



EVALUATION DE LA TOLERANCE ET DE LA TOXICITE AIGUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DE *ELAEIS GUINEENS* JACQ. (ARECACEAE) CHEZ DES VOLONTAIRES SAINS : ETUDE CLINIQUE PHASE I
OGOUYEMI-HOUNTO A¹, ALLABI AC², KINDE-GAZARD D¹, HOUSSOU F¹, OFFRIN G³, ANATO A³, MASSOUGBODJI A¹

¹ Unité d'enseignement et de Recherche en Parasitologie, Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou de l'Université d'Abomey Calavi, BENIN

² Unité de Pharmacologie, Faculté des sciences de la Santé de Cotonou de l'Université d'Abomey Calavi, BENIN

³ Hôpital de Zone de Mènontin, Cotonou, BENIN

Correspondant : Dr. Aurore OGOUYEMI-HOUNTO 06 BP 1372 aurorefel@yahoo.fr

RESUME

Introduction : Le processus de développement permanent de résistance du *Plasmodium* vis-à-vis des antipaludiques disponibles nécessite une recherche permanente de nouvelles molécules dont celles issues des plantes médicinales. Au Bénin, un extrait aqueux d'*Elaeis guineensis* Jacq (EGE), fortement distribué sous le nom d'API-Palu fait l'objet d'une large utilisation par les populations. Cet extrait aurait des propriétés antipaludiques. L'objet de la présente étude est d'évaluer la tolérance et la toxicité aigüe de l'extrait aqueux.

Patients et méthodes : 30 volontaires sains étaient inclus dans cette étude selon des critères prédéfinis. Ils sont répartis aléatoirement dans trois différents groupes de traitement définis par trois doses différentes. Ils ont été suivis sur 42 jours. Un bilan clinique et biologique avec réalisation d'une goutte épaisse avant l'administration du traitement et à différents moments du suivi (J1, J2, J7, J14, J21, J28, J35 et J42) a été fait aux volontaires. Ils ont été hospitalisés pendant trois jours (correspondant à la durée du traitement) au terme desquels ils sont sortis et revus toutes les semaines. Un interrogatoire suivi d'un examen clinique (à la recherche d'effets indésirables) avec des bilans paracliniques étaient réalisés à chaque visite de suivi.

Résultats : Les fréquences des événements indésirables présentés par les volontaires au deuxième jour du traitement étaient: Diarrhée (93%), asthénie (20%), ballonnement abdominal (6.7%), vertige (3.3%), céphalée (0%), enrouement de la voix (3.3%), somnolence (2%), douleur abdominale (1%). Les événements indésirables ont régressé spontanément. Sur le plan biologique, on a observé une augmentation transitoire des transaminases hépatiques. Il n'existe pas une association significative entre la fréquence des événements indésirables ou la perturbation biologique et la dose administrée.

Conclusion : Au terme de cette étude, EGE semble présenter une bonne tolérance et une parfaite innocuité. Des études supplémentaires permettront d'évaluer les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques d'EGE.

Mots clés : Toxicité aigüe – Tolérance- *ELAEIS GUINEENS* JACQ- Paludisme

ABSTRACT

Background: the resistance of *Plasmodium* against the usual antimalarial drugs requires the search for new drugs including traditional medicine herbals. In Benin, an aqueous extract of *Elaeis guineensis* Jacq (EGE) is widely used by people and distributed under the name of API-PALU. This study was undertaken to evaluate the short-term safety and tolerability of this herbal medicinal product.

Methods: 30 healthy volunteers were included in this study according to predefined criteria. They were randomly assigned in one of three different groups of treatment defined by three different dosages. They were followed for 42 days. Safety and tolerability were monitored clinically, haematologically, biochemically and by electrocardiographic (ECG) examination at days 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42.

They were hospitalized for three days (for the duration of treatment) after which they went out and have been reviewed weekly. Interrogation followed by a clinical examination with paraclinical assessments (looking for adverse events) were performed at each follow-up visit.

