



Évaluation *in vitro* de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger

Roumanatou Sadou Nassirou¹, Maman Laminou Ibrahim², Amadou Tidjani Ilagouma¹, Aboubacar Mahamadou², Morou Mamoudou¹, Alassane Abdoulaye¹, Odile Ouwe Missi Oukem-Boyer², Khalid Ikhiri¹

¹Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Faculté des Sciences et Techniques, Université Abdou Moumouni (FAST/UAM), BP 10662 Niamey, République du Niger

² Centre de Recherche Médicale et Sanitaire (CERMES), BP : 10887 – 634 Bd de la Nation, YN034 Niamey, Niger

Auteur correspondant : Roumanatou Sadou Nassirou : E-mail : r.sadou@gmail.com

Original submitted in on 24th March 2015. Published online at www.m.elewa.org on 30th May 2015
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v89i1.8>

RÉSUMÉ

Problématique : Le paludisme demeure un problème majeur de santé publique dans les pays intertropicaux. La situation socio-économique des pays d'endémie palustre couplée au développement de la résistance des souches de *Plasmodium falciparum* aux molécules couramment utilisées exigent la mise au point de nouveaux médicaments antipaludiques.

Objectif : L'activité antiplasmodiale d'extraits éthanoliques dégraissés de six plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger a été évaluée et comparée à celle d'*Artemisia annua*.

Méthodologie et résultats : La méthode utilisée est celle du test Mark III de l'OMS avec la souche chloroquinorésistante W2. L'activité antiplasmodiale a été discutée à la lumière du profil phytochimique des différentes plantes, déterminé par les méthodes standards de screening chimique. *Ximenia americana* (IC₅₀ = 0.05 µg/ml) et *Prosopis africana* (CI₅₀ = 0.5 µg/ml) présentent une excellente activité antiplasmodiale. Leur activité est meilleure que celle de la plante de référence : *Artemisia annua* (CI₅₀ = 0.74 µg/ml). Par contre *Chrozophora brocchiana* a une activité modérée (IC₅₀ = 8.2 µg/ml). *Polycarpaea eriantha* et *Detarium microcarpum* ont une activité faible (CI₅₀ = 18.4 µg/ml et 31 µg/ml). Quant à l'extrait de *Saba senegalensis*, il n'a montré aucune activité antiplasmodiale.

Conclusion et perspectives : L'utilisation traditionnelle de *Ximenia americana* et *Prosopis africana* est justifiée. Un fractionnement bioguidé de ces extraits permettra d'identifier la/les principe(s) actif(s). D'autre part, la conception de médicaments traditionnels améliorés à base de ces plantes pourrait être envisagée. Les extraits de *Chrozophora brocchiana*, *Polycarpaea eriantha* et *Detarium microcarpum* sont moins actifs que la plante de référence. Enfin, *Saba senegalensis* n'a manifesté aucune activité antiplasmodiale.

Mots clés : Plantes médicinales antipaludiques, médecine traditionnelle du Niger, *Plasmodium falciparum*.

[In vitro antiplasmodial activity of extracts of plants from traditional pharmacopea of Niger]:

ABSTRACT

Justification: Malaria remains a major public health problem in the tropical countries. The socio-economic situation of malaria-endemic countries coupled with the development of resistance strains of *Plasmodium falciparum* to commonly used molecules requires the development of new antimalarial drugs.

Objective: The antiplasmodial activity of ethanol extracts of six plants of the traditional medicine of Niger was evaluated and compared with that of *Artemisia annua*. Methodology and results: the MarkIII test of WHO with W2 chloroquin-resistant strain of *Plasmodium falciparum* was used. The antiplasmodial activity was discussed in light of the phytochemical profile of different plants, chemical screening determined by standard methods. *Ximenia Americana* and *Prosopis africana*'s extracts have excellent antiplasmodial activity, with respectively IC₅₀ of 0.05 and 0.5µg/ml. These activities are better than *Artemisia annua* activity (IC₅₀ = 0.74µg/ml) used as reference. However, a moderate activity was found for *Chrozophora brocchiana* (8.2µg/ml), a weak activity for *Polycarpaea eriantha* and *Detarium microcarpum* (18.4µg/ml and 31µg/ml), and no activity for *Saba senegalensis*'s extract.

