué au groupe méthoxy. Deux signaux singulets attribués respectivement aux protons aromatiques H-8 et H-5 ont été obtenus à $\delta = 7,15$ et $7,30$ ppm. La comparaison des déplacements chimiques du groupe méthoxy ont permis de placer ce substituant en C-6. Les pics du multiplet

obtenu entre $\delta = 3,23$ et $4,93$ ppm ont été attribués aux protons de sucre. Ces données concordent à celle d'une coumarine glycosylée. Le spectre RMN ^1H du composé B obtenu dans le même solvant que le composé C, a montré des données similaires à celles du composé A (Figure 5).

Le composé B hydrolysé avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) a formé la scopoletine composé A (confirmé en CCM et GC-MS). L'hydrolyse partielle du composé B avec de l'acide acétique a formé les composés C et A. Ces résultats montrent que les composés B et C sont des dérivés du composé A. Ainsi, la scopoletine (A) est aglycone du composé B et C.

Activités larviques de la scopolétine (composé A) et de son glycoside (B)

Les tests larviques avec la scopolétine (73,68% et 100% de mortalité des larves des anophèles) en 24H et en 48H et de son glycoside (10,52% et 57,89% de mortalité des larves des anophèles) en 24H et en 48H montrent que les larves des anophèles sont sensibles à ces deux molécules (Tableau 4). On remarque que la scopolétine est plus active que son glycoside.

Tableau 1 : Rendement du fractionnement.

Fractions	Masse pesée (g)	Rendement (%)
I (Ether de pétrole)	0,027	0,027
II (Chloroforme)	0,280	0,280
III(AcoEt)	0,041	0,041
IV (n-Butanol)	6,900	6,900

Tableau 2 : Les données du spectre RMN ^1H dans CdCl_2 de la scopoletine (Composé A).

Position de H	Scopoletine (A)		Scopoletine (Abdurrahman et al., 2016)	
	δ_{H} en ppm	Intégration, Multiplicité (J, HZ)	δ_{H} en ppm	Intégration, Multiplicité (J, HZ)
3	6,26	1H, d (9.2)	6,26	1H, d (9.2)
4	7,59	1H, d (9.2)	7,59	1H, d (9.2)
5	6,91	1H, S	6,91	1H, S
8	6,84	1H, S	6,84	1H, S
C-6-OMe	3,95	3H, S	3,95	3H, S

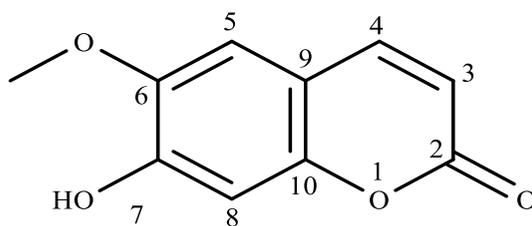


Figure 1 : Structure chimique de la scopoletine (composé A).

Tableau 3 : Données RMN ^{13}C caractéristiques du composé A, (100 MHz, CdCl_3).

Numéro de carbone	^{13}C (APT)	Littérature
	Composé A (δ_c)	(Prabowo et al., 2013) (δ_c)
C-2	161.62	161,33
C-3	113.08	113,30
C-4	143.05	144,67
C-5	107.15	109,98
C-6	149.38	145,98
C-7	143.70	151,14
C-8	102.88	103,73
C-9	111.18	112,09
C-10	149.92	151,86
O-Me	56.10	56,73