Results: All adverse events noted were mild and self-resolving including Diarrhea (93%), Asthenia (20%) and abdominal bloating (6.7%), dizziness (3.3%), headache (0%), hoarseness (3.3%), abdominal pain (1%), somnolence (2%). Diarrhea is the main symptom followed by asthenia. A transient increase of liver enzymes was observed. We didn't find any significant association between frequency of adverse events including biologic disorder and the dose.

Conclusions: EGE seems present a good tolerability and perfect short-term safety. Additional studies will allow to evaluate pharmacological and therapeutic proprieties of EGE.

Keys words: Acute toxicity, Tolerability, *ELAEIS GUINEENS* JACQ, Malaria

INTRODUCTION

Le Bénin à l'instar d'autres pays africains continue de payer un lourd tribut au paludisme. Des données épidémiologiques assez récentes ont démontré que l'introduction des CTAs a contribué significativement à la réduction des taux de morbidité et de mortalité [1].

Toutefois des données toutes récentes ont suggéré l'émergence de résistance du parasite contre les dérivés endoperoxydés artémisiques [2, 3, 4]. Avec le processus permanent de développement de résistances du parasite contre les antipaludiques [3, 5, 6], le développement de molécules alternatives [7] constitue une priorité constante des programmes de recherche.

La médecine traditionnelle est une source pour la découverte de nouveaux pharmacophores ou chémotypes ayant parfois des mécanismes d'action différents. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 80% environ des populations vivant dans les pays en développement ont recours à la médecine traditionnelle pour leurs besoins en soins de santé [8]. Ce recours est évalué à 50% (70%) par exemple, en ce qui concerne la population d'Agonlin au Bénin [9]. Cet intérêt pour la médecine traditionnelle se justifie par le fait qu'elle répond mieux aux croyances des populations et à leur représentation de la maladie [10]. L'intérêt pour la médecine traditionnelle devient de plus en plus grand depuis la déclaration d'ABUJA, et fait de plus en plus l'objet de rencontres scientifiques avec la mise en place progressive d'une réglementation dans les pays en développement en vue de son intégration dans les systèmes de santé [11].

Plusieurs remèdes traditionnels sont aujourd'hui commercialisés et utilisés par une grande partie de la population sans avoir fait l'objet de validation scientifique et ce à cause du déficit de réglementation de l'autorisation de mise sur le marché des médicaments dans nos pays. La documentation scientifique ou la réalisation d'essais cliniques en vue des validations de leur sécurité d'emploi, tolérance et propriétés thérapeutiques est fortement recommandée voire obligatoire [12].

Au Bénin, l'extrait aqueux de *Elaeis Guineensis* Jacq. (Arecaceae), dénommé par les distributeurs API-Palu fait l'objet d'une large utilisation par les populations. Après une étude de toxicité menée sur les rats, nous nous proposons de réaliser dans le cadre de ce travail une étude de toxicité aigue et de tolérance d'EGE chez des volontaires sains.

MATERIELS ET METHODES

Cadre de l'étude : La présente étude s'est déroulée à l'hôpital Mènantin choisi pour la présence d'une unité de soins intensifs en son sein.

Préparation de l'extrait d'Elaeis Guinéens:

Les feuilles de EGE ont été collectées dans le jardin botanique de l'Université d'Abomey-Calavi au Bénin (Spécimen N°. 1650) en 2010. L'authenticité d'*Elaeis Guinéens* a été confirmée par le laboratoire de botanique de l'Université d'Abomey-Calavi. Les feuilles étaient séchées pendant une semaine à température ambiante. Les feuilles d'EGE préalablement déshydratées sont réduites en poudre. Un litre d'eau est porté à ébullition avec 100g de la poudre préalablement obtenue. Après filtration, le solvant du filtrat était porté à évaporation dans un rotavapor pour obtenir l'extrait d'*Elaeis guinéens* (14.78% ; H₂O/H₂O).