Conclusion and application of results: This study justifies traditional uses of *Ximenia americana* and *Prosopis africana* against malaria. A bioguided fractionation of these extracts would identify molecules responsible for their antiplasmodial activity. Moreover, these results could lead to the design of improved traditional medicines in the basis of these plants. *Chrozophora brocchiana*, *Polycarpaea eriantha* and *Detarium microcarpum*'s extracts were less active than the reference. *Saba senegalensis* had no antiplasmodial activity.

Keywords : Antimalarial medicinal plants, traditional medicine of Niger, *Plasmodium falciparum*.

INTRODUCTION

Le paludisme demeure un problème de santé publique dans le monde. 207 millions de cas ont été rapportés dans le monde en 2013, avec 627.000 décès, dont 90% en Afrique au Subsaharienne. (OMS, 2013). Au Niger, les formations sanitaires ont notifié 3. 364.450 cas de paludisme dont 3.000 décès en 2013 (OCHA, 2014). Malgré la conjugaison des méthodes de lutte (prise en charge avec les Combinaisons Thérapeutiques à base d'Artémisinine (ACTs), distribution des moustiquaires imprégnées, traitement préventif intermittent chez la femme enceinte, Information/Éducation/Communication et Communication pour un changement de comportement), la situation reste préoccupante du fait du contexte économique et social défavorable et surtout de l'émergence de souches parasitaires résistantes aux médicaments. Face à cette situation préoccupante, la médecine traditionnelle utilisée depuis des millénaires par les populations se révèle d'une grande utilité pour soigner de nombreuses maladies, dont le paludisme (Sofowora, 1996). Ce, d'autant plus que les antipaludiques les plus

efficaces à l'heure actuelle (Quinine et Artémisinine) sont tirés de plantes médicinales (Wright, 2005). Face à l'urgence de trouver de nouvelles molécules, nous avons initié au sein du Laboratoire de Recherche en Chimie des Substances Naturelles de la Faculté des Sciences et Technique de l'Université Abdou Moumouni de Niamey, des travaux sur les plantes antipaludiques de la pharmacopée traditionnelle du Niger (Benoît-Vical et al., 2009 ; Garcia- Alvarez et al., 2013). Tout récemment, nous avons mis en évidence des extraits actifs contre des souches de *P.falciparum* (Sadou Nassirou et al., 2015). En complément de cette étude, nous avons décidé d'évaluer puis de comparer l'activité antiplasmodiale de six autres plantes utilisées en pharmacopée traditionnelle au Niger. Il s'agit des espèces suivantes : *Detarium microcarpum* Guill. et Perr., *Prosopis africana* (Guill. et Perr.) Taub., *Ximenia americana* L., *Saba senegalensis* (A.DC.) Pichon, *Chrozophora brocchiana* (Vis.) Schweinf et *Polycarpaea eriantha* Hochst. ex A. Rich.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le protocole d'étude (screening phytochimique, préparation des extraits et test de l'activité antiplasmodiale) est le même que celui décrit précédemment (Sadou Nassirou *et al.*, 2015). Brièvement, le screening phytochimique a été réalisé sur la poudre des plantes étudiées suivant les méthodes standards de caractérisation (Bruneton 1999 ; Evans 2002) ; les extraits ont été obtenus par macération dans l'éthanol à température ambiante, suivi d'un séchage par évaporation sous vide et d'un dégraissage à l'hexane ; enfin, l'activité antiplasmodiale *in vitro* a été réalisée suivant la méthode du semi-microtest optique de Rieckman *et al.*, en 1978, adoptée par l'OMS pour la surveillance de l'émergence de la résistance des parasites aux antipaludiques (Mark III Test) (WHO, 2001). Des plasmodies au stade annulaire de la souche W2 chloroquino-résistante de *Plasmodium falciparum*, maintenues en culture continue suivant la technique de Trager et Jensen 1976, ont été mises en contact avec des concentrations décroissantes des drogues étudiées dans des microplaques à 96 puits durant 24, 48 et 72 heures. Chaque extrait a été testé en duplicata. Au bout de chaque période d'incubation, des frottis ont été

