

MEMOIRE BREVET

Titre de l'Invention : Médicament traditionnel amélioré antipaludique à base de *Nauclea latifolia* et procédé de fabrication

Nom du Déposant et Titulaire : Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM)

Inventeurs :

TCHINDA TIABOU ALEMBERT- IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
TARKANG PROTUS - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
AGBOR GABRIEL - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
DONFAGSITEI TCHINDA NEHEMIE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
NNANGA NGA - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
FREDERICH MICHEL-Université de Liège, B36, 4000 Liège, Belgique
ZOFOU DENIS – Université de Buea, BP 63 Buea, Cameroun
TSABANG NOLE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
ZOUHEIRA DJAMILA - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
ABDOU JEAN-PIERRE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
MBITA MESSI HUBERT- IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
BEACK BAYENGUE SANDRINE SUZANNE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
MAFO FOKAM MARCELLE AUDE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
TSANA NGUIMEZAP RITA (CMR)
NONO KAMNANG DIANE-Université de Yaoundé I, BP 812 Yaoundé, Cameroun
FANTA YADANG SABINE ADELINE - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
YOUNOUSSA LAME-IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
TOM AGBOR EGBE-IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun
ESSAME OYONO JEAN-LOUIS - IMPM, BP 13033 Yaoundé, Cameroun

DESCRIPTION

I. Domaine de l'invention

La présente invention porte sur une nouvelle spécialité médicinale à base de l'extrait à l'éthanol des racines de *Nauclea latifolia*, une plante connue dans le traitement du paludisme en Afrique centrale et de l'Ouest.

II. Art antérieur

Le paludisme est une maladie parasitaire qui tue le plus dans le monde. Il est aujourd'hui le premier problème de santé publique en Afrique sub saharienne. Outre son impact sur la santé, le paludisme impose un lourd fardeau économique aux pays endémiques et contribue au cycle de pauvreté des populations. La lutte contre cette maladie se complique du fait que l'on enregistre une résistance accrue des vecteurs et des parasites envers les molécules actuellement utilisées. En médecine traditionnelle, plusieurs plantes sont utilisées dans le traitement du paludisme. Cependant, cette utilisation devrait s'appuyer sur des résultats de recherches scientifiques de sécurité, d'efficacité et de qualité tel que préconisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Nauclea latifolia S.M. (synonyme : *Sarcocephalus latifolius*), plante appartenant à la famille des Rubiaceae, est un arbuste à feuilles persistantes, très ramifié, pouvant atteindre 12 mètres de haut. Elle est abondamment répandue en Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale. Elle se rencontre dans la savane, entre 0 et 200 mètres d'altitude, mais on peut aussi la rencontrer dans des galeries forestières le long de cours d'eau. Elle entre dans la famille des grands médicaments utilisés dans la pharmacopée africaine. Toutes les parties de la plante sont utilisées. Au Cameroun, les racines sont utilisées pour traiter la jaunisse, la fièvre jaune, le rhumatisme, les douleurs abdominales, l'hépatite et l'écorce pour traiter la jaunisse et la perte d'appétit. Dans la plupart des pays de l'Afrique de l'Ouest, les racines sont utilisées dans le traitement du paludisme.

Les études phytochimiques antérieures ont montré qu'elle contient majoritairement les alcaloïdes indoliques et les triterpènes. Les stérols y ont été également isolés. Les extraits des feuilles et écorces du tronc récoltés au Nigeria ont montré une bonne activité *in vivo* sur les souris infectées au *Plasmodium berghei*. Les extraits aqueux des écorces du tronc et des racines ont montré une bonne activité inhibitrice sur les souches chloroquino-résistante FcB1-colombiana et une souche nigériane chloroquino-sensible de *Plasmodium falciparum*. L'extrait hydroéthanolique des feuilles et racines de cette plante ont montré une action antipyrétique et anti-inflammatoire, ce qui peut soulager les patients atteints de paludisme. Une molécule isolée des racines de cette plante, la strictosamide, a montré une activité significative contre les souches K1 and NF54 de *Plasmodium falciparum* (CI₅₀ 0.45 et 0.37 µg/mL respectivement). Une étude controversée a montré que les racines de cette plante récoltées au Nord Cameroun contiennent de quantités importantes du tramadol, un composé connu depuis de longues dates comme antalgique. Les résultats de cette étude ont fait l'objet des brevets WO 2014154747. Un brevet américain US 2003/0068393 A1 revendique la méthode de préparation et d'utilisation de l'infusion des racines de cette plante dans le traitement du paludisme.

