

Université de Lille (France)

ED-Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (ED-SMRE)

Faculté des Sciences et Technologies-Département Biologie

Laboratoire de Pharmacognosie

UMRt BioEcoAgro 1158-Institut Charles Viollette

Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (Sénégal)

ED-Physique, Chimie, Sciences de la Terre, de l'Univers et de l'Ingénieur (ED-PCSTUI)

Faculté des Sciences et Techniques-Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique

THESE DE DOCTORAT

En « Biotechnologies agroalimentaires, sciences de l'aliment, physiologie »

et

En « Chimie Moléculaire, Option Organique »

**Étude phytochimique et propriétés anti-infectieuses de plantes médicinales sénégalaises :
molécules bioactives de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de *Terminalia avicennioides***

Présentée par :

M. Abda BA

Directeurs de thèse : **Pr Céline Rivière & Pr Matar Seck**

Co-encadrant : **Dr Vincent Roumy**

Soutenue à Lille le 11 juin 2024, devant le jury composé comme suit :

Pr Joëlle Quetin-Leclercq	Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique	Présidente
Pr El Hadji Alioune Fall	Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal	Examineur
Pr Issa Samb	Université Alioune Diop de Bambey, Sénégal	Examineur
Dr Marina Kritsanida	Université Paris Cité, France	Rapporteur
Pr Abdoulaye Gassama	Université Assane Seck de Ziguinchor, Sénégal	Rapporteur
Pr Céline Rivière	Université de Lille, France	Directrice de thèse
Pr Matar Seck	Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal	Co-directeur de thèse
Dr Vincent Roumy	Université de Lille, France	Co-encadrant

Année universitaire : 2023/2024

« Quand on cherche les conditions psychologiques des progrès de la science, on arrive bientôt à cette conviction que c'est en termes d'obstacles qu'il faut poser le problème de la connaissance scientifique. »

Gaston Bachelard (1884-1962)

À ma mère

À mon père

À mes sœurs

À mon frère

À ma merveilleuse épouse

À la mémoire de ma feu grand-mère

À mon cousin Abdourahmane BA et à la mémoire de son épouse Izé PELEENDO BA

À mes enseignants de l'élémentaire, du collège, du lycée et de l'Université

À mes amis

En témoignage d'affection et de reconnaissance

Remerciements

Ce travail étant le fruit de fructueuses collaborations, j'aimerais remercier ici toutes les personnes qui m'ont aidé et supporté pendant ma thèse et grâce à qui ce manuscrit a pu aboutir.

Avant tout, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et ma reconnaissance aux Professeurs Céline Rivière et Matar Seck, mes Directeurs de thèse, pour leur confiance, leur enthousiasme, leur disponibilité, leur patience, leurs encouragements, leurs soutiens moral et pédagogique, leurs conseils, pour les nombreuses corrections des articles et des différents rapports de CSI ainsi que pour toutes nos discussions scientifiques et l'accompagnement pour la réalisation de ce travail de thèse. Je remercie particulièrement le Pr Céline Rivière pour son assistance dans certaines démarches administratives et d'avoir accepté avec générosité de se porter garante pour mon logement à Lille. Je remercie sincèrement le Dr Vincent Roumy, encadrant de cette thèse, pour ses conseils pertinents, pour les nombreuses discussions très constructives et enrichissantes et son appui considérable pour atteindre les objectifs de cette thèse.

Chers membres du jury, les Professeurs Joëlle Quetin-Leclercq, Abdoulaye Gassama, Marina Kritsanida, El Hadji Alioune Fall, Issa Samb, je vous adresse mes chaleureux remerciements pour avoir accepté de juger ce travail scientifique et pour la lecture du manuscrit et les différents commentaires apportés pour son amélioration. C'est un honneur pour moi de vous avoir comme juges.

Mes remerciements les plus chaleureux s'adressent aux honorables Professeurs Joëlle Quetin-Leclercq, Pierre Champy et Djibril Fall pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de faire partie de mon Comité de Suivi de Thèse en tant que juges et examinateurs de ce travail au cours de ces trois dernières années. Vos éclairages et orientations apportés lors des CSI ont été un fil conducteur pour l'aboutissement de cette thèse.

Je tiens aussi à remercier très sincèrement le Professeur Jean-Louis Hilbert pour son accueil au sein de l'UMRt BioEcoAgro (Institut Charles Viollette), pour sa disponibilité et sa réactivité rapide à chaque fois que je vous ai sollicité. J'associe à ses remerciements le Professeur Sevser Sahpaz pour son accueil et son accompagnement au sein du Laboratoire de Pharmacognosie et au sein de l'équipe 5 « Métabolites secondaires d'origine végétale ».

À VOUS, MERCI POUR TOUT !

Je remercie chaleureusement le Professeur Joëlle Quetin-Leclercq (Pharmacognosy Research group, Louvain Drug Research Institute, Université Catholique de Louvain,

Bruxelles, Belgique) en m'accueillant dans son laboratoire et en mettant tout à ma disposition (formation, ressources...) pour mes tests antiparasitaires et cytotoxiques lors de mes nombreux séjours à Bruxelles. Merci pour votre générosité et votre assistance permanente qui m'ont énormément marqué. Auprès de vous j'ai énormément appris. J'aurai aimé vous avoir comme guide plusieurs années encore. Je vous souhaite une belle retraite méritée.

Je remercie très sincèrement Kristelle Hughes (LDRI, Université Catholique de Louvain, Bruxelles) pour son assistance et son soutien au cours des tests antiparasitaires et de cytotoxicité à l'UCL. Je la remercie également pour sa disponibilité, sa générosité et de m'avoir formé sur le traitement des données par MZmine et sur les réseaux moléculaires et la déréplication. Des techniques que j'ai découvertes à ses côtés et que j'ai intégré dans ma thèse au cours de la dernière année. C'est avec toi que j'ai vu pour la première fois un réseau moléculaire. La beauté des réseaux m'avait tellement marqué que je commençais à réfléchir à comment intégrer ce domaine dans ma thèse. Merci pour nos nombreux appels téléphoniques et discussions sur différents sujets. Merci pour tes encouragements, tes orientations précises, tes conseils très pertinents et tes corrections en profondeur et hyper importantes de mes articles. Tu as été un soutien de taille pour ce travail. Mes RESPECTS, Kristelle!

Je remercie du fond du cœur également Maude Bourlet (LDRI, Université Catholique de Louvain, Bruxelles) pour m'avoir formé, avec la plus grande générosité, à la culture cellulaire, aux cultures parasitaires (*Leishmania mexicana mexicana* et *Trypanosoma brucei brucei*) et le maintien des cultures ainsi qu'aux tests antiparasitaires et de cytotoxicité. À tes côtés j'ai appris tout ce que je connais aujourd'hui en parasitologie.

Je souhaite remercier très sincèrement Marie-France Herent (LDRI, Université Catholique de Louvain, Bruxelles) pour avoir passé mes échantillons en HR-MS/MS qui m'ont permis de réaliser la déréplication et les réseaux moléculaires. J'associe à ces remerciements les anciens collègues de l'équipe LDRI à l'UCL notamment Fanta Fall, Laura Schioppa, Hafiz Abdul Khaliq, Julien et Anne-Marie pour leur assistance sans faille pendant les manips. *Grazie a Laura, per aver preso appuntamenti ogni volta per la lettura dello spettrofotometro, sei un dono di Dio.*

Mes remerciements les plus chaleureux vont au Dr Karin Séron, à Malak Al Ibrahim et à Imelda Raczkievicz du Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL) (Institut Pasteur de Lille) pour avoir accepté de réaliser les tests d'activités antivirales sur les coronavirus (HCoV-229E et SARS-CoV-2) de mes nombreux échantillons (extraits et molécules pures). À Malak

et à Imelda, vraiment chapeau bas pour ce gros travail que vous avez abattu malgré les charges de vos thèses de doctorat.

Je remercie du fond du cœur Jennifer Samaillie pour sa disponibilité à chaque fois que j'ai eu besoin de ses services. Merci pour m'avoir formé sur tout le matériel du laboratoire notamment les appareils UHPLC, CLHP, CPC, RMN, HR-MS, lyophilisateur, miVac... et sur la culture bactérienne et les tests des activités antibactériennes (Steers). Tu as été toujours là pour moi et tu m'as bien encadré. Avec tout mon respect, ce travail est le tien.

Je remercie très sincèrement, feu Dr Christel Neut (Laboratoire de Bactériologie, Inserm U1286 Infinite, Université de Lille) en m'accueillant au sein de leur laboratoire et pour ses précieux conseils, le don des souches bactériennes, en me facilitant et en m'assistant dans tous mes travaux en bactériologie. L'éclairage en bactériologie qu'elle a su apporter dans le cadre de ce travail a été un atout indéniable. Merci pour tout et Que ton âme repose en paix.

Je remercie également Sophie Moureu (ancienne ingénieure de recherche du Laboratoire de Pharmacognosie), Isabelle Houcke et Séverine Mahieux (Laboratoire de Bactériologie, Université de Lille) pour leur assistance au cours de la thèse.

Je remercie très sincèrement le Professeur Mehdi Beniddir de l'Université Paris-Saclay pour avoir accepté généreusement de faire les analyses en dichroïsme circulaire et en polarimétrie de mon nouveau composé ainsi que d'avoir apporté son expertise en chimie des produits naturels et ses connaissances de la revue lors des corrections de notre deuxième article.

Je remercie le Comité de Médecine Traditionnelle (CMT) du Sénégal pour son accord donné pour l'enquête ethnobotanique sur les usages traditionnels des plantes (MSAS/DGS/CMT/18-01-21). À ces remerciements, j'associe, avec la plus grande reconnaissance et le plus grand respect, les herboristes, les guérisseurs traditionnels et tous les ménages qui ont participé et accepté de partager leurs savoirs traditionnels avec la plus grande générosité lors de l'enquête ethnobotanique. Vous êtes la mémoire et la bibliothèque de la médecine traditionnelle. À vos côtés, j'ai appris énormément de choses en un temps record.

Je tiens à remercier très chaleureusement le Pr William Diatta, botaniste à la faculté de médecine de Dakar, ainsi que les Docteurs Mamadou Sidybé et Abdoul Aziz Camara de l'Herbier de Dakar de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar pour leur aide dans l'identification des plantes, dans la préparation des planches d'herbier et dans leurs dépôts à l'herbier de Dakar.

Je tiens à remercier chaleureusement Alexandre Rech et Vincent Ultré de la plateforme technique RMN ainsi que Mostafa Kouach et Nathalie Azaroual du Plateau de Spectrométrie de l'UFR3S à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lille pour l'accès aux équipements, leur soutien permanent et leur disponibilité lors des analyses en RMN, en HR-MS et en IR.

Je remercie amicalement Asma Hakem, Malak Al Ibrahim, Mariam Taha, Djamila Amini Augustin Bildstein et Evariste Akissi tout d'abord pour leur assistance, leur présence, leur soutien moral et puis pour les excellents moments passés ensemble en dehors du labo. Mention spéciale à Asma Hakem, Malak Al Ibrahim, Mariam Taha et Djamila Amini pour l'organisation. Vous m'avez beaucoup facilité la tâche. Ce qui m'a permis de me concentrer au maximum sur ma présentation. Vous êtes une famille pour moi. MERCI INFINIMENT !

Je remercie sincèrement Thierry Hennebelle du Laboratoire de Pharmacognosie de Lille pour les discussions scientifiques et pour la vérification de l'élucidation structurale (RMN) du nouveau produit et pour son livre de pharmacognosie qu'il m'a offert.

Je remercie également tous les membres du Laboratoire de Pharmacognosie (Université de Lille), Anne-Sophie Paguet, Gabriel Lefèvre, Simon Bordage et Malika pour leur courtoisie, pour les nombreuses discussions très constructives et leur assistance au cours de ces trois années.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à mes collègues de Nantes Université, plus particulièrement à Olivier Grovel, Karina-Ethel Petit, Nicolas Riuz, Catherine Roullier, Claire Sallenave-Namont, Aurore Michaud, Thibaut Robiou Du Pont, Samuel Bertrand, Pascal Marchand, Elise Gerometta, Aurélie Mossion et Claire-Farelle Biyong pour leur confiance, leur patience, leur assistance et leurs précieux conseils en cette fin de thèse. J'associe à ces remerciements les ATER, les doctorants et post-doctorants de l'ISOMer notamment Clément Baratange, Olivier Berry, Clémence Marivain, Colleen Guinle, Antoine Dubois et Julie Boussarie. Merci à toute l'équipe ISOMer pour l'accueil, le soutien et les bons moments que je passe avec vous.

Je remercie aussi tous les membres du Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique de FMPO de l'UCAD au Sénégal, notamment le directeur Alassane Wélé, Seydou Ka, Samba Fama Ndoeye, Insa Seck, Lalla Aïcha Ba, Rokaya Sylla Guèye, Mamadou Baldé, Adama Diédhiou, Yéro Tine, Seynabou Sokhna, Ismaïla Ciss, Moussa Ndao, Nango, Gaye, Aliou Diallo, Ibrahima Keita, Christelle et Harouna Tirera.

J'exprime mes remerciements et ma gratitude à la famille PELENDO à Bruxelles pour leur soutien inconditionnel et continu depuis 2007. Je veux particulièrement remercier Wébana et son mari Peter et leurs adorables enfants pour leur grande considération. Merci du fond du cœur à votre feu sœur Izé Pélando (Paix à son âme), une maman pour moi, qui m'a toujours soutenu dans les moments les plus difficiles pendant mes études et qui m'a aussi toujours encouragé à poursuivre mes études et à aller le plus loin possible. J'aurai aimé que tu sois là pour assister à la soutenance de ton petit Abda et te donner ce manuscrit en mains propres. J'ai une pensée pieuse pour tata Zaki et pour maman Pélando (Paix à leur âme). J'associe à ces remerciements mon très cher cousin Abdourahmane BA (époux de Izé Pélando) pour son accueil dans sa maison à Dakar pendant 11 années et son hospitalité et soutien sans faille. À vous deux, ce travail est dédié.

J'adresse mes remerciements et ma reconnaissance à la famille BOCOUM de Mboumba pour leur hospitalité en m'accueillant gratuitement chez eux pendant toutes mes études au collège et au lycée.

Merci à tous mes sincères amis particulièrement à Saïdou Wone et sa famille, Abdoul W. Tall, Makhtar Guèye, Alassane Diagne, Abdou Top, et à la famille BOCOUM pour votre présence, votre compagnie et votre assistance.

Je souhaite également remercier tous mes enseignants de l'école élémentaire à l'Université en passant par le collège et le lycée. Je vous suis éternellement reconnaissant et sachez que je me rappelle chacun de vous.

À mes deux parents, ma mère et mon père sans qui ce travail n'aurait pas eu lieu ainsi qu'à mes adorables petites sœurs (Dieynaba, Sokhna et Rougui) et à mon petit frère Mohamadou (mon médecin !) et à ma merveilleuse épouse Yoba, ma FAMILLE, je vous remercie et vous exprime ma gratitude pour votre présence dans ma vie, votre AMOUR, votre SOUTIEN inconditionnel, vos prières, votre compréhension et votre patience. Merci de m'avoir toujours supporté ! Sachez que vous êtes ma force et ma source de motivation et d'inspiration. Ce travail vous ait entièrement dédié. Je vous aime et je vous aimerais pour toujours !

J'exprime ma profonde gratitude envers le Gouvernement français à travers l'Ambassade de France au Sénégal (Bourse SCAC), le Gouvernement sénégalais à travers le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (Bourse de Doctorat Étranger), mais aussi le Collège Doctoral de l'Université de Lille (Bourse de Mobilité vers la Belgique), l'Université de Lille (Bourse Moblilex) et l'École Doctorale Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (ED-SMRE) (Bourse pour un congrès international) pour

les différents financements accordés. Je remercie également la Société Française de Microbiologie (SFM) pour le prix accordé à l'occasion du congrès international OHID en juin 2022 à Lille.

Et en fin, à toutes ces personnes qui m'ont un jour aidé, je vous remercie du fond du cœur.