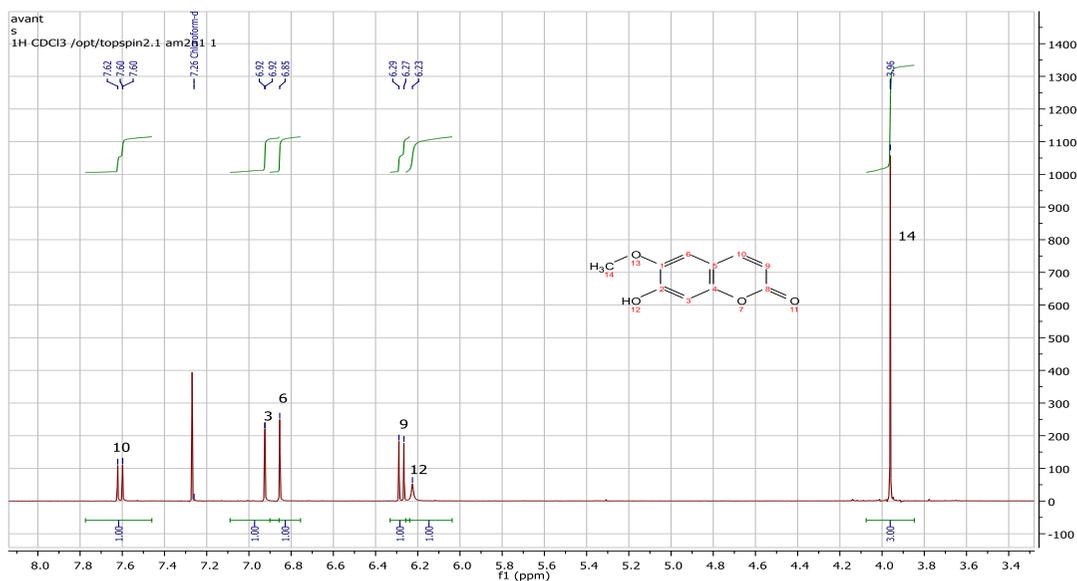


Figure 2 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CdCl_3) du composé A.

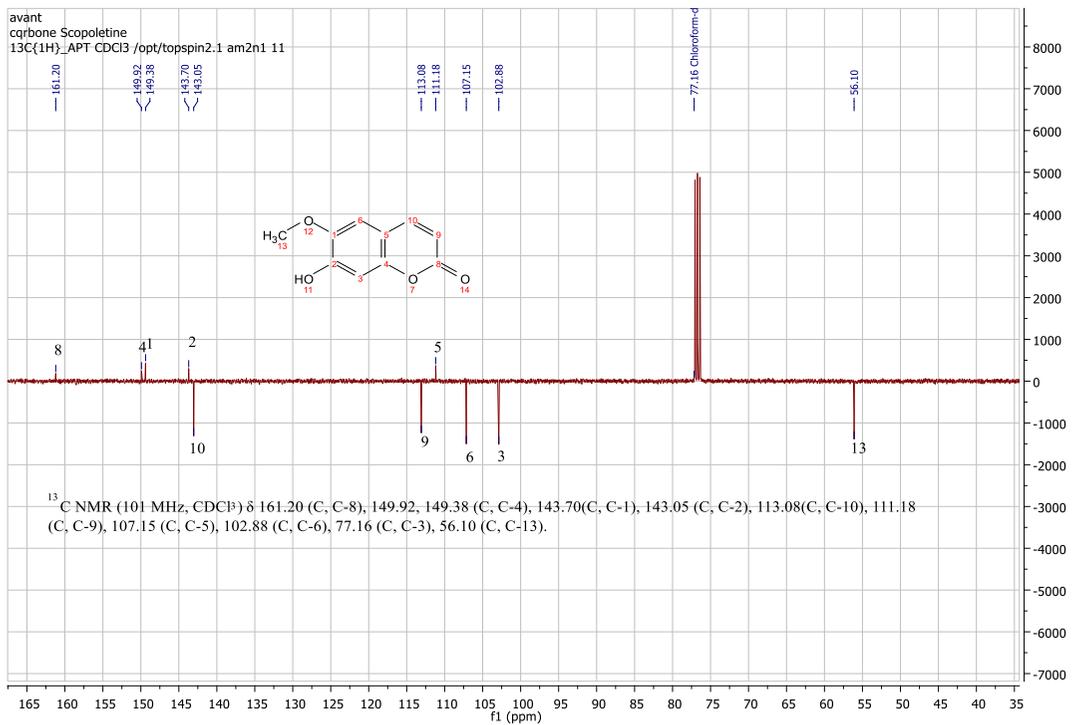


Figure 3 : Spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CdCl_3) du composé A.