D'après une étude phytochimique de l'extrait (Communication de API-BENIN), plusieurs familles chimiques seraient présentes. Les tanins galliques et catéchiques ainsi que les saponosides sont les substances majoritaires. Dans une moindre proportion, les leucoanthocyanes, les flavonoïdes et les alcaloïdes ont été identifiés. Des dérivés quinoniques, des anthocyanes et des huiles essentielles ont été retrouvés en trace.

Type et période d'étude : Il s'agit d'une étude de Phase I qui s'est déroulée du 30 juillet au 15 octobre 2010. C'est une étude dose-effet, prospective ayant porté sur la tolérance et la toxicité aigue de EGE.

Population d'étude : Les sujets impliqués étaient des volontaires sains ayant consenti librement de participer à l'étude. Les critères d'inclusion étaient : i) âge supérieur à 18 ans, ii) sexe masculin, iii) indice de masse corporelle (IMC) entre 17,84 et 27,1 iv) absence d'anomalie clinique et paraclinique, v) absence de paludisme le mois précédent l'étude, vi) capacité à recevoir un traitement par voie orale, vii), absence d'antécédent pathologique, viii) donner son consentement éclairé. Etaient exclus de l'étude , i) les sujets présentant des manifestations cliniques et/ou parasitologique de paludisme ou de tout autre pathologie évolutive ou séquellaire, ii) les sujets ayant des antécédent d'allergie à l'un quelconque des constituants du remède.

Administration du traitement: Les volontaires étaient répartis de façon aléatoire dans trois différents groupes de traitement

dénommés G1, G2 et G3. La répartition aléatoire s'est effectuée en se basant sur un bloc de randomisation généré par Excel, office 2007. Les volontaires du premier groupe G1 ont reçu le produit à la dose de 20 ml par prise (au total 100ml), toutes les trois heures et ceci 5 fois par jour. Ceux du second groupe G2 ont reçu le produit à la dose de 30 ml par prise (au total 150ml), toutes les trois heures et ceci 5 fois par jour. Ceux du troisième groupe G3 ont reçu le produit à la dose de 40 ml (au total 200ml), toutes les trois heures et ceci 5 fois par jour. L'administration du produit s'est faite sur 3 jours de J0 à J2.

Suivi des volontaires : Les volontaires étaient hospitalisés pendant trois jours. Un interrogatoire suivi d'un examen clinique complet avec des prélèvements biologiques ont été réalisés. Spécifiquement, une goutte épaisse a été réalisée à l'inclusion et devant toute suspicion de paludisme lors du suivi. Le bilan biologique (Numération Formule Sanguine, ASAT, ALAT, créatininémie bilirubinémie totale, bilirubinémie conjuguée, glycémie, gamma GT, phosphatases alcalines, taux de prothrombine, temps de céphaline Kaolin, temps de saignement) et un ECG ont été réalisés à J0, J1, J2. Une fois sortis de l'hôpital, les volontaires étaient revus à J7, J14, J21, J28, J35 et J42.

A chaque visite, le bilan paraclinique et l'ECG étaient repris. Il a été recherché activement les événements indésirables suite à l'administration du produit. Les plaintes spontanées des volontaires étaient également consignées. Les visites à domicile étaient organisées pour les volontaires qui n'étaient pas au rendez vous.

Les examens de laboratoire : La goutte épaisse (GE) et le frottis sanguin ont été réalisés sur le site de l'étude avec des contrôles de qualité au laboratoire de parasitologie du

Centre National Hospitalier et Universitaire Koutoukou Maga de Cotonou (CNHU-HKM). La densité parasitaire a été calculée à partir de la GE par la méthode décrite dans le protocole OMS [13]. La goutte épaisse était considérée comme négative lorsqu'aucun parasite n'est retrouvé après avoir examiné 100 champs. Le comptage a été fait par rapport à 200 leucocytes. Quand aux autres bilans, Les prélèvements ont été réalisés sur le site et acheminés aux laboratoires d'hématologie et de biochimie du CNHU-HKM dans un bac contenant un accumulateur de froid. Ces différents examens sont réalisés à l'aide des automates. L'ECG a été réalisé sur le site et son interprétation effectuée par un cardiologue.