Abda BA
Avril 2024

Table des matières

Remerciements	ii
Listes des figures	x
Listes des tableaux	xi
Liste des abréviations	xii
Contributions scientifiques	xv
Résumé	1
Abstract	1
Introduction générale.....	2
Partie I.....	6
A. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	7
I. Infections bactériennes et fongiques.....	7
I.1. Problématique de la résistance aux antimicrobiens (RAM).....	7
I.2. Mécanismes de résistance aux antimicrobiens	11
I.3. Traitements actuels et mise en œuvre de stratégies de lutte contre l'antibiorésistance	12
II. Infections virales : le cas des coronavirus humains.....	17
II.1. Épidémiologie des coronavirus humains.....	17
II.2. Cycle de vie du SARS-CoV-2.....	20
II.3. Diagnostic du SARS-CoV-2.....	22
II.4. Traitements et prévention de la COVID-19	23
III. Maladies tropicales négligées (MTN)	27
III.1. Trypanosomiase humaine africaine (THA).....	27
III.1.1. Épidémiologie	27
III.1.2. Le parasite et son cycle de vie	29
III.1.3. Symptomatologie et diagnostic.....	31
III.1.4. Traitements	33
III.2. Leishmanioses	35
III.2.1. Épidémiologie.....	35
III.2.2. Le parasite et son cycle de vie	36
III.2.3. Symptomatologie et diagnostic.....	38
III.2.4. Traitements	40
IV. Système de santé sénégalais et place de la médecine traditionnelle au Sénégal.....	43
IV.1. Présentation du Sénégal	43
IV.2. Système de santé au Sénégal.....	48
IV.3. Thérapie par les plantes	53
IV.4. Médicaments à base de plantes (MTA) et réglementation.....	54
IV.5. Réglementation sur l'accès aux ressources génétiques.....	55

IV.6. Affections de la sphère ORL et leur prévalence au Sénégal.....	55
IV.7. Phytothérapie anti-infectieuse de la médecine traditionnelle sénégalaise	57
IV.8. Exemples de plantes anti-infectieuses de la pharmacopée sénégalaise	57
IV.8.1. Présentation de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Rutaceae).....	58
IV.8.1.1. Description botanique de la plante et distribution géographique	58
IV.8.1.2. Utilisations en médecine traditionnelle	60
IV.8.1.3. Constituants chimiques de <i>Z. zanthoxyloides</i> et activités biologiques	60
IV.8.2. Présentation de <i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (Combretaceae)	65
IV.8.2.1. Description de la plante et répartition géographique.....	65
IV.8.2.2. Utilisations en médecine traditionnelle	67
IV.8.2.3. Étude phytochimique et activités biologiques réalisées sur <i>T. avicennioides</i>	67
OBJECTIF DE LA THÈSE.....	70
Contribution personnelle	71
Partie II.....	72
B. TRAVAUX PERSONNELS.....	72
Chapitre 1.....	73
I. Enquête ethnobotanique et criblages antibactérien, antifongique et anti-coronavirus (HCoV-229E et SARS-CoV-2) menés sur les extraits bruts méthanoliques des plantes sélectionnées.....	73
Résumé détaillé	73
Chapitre 2.....	133
II. Activités antiparasitaires des plantes récoltées et isolement de molécules antitrypanosomales et antileishmaniales des feuilles de <i>Terminalia avicennioides</i>	133
Résumé détaillé	133
Chapitre 3.....	180
III. Étude des activités antiparasitaire, anti-coronavirus, antibactérienne, antifongique et cytotoxique de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> et isolement de molécules bioactives.	180
Résumé détaillé	180
III.1. Activités antiparasitaires, anti-coronavirus et cytotoxique de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> et isolement de molécules bioactives.....	182
III.2. Activités antibactériennes et antifongiques de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i>	225
Conclusion et perspectives	228
Références bibliographiques	231
ANNEXES.....	247
Annexe A.....	248
Annexe B.....	255
Annexe C.....	271

Listes des figures

Figure 1 : Taux de décès en 2019 attribuables à la résistance bactérienne aux antimicrobiens dans la population générale, tous âges confondus, par zone géographique au niveau mondial.	9
Figure 2 : L'environnement complexe d'un hôte humain (à gauche) et les principaux mécanismes mis en œuvre par une bactérie (ex. <i>P. aeruginosa</i>) pour devenir résistante aux antibiotiques (à droite).....	12
Figure 3 : Différentes classes d'antibiotiques.....	14
Figure 4 : Cycle de vie du SARS-CoV-2.	21
Figure 5 : Aperçu des médicaments contre la COVID-19, des recommandations et des questions clés à prendre en compte lors de leur application selon l'OMS	26
Figure 6 : Répartition géographique de la trypanosomiase humaine africaine (2017-2018).....	28
Figure 7 : Zones à risque d'infection par la THA (2014-2018).....	29
Figure 8 : Cycle de vie de <i>T. brucei gambiense</i> et de <i>T. brucei rhodesiense</i>	30
Figure 9 : <i>T. brucei</i> spp. dans un frottis sanguin mince coloré au Giemsa.....	32
Figure 10 : Les différents médicaments contre la THA	34
Figure 11 : Statut d'endémicité de la leishmaniose cutanée (LC) dans le monde en 2022	36
Figure 12 : Statut d'endémicité de la leishmaniose viscérale (LV) dans le monde en 2022	36
Figure 13 : Cycle de vie de <i>Leishmania</i>	38
Figure 14 : Diverses approches diagnostiques de la leishmaniose	40
Figure 15 : Structures des médicaments antileishmaniaux actuels.....	41
Figure 16 : Carte du Sénégal avec ses pays limitrophes et ses différentes régions	43
Figure 17 : Principaux types de végétation du Sénégal.....	47
Figure 18 : Les parcs nationaux du Sénégal	48
Figure 19 : Organisation du système de santé sénégalais.....	50
Figure 20 : Répartition des Établissements Publics de Santé (EPS) hospitaliers au Sénégal.....	50
Figure 21 : Raisons, selon la zone de résidence, pour lesquelles les personnes enquêtées ne vont pas dans un centre de santé (%).....	52
Figure 22 : Produits de la médecine traditionnelle sur un marché à Dakar	54
Figure 23 : Produits de plantes médicinales de l'hôpital traditionnel de Keur Massar (Dakar).....	54
Figure 24 : Distribution géographique de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timler	58
Figure 25 : Images de <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timler.....	59
Figure 26 : Quelques alcaloïdes isolés ou identifiés de différentes parties de <i>Z. zanthoxyloides</i>	61
Figure 27 : Quelques amides isolés ou identifiés de différentes parties de <i>Z. zanthoxyloides</i>	62
Figure 28 : Autres composés isolés ou identifiés de différentes parties de <i>Z. zanthoxyloides</i>	63
Figure 29 : Distribution géographique de <i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	66
Figure 30 : Images de <i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.....	66
Figure 31 : Composés isolés des racines et écorces de racines de <i>T. avicennioides</i>	69
Figure 32 : Illustration graphique du chapitre 1	75

Figure 33 : Structures des composés 1-5 et leurs activités antiparasitaires et cytotoxiques.....	135
Figure 34 : Résumé graphique du chapitre 2.....	136
Figure 35 : Résumé graphique du chapitre 3.....	183

Listes des tableaux

Tableau 1 : Les 36 souches de pathogènes humains, sélectionnées dans cette étude, leur résistance aux antimicrobiens et les infections causées.....	10
Tableau 2 : Liste de la plupart des antibiotiques disponibles en médecine de ville en France.	15
Tableau 3 : Classification des coronavirus humains	19
Tableau 4 : Aperçu des médicaments actuellement utilisés pour traiter la leishmaniose.....	42
Tableau 5 : Pauvreté au Sénégal en 2018/2019.....	45
Tableau 6 : Les types de végétation et leurs espèces dominantes	47
Tableau 7 : Répartition des types de consultations selon la zone de résidence.....	52
Tableau 8 : Quelques composés isolés de différentes parties de <i>Z. zanthoxyloides</i> et leurs activités biologiques <i>in vitro</i> étudiées.....	64
Tableau 9 : Activité antimicrobienne (CMI en µg/mL) de l'extrait brut méthanolique, des sous-extraits et fractions d'écorces de racines de <i>Z. zanthoxyloides</i> sur 36 souches pathogènes à l'homme	227

Liste des abréviations

ACE2 : “Angiotensin-Converting Enzyme-2”

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ANSD : Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : Acide Ribonucléique Messenger

ARNs : Acide Ribonucléique Simple brin

ATCC : American Type Culture Collection

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

CC₅₀ : Concentration Cytotoxique à 50 %

CCoV-HuPn-2018 : “Canine Coronavirus-Human Pneumonia-2018”

CDB : Convention sur la Diversité Biologique

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice à 50 %

CLHP : Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMU : Couverture Maladie Universelle

COVID-19 : “Coronavirus Disease 2019”

CPC : Chromatographie de Partage Centrifuge

CPSF3 : “Cleavage and Polyadenylation Specific Factor 3”

CTSB : Cathepsine B

CTSL : Cathepsine L

DAT : “Direct Antiglobulin Test”

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DMV : “Double-Membrane Vesicles”

DPP4 : Dipeptidylpeptidase-4

ELISA : “Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay”

EMA : Agence Européenne des Médicaments

ER : Endoplasmic Reticulum

ERGIC : “Endoplasmic Reticulum -Golgi Intermediate Compartment”

EUCAST : “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”

FDA : “Food and Drug Administration”

HCoV : “Human Coronavirus”

HCoV-229E : “Human Coronavirus 229E”

Huh-7 : “Human Hepatocarcinoma-7”

IFN : Interférons
IFN- γ : Interféron Gamma
IgG : Immunoglobuline G
IgM : Immunoglobuline M
IL-6 : interleukine 6
JAK : Janus Kinases
LAD : Lésions Alvéolaires Diffuses
LC : Leishmaniose Cutanée
LCM : Leishmaniose Cutané-Muqueuse
LDPKA : Leishmaniose Dermique Post-Kala-Azar
Lmm : *Leishmania mexicana mexicana*
LV : Leishmaniose Viscérale
MERS : “Middle East respiratory syndrome”
MHA : Mueller-Hinton Agar
MTA : Médicaments Traditionnels Améliorés
MTN : Maladies Tropicales Négligées
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OMVS : Organisation pour la Mise en Valeur du fleuve Sénégal
ORL : Oto-Rhino-Laryngologie
PBP : “Penicillin-Binding Protein”
RAM : Résistance aux Antimicrobiens
RBD : “Receptor Binding Domain”
RdRp : “RNA-dependent RNA polymerase”
ROS : “Reactive Oxygen Species”
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline
SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu
SIDA : Syndrome d’Immunodéficience Acquise
SNC : Système Nerveux Central
SRAS : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
SARS-CoV-2 : Coronavirus 2 du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
TAAN : Tests d’Amplification des Acides Nucléiques
Tbb : *Trypanosoma brucei brucei*
Tbg : *Trypanosoma brucei gambiense*
Tbr : *Trypanosoma brucei rhodesiense*

Tc : *Trypanosoma cruzi*

TH1 : Cellules T auxiliaires de type 1

TH2 : Cellules T auxiliaires de type 2

THA : Trypanosomiase Humaine Africaine

TMPRSS2 : “Transmembrane Protease, Serine 2”

TNF : Facteur de Nécrose Tumorale

TNF- α : Facteur de Nécrose Tumorale alpha

UHPLC : “Ultra-High Performance Liquid Chromatography”

VOC : “Variant Of Concern”

VOI : “Variant Of Interest”

VSG : “Variant Surface Glycoprotein”

Contributions scientifiques

Publications :

- **Ba, A.**, Roumy, V., Al Ibrahim, M., Racziewicz, I., Samaillie, J., Hakem, A., Sahrpaz, S., Belouzard, S., Diatta, W., Sidiybé, M., Neut, C., Séron, K., Seck, M., Rivière, C., Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey, *Journal of Ethnopharmacology* (2024), 328, 118070, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118070>.
- **Ba A.**, Roumy V., Al Ibrahim M., Hughes K., Hennebelle T., Samaillie J., Sahrpaz S., Beniddir M. A., Hérent M-F., Séron K., Leclercq J. Q., Seck M., and Rivière C.; Antileishmanial, Antitrypanosomal and Anti-coronavirus Activities of Benzophenanthridine Alkaloids and Other Specialized Metabolites Isolated From *Zanthoxylum zanthoxyloides* (**en cours de révision dans *Journal of Natural Products***).
- **Ba A.**, Roumy V., Hughes K., Samaillie J., Bourlet M., Hérent M-F., Ndoeye S. F., Hennebelle T., Sahrpaz S., Leclercq J. Q., Seck M., and Rivière C.; Antiparasitic Activities of Plants From the Traditional Senegalese Pharmacopoeia and Isolation of Antitrypanosomal and Antileishmanial Compounds From *Terminalia avicennioides* (**en cours de finalisation pour soumission dans *Fitoterapia***)

Communications :

- **Ba A.**, Roumy V., Al Ibrahim M., Samaillie J., Bourlet M., Hughes K., Hérent M-F., Hennebelle T., Sahrpaz S., Diatta W., Séron K., Neut C., Leclercq J. Q., Seck M., Rivière C. «Anti-infective and cytotoxic activities of Senegalese plants collected following an ethnobotanical survey and phytochemical study of *Terminalia avicennioides* »; **Communication Orale : Congress of Phytochemical Society of Europe (PSE) (congrès international) : Trends in Natural Product Research - PSE Young Scientists' Meeting**, Faculty of Pharmacy, Université Paris Cité, France, 28-30 June 2023.
- **Ba A.**, Roumy V., Samaillie J., Bourlet M., Sahrpaz S., Hennebelle T., Seck I., Ndoeye S. F., Ba L. A., Guèye R. S., Fall D., Neut C., Leclercq J. Q., Seck M., Rivière C. « Some medicinal plants of Senegal used in the management of infectious pathologies: Evaluation of their antimicrobial and antiparasitic activities »; **Poster : Congress of One Health International Day (OHID) (congrès international)**, Polytech Lille, Université de Lille, France 27-29 June 2022 (**Prix poster de la Société Française de Microbiologie**).
- **Ba A.**, Roumy V., Samaillie J., Bourlet M., Sahrpaz S., Hennebelle T., Seck I., Ndoeye S. F., Ba L. A., Guèye R. S., Fall D., Neut C., Leclercq J. Q., Seck M., Rivière C. « Evaluation of the antimicrobial and antiparasitic activities of plants used in traditional medicine in Senegal »; **Communication flash : Journées virtuelles de l'AFERP (congrès national)**, Visioconférence, 12-13 juillet 2022.

Cette page est intentionnellement laissée vide.

Résumé :

Ce travail pluridisciplinaire a permis d'étudier des plantes utilisées en médecine traditionnelle sénégalaise dans la prise en charge de pathologies infectieuses et d'isoler, selon un processus de fractionnement bioguidé, des agents antimicrobiens naturels. Tout d'abord, une enquête ethnobotanique menée au Sénégal auprès de 127 informateurs a permis de recenser 41 plantes appartenant à 19 familles botaniques. Les familles botaniques les plus mentionnées ont été les Combretaceae (30,2%, 6 espèces) et les Fabaceae (29,3%, 12 espèces). Au total, 34 extraits bruts méthanoliques de 25 plantes ont été évalués *in vitro* sur 36 souches bactériennes pathogènes de l'homme, des coronavirus humains (HCoV-229E et SARS-CoV-2), des parasites (*Trypanosoma brucei brucei* et *Leishmania mexicana mexicana*) et trois lignées cellulaires Huh-7, Vero-81 et WI-38. Les espèces *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Terminalia avicennioides*, ayant montré de bonnes activités leishmanicide, trypanocide et/ou anti-coronavirus, ont été sélectionnées pour la poursuite du fractionnement bioguidé. À partir des écorces de racines de *Z. zanthoxyloides*, un nouvel alcaloïde de type benzophénanthridine et racémique, nommé zanthoxyloithrine, ainsi que 13 composés connus, ont été isolés. En parallèle, une analyse de déréplication et une approche de réseaux moléculaires basées sur les données HR-ESI-MS/MS ont été réalisées afin d'identifier des composés non purifiés dans les sous-extraits apolaires. Le nouvel alcaloïde a montré de fortes activités leishmanicide ($IC_{50} = 0,14 \mu M$), trypanocide ($IC_{50} = 0,36 \mu M$) et antivirale contre HCoV-229E ($IC_{50} = 6,7 \mu M$, dans des cellules Huh-7 exprimant TMPRSS2) avec un bon index de sélectivité. Des composés trypanocides ont aussi été isolés des feuilles de *T. avicennioides*, en particulier les acides 3,4,3'-tri-O-méthylellagique, 3,4,5-O-triméthyl-3',4'-O,O-méthylidène flavellagique, hexaméthyl-coruleoellagique et pentaméthylflavellagique. Ce dernier a montré la meilleure activité contre *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 6,2 \mu M$). Ces travaux ont permis de confirmer les propriétés anti-infectieuses de certaines plantes médicinales utilisées au Sénégal.

Mots clés : Sénégal; Ethnobotanique; Antibactérienne; Antiparasitaire; Anti-coronavirus; SARS-CoV-2; *Terminalia avicennioides*; *Zanthoxylum zanthoxyloides*, Alcaloïdes Benzophénanthridines

Abstract:

This multidisciplinary work has made it possible to study plants used in traditional Senegalese medicine in the management of infectious diseases and to isolate, according to a bioguided fractionation process, natural antimicrobial agents. First, an ethnobotanical survey conducted in Senegal among 127 informants identified 41 plants belonging to 19 botanical families. The most mentioned botanical families were Combretaceae (30.2%, 6 species) and Fabaceae (29.3%, 12 species). A total of 34 methanolic crude extracts from 25 plant species were evaluated *in vitro* on 36 human pathogenic bacterial strains, human coronaviruses (HCoV-229E and SARS-CoV-2), parasites (*Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania mexicana mexicana*) and three cell lines: Huh-7, Vero-81, and WI-38. *Zanthoxylum zanthoxyloides* and *Terminalia avicennioides* species that showed good leishmanicidal, trypanocidal and/or anti-coronavirus activities were selected for further bioguided fractionation. From the root bark of *Z. zanthoxyloides*, a novel racemic benzophenanthridine alkaloid, named zanthoxyloithrine, along with 13 known compounds, were isolated. In parallel, a HR-ESI-MS/MS based dereplication and molecular networking analysis was performed to identify unpurified compounds in the nonpolar sub-extracts. The novel alkaloid showed strong leishmanicide ($IC_{50} = 0.14 \mu M$), trypanocidal ($IC_{50} = 0.36 \mu M$) and antiviral activities against HCoV-229E ($IC_{50} = 6.7 \mu M$, in Huh-7 cells expressing TMPRSS2) with a good selectivity index. Trypanocidal compounds have also been isolated from the leaves of *T. avicennioides*, 3,4,3'-tri-O-methylellagic acid, 3,4,5-O-trimethyl-3',4'-O,O-methylidene flavellagic acid, hexamethylcoruleoellagic acid and pentamethylflavellagic acid. The latter showed the best activity against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 6.2 \mu M$). This work has confirmed the anti-infective properties of certain medicinal plants used in Senegal.