III. Détails de l'invention

IV.1 Préparation du matériel végétal

Les racines de *N. latifolia* ont été récoltées à Bafia, Département du Mbam, dans la Région du Centre, Cameroun, en Mai 2015 par Botaniste à l'Institut de Recherche Médicale et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM). Un échantillon a été déposé à l'Herbier National du Cameroun et enregistré sous le numéro 67005 HNC. Les écorces des racines ont été prélevées

puis découpées, séchées à l'étuve à ventilation à 40°C pendant deux jours puis broyées pour donner une poudre de couleur jaune.

IV.2 Etudes phytochimiques

Extraction

La poudre ainsi obtenue (5 Kg) a été extraite par macération pendant 48 heures à température ambiante avec l'éthanol à 95°. L'opération s'est répétée deux fois de suite sur la poudre résiduelle.

Après filtration, la solution résultante a été concentrée sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi) pour donner 305 g d'extrait brut. 65 g de cet extrait a été partitionnée par un traitement acido-basique (acide chlorhydrique 2% et bicarbonate de sodium) pour donner 4 g d'alcaloïdes totaux (rd = 0,12%).

Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été effectué sur l'extrait concentré en utilisant les tests caractéristiques de certains groupes fonctionnels (Tableau 1).

Tableau 1. Screening phytochimique de l'extrait hydroalcoolique concentré

Groupe de composés	Résultats
Alcaloïdes	+++ (Meyer) +++ (Dragendorff)
Acides phénoliques	+++
Flavonoïdes	+++
Terpénoïdes	+
Saponines	++
Quinones	+++

+++très abondant, ++abondance moyenne, +faible

Isolement des constituants chimiques

L'extrait brut (200 g) a été chromatographié sur une colonne de gel de silice (270-400 mesh, Merck) et élué au mélange hexane-acétate d'éthyle et acétate d'éthyle –méthanol de polarité croissante. 170 fractions de 300 mL chacune ont été recueillies et rassemblées sur la base de leur profil de chromatographie sur couche mince. Huit groupes de fractions ont ainsi été constitués: 1-5 ; 6-10 ; 11-14 ; 15-19; 20-27 ; 28-40 ; 41-105 ; 106-130. Le β -sitostérol a été obtenu des fractions 15-19 après cristallisation. L'acide quinovique a été filtré des fractions 28-40 recueillies de la colonne mère avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle 20-30%. Les fractions 41-105 ont été passées à travers une colonne de gel de silice et éluées avec le mélange hexane-dichlorométhane et dichlorométhane-méthanol de polarité croissante. Naucledinal a été obtenu de cette colonne avec le mélange 50:50. L'acide rhamnoquinovique a été obtenu avec le mélange dichlorométhane-méthanol 98:2. Les fractions 106-130 ont été passées à travers une colonne de gel de silice élue avec le mélange dichlorométhane-méthanol de polarité croissante. Les fractions de 150 mL ont été recueillies. La strictosamide a été obtenue de la sous fraction 116 avec le mélange 92:8, l'acide quinovique glucoside avec le mélange 92:8, NLH20 (structure non élucidée) avec le mélange 93 :7, NLH22 (structure non élucidée) avec le mélange 95:5 et le glucoside de β -sitostérol avec le mélange 90 :10.

IV.3 Evaluation de l'activité antiplasmodiale et cytotoxicité in vitro

Trois souches de *Plasmodium* ont été utilisées : W2mef (Résistante à la Chloroquine, SP, quinine et mefloquine), IPC 5202 Battambang Cambodia 2011 (Résistante à la Chloroquine, Quinine et l'Artemisinine) et CAM06 (Isolé d'un patient localement dans une clinique de la place à Buea, pas d'information disponible sur les caractéristiques génétiques et pharmacologiques). La cytotoxicité a été évaluée sur la lignée cellulaire LLC-MK2.