Critères de jugement : La tolérance et la toxicité aiguë du produit ont été appréciées sur le plan clinique et biologique. On considère comme événement indésirable tout signe ou symptôme indésirable apparu au décours de la prise du produit ou toutes modifications biologiques et/ou électrocardiographiques pathologiques observées au cours du suivi.

Traitement et analyse des données : L'analyse des données est réalisée avec le logiciel SPSS version 17.0. Les tests de comparaison des moyennes des groupes appariés ont été utilisés, les individus étant leurs propres témoins. Une analyse de variance ANOVA a été utilisée pour comparer les différents groupes de traitement entre eux. Une valeur de $P \leq 0.05$ est considérée comme statistiquement significative.

Considérations éthiques : La présente étude a obtenu l'avis favorable du Comité Ethique de la Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou. Un consentement éclairé a été obtenu des sujets avant leur enrôlement dans l'étude. Les principes contenus dans la déclaration d'Helsinki ont été respectés.

RESULTATS

Caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques à l'inclusion : Le tableau I résume les moyennes des différentes variables initiales des volontaires selon leur groupe de traitement, à l'inclusion. Il n'existe pas de différence significative entre les trois groupes à l'inclusion.

Tableau I : caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques à l'inclusion

Variable	G1	G2	G3
Age	25,30	25,30	25,40
IMC	22,13	21,57	22,98
Tension Artérielle Systolique (TAS)	12,3	11,7	11,6
Tension Artérielle Diastolique (TAD)	8,3	8,1	7,9
Goutté épaisse (GE)	Négative	Négative	Négative
Hémogramme			
Taux d'hémoglobine	13,5	14,52	14,9
leucocytes	4,74	4,48	4,44
plaquettes	182,4	237,9	218,2
Hémostase			
Taux de Prothrombine (TP)	79,8	90,6	88,4
Temps de Saignement (TS)	2,7	2,75	2,7
Temps de Céphalin Kaolin (TCK)	34,3	33,0	34,1
Biochimie			
Glycémie	0,85	0,85	0,85
Créatininémie	9,3	9,2	9,6
ASAT	33,2	32,1	37,0
ALAT	35,7	32,4	40,4
Gamma GT	20,9	18	20,3
Phosphatases ALcalines	291,9	358,5	334,5
Bilirubine totale	21	19	15,8
Bilirubine conjuguée	0,4	1,5	1,2

Tolérance clinique

Les constantes vitales : Il n'a pas été objectivé de variations significatives des constantes vitales au cours du suivi dans aucun des trois groupes de traitement.

Il n'existe pas de différences significatives entre les trois groupes de traitement et ce pendant toute la période de suivi. Elles sont restées normales tout le long de l'étude.

Evènements indésirables : Les évènements indésirables sont survenus majoritairement durant les trois premiers jours de l'administration de l'extrait d'*ELAEIS GUINEENS* (EGE). Ces évènements indésirables sont présentés par la moitié des volontaires (50-60%) environ le premier jour et par la presque totalité des volontaires les deux jours suivants (80-100%) et ce quelque soit le groupe de traitement. Tous ces évènements indésirables se sont amendés le quatrième jour sans traitement particulier. La distribution des sujets ayant signalé des évènements indésirables en fonction de la dose administrée est résumée dans le tableau II. Les évènements indésirables les plus rencontrés étaient : la diarrhée dans les trois groupes et de façon plus accentuée au deuxième jour de prise du produit (93%), l'asthénie dans tous les groupes et les 3 premiers jours de traitement. A une moindre fréquence nous avions les céphalées, le vertige, l'enrouement de la voix, et des douleurs abdominales (Tableau III). Il n'y avait pas de prédominance d'un évènement indésirable dans un groupe de traitement ($P > 0,05$).

Tableau II : Nombre (et Fréquence) des sujets ayant présenté au moins un évènement indésirable en fonction du groupe de traitement et du jour de traitement (J0, J1 et J2).