réalisés pour chacun des puits, la parasitémie déterminée au microscope optique pour chaque frottis et le pourcentage d'inhibition de croissance parasitaire calculé $([1 - \text{Parasitémie moyenne du duplicata de chaque dilution} / \text{Parasitémie moyenne du duplicata des puits témoins}] * 100$ (Fidock *et al.*, 2004)). Enfin, la concentration inhibitrice 50%, CI_{50} , c'est-à-dire la concentration de drogue qui inhibe de 50% la croissance parasitaire, a été déterminée pour chaque extrait à partir de l'équation de la courbe obtenue en représentant le pourcentage d'inhibition de croissance parasitaire en fonction de la concentration de drogue par régression logarithmique. L'écorce du tronc de *Detarium microcarpum* a été récoltée dans la localité de Hamdalaye, l'écorce du tronc de *Prosopis africana*, ainsi que l'écorce des tiges de *Ximenia americana* et les tiges feuillées de *Saba senegalensis* ont été récoltées dans la région de Makalondi. Les parties aériennes de *Chrozophora brocchiana* et *Polycarpaea eriantha* ont été récoltées à proximité de Niamey. Après identification systématique au Département de Biologie, le matériel végétal a été séché à l'air libre à l'abri du soleil, puis réduit en poudre.

RÉSULTATS

Screening phytochimique et extraction : Les plantes étudiées sont toutes riches en tanins et en flavonoïdes. Elles contiennent également des triterpènes, des stéroïdes, des quinones et des saponosides (sauf

Chrozophora brocchiana). Seul *Prosopis africana* contient des alcaloïdes. Les résultats du screening phytochimique des extraits des plantes sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Métabolites secondaires retrouvés dans les plantes étudiées

Espèce	Tanins	Saponosides	Flavonoïdes	Quinones	Triterpènes et stéroïdes	Alcaloïdes	
						Mayer	Dragendorff
<i>Chrozophora brocchiana</i>	+++	-	+++	+/-	+	-	-
<i>Detarium microcarpum</i>	+++	+/-	+++	+++	+	-	-
<i>Polycarpaea eriantha</i>	+++	+	++++	+	++	+/-	-
<i>Prosopis africana</i>	+++	++++	++++	++	+	+	+++
<i>Saba senegalensis</i>	+++	++	+++	++	+++	+/-	+/-
<i>Ximenia americana</i>	++++	+	+++	+++	+++	-	-

+ à +++: présence à abondance; +/- : Traces; - : absence

Les rendements d'extraction sont les suivants : *Chrozophora brocchiana*: 18.8%; *Detarium microcarpum*: 22.5%; *Polycarpaea eriantha*: 9.8%; *Prosopis africana*: 36.4% ; *Saba senegalensis* : 10% et *Ximenia americana*: 30.9%.

Activité antiplasmodiale : Les IC₅₀ des différents extraits de plantes, aux trois périodes d'incubation sont représentés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Activité antiplasmodiale des extraits de plantes étudiées

IC ₅₀ (µg/ml)	24 heures	48 heures	72 heures
<i>Artemisia annua</i>	0.74	0.32	7.34
<i>Ximenia americana</i>	0.05	137.4	3.1
<i>Polycarpaea eriantha</i>	18.4	24.2	93.6
<i>Prosopis africana</i>	0.5	55.7	299.5
<i>Chrozophora brocchiana</i>	8.2	19.5	20.7
<i>Detarium microcarpum</i>	31.0	82.5	95.0
<i>Saba senegalensis</i>	—	>>500	>>500

Les **figures 1, 2, 3, 4, 5 et 6** représentent le pourcentage d'inhibition de la croissance parasitaire en fonction de la

concentration en extrait de plante aux trois périodes d'incubation.