Keywords: Senegal; Ethnobotany; Antibacterial; Antiparasitic; Anti-coronavirus; SARS-CoV-2; *Terminalia avicennioides*; *Zanthoxylum zanthoxyloides*, Benzophenanthridine alkaloids

Introduction générale

Les maladies infectieuses représentent l'une des principales causes de mortalité dans le monde. Chaque année, elles sont la cause d'environ 17 millions de décès [1]. En 2019, les infections des voies respiratoires inférieures, incluant les pneumonies, représentaient la catégorie de maladies transmissibles la plus mortelle au monde, classée au 4^{ème} rang des causes de décès et ayant coûté la vie à 2,6 millions de personnes [2]. Ces infections, comme la pneumonie ou la tuberculose, deviennent plus difficiles à traiter en raison de la résistance aux antibiotiques qui a atteint des niveaux très élevés sur le plan mondial.

La fin du XX^{ème} siècle a été marquée par un usage abusif des antibiotiques pour lutter contre les infections bactériennes. Cet usage souvent inapproprié a largement contribué au développement de cette résistance bactérienne [3]. Cette résistance aux antibiotiques augmente plus vite que les options thérapeutiques et le risque de ne pas être capable de proposer de nouveaux antibiotiques nous dirige de plus en plus vers des impasses thérapeutiques [4]. Le 27 février 2017, l'OMS a publié sa première liste « d'agents pathogènes prioritaires » résistants aux antibiotiques, énumérant les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine. Cette liste comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques : critique (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, entérobactéries productrices de β -lactamases), élevée (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*) et moyenne (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella* spp.). Le groupe le plus critique comporte des bactéries multi-résistantes à Gram négatif, qui, selon l'OMS, représentent une menace particulière dans les hôpitaux, les maisons de retraite ou pour les patients dont les soins imposent d'utiliser des dispositifs comme des respirateurs ou des cathéters sanguins [5]. L'OMS souligne qu'elles peuvent provoquer des infections sévères, souvent mortelles, telles que des septicémies et des pneumonies. L'organisation précise que ces bactéries sont devenues résistantes à un grand nombre d'antibiotiques, y compris ceux destinés à traiter les bactéries multirésistantes (carbapénèmes et céphalosporines de troisième génération) [1]. Cette résistance multiple concerne également les bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* et *Enterococcus* spp. [6]. L'une des résistances les plus préoccupantes est celle à la vancomycine [7], antibiotique glycopeptide de dernier recours pour les infections à *S. aureus* résistants à la méticilline. Une résistance à la tigécycline, antibiotique du groupe des glycylcyclines, de divers agents pathogènes responsables des infections des voies

respiratoires, notamment *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, a été également signalée [8].

À cette menace pesante sur la santé mondiale liée à la résistance aux antimicrobiens s'ajoute l'émergence de nouveaux pathogènes. C'est le cas notamment des coronavirus. En effet, au cours des 20 dernières années, les coronavirus ont déclenché des pandémies à trois reprises : le SARS de 2002 à 2003 ; le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) en 2012 ; et la COVID-19 à la fin de 2019 [9]. La COVID-19 (coronavirus disease 2019) causée par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), est de loin la plus meurtrière et la plus préoccupante. Entre les mois de décembre 2019 et 2023, plus de 773,4 millions de cas et 6,9 millions de décès ont été enregistrés dans le monde, mais on pense que le nombre réel est plus élevé [10].

En dehors de ces infections bactériennes et virales, les maladies tropicales négligées (MTN), dont celles d'origine parasitaire, principalement répandues dans les zones tropicales, entraînent des conséquences sanitaires, sociales et économiques dévastatrices [11,12]. L'impact de ces infections sur la mortalité, en raison d'un manque de traitements efficaces, engendre un réel problème de santé publique qu'il est urgent de résoudre. Parmi ces infections, la trypanosomiase humaine africaine (THA) ou maladie du sommeil, ainsi que la leishmaniose, deux MTN causées respectivement par les protozoaires *Trypanosoma brucei* et *Leishmania* spp., causent des manifestations cliniques parfois sévères. Malgré les progrès notables dans le traitement de la trypanosomiase et de la leishmaniose, la prise en charge et le contrôle de ces maladies dans les pays en développement est toujours problématique du fait de l'accès difficile aux médicaments par les populations. La trypanosomiase entraîne des troubles du système nerveux central, notamment des troubles sensoriels, moteurs et psychiques et des anomalies neuroendocriniennes. La leishmaniose est responsable de maladies chroniques de la peau et des viscères. Les parasites responsables de la maladie sont transmis par les phlébotomes [11,13]. Sans intervention pharmacologique appropriée, le stade final de ces infections parasitaires conduit à la mort de l'hôte humain [14]

Pour l'OMS, qui souhaite donner un coup d'accélérateur à la recherche et au développement de nouveaux anti-infectieux, la proposition de nouveaux agents antibactériens, antiviraux et antiparasitaires est une urgence sanitaire.

La recherche de nouveaux principes actifs peut s'appuyer sur la biodiversité végétale qui est une réserve inépuisable de substances bioactives. L'Afrique en général, et le Sénégal en

particulier, regorge de nombreuses plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des pathologies infectieuses [15–18].

Ce projet est basé sur l’exploration phytochimique et biologique de quelques plantes médicinales utilisées traditionnellement au Sénégal pour la prise en charge de pathologies infectieuses. Une enquête ethnobotanique menée auprès de tradipraticiens, d’herboristes et des ménages a permis de recenser un certain nombre de plantes utilisées dans la prise en charge des pathologies infectieuses, en particulier celles des voies respiratoires supérieures et inférieures. Sur la base de ces usages, l’objectif de la thèse était de confirmer scientifiquement les activités antimicrobiennes (antibactérienne, antivirale et antiparasitaire) de ces plantes et d’identifier les molécules responsables de ces activités pour les espèces botaniques plus actives.

Pour atteindre cet objectif, le matériel végétal a été récolté en quantités suffisantes, dans le respect du protocole de Nagoya, pour permettre la réalisation des essais biologiques et l’isolement des molécules d’intérêt. Des extractions solide/liquide puis liquide/liquide par des solvants de polarité croissante ont été réalisées. L’activité antimicrobienne des extraits et des sous-extraits a été évaluée *in vitro* sur un panel de 36 souches pathogènes de l’Homme incluant des bactéries à Gram négatif et à Gram positif, ainsi que des levures du genre *Candida*. Ces travaux ont été réalisés au sein du Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie de Lille (Dr Christel Neut, Infinite U1286). Des tests d’activités antiparasitaires ont été menés sur des souches de *Trypanosoma brucei brucei* et de *Leishmania mexicana mexicana* dans le cadre d’une collaboration avec le Pr Joëlle Quetin-Leclercq au sein de l’Université Catholique de Louvain (Bruxelles). Des tests d’activités antivirales sur coronavirus (HCoV-229E et SARS-CoV-2) ont également été effectués dans le cadre d’une collaboration avec l’équipe du Dr Karin Séron au sein du Centre d’Infection et d’Immunité de Lille (CIIL) localisé à l’Institut Pasteur de Lille (CNRS UMR9017 – INSERM U1019). En parallèle, l’absence d’activité cytotoxique des extraits a été vérifiée sur des cellules non cancéreuses de fibroblastes pulmonaires humaines WI-38, sur des lignées cellulaires d’hépatomes humains Huh-7, et sur des cellules épithéliales rénales Vero-81 extraites d’un singe vert africain adulte. La composition chimique des extraits et des sous-extraits a été étudiée par le biais de différents outils analytiques (CCM, CLHP analytique, UHPLC-UV-MS, UHPLC-HR-ESI-MS/MS ...). À partir des résultats obtenus, des stratégies de fractionnement des sous-extraits les plus actifs guidées par les différents essais antimicrobiens, ont été menées. Ce processus a permis d’identifier les composés responsables des activités. Le suivi par UHPLC-UV-MS, ou dans certains cas par UHPLC-HRMS-MS/MS

de ce fractionnement (déréplication), a permis d'écarter des fractions dont les composés montraient peu d'intérêt en termes d'activités biologiques et d'originalité structurale.

Différentes stratégies de purification ont été mises en place par la combinaison d'un ensemble de techniques chromatographiques : Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) préparative, Chromatographie de Partage Centrifuge (CPC), chromatographie sur colonnes de silice ouvertes. Différentes phases stationnaires ont été testées, en particulier des gels de silice en phase normale ou en phase inverse. Une fois la pureté des composés vérifiée, leur élucidation structurale a été réalisée par la combinaison de différentes techniques spectroscopiques, principalement UV, IR, HR-ESI-MS/MS et RMN (1D & 2D). Afin de finaliser leur détermination structurale, la configuration absolue des composés chiraux a été établie par analyse en RMN, par dichroïsme circulaire et par la polarimétrie. Les composés isolés ont enfin été évalués pour leurs activités anti-coronavirus, antitrypanosomale et antileishmaniale en fonction des résultats de l'étude bioguidée des sous-extraits d'origine. Leur activité cytotoxique sur les cellules WI-38 ou Huh-7 a été évaluée afin de déterminer leur index de sélectivité.

Partie I

A. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Infections bactériennes et fongiques

I.1. Problématique de la résistance aux antimicrobiens (RAM)

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est l'un des défis de santé mondiaux les plus complexes de la période actuelle. La détermination de la RAM s'appuie sur des concentrations critiques nommées aussi points critiques cliniques (*breakpoints*) définies par le Comité Européen des Tests de Sensibilité aux Antimicrobiens (EUCAST). Une bactérie est dite cliniquement résistante lorsque la concentration minimale inhibitrice (CMI) mesurée est associée à une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée. Une résistance de « faible niveau » ou une « diminution de la susceptibilité » est observée lorsque la CMI augmente, mais reste inférieure au seuil EUCAST. Cette situation n'est généralement pas signalée dans la clinique médicale [19]. Les maladies courantes telles que la pneumonie, les infections post-opératoires, certaines maladies diarrhéiques et sexuellement transmissibles deviennent de plus en plus difficiles à traiter en raison de l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens [5,20,21].

Une vaste étude épidémiologique menée par Murray et *al.* (2022) dans 204 pays et territoires a estimé qu'en 2019 environ 4,95 millions de décès ont été associés à la résistance aux antimicrobiens (RAM), dont 1,27 million de décès directement attribuables à la résistance bactérienne [22]. L'étude a également estimé l'impact de la résistance bactérienne sur l'indicateur « des années de vie ajustées sur l'incapacité (AVAI) », qui correspond à un nombre d'années de vie « en bonne santé » perdues en raison de chaque problème de santé [23]. Cette étude a concerné 23 agents pathogènes et 88 combinaisons d'agents pathogènes. Bien que les pays riches ne soient pas épargnés, le nombre de décès lié à la résistance aux antimicrobiens est fortement lié à la pauvreté et, par conséquent, le continent africain souffre toujours de la mortalité la plus élevée due aux bactéries multirésistantes (**Figure 1**) [22].

Aujourd'hui, de plus en plus de bactéries multirésistantes sont responsables de diverses infections dont celles des voies respiratoires, des voies urinaires, du sang, etc. Dans les hôpitaux, ces bactéries sont la cause régulière d'infections nosocomiales dont les plus courantes sont les infections des voies urinaires, les plaies du site opératoire, les infections de la peau et des tissus mous et les septicémies. En raison de leurs stratégies de survie dans des conditions extrêmes de pH, de température, de stress oxydatif, de résistance aux détergents, de salinité et, surtout, à divers antimicrobiens, ces bactéries sont de plus en plus difficiles à traiter [24]. Parmi les agents pathogènes opportunistes les plus préoccupants se trouve *Acinetobacter baumannii*

faisant partie du groupe ESKAPE de six bactéries pathogènes (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*) qui sont les principales causes d'infections résistantes aux antibiotiques pour lesquelles il existe peu de choix de traitement [25]. Cette bactérie provoque de graves infections nosocomiales et communautaires telles que la pneumonie, la méningite et les infections urinaires [26-28]. D'autre part, selon diverses études, environ 10 à 15 % des infections nosocomiales sont causées par *P. aeruginosa*, et c'est la deuxième cause la plus fréquente de pneumonie (18,1 %), la troisième cause d'infection des voies urinaires (16,3 %) et le huitième agent pathogène le plus fréquemment isolé des infections du sang (3,4 %) dans le monde [29].

D'autre part, les maladies fongiques sont également responsables de décès chez l'homme, et comme avec l'antibiorésistance, la résistance aux médicaments antifongiques est une menace sérieuse pour la population. La plupart des recherches se concentrent sur les infections fongiques invasives de la circulation sanguine les plus courantes causées par des espèces de *Candida* spp.. Ces dernières années, des espèces de *Candida* spp. ont développé une certaine résistance aux antifongiques de la classe des azoles [30,31]. En raison d'un manque de traitements disponibles et d'une augmentation de cette résistance fongique, l'Organisation Mondiale de la Santé a publié fin 2022 la première liste d'agents pathogènes fongiques prioritaires, répertoriant les dix-neuf champignons les plus menaçants pour la santé publique [32].

Dans le **Tableau 1**, nous présentons la résistance aux antimicrobiens et les infections causées par les 36 souches pathogènes de l'homme sélectionnées dans cette étude.

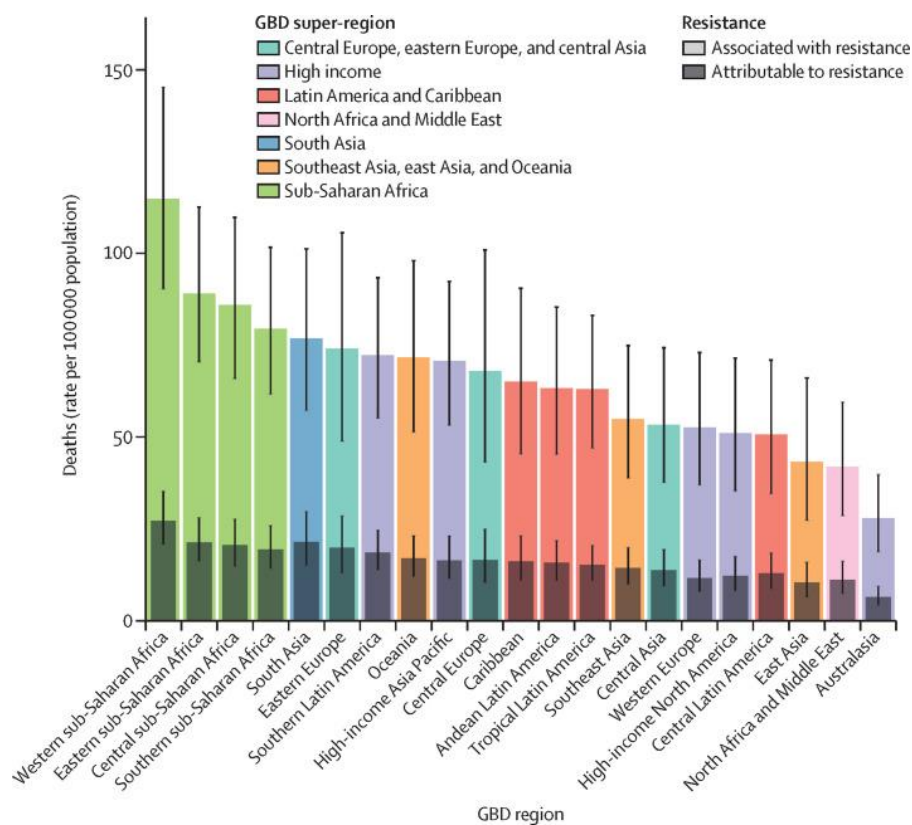


Figure 1: Taux de décès en 2019 attribuables à la résistance bactérienne aux antimicrobiens dans la population générale, tous âges confondus, par zone géographique au niveau mondial [22].

Tableau 1: Les 36 souches de pathogènes humains, sélectionnées dans cette étude, leur résistance aux antimicrobiens et les infections causées.