	G1		G2		G3		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
J0	5	50	5	50	6	60	16	53,3
J1	10	100	10	100	8	80	28	93,3
J2	10	100	10	100	9	90	29	96,7

Tableau III : Nature et évolution des évènements indésirables observés

Symptômes	J ₀		J ₁		J ₂		J ₇		J ₁₄		J ₂₁		J ₂₈		J ₃₅	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Diarrhée	14	47	28	93	26	87	9	30	0	0	0	0	0	0	0	0
Asthénie	4	13	6	20	7	23	2	7	0	0	0	0	0	0	0	0
Ballonnement abdominal	2	6,7	2	6,7	2	6,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vertige	1	3,3	2	6,7	2	6,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Céphalée	2	6,7	1	3,3	5	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enrouement de la voix	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Douleur abdominale	2	7	1	3	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Somnolence	1	3	2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tolérance biologique

Paramètres hématologiques Aucune modification anormale n'est observée au niveau de ces paramètres.

Paramètres biochimiques : La glycémie, la créatininémie les phosphatases alcalines, les Gamma GT, les bilirubines n'ont pas subi des modifications pathologiques. Seules les transaminases (ALAT et ASAT) ont subi une hausse (mais < 2N) surtout les trois premiers jours de la prise de EGE. Cette élévation a été observée dans les trois groupes de traitement surtout avec des pics à J1 ou J2 suivi d'une diminution à partir de J7 et un retour à la normale à J42. L'augmentation des transaminases semble plus élevée dans le G3 surtout à J1 sans différence significative. Les figures 1 et 2 montrent l'évolution des transaminases au cours du suivi des volontaires.

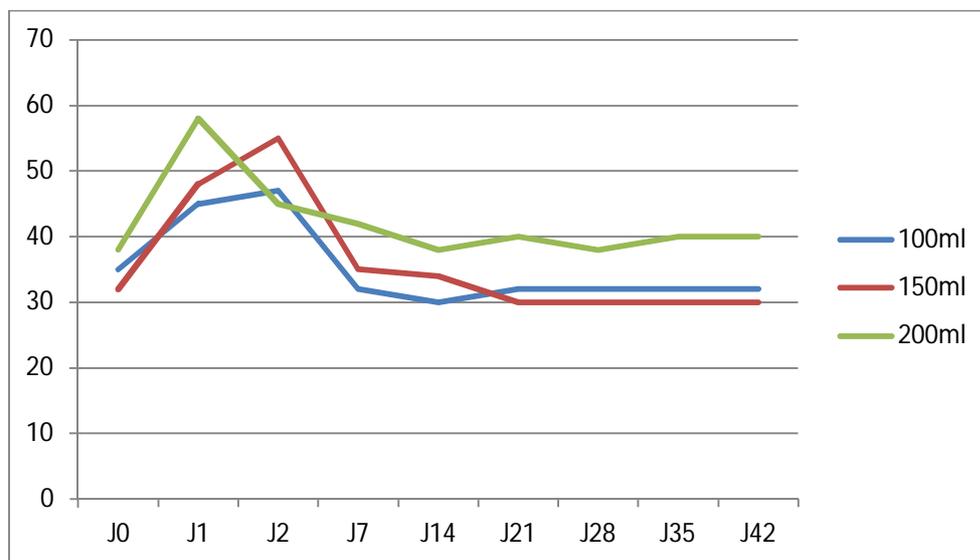


Figure 1 : Variation de ALAT en fonction de la dose d'EGE et dans le temps

Tableau IV : Variation de ALAT en fonction du groupe de traitement et des Jours de suivi.