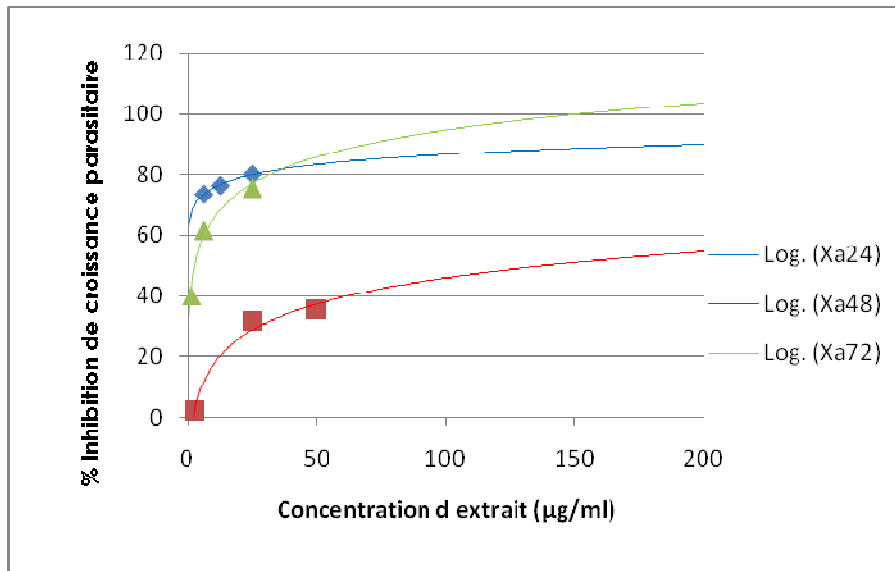


Figure 1 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Ximenia americana*

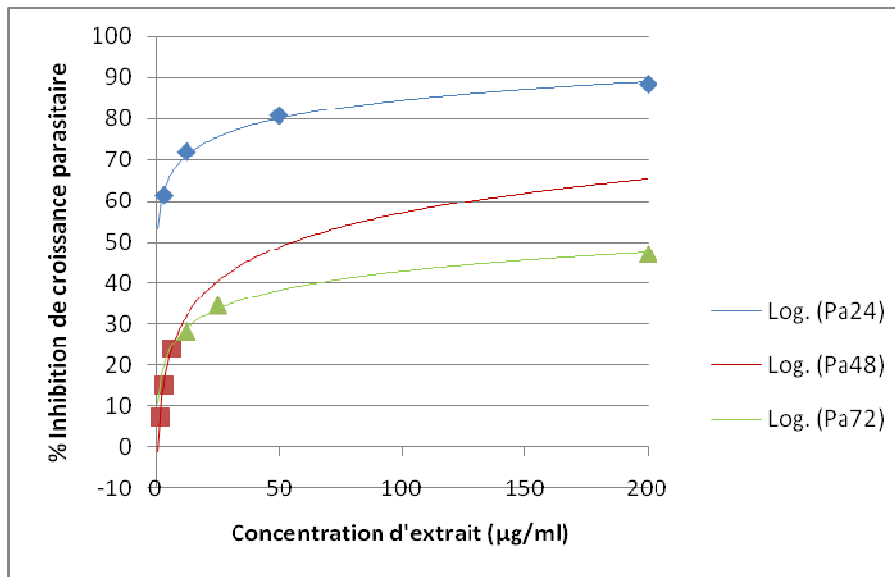


Figure 2 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Prosopis africana*

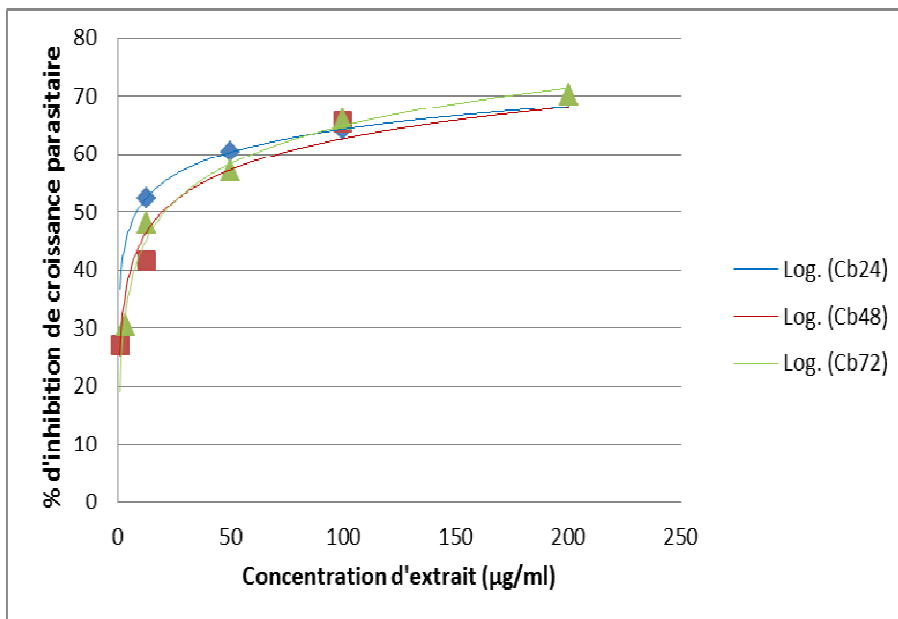


Figure 3 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Chrozophora brocchiana*