Souches	Résistance aux antimicrobiens	Infections causées	Références
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	Bacille résistant à l'acide et à l'alcool	Espèce non pathogène et à croissance rapide	[33]
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	Résistance à la daptomycine	Infections intracrâniennes, des voies respiratoires inférieures	[34,35]
<i>Enterococcus faecalis</i> C159-6	Résistance à la vancomycine	Infections des voies urinaires (IVU), des infections des plaies, des infections intra-abdominales et pelviennes, des bactériémies et des endocardites	[24,36]
<i>Enterococcus</i> sp. 8153	Résistance à l'érythromycine et à la clindamycine		
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	Résistance à la méthicilline, à la vancomycine et à la kanamycine	Infections cutanées, pneumonie et septicémie	[37]
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538			
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1			
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4			
<i>Staphylococcus warneri</i> T12A12	Résistance à la méthicilline	Bactériémie, infections liées aux cathéters, ostéomyélite et infections ventriculo-péritonéales	[38,39]
<i>Staphylococcus warneri</i> T26A1			
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T19A1	Résistance à la méthicilline et à l'oxacilline	Infections nosocomiales	[40]
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T21A5			
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> T47A6	Résistance à la méthicilline	Infections opportunistes, chez les patients porteurs d'un cathéter périphérique ou central, et chez les patients immunodéprimés	[41,42]
<i>Streptococcus agalactiae</i> T38.2	Résistance à la clindamycine, à l'érythromycine et aux fluoroquinolones	Peut causer des méningites néonatales ; cause croissante de septicémies chez les adultes et d'infections vaginales	[43–45]
<i>Streptococcus agalactiae</i> T53C9			
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	Résistance aux lincosamides et à la streptogramine B	Anoxie streptococcique AKA, pharyngite streptococcique, impétigo, érysipèle, infections de la peau	[46]
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135			
<i>Citrobacter freundii</i> 11041	Résistance aux céphalosporines et aux carbapénèmes	Affecte les personnes dont le système immunitaire est affaibli ou celles qui sont immunodéprimées	[47,48]
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	Résistance aux carbapénèmes	Pneumonies, infections du sang, infections des voies urinaires	[8,26]
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	Large répertoire de résistance aux antibiotiques	Agent pathogène opportuniste causant des infections nosocomiales	[49]
<i>Burkholderia cepacia</i> 13003	Résistance naturelle aux antibiotiques	Infections nosocomiales Personnes atteintes d'une infection pulmonaire chronique, en particulier la fibrose kystique, peuvent être plus sensibles aux infections à <i>B. cepacia</i>	[50]
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	Résistance aux céphalosporines et aux carbapénèmes	Infections nosocomiales et en particulier dans les unités de soins intensifs, où il touche les patients immunodéprimés	[51,52]
<i>Escherichia coli</i> T20A1	Résistance à la pénicilline	Maladies gastro-intestinales telles que la diarrhée	[53]
<i>Escherichia coli</i> 8138			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	Résistance à la pénicilline	Infections des voies urinaires, bactériémie, pneumonie et abcès du foie	[54]
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270			
<i>Proteus mirabilis</i> 11060	Résistance aux fluoroquinolones	Infection des voies urinaires	[55]
<i>Proteus mirabilis</i> T28-3			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	Résistance naturelle aux antibiotiques dont les carbapénèmes	Infections du sang, des poumons (pneumonie) ou d'autres parties du corps après une intervention chirurgicale	[29,56]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129			
<i>Salmonella</i> sp. 11033	Résistance aux fluoroquinolones	Maladies gastro-intestinales et fièvre	[57]
<i>Candida albicans</i> 10286	Résistance à l'azole et à l'échinocandine	Infections génitales, infections de la circulation sanguine	[30,31,58]
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231			

I.2. Mécanismes de résistance aux antimicrobiens

Les bactéries pathogènes de l'homme peuvent développer des résistances aux antibiotiques (antibiorésistance), ce qui peut rendre les traitements inefficaces. Les mécanismes de résistance sont variés et peuvent conduire à une même insensibilité au traitement. La plupart du temps, la bactérie peut dégrader l'antibiotique ou modifier son site d'action [4,59]. D'autres formes de résistance sont connues, comme les pompes d'efflux, qui permettent d'expulser l'antibiotique en dehors de la bactérie [60]. Plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques sont impliqués dans la multirésistance aux médicaments. Ces gènes de résistance sont transférés par des plasmides responsables de la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez la plupart des bactéries multirésistantes [27]. Aujourd'hui, l'analyse des réseaux génétiques est utilisée pour identifier et étudier les rôles et les fonctions des gènes de résistance aux antimicrobiens (RAM) chez les bactéries pathogènes et opportunistes [29]. L'analyse computationnelle de réseaux d'interaction génique établit des associations fonctionnelles entre les gènes de la résistance aux antimicrobiens et leurs interacteurs directs ou partenaires fonctionnels. La présence de ces interacteurs directs avec les gènes de la résistance aux antimicrobiens révèle qu'ils jouent un rôle essentiel dans les voies biochimiques impliquées dans la résistance aux antimicrobiens [24,27,60,61].

Des études ayant utilisé des réseaux d'interaction génique sur des bactéries pathogènes et opportunistes résistantes aux antimicrobiens à Gram négatif telles que *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* et *Escherichia coli* suggèrent que différents mécanismes de pompe d'efflux multi-médicamenteux, de formation de biofilms, d'altérations de la voie de biosynthèse du folate, de l'alginate et de la production de bêta-lactamase jouent un rôle essentiel dans la multirésistance (**Figure 2**) [24,27,61-63]. Une étude similaire sur la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* a révélé des mécanismes de résistance tels que l'altération de la cible du médicament, l'inactivation enzymatique et l'existence de pompe d'efflux multi-médicaments entraînant une résistance aux antimicrobiens [60]. Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) acquiert une résistance aux pénicillines anti-staphylococciques par l'expression d'une protéine supplémentaire de liaison à la pénicilline (PBP) nommée PBP2a. Contrairement aux autres PBP, la PBP2a est résistante aux effets inhibiteurs de toutes les β -lactamines (à l'exception de la ceftaroline et du ceftobiprole) et est presque toujours codée par le gène accessoire *mecA* [64]. Alors, la PBP2a représente une cible importante pour la conception de nouveaux antibiotiques visant à lutter contre la menace du SARM par l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire

bactérienne [65,66]. L'émergence rapide de la résistance aux β -lactamines chez les bactéries à Gram négatif est un problème majeur dans le traitement des infections causées par des souches bactériennes pathogènes. Certaines bactéries ont la capacité de produire des β -lactamases (carbapénémases) hydrolysant les carbapénèmes et/ou déficientes en porine OprD, principale voie d'entrée de ces molécules dans le micro-organisme [67].

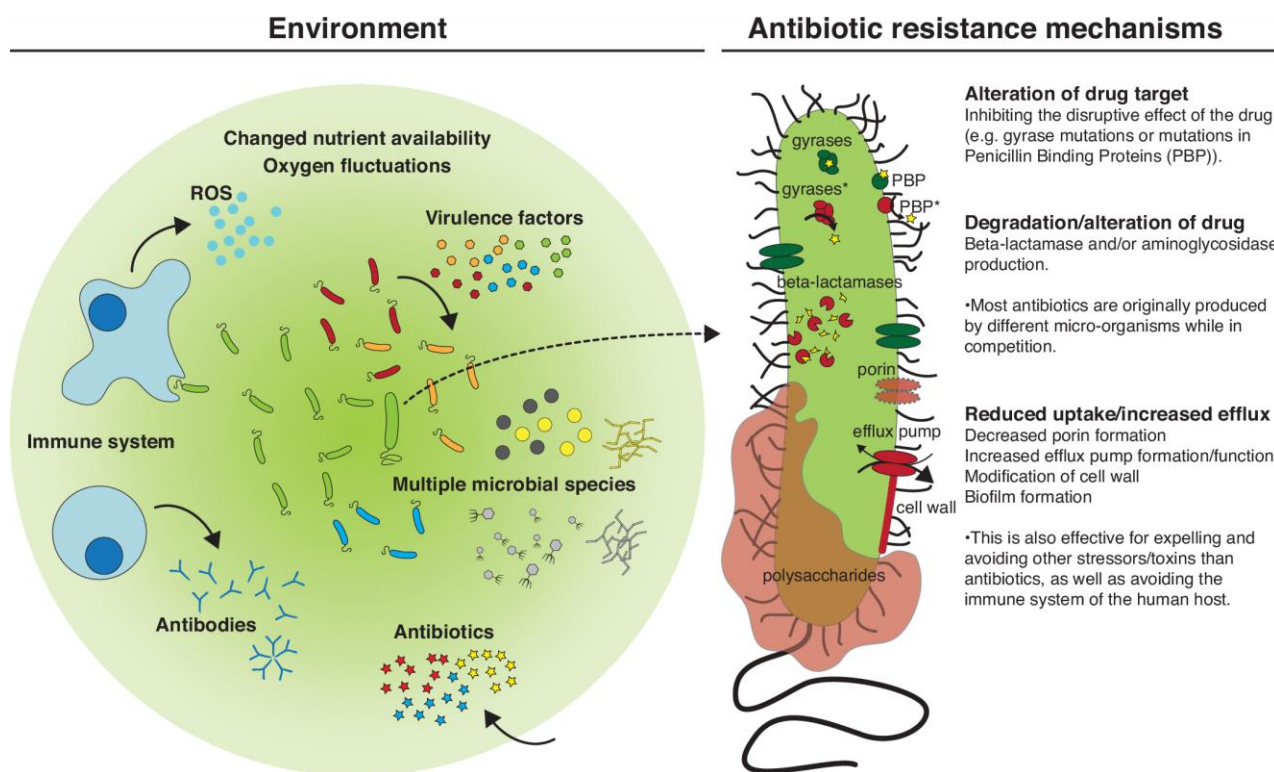


Figure 2 : L'environnement complexe d'un hôte humain (à gauche) et les principaux mécanismes mis en œuvre par une bactérie (ex. *P. aeruginosa*) pour devenir résistante aux antibiotiques (à droite). Les puces de droite expliquent comment les mécanismes de résistance aux antibiotiques fournissent également des mécanismes de survie contre d'autres facteurs de stress et/ou toxines présents dans l'environnement en dehors des antibiotiques. ROS, Espèces réactives de l'oxygène. Les astérisques indiquent des versions mutées des protéines en question [63].

I.3. Traitements actuels et mise en œuvre de stratégies de lutte contre l'antibiorésistance

Face à l'urgence, en 2017, l'OMS a publié une liste des agents pathogènes selon trois niveaux de priorités.

Le niveau de priorité critique comprenait les bactéries telles que : *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter* spp., résistantes aux carbapénèmes et *Enterobacter* spp., résistantes aux céphalosporines de troisième génération. Le niveau de priorité élevé comprenait des bactéries : *Enterococcus faecium*, résistante à la vancomycine ; *Staphylococcus aureus*, résistante à la méthicilline et à la vancomycine ; *Helicobacter pylori*, résistante à la clarithromycine ; *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. et *Neisseria gonorrhoeae*,

résistantes aux fluoroquinolones ; et *Neisseria gonorrhoeae*, résistante aux céphalosporines de troisième génération. Le niveau de priorité moyenne comprenait : *Streptococcus pneumoniae*, non sensible à la pénicilline ; *Haemophilus influenzae*, résistante à l'ampicilline et *Shigella* spp., résistante aux fluoroquinolones [5].

Au cours du XX^{ème} siècle, la découverte des principales classes d'antimicrobiens (**Figure 3**) (arsphénamines, bêta-lactamines, sulfamides, polypeptides, aminosides, tétracyclines, amphénicols, lipopeptides, macrolides, oxazolidinones, glycopeptides, streptogramines, ansamycines, quinolones et lincosamides) a considérablement changé le paysage de la médecine contemporaine [21,68]. Dans le **Tableau 2** sont donnés la plupart des antibiotiques disponibles en France et leur cible thérapeutique. Mais depuis le début du XXI^{ème} siècle, seules quelques classes de nouvelles molécules sont en cours de développement. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, il y avait seulement 27 nouveaux antibiotiques en développement clinique contre les agents pathogènes prioritaires en 2021 et seuls six remplissent au moins un des critères d'innovation de l'organisation. Il faut actuellement environ 10 à 15 ans pour faire passer un antibiotique candidat du stade préclinique au stade clinique. Cela signifie que le développement d'antibiotiques est un processus long et complexe [1,69].

Mais en raison de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques existants, le développement de nouveaux antibiotiques est encore plus important. C'est pourquoi, selon l'OMS, la recherche et le développement de médicaments antibactériens joue un rôle central dans les stratégies visant à faire face à la menace mondiale des bactéries résistantes aux antibiotiques [1]. Face à cette urgence, des organismes de réglementation tels que la *Food and Drug Administration* (FDA) des États-Unis et l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) travaillent à la simplification de la procédure d'approbation des antibiotiques pour certains besoins médicaux non satisfaits [5].

DIFFERENT CLASSES OF ANTIBIOTICS - AN OVERVIEW

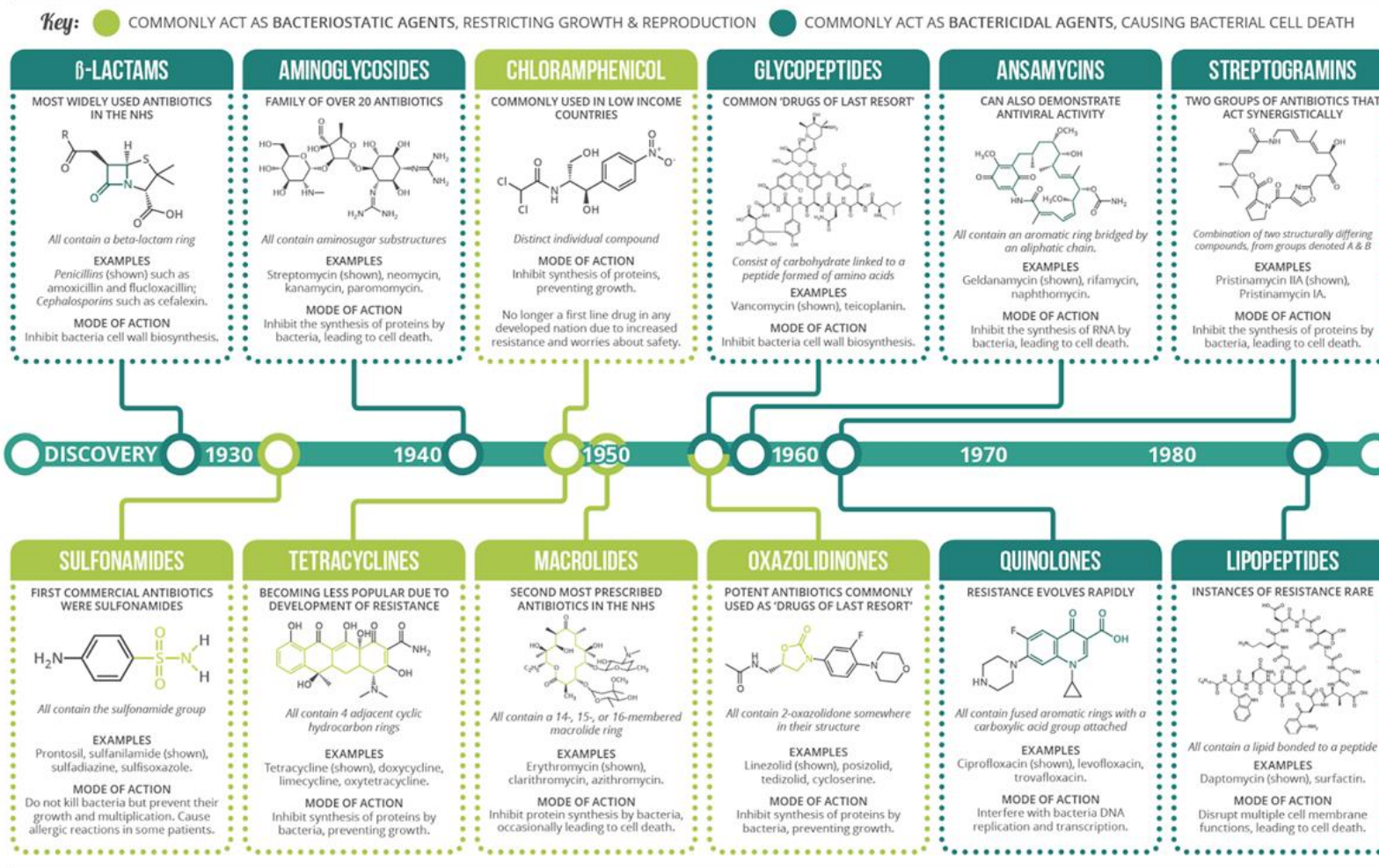


Figure 3 : Différentes classes d'antibiotiques [68]

Tableau 2 : Liste de la plupart des antibiotiques disponibles en médecine de ville en France.