Moyennes ± Ecart-types (ALAT)									
	J0	J1	J2	J3	J7	J14	J28	J42	P
G1	34,77± 7,80	61,69± 38,85	58,54± 35,14	46,77± 22,23	34,38± 15,33	31,00	30,23± 8,28	35,54± 7,32	NS
G2	32,10± 16,73	53,00± 35,57	51,90± 40,31	60,90± 36,76	35,44± 11,03	28,67± 12,10	34,30± 9,93	33,80± 6,76	NS
G3	38,79± 17,58	77,57± 62,63	58,50± 36,31	52,43± 26,52	43,64± 15,06	34,33± 11,85	37,00± 16,50	43,50± 12,32	0,06

NS : non significatif

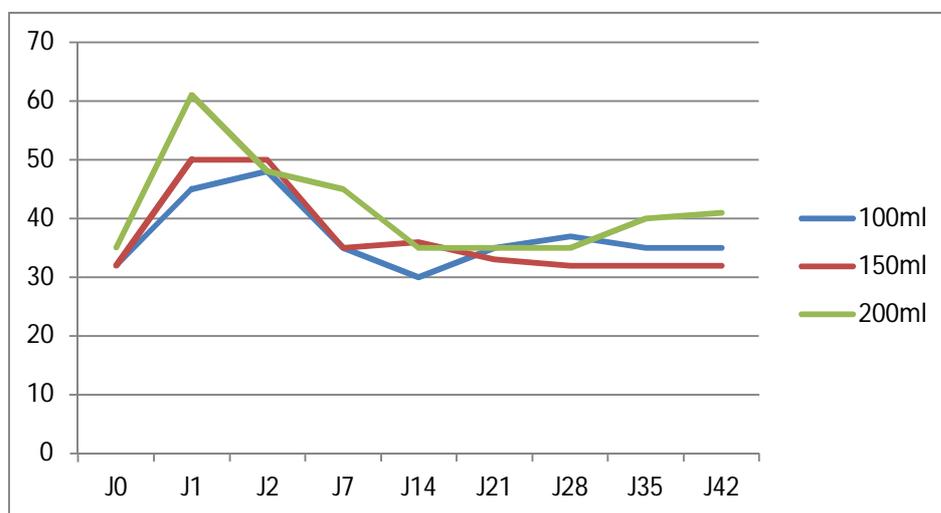


Figure 2 : Variation de ASAT en fonction de la dose d'EGE et dans le temps.

Tableau V : Variation de ASAT en fonction du groupe de traitement et des Jours de suivi.

NS : non significatif

Moyennes ± Ecart-type (ASAT)									P-
	J0	J1	J2	J3	J7	J14	J28	J42	
G1	37,69± 5,90	62,69± 37,16	59,23± 36,12	46,00± 20,57	36,69± 11,51	34,00	32,69± 7,83	35,69± 8,35	NS
G2	32,40± 13,14	51,00± 28,43	52,90± 40,56	62,70± 37,64	37,44± 9,54	33,00± 15,10	36,20± 9,64	32,90± 7,40	NS
G3	41,43± 13,36	59,23± 36,12	58,07± 35,40	49,43± 24,97	42,64± 10,73	38,33± 10,20	37,51± 12,22	40,36± 10,71	NS

Tolérance cardiaque : Nous n'avons pas observé d'allongement de l'espace QTc. Aucun trouble de repolarisation, de rythme ou autre trouble de fonctionnement cardiaque n'a été observé chez les sujets de l'étude.

Bilan parasitologique : La goutte épaisse a été négative chez tous les volontaires et durant toute l'étude (de J0 à J42).

DISCUSSION

La présente étude s'inscrit dans un contexte particulier assez fréquent dans nos pays en développement où la réglementation relative aux médicaments est inexistante ou insuffisamment mise en place. Pour être mis sur le marché et devenir ainsi un médicament, le produit doit subir une série de tests précliniques et cliniques. Les tests cliniques sont constitués des études de phases I, II, III et parfois IV. Le produit faisant l'objet de ce travail quoique fortement distribué au Bénin, n'a pas suivi l'ensemble de ce processus. La présente étude vient combler une partie de ce déficit scientifique devant contribuer à l'évidence médicale.