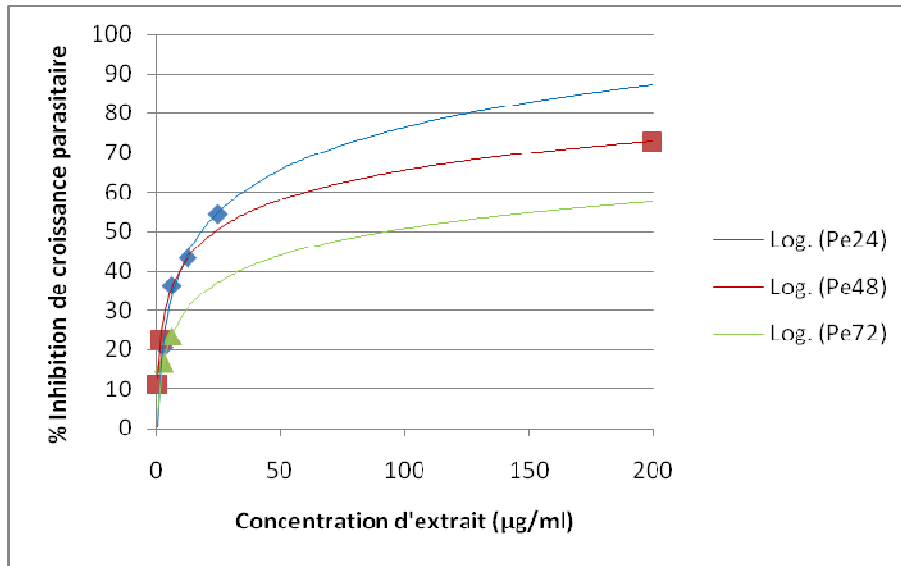


Figure 4 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Polycarpha eriantha*

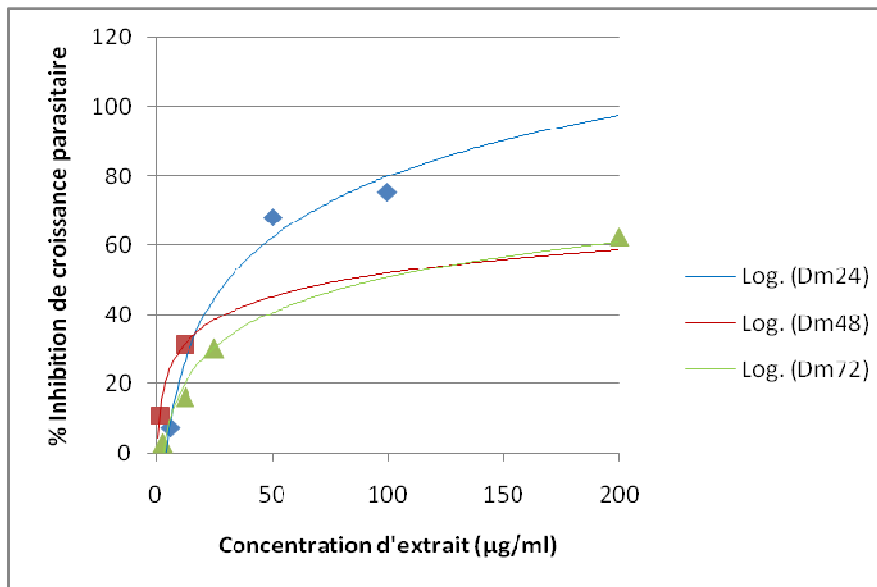


Figure 5 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Detarium microcarpum*