Antibiotiques	Cibles
Acide fusidique	Principalement utilisé pour traiter certaines infections bactériennes dues à des staphylocoques.
Amoxicilline	De la famille des aminopénicillines, est l'antibiotique le plus couramment prescrit en France chez l'enfant et l'adulte. Il est actif contre plusieurs espèces.
Amoxicilline + Acide clavulanique	Associe l'amoxicilline, une pénicilline, avec de l'acide clavulanique, une molécule inhibitrice des β -lactamases.
Azithromycine	De la famille des macrolides, est principalement utilisé dans le traitement de certaines infections génitales et infections respiratoires.
Benzathine Benzylpénicilline	Administré en injection intramusculaire pour lutter contre certaines infections.
Céfaclor	De la famille des céphalosporines dites de « première génération ».
Céfadroxil	De la famille des céphalosporines dites de « première génération ».
Céfalexine	De la famille des β -lactamines, peu utilisé, principalement indiqué dans des formes graves de certaines infections de la peau.
Cefixime	De la famille des β -lactamines, parfois utilisé dans les infections des reins chez la femme, lorsque d'autres antibiotiques ne peuvent être utilisés.
Cefotiam	De la famille des céphalosporines, parfois utilisé dans certaines sinusites et otites.
Cefpodoxime	Du groupe des céphalosporines utilisé dans diverses infections ORL et respiratoires en cas d'allergie.
Ceftriaxone	De la famille des β -lactamines, à haut risque d'antibiorésistance, généralement employé dans des infections sévères.
Céfuroxime	De la famille des céphalosporines employé dans certaines infections bactériennes ORL et respiratoires.
Ciprofloxacine	De la famille des fluoroquinolones, ses effets indésirables limitent son utilisation par voie orale au traitement de certaines infections urinaires ou digestives sévères.
Clarithromycine	De la famille des macrolides, il est principalement indiqué dans le traitement d'infections ORL et respiratoires quand la pénicilline ne peut pas être employée.
Clindamycine	De la famille des lincosamides. Essentiellement employée pour traiter des infections de la peau et pour prévenir des infections liées aux chirurgies dentaires chez des personnes fragiles.
Cloxacilline	De la famille des pénicillines utilisée dans le traitement de certaines infections bactériennes de la peau.
Cotrimoxazole	Employé dans diverses infections bactériennes lorsque d'autres antibiotiques comme les pénicillines ne peuvent pas être pris ou ne se sont pas montrés efficaces. Il est également utilisé en prévention et en traitement de la pneumocystose (infection du poumon).
Doxycycline	De la famille des tétracyclines employé dans diverses infections bactériennes, notamment cutanées, génito-urinaires ou dentaires.
Érythromycine	De la famille des macrolides. Moins employé à la suite de l'apparition de résistances bactériennes, mais il reste parfois utile dans certaines infections bronchopulmonaires et urogénitales.

Tableau 2 : (suite)

Antibiotiques	Cibles
Fosfomycine	Essentiellement utilisé dans le traitement des infections urinaires de la femme.
Josamycine	De la famille des macrolides, il est utilisé dans diverses infections bactériennes, généralement en alternative à d'autres antibiotiques comme la pénicilline.
Lévofoxacine	De la famille des fluoroquinolones réservé à l'adulte. Il est principalement utilisé dans le traitement de certaines infections respiratoires, digestives et urinaires.
Métronidazole	Il est notamment utilisé dans certaines infections génitales, dentaires et digestives.
Minocycline	De la famille des cyclines utilisée à l'hôpital uniquement en dernier recours, lorsque d'autres traitements antibiotiques ne sont pas possibles ou appropriés.
Moxifloxacine	De la famille des fluoroquinolones, il n'est indiqué que dans certaines infections ORL et respiratoires lorsque d'autres antibiotiques ne peuvent être employés.
Mupirocine	Utilisé par voie locale (en pommade) pour traiter des infections de la peau ou pour faire disparaître, du nez essentiellement, le staphylocoque doré
Nitrofurantoïne	De la famille des nitrofuranes, il est indiqué dans certaines infections urinaires de la femme à risque de complications.
Norfloxacine	De la famille des fluoroquinolones aujourd'hui rarement utilisé, sauf en collyre pour traiter certaines infections oculaires.
Ofloxacine	De la famille des fluoroquinolones, principalement utilisé dans des infections génitales ou urinaires quand d'autres antibiotiques sont contre-indiqués ou inappropriés.
Ornidazole	De la famille des nitro-5-imidazolés, il est parfois utilisé dans certaines infections digestives, en particulier à l'hôpital.
Phénoxyméthylpénicilline (pénicilline V)	Utilisée en prévention de certaines infections bactériennes.
Pivmécillinam	De la famille des β -lactamines, il est utilisé dans les infections urinaires de la femme en alternative à d'autres antibiotiques.
Pristinamycine	De la famille des synergistines, il est principalement indiqué dans des infections cutanées, ORL et broncho-pulmonaires sévères en alternative aux pénicillines.
Roxithromycine	De la famille des macrolides parfois utilisé dans certaines infections pulmonaires.
Spiramycine	De la famille des macrolides employé dans le traitement d'infections dentaires et pulmonaires.
Spiramycine + métronidazole	Utilisé dans certains cas d'infections dentaires quand d'autres antibiotiques sont inefficaces ou inappropriés.
Sulfadiazine	De la famille des sulfamides, sous forme de crème, il est utilisé pour prévenir et traiter les infections de la peau dues à des brûlures.
Tétracycline + Métronidazole + Bismuth	Utilisé dans le traitement de l'infection par la bactérie <i>Helicobacter pylori</i> associée aux ulcères de l'estomac.
Triméthoprime	Indiqué dans certains cas particuliers d'infections urinaires chez la femme.

Les antibiotiques sont listés par le nom de leur molécule en DCI (Dénomination Commune Internationale), et non par leur nom commercial [70].

II. Infections virales : le cas des coronavirus humains

II.1. Épidémiologie des coronavirus humains

La classification actuelle des coronavirus englobe 39 espèces dans 27 sous-genres, cinq genres et deux sous-familles qui appartiennent à la famille des Coronaviridae, au sous-ordre des Cornidovirineae, à l'ordre des Nidovirales et au realm des Riboviria. Actuellement, la sous-famille des Orthocoronavirinae se divise en quatre genres : α -coronavirus, β -coronavirus, γ -coronavirus et δ -coronavirus. Les deux premiers n'infectent que les mammifères, et les deux derniers infectent principalement les oiseaux ou quelques mammifères [71-76]. La COVID-19 est causée par un coronavirus nommé coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), qui appartient à la famille des β -coronavirus. C'est le septième coronavirus connu à infecter l'homme [9]. Quatre de ces coronavirus humains (HCoV) à savoir 229E, NL63, OC43 et HKU1 ne provoquent que de légers symptômes du rhume. À l'inverse, les trois autres, le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV), le coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) et le SARS-CoV-2, sont capables de provoquer des symptômes graves et peuvent être mortels [73,77,78]. Dans une étude du 20 mai 2021, une équipe de chercheurs malaisiens a décrit l'identification d'un nouveau α -coronavirus recombinant canin-félin (génotype II) isolé d'un patient hospitalisé atteint de pneumonie dans l'est de la Malaisie qu'ils ont nommé CCoV-pneumonie humaine (HuPn)-2018 (CCoV-HuPn-2018) [79]. S'il venait à être confirmé, ce nouveau coronavirus pourrait représenter le huitième coronavirus connu pour causer une maladie chez l'homme.

Tous les coronavirus connus pour avoir récemment émergé en tant qu'agents pathogènes humains proviennent probablement de chauves-souris qui peuvent être les hôtes naturels du HCoV-229E, du SARS-CoV, du HCoV-NL63 et du MERS-CoV. D'autre part, HCoV-OC43 et HKU1 proviennent probablement de rongeurs. Les chauves-souris sont sans aucun doute les principaux réservoirs naturels des α -coronavirus et des β -coronavirus [77]. En tant que nouveau β -coronavirus, le SARS-CoV-2 partage 79 % de l'identité de la séquence du génome avec le SARS-CoV et 50 % avec le MERS-CoV. Le génome du SARS-CoV-2 est hautement identique (96,2%) au génome Bat-CoV RaTG13, qui avait déjà été détecté chez *Rhinolophus affinis* de la province du Yunnan en Chine [78,80,81]. Le SARS-CoV, le HCoV-NL63 et le SARS-CoV-2 utilisent l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 ACE2 comme récepteur, tandis que le HCoV-229E et le CCoV-HuPn-2018 utilisent l'aminopeptidase-N humaine. Les pointes HCoV-HKU1 et HCoV-OC43 se lient aux cellules par l'intermédiaire de l'acide sialique 9-O-acétylé, mais leurs récepteurs protéiques restent inconnus (**Tableau 3**) [9,76,77,79].

Au cours des 20 dernières années, trois pandémies de coronavirus ont été déclenchées : le SRAS de 2002 à 2003, le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) en 2012 et la COVID-19 à la fin de 2019 [9]. La plus importante, la COVID-19, a été signalée pour la première fois à Wuhan, en Chine, en décembre 2019. Elle a entraîné une épidémie de pneumonie virale inédite qui s'est très rapidement propagée dans le monde entier en moins de trois mois et est devenue la plus grande crise de santé publique mondiale du XXI^{ème} siècle. Le 12 janvier 2020, l'OMS a temporairement qualifié le nouveau virus de nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV), puis a officiellement nommé cette maladie infectieuse maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) le 12 février 2020 [9,82]. Le 12 mars 2020, le Directeur général de l'OMS a déclaré que l'épidémie de COVID-19 était une « pandémie » en raison de l'augmentation du taux d'infections en provenance de Chine. Plus tard, le Comité international de taxonomie des virus (ICTV) a officiellement désigné le virus comme SARS-CoV-2 sur la base de la phylogénie, de la taxonomie et de la pratique établie [83].

Au 31 décembre 2023, selon l'OMS, la COVID-19 a infecté plus de 773,4 millions de personnes et a causé plus de 6,9 millions de décès dans le monde. Cette pandémie a eu un impact significatif sur la santé publique et les économies du monde entier [84].

Dans la classification initiale, la gravité de la COVID-19 était divisée en quatre catégories, soit les cas légers, modérés, graves et critiques. N'importe qui peut contracter la COVID-19 et tomber gravement malade ou mourir. Mais les personnes de plus de 60 ans et celles qui ont déjà des problèmes de santé ont un risque plus élevé de développer les formes graves et critiques de la COVID-19. Les problèmes de santé à haut facteur de risque comprennent l'hypertension artérielle, le diabète, l'obésité, l'immunosuppression, y compris liée au VIH, le cancer et la grossesse [85,86]. Ainsi les symptômes de la COVID-19 sont très divers et varient d'une personne à une autre selon plusieurs facteurs (génétique, comorbidités...). Ces symptômes commencent généralement 5 à 6 jours après l'exposition et durent de 1 à 14 jours. La transmission du SARS-CoV-2 se fait généralement par des gouttelettes respiratoires et la période d'incubation moyenne est de 6,4 jours.

Tableau 3 : Classification des coronavirus humains

Coronavirus	Découverte	Genre-Lignée	Récepteur cellulaire	Hôte naturel	Hôte intermédiaire	Manifestations cliniques
HCoV-229E	1966	α	Aminopeptidase N (CD13)	Chauves-souris	Camélidés	Malaise général, maux de tête, écoulement nasal, éternuements, maux de gorge, fièvre et toux
HCoV-OC43	1967	β -A	Acide sialique 9-O-acétylé (SA)	Rongeurs	Bétail	Infection des voies respiratoires supérieures, maux de tête, rhinorrhée et plaies de la gorge, toux et fièvre
SARS-CoV	2003	β -B	ACE2	Chauves-souris	Civettes palmistes masquées	SDRA, LAD, fibrose pulmonaire, fièvre, myalgie, maux de tête, malaise, frissons, toux non productive, dyspnée, détresse respiratoire
HCoV-NL63	2004	α	ACE2	Chauves-souris	Inconnu	Toux, fièvre, maux de gorge, rhinite, expectoration et infection des voies respiratoires, comme la bronchite, la bronchiolite ou la pneumonie
HCoV-HKU1	2005	β -A	Acide sialique 9-O-acétylé (SA)	Rongeurs	Inconnu	Rhinorrhée, fièvre, toux et respiration sifflante, et peut entraîner bronchiolite et pneumonie si elles ne sont pas traitées
MERS-CoV	2012	β -C	DPP4	Chauves-souris	Dromadaires	SDRA, maladie de l'espace aérien multilobaire, fibrose pulmonaire
CCOV-HuPn-2018	2018	α	Aminopeptidase N	Chien	Inconnu	Maladies respiratoires
SARS-CoV-2	2019	β -B	ACE2	Chauves-souris	Inconnu	SDRA, LAD, fibrose pulmonaire, fièvre, myalgie, maux de tête, malaise, frissons, toux improductive, dyspnée, détresse respiratoire, fatigue, douleurs thoraciques, troubles cognitifs, arthralgie

Les symptômes les plus courants sont : la fièvre, des frissons et des maux de gorge. Cependant, d'autres symptômes moins courants existent (douleurs musculaires et bras ou jambes lourds, fatigue ou épuisement sévère, nez qui coule ou bouché, ou éternuements, mal de tête, douleurs oculaires, vertiges, toux nouvelle et persistante, poitrine serrée ou douleur thoracique, essoufflement, voix rauque, engourdissement ou picotements, perte d'appétit, nausées, vomissements, douleurs abdominales ou diarrhées, perte ou modification du goût ou

de l'odorat, difficulté à dormir). Bien que de nombreux cas d'infections soient asymptomatiques ou bénins, certains patients développent une hypoxie sévère nécessitant une hospitalisation et une ventilation mécanique. Par ailleurs, les conséquences d'une forme grave de COVID-19 comprennent l'insuffisance respiratoire, la septicémie, la thromboembolie (caillots sanguins) et l'insuffisance multiviscérale, y compris les lésions cardiaques, hépatiques ou rénales, pouvant entraîner la mort, [87-97]. Certaines personnes développeront une forme longue de la COVID-19 qui peut affecter leur capacité à effectuer des activités quotidiennes telles que le travail ou les tâches ménagères avec une fatigue récurrente, l'essoufflement et le dysfonctionnement cognitif [78,86,98,99].

II.2. Cycle de vie du SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 appartient au genre β -coronavirus, ayant une structure génomique typique retrouvée chez les autres β -coronavirus. C'est un virus à ARN simple brin (ARNs) de sens positif (+) enveloppé et pléomorphe d'un diamètre d'environ 60 à 140 nm. La séquence du génome du SARS-CoV-2 consiste en une seule séquence d'ARN d'environ 30 kb de longueur codant pour seize protéines non structurales (nsp), quatre protéines structurales et neuf facteurs accessoires putatifs. La glycoprotéine de pointe structurale (S), la protéine d'enveloppe (E), la protéine de nucléocapside (N) et la glycoprotéine membranaire (M) sont codées dans un ordre spécifique dans le génome [75,78,85,100]. Le coronavirus pénètre dans les cellules soit par des voies endocytaires, soit par fusion directe avec la membrane plasmique, en fonction de la disponibilité des protéases cellulaires. Le SARS-CoV-2 infecte les cellules humaines en se liant à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), une protéine de surface cellulaire, par l'intermédiaire du domaine de liaison au récepteur (RBD) de sa protéine spike (S) (**Figure 4**) [9,80]. De plus, la protéase à sérine transmembranaire cellulaire 2 (TMPRSS2) est nécessaire à l'amorçage de la protéine S du virus. L'entrée du virus dans la cellule peut également dépendre des protéases à cystéine endosomale/lysosomale nommées cathepsine B et L (CTSB, CTSL), bien que leur activité ne soit probablement pas essentielle. La pénétration cellulaire est aussi fortement favorisée par un clivage protéolytique séparant les deux sous-unités de la protéine spike, en particulier le site de clivage de la furine, une enzyme protéolytique présente à la surface des cellules humaines. Ce site de la furine, constitué de quatre acides aminés (Proline-Arginine-Arginine-Alanine), est inhabituel pour les coronavirus [82,85,99].