Nous avons mené une étude phase I, dose-effet, en administrant des doses croissantes du produit à différents groupes de sujets sains; l'effet étudié étant la tolérance et la toxicité aiguë du produit. L'avantage d'une étude dose-effet est de contribuer de ce fait à l'optimisation de la dose thérapeutique en balançant entre les effets thérapeutiques souhaités et les effets indésirables [15]. Les études de phase I sont réalisées afin de collecter davantage d'informations sur le produit notamment chez des sujets qui ne sont pas malades. Ces informations peuvent concerner la pharmacocinétique, la tolérance et la toxicité du produit, la relation dose-effet, la pharmacodynamie chez des volontaires sains.

Les plantes médicinales faisant l'objet d'une longue tradition d'utilisation peuvent ainsi faire l'objet d'une étude de phase I afin d'acquérir davantage d'informations sur les caractéristiques précitées. L'évaluation du profil de sécurité du produit a été suffisamment large dans le cadre de ce travail comparativement à certaines études [16]. En effet, nous avons examiné ici plusieurs paramètres cliniques et biologiques suite à l'administration de trois différentes doses de EGE.

Il est important de noter les difficultés à réaliser une étude de phase I dans un contexte africain fait de spécificités culturelles sur la notion de maladie. Ces difficultés résident par exemple dans le fait d'hospitaliser pendant 3 jours des sujets sains dans le cadre de cette étude. Néanmoins, nous avons pu recruter

trente volontaires sains contribuant ainsi à la réduction de la variabilité interindividuelle.

Les événements indésirables ont été constatés majoritairement durant les trois jours de traitement et ont disparu après le 7^{ème} jour et ce pour tous les événements indésirables. La diarrhée, symptôme dominant, pourrait être due à la présence des dérivés quinoniques dans l'EGE et qui sont connus pour leurs effets laxatifs. Un effet laxatif remarqué a été rapporté également pour d'autres plantes médicinales à activité antipaludique tel *Argémone mexicana* [17]. L'asthénie, deuxième plainte des sujets, pourrait être due à la diarrhée observée. L'asthénie a été rapportée à une moindre fréquence (7%) avec *Nauclea pobeguinii* [16] contre 20%, au deuxième jour de traitement, dans notre étude. Par contre, plus de cas de céphalées (23%) ont été rapportés avec *Nauclea pobeguinii* [16] que dans notre étude (6,7% au premier jour de traitement). Des cas de céphalées ont aussi été rapportés avec *Tréma orientalis* [18].

Les autres événements indésirables observés peuvent être dus aux quininés, alcaloïdes de quinquina ou aux amino-4-quinoléines [19]. Le fait qu'il n'y ait pas de modifications pathologiques au niveau des paramètres hématologiques, biochimiques, de l'hémostase et au niveau cardiaque traduit une bonne tolérance du produit. De récentes études précliniques ont conclu également à une bonne tolérance de EGE [20]. Les quelques variations observées dans le cadre de cette étude se situent dans les normes biologiques tolérées et ne sont pas pathologiques. L'élévation transitoire des transaminases observée au cours de notre étude nécessite une meilleure surveillance des marqueurs hépatiques chez les patients. Ce premier travail devrait être poursuivi afin d'évaluer les propriétés pharmacologiques de EGE. De récentes enquêtes ethnopharmacologiques effectuées au Ghana ont identifié EGE parmi les plantes antipaludiques utilisées par les populations autochtones de Dangmé [21]. Des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les doses optimales. Des études de phase II et III sont aussi indispensables avant de conclure à la place

qu'occuperait ce produit au sein de l'arsenal thérapeutique antipaludique.

CONCLUSION

Au terme de cette étude, nous pouvons dire qu'EGE a une bonne tolérance et ne présente pas une toxicité aiguë chez des volontaires sains. Toutefois, des études supplémentaires sont indispensables pour mieux apprécier l'augmentation transitoire des transaminases

observée sous EGE d'une part et les propriétés antipaludiques d'EGE, d'autre part.