Les parasites sont cultivés dans du milieu RPMI supplémenté de l'AlbumaxII (Source de protéines) ; dans un incubateur à CO₂ (qui maintient 5% de CO₂) à 37°C de température d'incubation. La méthode semi-automatisée testant les produits en dilution en série (à partir de 250 µg/mL) a été utilisée pour le criblage. La parasitémie a été quantifiée par la méthode enzymatique de la Lactate Déshydrogénase combinée à la microscopie à fluorescence.

L'extrait éthanolique a montré une très bonne activité contre les souches W2-mef et IPC 5202 de *P. falciparum* avec des concentrations inhibitrices (CI)₅₀ de $0,97 \pm 0,041$ et $1,07 \pm 0,56$ µg/mL ($n = 4$, $R^2 = 0,972$) respectivement quoique inférieure à celle de l'artémisinine utilisée comme référence ($CI_{50} = 0,05 \pm 0,00$ and $0,06 \pm 0,01$ µg/mL).

L'extrait a montré une faible cytotoxicité sur la lignée cellulaire CC₅₀ $16,40 \pm 2,23$ µg/mL mais avec une bonne sélectivité vis-à-vis du *P. falciparum* (Tableau 2)

Tableau 2. Concentrations inhibitrices sur les souches de *Plasmodium* et cytotoxicité des composés purs

Composé/extrait	CI ₅₀ CAM06 (µg/mL)	CI ₅₀ FCB (µg/mL)	CI ₅₀ IPC (µg/mL)	CC ₅₀ LLC-MK2 (µg/mL)	Signification pharmacologique (Activité antiplasmodiale, cytotoxicité)
NLH20	11,30 ± 1,00	3,11±1,13	6,21 ± 2,08	>500	Inactive, non cytotoxique
Glucoside de β-sitostérol	33,55 ± 0,99	7,09±1,98	24,27 ± 5,48	>500	Inactive, non cytotoxique
NLH22	5,40 ± 2,07	4,06±0,21	4,55 ± 1,26	10,40 ± 2,07	Activité modérée, modérément cytotoxique
Acide quinovique	8,06 ± 0,65	5,52±2,29	8,89 ± 1,70	> 500	Activité modérée, non cytotoxique
β-sitostérol	25,78 ± 5,14	9,40±2,25	21,67 ± 3,91	25,78 ± 5,14	Inactive, faiblement cytotoxique
Naucéléidinal	-	3,91±0,10	2 ± 0,32	>500	Active, non cytotoxique
Acide rhamnokinovique	-	9,02±1,71	4 ± 1,00	>500	Active, non cytotoxique
Extrait brut				16,40 ± 2,23	Faiblement cytotoxique mais très sélectif
Gleevec®				17,107±1,33	
Art.	0,05 ± 0,00	0,12±0,05	0,1 ± 0,05		-

IV.4 Toxicités aiguë et subaiguë de Nauclea latifolia

Des souris albinos Swiss (25-30g) mâles et femelles et les rats Wistar (170-210g) élevés dans l'animalerie de l'IMPM ont été utilisés pour l'évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë.

IV.4.1 Toxicité aiguë

L'administration aiguë de *Nauclea latifolia* était bien tolérée par les souris expérimentales. Aucun signe visible de toxicité n'a été observé à l'exception d'une fatigue initiale suite à l'administration de l'extrait.

Aucune mortalité n'était observée même à la dose maximale limitée de 5 g/kg de poids corporel. L'extrait peut être donc considéré non toxique par voie orale à des doses ne dépassant pas 5 g/kg de poids corporel.

IV.4.2 Toxicité sub aiguë

Cinq doses de l'extrait de plante de 1g/kg à 10g/kg ont été administrées aux souris. Pendant 72 heures, elles ont été suivies pour noter les comportements ou attitudes telles que le gémissement, le reniflement, la respiration, la convulsion, la démarche abdominale et leur réactivité à l'environnement

La dose létale (LD₅₀) a ensuite été déterminée. La clairance éthique a été obtenue du Comité éthique de l'Institut de la Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales.