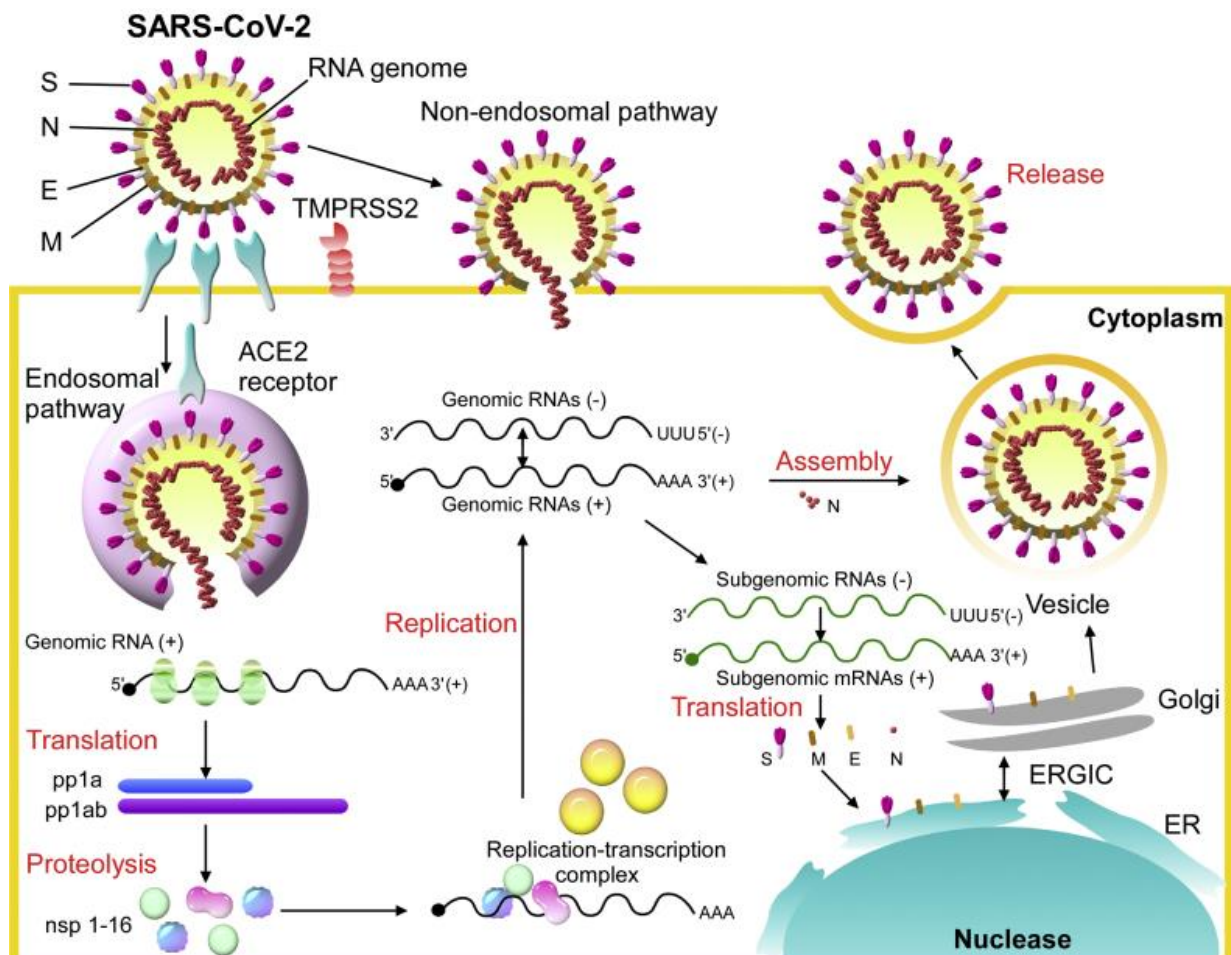


Figure 4 : Cycle de vie du SARS-CoV-2.

Lorsque la protéine de pointe (S) du SARS-CoV-2 se lie au récepteur cellulaire cible ACE2, elle est clivée par les protéases des cellules hôtes, telles que TMPRSS2, déclenchant la fusion du virus avec la membrane plasmique. De plus, le SARS-CoV-2 peut aussi pénétrer dans les cellules par endocytose [74]. La protéine N est dissociée du génome de l'ARN du brin positif (+) du SARS-CoV-2 et traduite en polyprotéines pp1a et pp1ab. Ces polyprotéines sont traduites et transformées en protéines non structurales nsp1-16, qui construisent des complexes de réplication et de transcription virales (RTC) et remodelent la membrane cellulaire pour former des organites réplcatifs (DMV). Ces organites forment un continuum avec le réticulum endoplasmique, et la réplication de l'ARN viral se produit principalement dans des vésicules à double membrane (DMV) [75,9,101]. La réplication commence par la synthèse de copies d'ARN brin négatif, qui sont utilisées comme modèles pour synthétiser de nouveaux génomes d'ARN brin positif qui peuvent entrer dans des cycles de traduction supplémentaires ou être incorporés dans de nouveaux virions [85]. L'ARN du virus nouveau-né sort des DMV par les pores transmembranaires pour atteindre l'emplacement de la traduction ou de l'assemblage du virion. Les protéines structurales traduites sont transportées vers la membrane du réticulum

endoplasmique (RE) et transitent par le compartiment intermédiaire ER-Golgi (ERGIC). L'ARN du brin positif du génome enveloppé par la protéine N subit un assemblage avec les protéines structurales S, M et E, et de nouveaux virions sont formés en bourgeonnant dans la lumière à ERGIC. Enfin, les virions de la descendance sont libérés de la cellule hôte par exocytose [9,75,81,82,85].

II.3. Diagnostic du SARS-CoV-2

Comprendre les propriétés génétiques et structurales du SARS-CoV-2 est une condition préalable au développement d'outils de diagnostic efficaces. Le SARS-CoV-2 a été isolé et séquencé pour la première fois en Chine en janvier 2020 [78]. Dès la publication du génome du virus, plusieurs pays, tels que la France, l'Angleterre, l'Allemagne, la Corée du Sud, la Turquie, la Russie, les États-Unis et la Chine, ont développé de nombreux kits RT-PCR pour la détection du SARS-CoV-2 [102,103].

Aujourd'hui, les tests diagnostiques du SARS-CoV-2 peuvent être classés en trois grandes catégories : les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN), les tests antigéniques et les tests d'anticorps. Les TAAN, aussi appelés tests moléculaires, détectent le matériel génétique du virus [104–106]. En termes de dépistage, la réaction en chaîne par polymérase quantitative à transcription inverse-qPCR en temps réel (RT-qPCR) reste la méthode la plus fiable et la plus couramment utilisée pour identifier le SARS-CoV-2. Elle se base sur des amorces et des sondes TaqMan pour détecter les gènes du SARS-CoV-2 pour les protéines S, E, N et ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp). Les tests antigéniques, contrairement aux méthodes basées sur la PCR (TAAN), détectent les composants viraux (c'est-à-dire la glycoprotéine S, la protéine M ou la protéine N libérée) ou le virus directement, sans étapes d'amplification thermique. Pour les TAAN et les tests antigéniques, les principales méthodes de prélèvement d'un échantillon sont le prélèvement nasal (ou nasopharyngé), la gorge et la salive (crachat) [102,107]. Les tests d'anticorps (ou tests sérologiques) permettent de détecter les anticorps, produits en réponse à une infection précédente par le virus SARS-CoV-2, dans le sang (immunoglobulines M et G (IgM/IgG)) que les personnes infectées développent pour combattre le virus. Les tests d'anticorps les plus courants sont basés sur des tests de type flux latéral (LFA) et des tests de type immuno-enzymatique (ELISA) [106,107].

Bien que le diagnostic et le plan de traitement soient constamment mis à jour avec des recherches approfondies et que les méthodes de traitement deviennent de plus en plus matures, la COVID-19 continue de se propager dans le monde et n'a pas été complètement maîtrisé. De nombreuses personnes sont asymptomatiques, mais contagieuses, ce qui pose un défi en terme

de prévention et de contrôle de l'épidémie de COVID-19 [105]. De plus, plusieurs tests de dépistage de la COVID-19 sont considérés comme coûteux, chronophages et nécessitent l'utilisation de personnes suffisamment qualifiées pour être effectués efficacement. Ces différentes raisons limitent leur accès aux populations des régions pauvres notamment de l'Afrique, de l'Amérique du Sud et de l'Asie [96,102].

II.4. Traitements et prévention de la COVID-19

La propagation rapide de la Covid-19 à l'échelle mondiale a entraîné une urgence sanitaire internationale et des réponses urgentes pour rechercher une prévention et/ou une thérapie efficaces [108]. Cela a conduit à des besoins impératifs d'identification de cibles ou de récepteurs moléculaires et de développement de médicaments antiviraux, d'anticorps et de vaccins [96,109]. Un aperçu des médicaments contre la COVID-19, des recommandations et des questions clés à prendre en compte lors de leur application selon l'OMS est présenté dans la **figure 5** [108].

Les traitements contre la COVID-19 peuvent être sous-classés en deux grands groupes sur la base de leurs cibles : les agents antiviraux à action directe et les thérapies ciblant l'hôte.

Les agents antiviraux à action directe comprennent principalement les inhibiteurs de la polymérase, les inhibiteurs de la protéase, les inhibiteurs de la transcriptase inverse nucléosidique et nucléotidique, les inhibiteurs de l'entrée et d'autres antiviraux [86,96,99]. À ce jour, il n'existe que trois antiviraux à action directe (AAD) approuvés par la FDA (*Food and Drug Administration*) pour une utilisation clinique. Le Paxlovid®, composé du nirmatrelvir et du ritonavir, est le traitement de première intention destiné aux patients présentant un risque élevé de développer une forme grave de la COVID-19 [110,111]. Le nirmatrelvir est un inhibiteur oral de la protéase principale (MPRO) du SARS-CoV-2. Le ritonavir, inhibiteur de cytochrome P450 3A4, permet d'augmenter la concentration plasmatique de nirmatrelvir. Le traitement de deuxième intention, le remdesivir, inhibiteur de l'ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) virale, est souvent administré par voie IV en cas de contre-indication au Paxlovid® [112–114]. Sa faible biodisponibilité par voie orale rend difficile les soins ambulatoires et limite son utilisation au milieu hospitalier. Le traitement de troisième intention, le molnupiravir, inhibiteur de RdRp, initialement développé contre l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC), pourrait présenter un risque pour l'hôte, car il possède un potentiel mutagène dans les cellules humaines. Il a été retiré par l'Agence européenne du médicament car la balance bénéfice-risque était défavorable pour le patient [93,115]. L'amantadine et l'enfuvirtide sont utilisés quant à eux en tant qu'inhibiteurs de l'entrée [116–118]. D'autres

antiviraux telles que l'azithromycine [116], l'hydroxychloroquine et la chloroquine [112,117], ont été suggérées comme traitements potentiels de la COVID-19 au début de la pandémie, mais ne sont finalement pas efficaces.

Les traitements ciblant l'hôte comprennent la thérapie par anticorps neutralisants (monoclonaux et polyclonaux ainsi que le plasma de convalescents Covid-19) [118,119], les inhibiteurs de Janus kinases (JAK) (baricitinib, tofacitinib, upadacitinib, fedratinib, filgotinib, ruxolitinib et nézulcitinib) [120,121] et les corticostéroïdes (dexaméthasone, budésonide, ciclesonide, hydrocortisone et méthylprednisolone) [122,123].

Le développement de traitements ciblant le virus ou l'hôte, reste primordial pour continuer à sauver des vies.

Depuis le début de la pandémie de COVID-19, en date du 23 décembre 2023, plus de 200 vaccins candidats ont été développés dans le monde. Au moins 52 vaccins candidats sont actuellement en phase d'essais sur l'homme. Les vaccins candidats sont évalués pour leur sécurité, leur efficacité et leur capacité à produire une réponse immunitaire contre le virus [108]. Cependant, les vaccins contre la COVID-19 ont été développés en utilisant différentes technologies et un grand nombre de vaccins ne sont pas identiques. Il existe trois approches principales pour les concevoir, à savoir l'approche du microbe entier (les vaccins inactivés, les vaccins vivants atténués et les vaccins à vecteur viral), l'approche des sous-unités et l'approche génétique (les vaccins à ADN ou à ARN) [109,124]. Les vaccins inactivés utilisent des virus SARS-CoV-2 inactivés pour déclencher une réponse immunitaire contre le virus alors que les vaccins à vecteur viral utilisent une version d'un virus atténué pour donner des instructions sous la forme d'un code génétique permettant de produire la protéine Spike du SARS-CoV-2 [109]. Les vaccins à ARN messager (ARNm) sont une nouvelle technologie qui a été utilisée pour la première fois pour le développement de vaccins contre la COVID-19. L'ARNm contenu dans ces vaccins contre la Covid-19 sera converti en protéine S (Spike) permettant de déclencher une réponse immunitaire visant à se protéger contre cette protéine. Celle-ci est ensuite reconnue par le système immunitaire comme étrangère, ce qui déclenche une réponse immunitaire contre le virus [100]. Les vaccins à ARNm ont été développés par plusieurs sociétés pharmaceutiques, notamment Pfizer-BioNTech et Moderna. Jusqu'à présent, le vaccin AstraZeneca-Vaxzevria/SII-Covishield, le vaccin Janssen-Ad26.COV 2.S, le vaccin Moderna-ARNm-1273, le vaccin Pfizer BioNTech-Comirnaty et le vaccin Sinovac-CoronaVac ont été classés dans la liste des vaccins qualifiés pour utilisation d'urgence (protocole EUL) de l'OMS [109,100]. Au 26 novembre 2023, au moins 13,59 milliards de doses de vaccin contre la COVID-19 ont été

administrées et 67% de la population a été vaccinée avec une série primaire complète d'un vaccin COVID-19 [125].

Malheureusement, la propagation mondiale des variants de la COVID-19 suscite de nombreuses inquiétudes dans l'opinion publique quant à l'efficacité des vaccins contre ces variants [126]. C'est pourquoi, de multiples variants préoccupants (VOC) et variants d'intérêts (VOI) de la COVID-19 ont été désignés par l'OMS en fonction de leur potentiel d'expansion et de remplacement des variants précédents, de leur capacité à provoquer de nouvelles vagues avec une circulation accrue et d'adaptation des mesures de santé publique [108].

À l'heure actuelle, les vaccins ne peuvent prévenir que les complications majeures après l'infection, mais ne peuvent pas empêcher la réinfection et la transmission secondaire. De plus, bien que certains essais aient échoué, ils ont tout de même joué un rôle positif dans le développement des soins de santé humains. L'effet de nombreux traitements est compromis ou controversé, tels que les agents antiviraux d'action directe et les thérapies par anticorps neutres en raison du développement de variants résistants. L'une des principales stratégies pour éviter l'émergence de mutants résistants est l'utilisation de thérapies combinées [86]. De nombreuses études ont rapporté que les thérapies combinées ont montré de meilleurs effets qu'un traitement unique [127]. Dans cette optique, de nombreuses études ont testé des extraits de plantes médicinales contre la COVID-19 pour essayer de trouver une alternative [128–130].

L'impossibilité de prédire la prochaine pandémie, rend impossible la préparation de vaccins efficaces à l'avance. Alors le développement de traitements efficaces ciblant les symptômes causés par l'infection reste un défi important face à une autre menace pandémique potentielle. Par conséquent, des efforts supplémentaires doivent encore être déployés pour développer des traitements efficaces contre la COVID-19.

Population

This recommendation applies only to people with these characteristics:



Patients with confirmed covid-19

Interventions



Strong recommendations in favour



Weak or conditional recommendations in favour



Weak or conditional recommendations against



Strong recommendations against

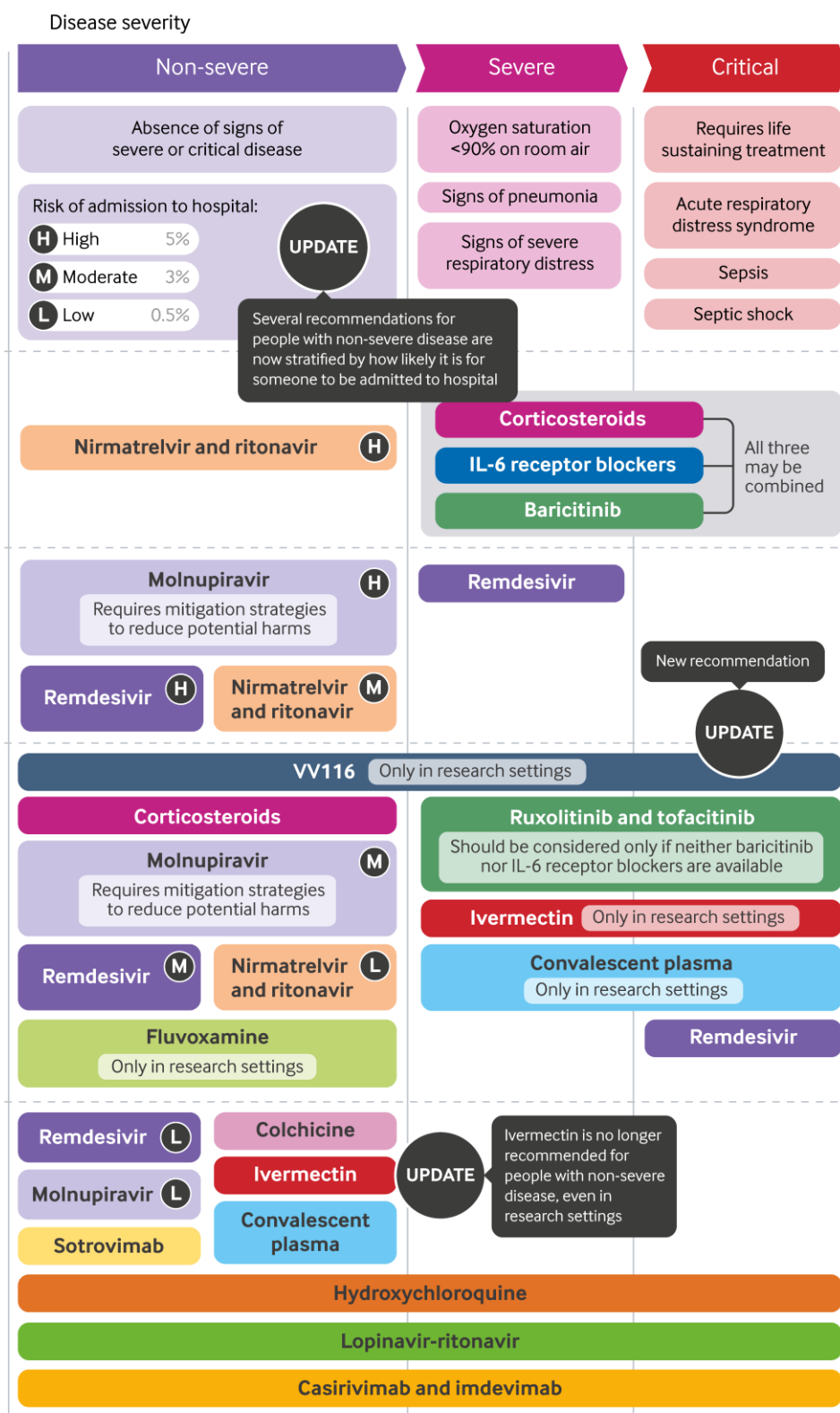


Figure 5 : Aperçu des médicaments contre la COVID-19, des recommandations et des questions clés à prendre en compte lors de leur application selon l'OMS [108]

III. Maladies tropicales négligées (MTN)

L'OMS gère un groupe diversifié de 20 affections tropicales. Ces différentes maladies ou groupes de maladies sont appelés maladies tropicales négligées (MTN) [12,13]. Elles comprennent : l'ulcère de Buruli, la maladie de Chagas, la dengue et le chikungunya, la dracunculose (maladie du ver de Guinée), l'échinococcose, les trématodiasés d'origine alimentaire, la trypanosomiase humaine africaine (maladie du sommeil), la leishmaniose, la lèpre (maladie de Hansen), la filariose lymphatique, le mycétome, la chromoblastomycose et autres mycoses profondes, l'onchocercose (cécité des rivières), la podoconiose, la rage, la gale et autres ectoparasitoses, la schistosomiase, les helminthiases transmises par le sol, l'envenimation des morsures de serpent, tœniase/cysticercose, trachome et pian et autres tréponématoses endémiques [12]. Les MTN sont principalement répandues dans les pays tropicaux et en développement où elles touchent durement les communautés pauvres notamment les femmes et les enfants [11,131]. Ces maladies entraînent des conséquences sanitaires, sociales et économiques dévastatrices. En 2021, dans le monde, 1,65 milliards de personnes auraient eu besoin d'un traitement et de soins pour des MTN [12,13].