Des études pharmacodynamiques *in vitro* seraient également utiles pour apprécier la place de ce produit par rapport aux antipaludiques existant. Des études dose-effets de phase II et donc focalisées sur la pharmacodynamie antipaludique permettront la détermination des doses optimales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Eastman RT, Fidock DA.** Artemisinin-based combination therapies: a vital tool in efforts to eliminate malaria. *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7:864-8674.
2. **Dondorp AM, Nosten F, Yi P et al.** Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med.* 2009 ; 361:455-467.
3. **Noedl H, Se Y, Schaefer K et al.** Artemisinin Resistance in Cambodia 1 (ARC1) Study Consortium. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med* 2008; 359: 2619-2620.
4. **White NJ.** Qinghaosu (artemisinin): the price of success. *Science.* 2008; 320: 330-334.
5. **Yeung S, Socheat D, Moorthy VS et al.** Artémisinine resistance on the Thai-Cambodian border. *Lancet* 2009; 374:1418-1419.
6. **Aubouy A, Fievet N, Bertin G et al.** Dramatically decreased therapeutic efficacy of chloroquine and sulfadoxine-pyriméthamine, but not mefloquine, in southern Benin. *Trop Med Int Health* 2007; 12: 886-894.
7. **WORLD HEALTH ORGANISATION.** The African summit on Roll Back Malaria. Abuja, Nigeria, April 2000, OMS Genève, WHO/CDS/RBM/2000.17, 34p.
8. **Bannerman R, Buton J, ET Wen et al.** Traditional medicine and health care coverage. *OMS;* 1983; 9-13.
9. **Allabi AC, Fidèle Bakiono, Vital Ekanmian, Yves Horsmans.** The use of medicinal plants in self-care in the Agonlin region of Benin. *J Ethnopharmacol* 2011; 133::234-243.
10. **WHO POLICY PERSPECTIVES ON MEDICINES. MEDECINE TRADITIONNELLE :** Besoins Croissants et Potentiel N° 2 mai 2002, WHO/EDM/2002.4. 6 p.
11. **Houeto D, D'hoore W, Ouendo E, et al.** Fièvre chez l'enfant en zone d'endémie palustre au Bénin : analyse qualitative des facteurs associés au recours aux soins. *Santé publique* 2007; 5: 363-372.
12. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.** Réglementation des médicaments à base de plantes : La situation dans le monde WHO/TRM/98.1.65 p.
13. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. BUREAU REGIONAL POUR L'AFRIQUE.** Lignes directrices pour l'étude clinique des médicaments traditionnels dans la région africaine de l'OMS. AFRO/TRM/04.4.69.p
14. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.** Evaluation et surveillance de l'efficacité des antipaludiques dans le traitement du paludisme à *Plasmodium falciparum* non compliqué, OMS Genève, Document WHO/RBM/2003.50, 2004; 67 p.
15. **Chippaux J.P.** Pratique des essais cliniques en Afrique. Collection Didactiques paris, édition 2004,318 p.
16. **Mesia K, Cimanga K, Tona L et al.** Assessment of the Short-Term Safety and Tolerability of a Quantified 80% Ethanol Extract from the Stem Bark of *Nauclea pobeguini* (PR 259 CT1) in Healthy Volunteers: A Clinical Phase I Study. *Planta Med* 2011; 77:111-116.
17. **Willcox ML, Graz B, Falquet J et al.** *Argemone mexicana* decoction for the treatment of uncomplicated *falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101:1190-1198.
18. **Mombouli JV.** Effects of traditionally formulated *Trema orientalis* on uncomplicated malaria [MIM.Abstract 16765621]
19. **Ogobara D, Gaye O, Bouchaud O et al.** Mémento thérapeutique du paludisme en Afrique éd. Doin 2008 139 p.
20. **Syahmi AR, Vijayarathna S, Sasidharan S et al.** Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (oil palm leaf) methanol extract. *Molecules.* 2010; 15:8111-8121.
21. **Asase A, Akwetey GA, Achel DG.** Ethnopharmacological use of herbal remedies for the treatment of malaria in the Dangme West District of Ghana. *J Ethnopharmacol* 2010; 129:367-376.