L'administration de l'extrait de la plante a induit l'augmentation de l'activité de l'ALT comparé au groupe contrôle. Cette augmentation était dose-dépendante avec les groupes recevant les doses maximales de 2g/kg. On a noté une grande activité de l'ALT avec la dose de 2000mg/kg. L'extrait a induit une augmentation de l'AST quoiqu'on observe une augmentation inattendue à 1g/kg.

L'extrait a stimulé la réduction de la concentration du cholestérol du plasma et à des doses de 1000 et 2000 mg/kg ; il induit une augmentation de la concentration en triglycérides. L'extrait n'a pas un effet significatif sur la concentration du glucose et la créatinine plasmatiques chez les rats expérimentaux. L'extrait n'a aucun effet sur la concentration en urée et pas d'effet notoire sur le gain de poids. L'extrait a induit une diminution du poids du foie. La concentration en extrait augmente en sens inverse de la consommation de la nourriture. A la dose la plus élevée testée (2g/kg), l'extrait a induit une augmentation de la consommation alimentaire quoique petite. L'extrait n'a pas d'effet sur les paramètres sanguins.

IV.5 Test antipaludique in vivo

Les rats Wistar (160-180g) ont été utilisés pour le test antiplasmodial in vivo.

IV.5.1. Evaluation de l'activité suppressive

L'activité suppressive de l'extrait éthanolique des écorces des racines de *N. latifolia* a été évalué sur les rats Wistar infectés avec *P. berghei* en utilisant le test de *Peter's 4-day*. Les rats étaient divisés au hasard en cinq groupes de trois chacun. Le premier jour, les rats ont été infectés avec 10⁷ de *P. berghei*. Trois heures plus tard, les groupes expérimentaux des rats ont été chacun traités oralement avec l'extrait. Le traitement a été effectué pendant quatre jours consécutifs. Le cinquième jour, le taux de parasitémie a été évalué par frottis sanguin.

L'extrait a montré une activité suppressive dose-dépendante de la parasitémie comparable à celle de la chloroquine utilisée comme référence. A toutes les concentrations testées, la chemosuppression était supérieure à 80% entre J3 et J8 et la différence était statistiquement significative ($p < 0.001$) comparé au témoin négatif. L'extrait a donc montré une bonne activité chemosuppressive.

IV.5.2 Evaluation de l'activité prophylactique

L'activité prophylactique de l'extrait était comparable à celle du médicament standard aux doses de 200 et 400 mg/kg de poids corporel. Une bonne suppression de la parasitémie statistiquement significative ($p < 0.001$) du contrôle négatif a été noté. Des effets adverses n'étaient pas notés avec les animaux expérimentaux.

IV.5.3 Evaluation de l'activité curative

L'extrait a montré une bonne activité qui était statistiquement significative ($p < 0.01$) comparée au témoin et la chloroquine. Ceci démontre également un effet protecteur sur les animaux à toutes les doses testées. Aucune perte en animaux n'a été enregistré jusqu'à la fin de l'analyse. L'extrait n'avait pas des effets adverses sur les animaux expérimentaux. Les doses allant de 200 à 400 mg/kg de l'extrait de la plante sont appropriées pour formuler un médicament traditionnellement amélioré antipaludique, sous réserve du profil d'innocuité.

IV.6 Mise sous forme galénique

La préparation galénique a été faite dans le respect des normes de bonnes pratiques de fabrication des médicaments décrites dans le manuel de préparations galéniques de F. Battoli qui comprend les normes de préparations, les formulations magistrales, officinales, phytothérapeutiques et homéopathiques. L'extrait sec obtenu par le procédé décrit plus haut a été utilisé pour la formulation de formes solides (comprimées, sirops) et liquides (gélules). L'extrait sous forme de pâte marron foncé est conservé à l'abri de la chaleur. Les excipients et conservateurs suivants ont été respectivement utilisés: Sodium benzoate (BDH Chemicals LTD Poole England), Sucrose (Cheijiang Chemicals Import and Export China), Essence de térébenthine (Fisher Scientific limited UK), Arome fraise (Double Crown), Gelatine (Scharlau S L), Magnesium stearate (HIMEDIA Pvt Ltd India), Talc (HIMEDIA Pvt Ltd India), Amidon de maïs (Halewood Chemical Ltd), Parahydroxylbenzoate (Jiansuguo tai).