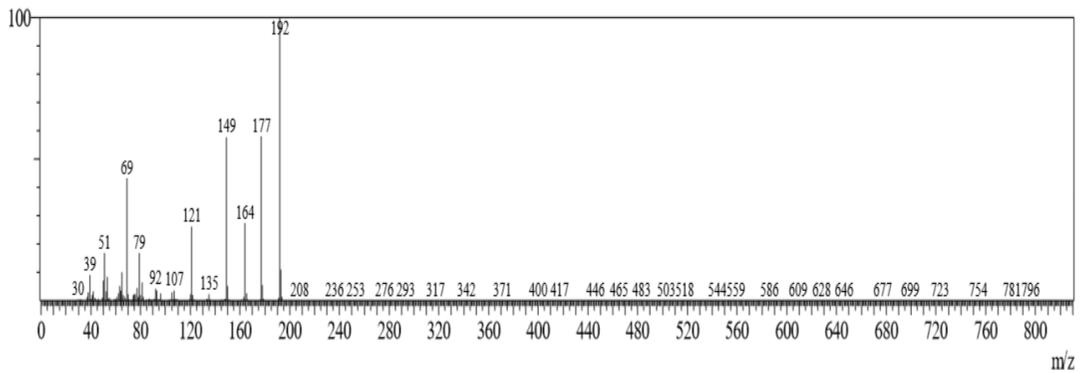


Figure 4 : Spectre de masse de la scopoletine (A).

Tableau 4 : Taux de mortalité des larves des anophèles dû à la scopoletine et à son glycoside à la concentration de 1mg/mL en fonction du temps.

Composé pur	Mortalité (%)	
	24H	48H
Scopolétine (A)	73,68	100
Glucoside de la scopoletine (B)	10,52	57,89

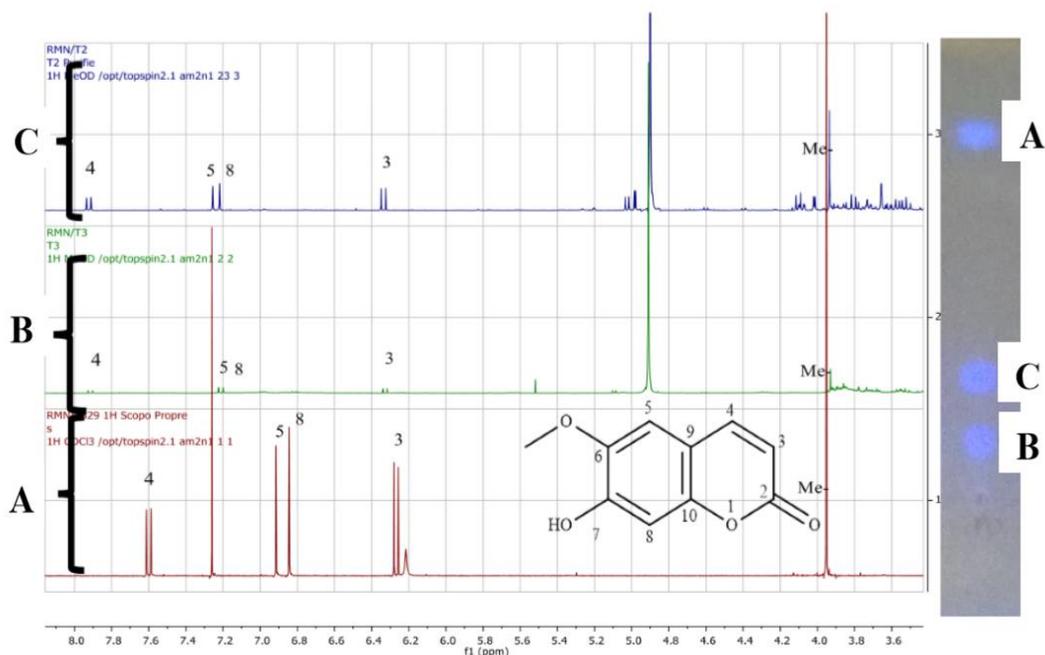


Figure 5 : Spectre RMN ^1H (400 MHz, CdCl_3 et MeOH-d_4) des composés A, B et C.

DISCUSSION

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré que la scopolétine est plus active que son glycoside ; ce fait a été rapporté par Bensakhria (2018). Par ailleurs l'activité larvicide de ces deux molécules augmente avec le temps d'incubation. Ce fait a été signalé par Toufique et al. (2014). Ces deux composés peuvent être à la base de l'activité larvicide de *X. nilotica*, mise en évidence dans les extraits bruts aqueux et méthanolique de la plante avec des effets de synergie possibles d'autres molécules qui n'ont pas pu être isolées de cet extrait. Il est à noter que les propriétés antiplasmodiales de la scopolétine ont été rapportées (Tzeng et al., 2007).