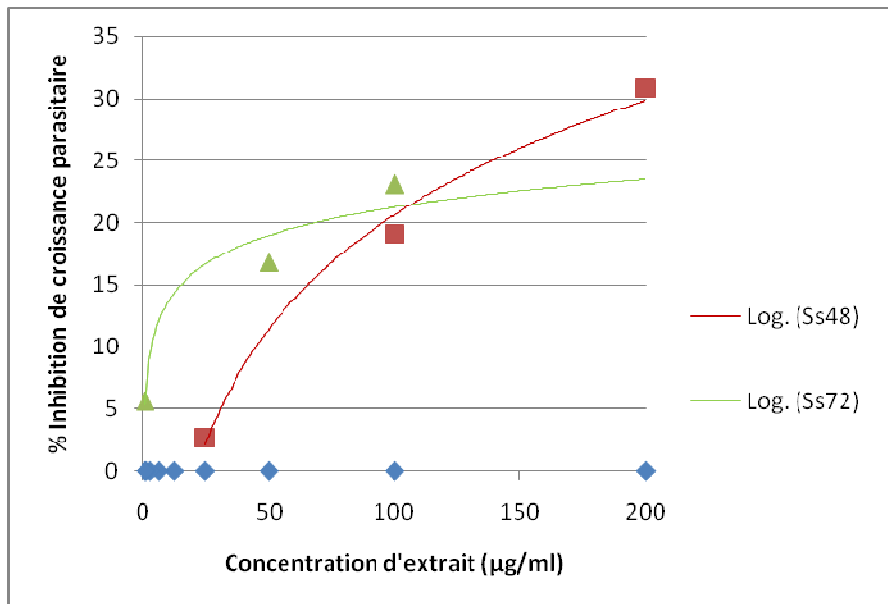


Figure 6 : Activité antiplasmodiale d'extrait de *Saba senegalensis*

DISCUSSION

D'après l'échelle proposée par Wilcox *et al.*, 2011, les extraits éthanoliques dégraissés de *Ximenia americana* ($IC_{50} = 0.05 \mu\text{g/ml}$) et *Prosopis africana* ($IC_{50} = 0.5 \mu\text{g/ml}$) montrent une excellente activité antiplasmodiale. Cette activité est meilleure que celle d'*Artemisia annua* ($IC_{50} = 0.74 \mu\text{g/ml}$) utilisé comme référence (Sadou Nassirou *et al.*, 2015). Benoît *et al.*, 1996 ont trouvé pour l'extrait aqueux de l'écorce de *Ximenia americana* une IC_{50} de $0.8 \pm 0 \mu\text{g/ml}$ (FcB1) à 24h et $1.83 \pm 1.2 \mu\text{g/ml}$ (FcB1) à 72 heures. Shuaibu *et al.*, 2008 ont quant à eux trouvé une IC_{50} de $15.28 \mu\text{g/ml}$ (K1) pour l'extrait méthanolique de *Prosopis africana*. L'activité de ces deux plantes est meilleure dans nos conditions d'expérimentation. Le screening phytochimique de ces deux espèces a révélé qu'elles étaient riches en tanins, en polyphénols, en flavonoïdes, en quinones et en triterpènes et stéroïdes dans le cas de *X. americana*, en alcaloïdes dans le cas de *P. africana*. Or chacune de ces familles de métabolites secondaires peut potentiellement abriter des molécules à activité antiplasmodiale : les tanins et flavonoïdes (Banzouzi *et al.*, 2002; Abdoulaye *et al.*, 2009; Garcia-Alvarez *et al.*, 2013), les quinones (Obodozie *et al.*, 2004; Ayo *et al.*, 2010), les triterpènes et stéroïdes (Camacho *et al.*, 2000; Wright *et al.*, 2002) et les alcaloïdes (Wright *et al.* 1991 et 2001; Ancolio *et al.*, 2002; Sanon *et al.*, 2003a et b; Bonjean *et al.*, 1998). Il serait très intéressant de mener un fractionnement bioguidé afin de déterminer pour ces deux espèces, quelle famille de molécules ou quelle molécule est

responsable de l'action antiplasmodiale. *Chrozophora brocchiana* ($8.2 \mu\text{g/ml}$) a manifesté une activité antiplasmodiale modérée selon le classement. Garcia-Alvarez *et al.*, 2013 ont trouvé pour l'extrait aqueux des feuilles de *Chrozophora senegalensis*, une espèce voisine, une IC_{50} de $0.33 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ sur W2, et Benoît-Vical *et al.* une IC_{50} de $13 \pm 3 \mu\text{g/ml}$ (FcM29) pour l'extrait éthanolique des feuilles et $10 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ (FcM29) pour l'extrait éthanolique des tiges. Le screening phytochimique a montré que *Chrozophora brocchiana* est riche en tanins et flavonoïdes, ce que confirment des études antérieures (Hawas *et al.*, 2006 et 2007, Schmeltzer *et al.*, 2007), il se pourrait que les éléments actifs de la plante fassent partie de ces familles. *Polycarpaea eriantha* ($18.4 \mu\text{g/ml}$) et *Detarium microcarpum* ($31.0 \mu\text{g/ml}$) ont une faible activité antiplasmodiale. Nous n'avons pas trouvé d'études similaires concernant ces deux plantes. Enfin, *Saba senegalensis* n'a manifesté aucune activité antiplasmodiale dans nos conditions d'expérimentation, pourtant son profil phytochimique indique une plante riche en métabolites secondaires. Il peut y avoir plusieurs raisons à cela : les éléments actifs de la plante pourraient ne pas être extraits par l'éthanol, ou la plante serait dépourvue de propriétés antiplasmodiales au sens strict, mais agirait à un autre niveau contre le paludisme (fièvre, inflammation, etc.). Aucune étude du genre n'a été menée sur cette espèce. Tout comme nous l'avons constaté précédemment sur un premier lot d'extraits de