Les informations qui accompagnent les excipients, notamment les tests physico-chimiques (le poids, date de validité, conditions de conservation, etc) ont été vérifiées et respectées. La dose efficace a été déterminée sur la base des résultats de l'étude pharmacologique.

IV.6.1 Protocole de fabrication du sirop

Le sirop a été préparé à 8-12% de filtrat de l'extrait total des écorces des racines de *N. latifolia* contenue dans des flacons en verres de cent millilitre (100ml) de produit final.

Les incompatibilités entre les substances (filtrat de l'extrait éthanolique total des graines de *N. latifolia*, sodium benzoate, sucrose, et essence de l'orange) qui rentrent dans la constitution du sirop ont été contrôlées et aucune incompatibilité n'a été notée.

Les substances qui rentrent dans la constitution du sirop ont été pesées par ordre de poids décroissants ainsi qu'il suit : pourcentage extrait éthanolique de *N. latifolia*, essence de l'orange et benzoate de sodium.

Les substances ont été réparties dans les différents mélanges préliminaires : le sirop simple est d'abord préparé. L'extrait total de *N. latifolia* et le sodium benzoate sont introduits dans la fiole jaugée. Le sirop simple est ajouté en fraction dans la fiole et trituré après l'ajout de chaque fraction ; l'essence de l'orange est ajoutée à la fin due à sa propriété volatile et triturée jusqu'à obtention d'un sirop homogène.

Cent millilitre (100 ml) de sirop ont été distribuées par bouteille en verre. Les étiquettes ont été ensuite collées sur les bouteilles en verres.

Le sirop a été formulé ainsi qu'il suit : 8 à 12 % de l'extrait éthanolique de *N. latifolia*, le benzoate de sodium, le sucrose, l'eau distillée, les huiles essentielles et les arômes de fruits.

IV.6.2 Préparation des gélules

Des gélules ont été préparées à 250-500 mg de filtrat de l'extrait total des graines de *Nauclea latifolia* contenue dans des blistères en plastiques de dix gélules. Les incompatibilités entre les substances (filtrat de l'extrait éthanolique total des graines de *Nauclea latifolia*, gélatine, magnésium stéarate, talc, amidon de maïs et parahydroxylbenzoate) qui rentrent dans la constitution du comprimé ont été contrôlées et aucune incompatibilité n'a été trouvée.

Les substances qui rentrent dans la constitution de la gélule ont été pesées par ordre de poids décroissants ainsi qu'il suit : extrait éthanolique de *Nauclea latifolia*, amidon de maïs, gélatine, talc, stéarate de magnésium et parahydroxylbenzoate. La phase interne a été d'abord préparée, et puis la phase externe est incorporée. Les gélules ont été conditionnées dans des blistères et puis dans ses cartons d'emballages.

La gélule est constituée de 250-500 mg de l'extrait végétal de *N. latifolia*, de l'amidon de maïs, de la gelatine, du talc, du parahydroxylbenzoate et du stéarate de Magnésium.

IV.6.3 Préparation des comprimés

Les comprimés ont été préparés à 250-500 mg de filtrat de l'extrait hydro éthanolique total des graines de *N. latifolia* contenu dans des blisters en plastiques de dix comprimés. Les incompatibilités entre les substances (filtrat de l'extrait éthanolique total des graines de *N. latifolia*, gélatine, magnésium stéarate, talc, amidon de maïs et parahydroxylbenzoate) qui rentrent dans la constitution du comprimé ont été contrôlées et aucune incompatibilité n'a été trouvée. Les substances qui rentrent dans la constitution du comprimé ont été pesées par ordre de poids décroissants ainsi qu'il suit : extrait éthanolique de *N. latifolia*, amidon de maïs, gélatine, talc stéarate de magnésium. Les comprimés ont été conditionnés sous forme de blisters et dans des cartons.