La scopolétine isolée de l'extrait méthanolique des racines de *X. nilotica* est un métabolite secondaire de la famille des coumarines. Ces dernières ont une gamme variée d'activités biologiques allant des effets anti-tumoraux (Aichaoui et Hanane, 2019), anti-inflammatoire (Parra et al., 2018). En plus, selon Parra et al. (2018) la scopolétine possède des propriétés antioxydantes. D'autres activités

de cette molécule ont également été rapportées dans la littérature notamment les activités antiinflammatoires (Parra et al., 2018), antioxydante (Kayser et al., 1995), antihyperglycémique (Panda et Kar, 2006). Antiproliférative (Panda et Kar, 2006), immunomodulatrice (Manuele et al., 2006). Ce composé trouve également des applications dans les maladies cardiovasculaires (Dai et al., 2005), neuroprotectrices (Son et al., 2007).

Conclusion

L'investigation phytochimique de *Xeromphis nilotica* a permis l'isolement et la détermination des structures de la scopolétine (7-hydroxy-6-méthoxy coumarine) et de deux dérivés glycosylés de la scopolétine (monoglycoside et diglycoside, les sucres n'ont pas été identifiés). Les données spectroscopiques relatives à ces structures viennent enrichir la littérature. L'activité larvicide du monoglycoside de la scopolétine a été montré ; par défaut de produit en quantité suffisante celle du diglycoside n'a pu l'être. Des études antérieures ont rapporté l'activité anti plasmodiale de la scopolétine. La présence

de ces molécules peut justifier l'utilisation traditionnelle de *X. nilotica* comme plante médicinale antipaludique.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Tous les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêts pour la publication de cet article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

IY, IM, DAK ont participé à l'élaboration du protocole, supervisé sa mise application et la rédaction de l'article. JLP a contribué dans l'analyse RMN et GC-MS des molécules isolées étudiées.

REFERENCES

- Abdurrahman I, Cai-Xia Y, Yu-Lai H. 2016. Isolation and structure elucidation of a new coumarin glycoside from *Xeromphis nilotica*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, **5**(4): 292-300. DOI: 10.20959/wjpr20164-5949
- Andreae WA. 1948. The isolation of a blue fluorescent compound scopoletin, from Green Mountain potato tubers, infected with leaf roll virus. *Canadian journal of research*, **26**(1): 31-34. <https://doi.org/10.1139/cjr48c-005>
- Ahadji-Dabla KM, Ketoh GK, Nyamador WS, Apetogbo GY, Glietho IA. 2014. Susceptibility to DDT and Pyrethroids, and Detection of Knockdown Resistance Mutation in *Anopheles Gambiae* Sensu Lato in Southern Togo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **8**(1): 314–23. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i1.27>
- Aichaoui S, Hanane A. 2019. Etude phytochimique et activité biologique des extraits de l'espèce *Lavandula angustifolia* Mill. Dans la région Est d'Algérie (*Batna*). Thèse de Doctorat, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, Algérie, p. 96.
- ANP. 2020. Agence Nigérienne de presse. Point de Presse du Ministre de la santé du Niger sur le paludisme.
- Aouinty B, Oufara S, Mellouki F, Mahari S. 2006. Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen), *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **10**(2) : 67-71.
- Barbouche N, Hajjem B, Lognay G, Ammar M. 2001. Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit.(Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **5**(2): 85–90.
- Bayoumi SA, Rowan MG, Blagbrough IS, Beeching JR. 2008. Biosynthesis of scopoletin and scopolin in cassava roots during post-harvest physiological deterioration: the EZ-isomerisation stage. *Phytochemistry*, **69**(17): 2928-2936. DOI: 10.1016/j.phytochem.2008.09.023
- Bensakhria A. 2018. Les Plantes Toxiques. *Toxicologie Générale*. p. 8.
- Crosby DG, Tucker RK. (1966). Toxicity of aquatic herbicides to *Daphnia magna*. *Science*, **154**(3746): 289-291. DOI: 10.1126/science.154.3746.289
- Cui F, Tan Y, Qiao CL. 2007. Filariasis vector in China: Insecticide resistance and population structure of mosquito *Culex pipiens* complex. *Pest. Manag. Sci.*, **63** : 453-458. DOI: 10.1002/ps.1356
- Daaboub J, Ben Cheikh R, Lamari A. 2008. Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia. *Acta. Tropica.*, **107**: 30–36. DOI: 10.1016/j.actatropica.2008.04.014
- Dai Y, Wang Z, Ding Z. 2005. Application of Scopoletin in Manufacture of Medicine for treating hyperuricaemia. *Chemical Abstracts* 2005; 144.
- Georghiou GP, Ariaratnam V, Pasternak ME, Lin CS. 1975. Organophosphorus multiresistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* in California. *Journal of economic entomology*, **68**(4): 461- 467. DOI: 10.1093/jee/68.4.461
- Ginet R, Roux AL. 1989. Les plans d'organisation du règne animal - 3e édition. Paris 6: éditions Doin, 247 p. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/68.4.461>
- Julvez J, Develoux M, Mounkaïla A, Mouchet J. 1992. Diversité du paludisme en Zone Sahélo-Saharienne. *Annales de la Société*