plantes médicinales (Sadou Nassirou *et al.*, 2015), la CI_{50} des extraits augmente avec le temps de contact des parasites avec la drogue, et plus le temps de contact parasite-drogue augmente, moins il y a de formes jeunes du parasite. Ainsi, d'une part le parasite développerait des mécanismes biochimiques d'adaptation aux drogues testées, et d'autre part, les drogues étudiées agiraient aux stades de multiplication et de ré-invasion du cycle

érythrocytaire du parasite (Benoit *et al.*, 1996). Comme limite de notre étude, nous pouvons citer la méconnaissance de la teneur en artémisinine de l'extrait d'*Artemisia annua* utilisée comme plante de référence. Cette plante témoin a été cultivée et récoltée à Kollo et sa teneur en artémisinine est dépendante du sol et du climat (pédologie, humidité).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Parmi les extraits de plantes testés, deux présentent une excellente activité antiplasmodiale comparable voir meilleure que celle de la référence *Artemisia annua* : *Ximenia americana* et *Prosopis africana*. Leur utilisation traditionnelle contre la maladie est donc justifiée et ils pourraient servir de base à la conception de médicaments traditionnels améliorés antipaludiques. Trois extraits ont manifesté une activité faible à modérée.

Enfin, l'extrait de *Saba senegalensis* n'a montré aucune activité antiplasmodiale. La prochaine étape de nos travaux consistera à effectuer un fractionnement bioguidé des extraits de *Ximenia americana*, *Prosopis africana*, *Chrozophora brocchiana* et *Polycarpaea eriantha* qui pourrait se révéler fécond en principes actifs antiplasmodiaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdoulaye A., Moussa I., Ousmane A., Ikhiri K., 2009. Rapport d'Activité de Recherche sur les Plantes Antipaludiques du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Département de Chimie/FAST/UAM Niger.
- Ayo RG., 2010. Phytochemical constituents and bioactivities of the extracts of *Cassia nigricans* Vahl: A review. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(14), pp. 1339-1348.
- Banzouzi J.T., Prado R., Mena H., Valentin A., Roumetan C., Mallie M., Pelissier Y., Blache Y., 2002. *In vitro* antiplasmodial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* and identification of an active constituent: ellagic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 81, 399-401.
- Benoit F., Valentin A., Pelissier Y., Diafouka F., Marion C., Kone-Bamba D., Kone M., Mallie M., Yapo A., Bastide J.M., 1996. *In vitro* antimalarial activity of vegetal extracts used in West African traditional medicine. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 54: 67-71.
- Benoit-Vical F., Grellier P., Abdoulaye A., Moussa I., Ousmane A., Berry A., Ikhiri K., Poupat C., 2006. *In vitro* and *in vivo* antiplasmodial activity of *Momordica balsamina* alone or in a traditional mixture. *Chemotherapy* 52: 288-292
- Bonjean K., De Pauw-Gillet M.C., Defresne M.P., Colson P., Houssier C., Dassonneville L., Bailly C., Greimers R., Wright C., Quetin-Leclercq J., Tits M., Angenot L., 1998. The DNA intercalating alkaloid cryptolepine interferes with topoisomerase II and inhibits primarily DNA synthesis in B16 melanoma cells. *Biochemistry* 37, 5136-5146.
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Technique & documentation-Lavoisier 1120 p
- Camacho Corona M.del R., Croft S.L., Phillipson J.D., 2000. Natural products as sources of antiprotozoal drugs. *Curr. Opin. Anti-Infect. Invest. Drugs*, 2, 47-62.
- Evans WC. 2002. Pharmacognosy. *Saunders Elsevier* 585p.
- Fidock DA., Rosenthal PJ, Croft SL., Brun R., Nwaka S., 2004. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening *Antimalarial efficacy screening: in vitro and in vivo protocols, supplemental file. Nature Reviews Drug Discovery* 3: 509-520.
- Hawas UW. 2007. Antioxidant activity of brocchlin carboxylic acid and its methyl ester from *Chrozophora brocchiana*. [Nat Prod Res.](#) 21(7):632-40.
- Hawas U.W., 2006. Brocchiana carboxylic acid; the analogue of brevifolin carboxylic acid, isolation and identification from *Chrozophora brocchiana*. *Planta Medica* 72(11). Poster 013.
- Obodozie OO, Okpako LC, Tarfa FD, Orisadipe AT, Okogun JI, Inyang US, Ajaiyeoba EO, Wright CW (2004). Antiplasmodial principles from