Malgré les nombreux progrès réalisés par l'OMS, à la fin de 2022, l'Asie du Sud-Est compte toujours le plus grand nombre de personnes nécessitant des interventions contre les MTN, soit 857 millions (51,8 % du total mondial), suivie du continent africain (584 millions, 35,3 %). Les autres zones touchées comptent 212 millions de personnes nécessitant des interventions, soit 12,9 % du total mondial. C'est pourquoi, selon l'OMS, des efforts et des investissements sont toujours nécessaires pour mettre fin aux épidémies de maladies tropicales négligées d'ici 2030 [12].

La trypanosomiase humaine africaine (THA) ou maladie du sommeil et la leishmaniose, deux infections parasitaires, occupent une place non négligeable dans les MTN. Ainsi, dans cette étude, une attention particulière a été accordée à ces deux affections.

III.1. Trypanosomiase humaine africaine (THA)

III.1.1. Épidémiologie

La THA n'est présente qu'en Afrique subsaharienne (**Figures 6 et 7**). *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense* sont les deux sous-espèces de *Trypanosoma brucei* à l'origine de maladies humaines en Afrique. *T. b. gambiense* est endémique dans 24 pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre et est à l'origine de plus de 95 % des cas déclarés de maladie du sommeil en 2022. À l'inverse, *T. b. rhodesiense* est endémique dans 13 pays d'Afrique orientale et australe, ce qui

représente environ 5 % des cas signalés en 2022 [12]. Pour la période 2014-2018, on estime qu'au moins 54 millions de personnes présentent divers niveaux de risque de maladie du sommeil, dont environ 11 % présentent un risque modéré ou supérieur [132,133]. Entre 1999 et 2022, le nombre de nouveaux cas déclarés de la forme chronique de la trypanosomiase humaine africaine (*T. b. gambiense*) a chuté de 97 %, passant de 27 862 à 799. Au cours de la même période, le nombre de nouveaux cas signalés de la forme aiguë de la trypanosomiase humaine africaine (*T. b. rhodesiense*) a chuté de 94 %, passant de 619 à 38. Des progrès continus ont été réalisés vers l'élimination de la THA, ce qui a entraîné une diminution progressive du nombre de cas signalés. Jusqu'à présent, six pays (Bénin, Côte d'Ivoire, Guinée équatoriale, Rwanda, Togo et Ouganda) ont été reconnus pour l'élimination de la maladie en tant que problème de santé publique [12].

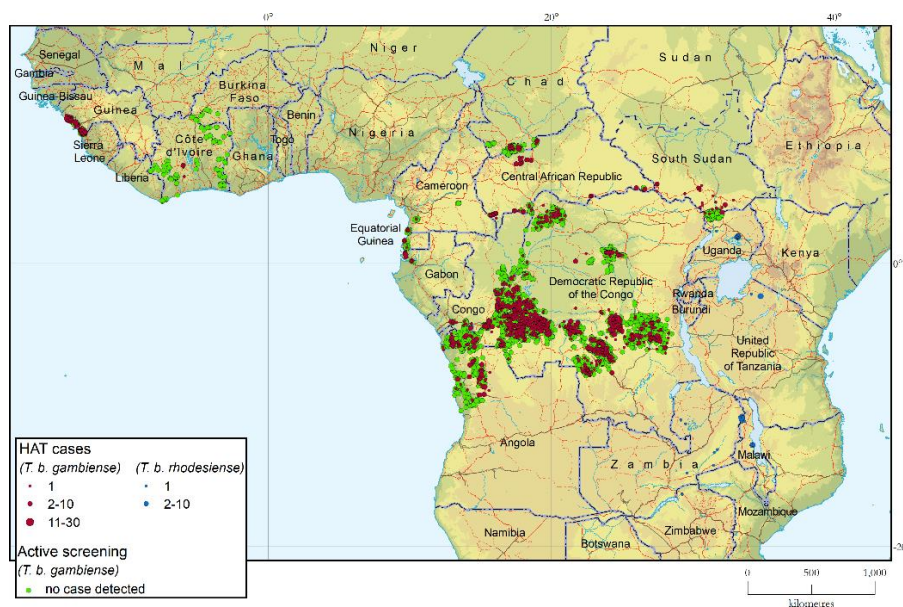


Figure 6 : Répartition géographique de la trypanosomiase humaine africaine (2017-2018) [133]

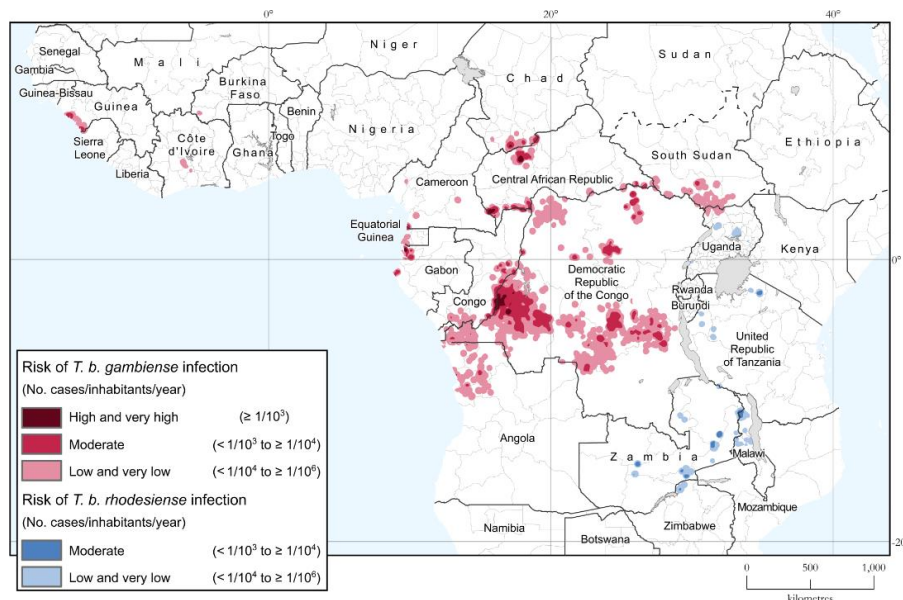


Figure 7 : Zones à risque d'infection par la THA (2014-2018) [133]

III.1.2. Le parasite et son cycle de vie

La trypanosomiase humaine africaine aussi appelée « maladie du sommeil », est causée par des parasites protozoaires appartenant au genre *Trypanosoma* de l'ordre des Kinetoplastea et est à transmission vectorielle. Les parasites pénètrent dans l'organisme par les piqûres de mouches tsé-tsé (*Glossina* spp). Les deux sous-espèces, *T. brucei gambiense* (Tbg) et *rhodesiense* (Tbr), sont responsables de la pathologie humaine, induisant respectivement une infection chronique ou aiguë. L'homme est le principal réservoir de *T. b. gambiense*, mais cette espèce peut également affecter les animaux, tandis que les animaux sauvages sont le principal réservoir de *T. b. rhodesiense*. Une autre sous-espèce, *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb), n'infecte que le bétail, provoquant la trypanosomiase animale africaine (ou nagana) et entraînant d'énormes problèmes économiques pour les populations rurales. La sous-espèce *T. cruzi* (Tc), endémique en Amérique du Sud et Centrale, est responsable de la maladie de Chagas dans cette zone [12,134–137].

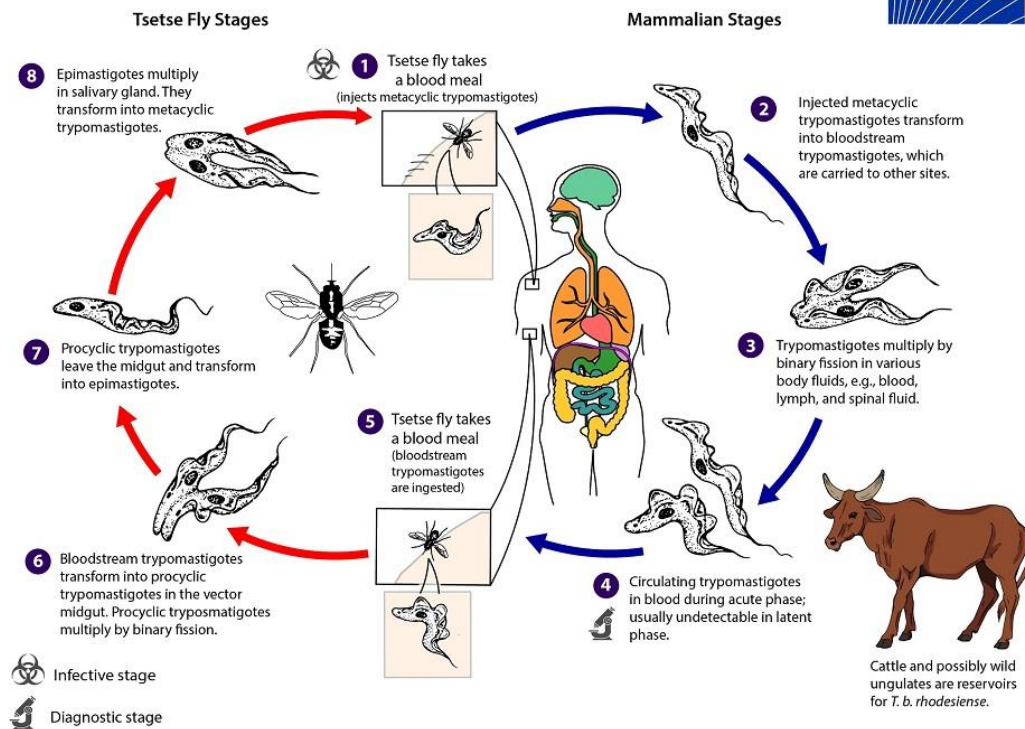


Figure 8 : Cycle de vie de *T. brucei gambiense* et de *T. brucei rhodesiense* [138]

La **figure 8** représente le cycle de vie de *T. brucei gambiense* et de *T. brucei rhodesiense* [138]. Dans un premier temps, une mouche tsé-tsé infectée (genre *Glossina*) injecte des trypomastigotes métacycliques dans les tissus cutanés lors d'un repas de sang sur l'hôte mammifère. Les parasites pénètrent dans le système lymphatique et passent dans la circulation sanguine. Puis, ils se transforment en trypomastigotes sanguins à l'intérieur de l'hôte et ils sont transportés vers d'autres sites dans le corps en atteignant d'autres fluides corporels (par exemple, la lymphe, le liquide céphalo-rachidien) et en continuant la réplication par fission binaire. Ils circulent dans la circulation sanguine. Un certain nombre de parasites échappent cependant à la destruction immunitaire grâce à un changement dans leur glycoprotéine de surface et débutent un nouveau cycle de multiplication. Le cycle de multiplication et de lyse se répète. L'ensemble du cycle de vie des trypanosomes africains est représenté par des stades extracellulaires. D'autre part, la mouche tsé-tsé est infectée par des trypomastigotes sanguins lorsqu'elle prend un repas de sang sur un mammifère hôte infecté. Dans l'intestin moyen de la mouche, les parasites se transforment en trypomastigotes procycliques, se multiplient par fission binaire, quittent l'intestin moyen et se transforment en épimastigotes. Les épimastigotes atteignent les glandes salivaires de la mouche, continuent leur multiplication par fission binaire

puis se développent en trypomastigotes métacycliques. Le cycle dans la mouche dure environ 3 semaines [134,137–140].

Après l'inoculation, les trypanosomes modulent l'environnement immunitaire de l'hôte à l'aide de composants salivaires de la mouche tsé-tsé en inhibant la sécrétion de molécules trypanolytiques (TNF, IFN, IL-6, ROS, ...) et en provoquant une réaction d'hypersensibilité pour faciliter l'exsudation. La première vague aiguë commence avec des parasites hautement proliférants qui font face à l'immunité innée de l'hôte et peuvent manipuler l'activation des macrophages de concert avec l'IFN- γ [140,141]. Des expériences menées sur des modèles animaux ont démontré une association entre des concentrations élevées d'IFN- γ et de TNF- α dans le système nerveux central et une réponse neuro-inflammatoire plus sévère, tandis que des niveaux plus élevés d'IL-10 et d'IL-6 étaient associés à une légère inflammation du SNC [139,142].

Le trypanosome est un parasite protozoaire unicellulaire, et 10 % de ses 9 000 gènes codent pour des glycoprotéines variant de surface (VSG). Les VSG sont attachés à la membrane externe du trypanosome par des ancrages de glycosylphosphatidylinositol et jouent un rôle majeur dans la détermination de sa spécificité immunitaire [134,139,140]. Lors de l'infection de l'hôte, un processus constant de conversion génique à basse fréquence se produit, permettant l'entrée et la sortie des gènes VSG du site d'expression. Ce processus de variation antigénique permet aux trypanosomes d'échapper constamment aux réponses immunitaires de l'hôte, qui autrement auraient la capacité à détruire le parasite. Ce processus rend à présent irréalisable un vaccin contre l'infection à trypanosome [139,140].

III.1.3. Symptomatologie et diagnostic

Les caractéristiques cliniques de la THA dépendent des deux sous-espèces (Tbg et Tbr), du stade d'évolution de la maladie et de la réponse de l'hôte. Elles sont divisées en deux stades : un premier stade (hémolymphatique) et un second stade (méningo-encéphalitique). Ces deux stades cliniques peuvent parfois être précédés par le développement d'un chancre trypanosomique sur le site d'inoculation dans les jours suivant la piqûre d'une mouche infectée (le plus souvent avec *T. b. rhodesiense*) [137,141].

Le premier stade de la maladie (hémolymphatique) implique des signes et des symptômes non spécifiques tels qu'une fièvre intermittente, des frissons, un prurit, une lymphadénopathie et des sensations de douleur profonde spécifiques. La lymphadénopathie cervicale triangulaire postérieure, ou « signe de Winterbottom », est couramment observée dans les infections à *T. b.*

gambiense, mais une lymphadénopathie peut également être observée dans les régions axillaires, inguinales et épitrochléaires. Les ganglions lymphatiques hypertrophiés ont tendance à être sous-maxillaires, axillaires et inguinaux chez *T. b. rhodesiense* [137–140].

Au deuxième stade de la maladie (méningo-encéphalitique), l'invasion du système nerveux central (SNC) provoque diverses manifestations neuropsychiatriques, notamment des troubles du sommeil caractérisés par des épisodes fréquents de sommeil et d'éveil de courte durée pendant la journée et la nuit d'où le nom commun de « maladie du sommeil africaine » [137,139,143]. D'autres symptômes comprennent des céphalées progressives, des anomalies motrices et des troubles sensoriels tels que l'hyperalgésie, l'allodynie et même des signes d'anesthésie. Une atteinte cardiaque sévère avec des anomalies de l'électrocardiogramme compatibles avec une périmyocardite est également observée. Ces altérations sont généralement bénignes dans les infections à *T. b. gambiense*, mais sont plus graves et apparaissent plus tôt dans les infections à *T. b. rhodesiense*. Par ailleurs, dans les cas chroniques, de nombreux plasmocytes de forme modulaire chargés d'immunoglobulines (cellules de Mott) sont dispersés dans le cerveau. La maladie s'aggrave avec le temps et l'évolution de l'infection est beaucoup plus aiguë et rapide avec *T. b. rhodesiense* qu'avec *T. b. gambiense*. Les deux infections sont presque toujours mortelles sans traitement [134,139,144].