- Belge de Médecine Tropicale*, **72** (3): 163-177.
- Kayser O, Kolodziej H. 1995. Highly oxygenated coumarins from *Pelargonium sidoides*. *Phytochemistry*, **39**(5): 1181-1185. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00166-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00166-5)
- OMS. 2005. Aide-mémoire N094. Paludisme et grossesse.
- Manuele MG, Ferraro G, Barreiro AM, Lopez P, Cremaschi G, Anesini C. 2006. Comparative Immunomodulatory Effect of Scopoletin on Tumoral and Normal Lymphocytes. *Life Science Journal*, **79**: 2043-2048. DOI: 10.1016/j.lfs.2006.06.045
- Panda S, Kar A. 2006. Evaluation of The Antithyroid, Antioxidative and Antihyperglycemic Activity of Scopoletin from *Aegle marmelos* Leaves In Hyperthyroid Rats. *Phytotherapy Research*, **20**(12): 1103-1105. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.2014>
- Parra C, Soto E, León G, Salas CO, Heinrich M, Echiburú-Chau C. 2018. Nutritional composition, antioxidant activity and isolation of scopoletin from *Senecio nutans*: support of ancestral and new uses. *Natural product research*, **32**(6): 719-722. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1335726>
- Pascal D, Pierre M, Pierre F. 2001. Les moustiques d'intérêt médical. *Revue Française des Laboratoires*, **338**: 27-36. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(01\)80348-6](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(01)80348-6)
- Prabowo WC, Wirasutisna KR, Insanu Muhamad. 2013. Isolation and characterization of 3-acetyl aleuritolic acid and scopoletin from stem bark of *Aleurites moluccana* (L.) Willd. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5**(3): 851-853.
- Seye F, Raymond DN, Mady N. 2006. Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *J. Afrique Science.*, **02**: 212-225. DOI:10.4314/afsci.v2i2.61165
- Shaw CY, Chen CH, Hsu CC, Chen CC, Tsai YC. 2003. Antioxidant properties of scopoletin isolated from *Sinomonium acutum*. *Phytotherapy Research*, **17**(7): 823-825. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.1170>
- Sinègre G, Gaven B, Jullien JL. 1977. Comparative activity of 31 insecticides on *Culex pipiens* larvae susceptible and resistant to chlorpyrifos in the south of France. *Parassitologia.*, **19**(1/2): 63-72.
- Son D, Lee P, Lee J, Lee S, Choi SY, Lee JW, Kim SY. 2007. Neuroprotective Effect of Scopoletin from *Angelica Dahurica* on Oxygen and Glucose Deprivation Exposed Rat Organotypic Hippocampal Slice Culture. *Food Science and Biotechnology*, **16**: 632-635. <https://scholarworks.bwise.kr/cau/handle/2019.sw.cau/76228>
- Toufique BM, Moumouni DA, Kadidjatou HH, Doumma A .2014. Etude de quelques facteurs influençant l'efficacité de l'activité insecticide de *Boscia senegalensis* Lam (Ex. Poir) dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus* F.(Coleoptera-Bruchinae), ravageur du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.[Study of some factors influencing the efficacy of insecticidal activity of *Boscia senegalensis* Lam (Eg Poir) in the control of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera-Bruchinae), pest of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **8**(1): 320.
- Tzeng TC, Lin YL, Jong TT, Chang CMJ. 2007. Ethanol modified supercritical fluids extraction of scopoletin and artemisinin from *Artemisia annua* L. *Separation and purification Technolog*, **56**(1): 18-24. DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.010
- Youssef L, Driss B, Youssef E, Omar L, Khadija E, Abdellatif K, Zakaria K. 2011. Cartographie de la faune culicidienne dans la province de Khémisset (Maroc). *Sci. Lib Edi. Mersenne.*, **3**:7.