- Cassia nigricans*. *Pharmaceut. Biol.*, 42(8): 626-628.
- OCHA Niger : Bulletin Humanitaire Mensuel Numéro 38, Novembre 2013, Niger. Accessed May 3, 2014. <http://www.unocha.org/niger/niger-bulletin-humanitaire-mensuel-num%C3%A9ro-38-novembre-2013-0>.
- Organisation Mondiale de la Santé, 2013. 10 Faits sur le paludisme. <http://www.who.int/features/factfiles/malaria/fr/>
- Rieckmann K.H., Sax L.J., Campbell G.H., Mrema J.E., 1978. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique. *The Lancet* 1: 22-23.
- Sadou Nassirou R., Ibrahim M.-L., Moussa I., Mahamadou B., Ilagouma A. T., Abdoulaye A., Ouwe Missi Oukem-Boyer O., Ikhiri K., 2015. Évaluation *in vitro* de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger: *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll. Arg., *Euphorbia hirta* L., *Cassia occidentalis* L. et *Cassia nigricans* (Vahl) Greene. *International Journal of Innovation and Applied Studies Vol. 10 No. 2, pp. 498-505*.
- Sanon S., Azas N., Gasquet M., Ollivier E., Mahiou V., Barro N., Cuzin-Ouattara N., Traore A.S., Esposito F., Balansard G., Timon-David P., 2003a. Antiplasmodial activity of alkaloid extracts from *Pavetta crassipes* (K. Schum) and *Acanthospermum hispidum* (DC), two plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Parasitology Research* 90, 314–317.
- Sanon S., Ollivier E., Azas N., Mahiou V., Gasquet M., Ouattara C.T., Nebie I., Traore A.S., Esposito F., Balansard G., Timon-David P., Fumoux F., 2003b. Ethnobotanical survey and *in vitro* antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology* 86, 143–147.
- Schmelzer, G.H., 2007. *Chrozophora brocchiana* (Vis.) Schweinf. [Internet] Fiche de Protabase. Schmelzer, G.H. & Gurib-Fakim, A. (Editeurs). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Pays Bas. <http://database.prota.org/recherche.htm>
- Shuaibu M.N., Wuyep P.A., Yanagi T., Hirayama K., Tanaka T., Kouno I., 2008. The use of microfluorometric method for activity-guided isolation of antiplasmodial compound from plant extracts. *Parasitology Research* 102: 1119–1127
- Sofowora Abayomi, 1996. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Karthala Paris, France, 2ème éd., 384p*.
- Trager W., Jensen J.B., 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193: 673-675.
- WHO 2001. *In vitro* Micro-test (Mark III) for the assesment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, quinine, amodiaquine, sulfadoxine/pyrimethamine and artemisinin CTD/MAL/97.20 Rev. 2, 21p.
- Willcox M, Benoit-Vical F, Fowler D, Bourdy G., Burford G., Giani S., Graziose R., Houghton P., Randrianarivelojosa M., Rasoanaivo P., 2011. Do ethnobotanical and laboratory data predict clinical safety and efficacy of anti-malarial plants? *Malaria J* 10(Suppl 1):S7.
- Wright C.W., Bray D.H., O'Neill M.J., Warhurst D.C., Phillipson J.D., Quetin-Leclercq J., Angenot L., 1991. Antiamoebic and antiplasmodial activities of alkaloids isolated from *Strychnos usambarensis*. *Planta Medica* 57, 337–340.
- Wright C.W., Addae-Kyereme J., Breen A.G., Brown J.E., Cox M.F., Croft S.L., Gokcek Y., Kendrick H., Phillips R.M., Pollet P.L., 2001. Synthesis and evaluation of cryptolepine analogues for their potential as new antimalarial agents. *Journal of Medicinal Chemistry* 44, 3187–3194.
- Wright, C.W. 2002. Antiprotozoal natural products. *In Pharmacognosy, 15th ed., Evans, W.C., Ed. Harcourt, London, pp. 407–413*.
- Wright C.W., 2005. Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 67–71.