Les comprimés sont constitués préférentiellement de 250-500 mg de l'extrait végétal de *N. latifolia*, de l'amidon de maïs, de la gelatine, du talc, du parahydroxylbenzoate et du stéarate de Magnésium.

REVENDECATIONS

1. Phytomédicaments antipaludiques caractérisé en ce qu'ils sont préparés à partir d'extrait hydroéthanolique des écorces des racines de *Nauclea latifolia*
2. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication 1, caractérisé à ce qu'il présente une activité significative contre les souches chloroquino-resistantes de *Plasmodium falciparum*
3. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication 1, caractérisé à ce qu'il présente une bonne sélectivité contre une cellule cancéreuse humaine
4. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication 1, caractérisé à ce qu'il présente une non-innocuité aux dose thérapeutique
5. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication 1, caractérisé à ce qu'il présente une bonne activité de chemosuppression, curative et prophylactique
6. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'ils contient comme principe actif plusieurs alcaloïdes, des triterpènes et des stéroïdes donc certain ont montré des activité antiplasmodiales in vitro contre deux souches de référence c et une souche clinique de *plasmodium falciparum*
7. Phytomédicaments antipaludiques selon la revendication précédentes caractérisé en ce qu'ils peuvent se présenter sous formes galénique suivantes sirop, gélules et comprimés.
8. Phytomédicaments antipaludiques selon les revendications 7 caractérisé en ce que le sirop est constitué 8-12% de l'extrait éthanolique de *Nauclea latifolia*, du benzoate de sodium, du sucrose, de l'eau distillée, des huiles essentielles, et des arômes de fruits.
9. Phytomédicaments antipaludiques selon les revendications 7 caractérisé en ce que les gélules sont constituées d'une quantité allant de 250 à 500 mg de l'extrait végétal de *Nauclea latifolia*, de l'amidon de maïs, de la gélatine, du talc, du parahydroxylbenzoate et du stéarate de Magnésium.
10. Phytomédicaments antipaludiques selon les revendications 7 caractérisé en ce que les comprimés sont constitués d'une quantité allant de 250 à 500 mg de l'extrait végétal de *Nauclea latifolia*, de l'amidon de maïs, de la gélatine, du talc, du parahydroxylbenzoate et du stéarate de Magnésium.
11. Phytomédicaments antipaludiques préparés selon les revendications précédentes caractérisé en ce qu'ils sont utilisés dans le traitement du paludisme non sévère à *Plasmodium falciparum* pour enfants de plus de 6 ans et adultes.

ABREGE

La présente invention concerne un phyto médicament dénommé PALUNAL formulé à partir de l'extrait hydroéthanolique des écorces des racines de *Nauclea latifolia* à la suite des études phytochimiques, pharmacologiques, toxicologiques et galéniques. Le screening phytochimique a révélé une prédominance des alcaloïdes, des triterpènes et des composés phénoliques. Parmi les composés isolés, 7 ont été identifiés comme étant des alcaloïdes (2), des triterpènes (3) et des stérols (2). Parmi les composés isolés, un alcaloïde (strictosamide), une saponine (acide rhamnoquinovique) ont montré une bonne activité contre la souche IPC de *Plasmodium falciparum* une très bonne activité contre les souches W2-mef et IPC de *P. falciparum* avec des concentrations inhibitrices CI_{50} de 0,97 et 1,07 $\mu\text{g/mL}$ et une bonne sélectivité vis-à-vis de la cellule humaine LLC-MK2. Les études de toxicité aigüe et sub aigüe sur les souris et rats ont montré une tolérance aux doses thérapeutiques. L'extrait a démontré une bonne activité *in vivo* suppressive, curative et prophylactique sur les rats infectés au *Plasmodium berghei*. A la suite de ces études, les doses allant de 200 à 400 mg/kg de poids corporel ont été déterminées pour la formulation et le conditionnement de l'extrait sous forme de comprimés, gélules et sirops et recommandé pour le traitement du paludisme simple pour les enfants de plus de 6 ans et adultes.