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des trypanosomes par examen microscopique du liquide chancre, des aspirations ganglionnaires, du sang, de la moelle osseuse ou, dans les derniers stades de l'infection, du liquide céphalo-rachidien [144,145]. Les parasites trypanosomes peuvent être facilement visualisés sur un frottis sanguin périphérique mince ou épais (**Figure 9**), ce qui est généralement possible dans le cas de la THA à *T. b. rhodesiense* en raison des taux généralement élevés de parasites sanguins chez ces personnes. Cependant, la parasitémie cyclique avec un taux de parasites sanguins élevé par intermittence chez les patients de la THA de *T. b. gambiense* rend l'examen du frottis sanguin au microscope assez difficile [139,144,146].

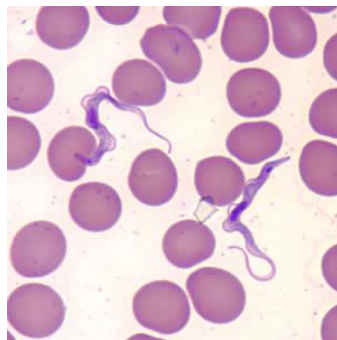


Figure 9 : *T. brucei* spp. dans un frottis sanguin mince coloré au Giemsa [138]

III.1.4. Traitements

Le traitement de la THA est guidé par les espèces (Tbg et Tbr) et le stade de la maladie. C'est pourquoi, il est primordial d'établir un diagnostic positif de THA le plus tôt possible après l'apparition des symptômes évocateurs afin de connaître le stade de la maladie et d'établir un protocole de traitement adapté [144,147]. Le traitement médicamenteux de la maladie à un stade précoce pour les deux variantes de la THA est efficace et moins toxique que celui de la maladie à un stade avancé [148].

La pentamidine est utilisée pour traiter avec succès le premier stade de la THA de *T. b. gambiense* et la suramine pour celle de la THA de *T. b. rhodesiense*, mais les deux médicaments traversent mal la barrière hémato-encéphalique (BHE) [139]. Malheureusement, la pentamidine présente une néphrotoxicité, une hépatotoxicité, et peut provoquer une cytopénie. De son côté, la suramine présente également de nombreux effets indésirables, dont des nausées, des vomissements, une photophobie, des hyperesthésies, une neuropathie périphérique, une néphrotoxicité, de l'urticaire, un prurit. Par ailleurs, de graves réactions d'hypersensibilité peuvent survenir chez les patients co-infectés par *Onchocerca volvulus*, qui est endémique dans de nombreuses régions d'Afrique de l'Ouest où *T. b. gambiense* est présent [137,144,149]. Pour le traitement du deuxième stade de la THA à *T. b. gambiense*, l'éflornithine ou la thérapie combinée nifurtimox-éflornithine (NECT) ont remplacé le méléarsoprol très toxique, qui est toujours utilisé pour la THA à *T. brucei rhodesiense* dans les pays africains en raison de la disponibilité limitée de l'éflornithine [131,144,150]. Les effets indésirables graves et souvent mortels du méléarsoprol, un arsenical organique, comprennent une encéphalopathie réactionnelle, une dermatite exfoliative, une toxicité cardiovasculaire (hypertension, arythmie, insuffisance cardiaque), et une toxicité liée aux dérivés arsenicaux touchant les systèmes digestif et rénal [139,146,151]. Cependant, l'éflornithine et la NECT ne conviennent pas au traitement de la THA de premier stade en raison de leur toxicité et de la complexité des procédures d'administration [144]. D'autre part, l'éflornithine est limitée par ses effets secondaires dont des troubles gastro-intestinaux, la suppression de la moelle osseuse et des convulsions. Les effets indésirables courants du nifurtimox sont une anorexie, des nausées, des vomissements, une perte de poids, une polyneuropathie, des céphalées, des étourdissements et des vertiges [139,144,145,148,152].

En plus de leur toxicité, l'autre inconvénient de ces médicaments, est qu'ils sont, pour la plupart, administrés par voie intramusculaire (de préférence) ou intraveineuse et demande une assistance médicale et un personnel de santé qualifié. Récemment, un nouveau médicament, le

fexinidazole, un 5-nitroimidazole 2-substitué (approuvé par la FDA le 16 juillet 2021), administré par voie orale comme médicament unique, s'est avéré efficace pour le traitement des patients atteints de THA de premier et deuxième stade [153,154]. Par ailleurs, le fexinidazole a été associé à une neutropénie et à une élévation des transaminases hépatiques, qui doivent être surveillées. Un autre médicament, acoziborole, qui est un benzoxaborole, administré par voie orale en dose unique fait l'objet d'un essai clinique ouvert de phase 2/3 chez des patients atteints d'une infection à *T. brucei gambiense* [136].

Concernant leur mécanisme d'action sur le parasite, la pentamidine entraîne une perte progressive de l'ADN kinétoplaste et une perturbation du potentiel membranaire mitochondrial ; la suramine inhibe la cytokinèse ; le mélarsoprol inhibe la mitose ; le nifurtimox réduit l'abondance des protéines mitochondriales ; l'éflornithine inhibe l'ornithine décarboxylase et l'acoziborole cible un facteur de maturation de l'ARNm (CPSF3). Ces médicaments contre la trypanosomiase ont également la capacité de perturber des compartiments cellulaires distincts et spécifiques, des structures ou des phases du cycle cellulaire du parasite [149,152,155]. Cependant, le mécanisme d'action précis du fexinidazole reste encore inconnu [154]. Les différents médicaments utilisés actuellement ou en cours d'essais cliniques sont présentés à la **Figure 10**.

Étant donné que la maladie touche principalement les personnes vivant dans les zones rurales ayant un accès limité aux médicaments et aux infrastructures sanitaires, le développement de médicaments accessibles, moins toxiques et pouvant être administrés par voie orale pourraient être une étape importante dans la prise en charge de la THA.

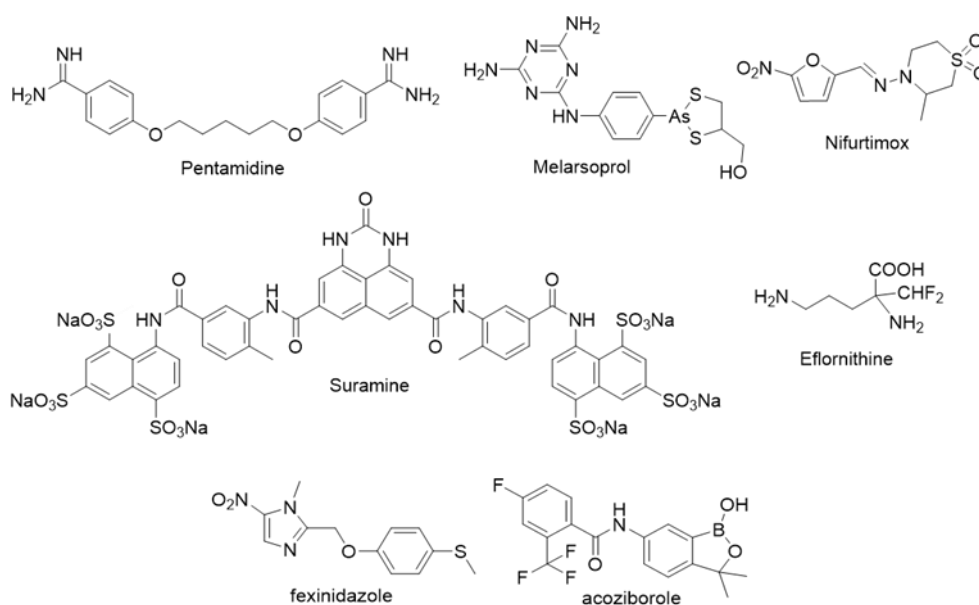


Figure 10 : Les différents médicaments contre la THA

III.2. Leishmanioses

III.2.1. Épidémiologie

Les leishmanioses sont un groupe de maladies causées par le parasite protozoaire *Leishmania* à la suite d'une piqûre de phlébotomes femelles infectés. Plus de 20 espèces de *Leishmania* sont connues pour être infectieuses pour l'homme. En 2022, sur les 200 pays et territoires qui relèvent de l'OMS, 99 pays et territoires sont endémiques pour la leishmaniose (**Figures 11 et 12**) [156]. La maladie touche principalement les populations pauvres et représente un problème de santé majeur dans quatre régions éco-épidémiologiques du monde : l'Afrique de l'Est, l'Afrique du Nord, les Amériques et l'Asie de l'Ouest et du Sud-Est [12].

Il existe quatre formes principales de la maladie : la leishmaniose viscérale (LV, aussi connue sous le nom de kala-azar) ; la leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPKA) ; la leishmaniose cutanée (LC) ; et la leishmaniose cutanéomuqueuse. La leishmaniose cutanée est la forme la plus fréquente de la maladie, mais la leishmaniose viscérale est la plus grave, presque toujours mortelle en l'absence de traitement [157–161]. En 2020, 208 357 nouveaux cas de LC et 12 838 nouveaux cas de LV ont été notifiés par l'OMS. Plus de 90% des nouveaux cas de LC notifiés provenaient de la Région méditerranéenne orientale (73%) et de la Région des Amériques (19%). La Région méditerranéenne orientale et l'Algérie constituent un foyer éco-épidémiologique, car elles notifient à elles seules 79% (16 2371) de tous les cas de LC. Sept pays (Afghanistan, Algérie, Brésil, Colombie, Irak, Pakistan et la Syrie) ont chacun notifié plus de 6 000 cas de LC, ce qui représente plus de 80% des cas signalés à l'échelle mondiale. Concernant la LV, 34% des cas ont été notifiés pour la Région africaine et 29% pour la Région méditerranéenne orientale. La Région des Amériques et la Région de l'Asie du Sud-Est ont notifié 16% et 18% des cas, respectivement, tandis que la Région européenne et la Région du Pacifique occidental n'ont signalé que 2% du nombre total de cas. Les 3 foyers éco-épidémiologiques pour la LV sont l'Afrique de l'Est (Éthiopie, Érythrée, Kenya, Ouganda, Somalie, Soudan et Soudan du Sud), avec 57% du nombre total de cas dans le monde; le sous-continent indien (Bangladesh, Inde et Népal), avec 18%; et le Brésil, avec 16%. L'Irak, le Népal, la Somalie, le Soudan du Sud, le Tchad et le Yémen représentent 96% des cas de LV dans le monde. Chaque année, entre 20 000 et 30 000 décès liés à la leishmaniose principalement associés à la LV sont signalés [12,162–164]. Au Sénégal, les premiers foyers d'endémie ont été identifiés en 1933, et la maladie y sévit sous le mode endémo-épidémique. En 2018, une étude menée à l'hôpital Aristide Le Dantec à Dakar a recensé 38 cas de leishmaniose cutanée [165].

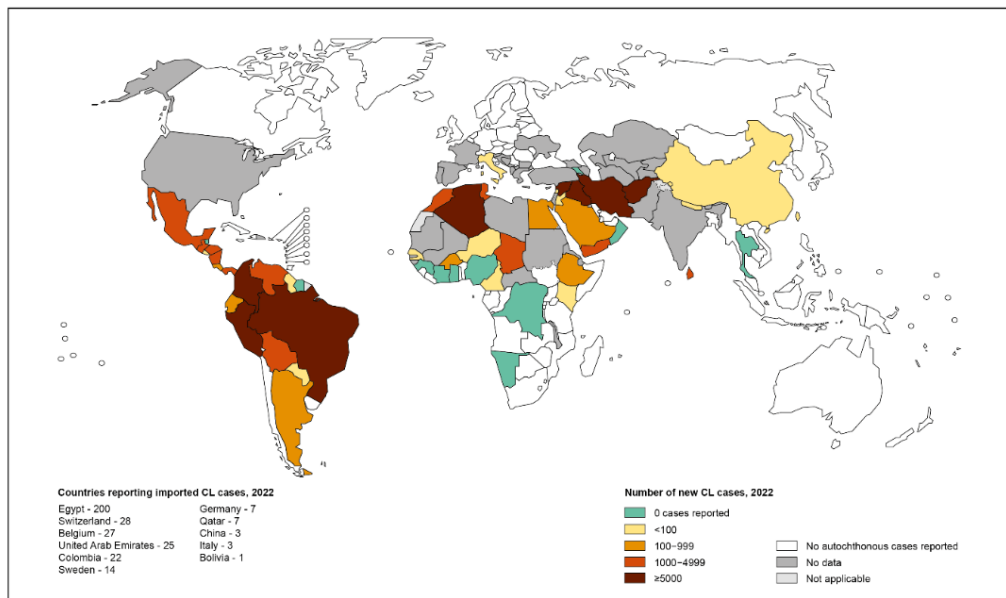


Figure 11 : Statut d'endémicité de la leishmaniose cutanée (LC) dans le monde en 2022

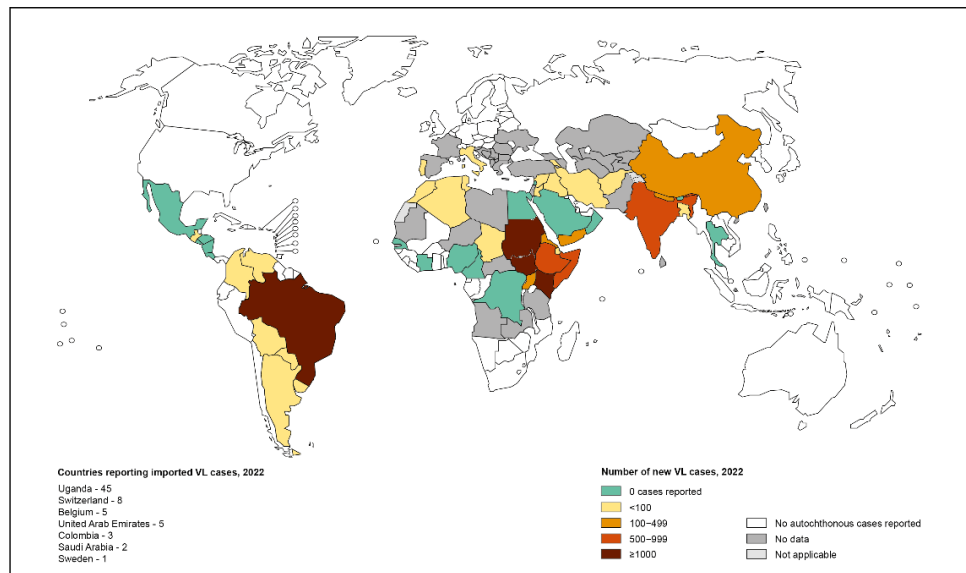


Figure 12 : Statut d'endémicité de la leishmaniose viscérale (LV) dans le monde en 2022

III.2.2. Le parasite et son cycle de vie

La leishmaniose est une maladie à transmission vectorielle causée par des protozoaires flagellés de l'ordre des Kinétoplastidés, de la famille des Trypanosomatidés, et du genre *Leishmania*. Elle est transmise par les phlébotomes. L'infection humaine est causée par environ 21 des 30 espèces qui infectent les mammifères. Il s'agit notamment du complexe *L. donovani* avec 3 espèces (*L. donovani*, *L. infantum* et *L. chagasi*) ; le complexe *L. mexicana* avec 3 espèces principales (*L. mexicana*, *L. amazonensis* et *L. venezuelensis*) ; *L. tropica* ; *L. majeur* ; *L. aethiopica* ; et le sous-genre *Viannia* avec 4 espèces principales (*L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) panamensis*, et *L. (V.) peruviana*). Les différentes espèces sont

morphologiquement indiscernables, mais elles peuvent être différenciées par l'analyse des isoenzymes, les méthodes moléculaires (PCR) ou les anticorps monoclonaux [158,161,164,166,167].

La leishmaniose est transmise par la piqure de phlébotomes femelles infectées (principalement actif la nuit notamment au crépuscule). Au cours d'un repas de sang, les phlébotomes injectent les promastigotes métacycliques (stade infectieux) à partir de leur trompe. Puis, les promastigotes qui atteignent la plaie perforante sont phagocytés par les macrophages et d'autres types de cellules phagocytaires mononucléaires. Ensuite dans ces cellules, les promastigotes se transforment en amastigotes (stade tissulaire), et se multiplient par simple division en donnant des promastigotes métacycliques (métacyclogénèse) qui procèdent à l'infection d'autres cellules phagocytaires mononucléées. Les parasites peuvent rester localisés dans la peau ou s'étendre à la muqueuse du nasopharynx, ou se propager à la moelle osseuse, à la rate, au foie et parfois à d'autres organes, entraînant 3 formes cliniques majeures de leishmaniose : cutanée, muqueuse ou viscérale. Les phlébotomes s'infectent en ingérant des cellules infectées lors de repas sanguins. Chez les phlébotomes, les amastigotes se transforment en promastigotes, se développent dans l'intestin (dans l'intestin postérieur pour les organismes leishmaniaux du sous-genre *Viannia* ; dans l'intestin moyen pour les organismes du sous-genre *Leishmania*) et migrent vers la trompe pour être injectés dans l'hôte et démarrer un nouveau cycle. Parfois, les personnes infectées sont nécessaires pour maintenir le cycle (humain-phlébotome-humain) ; ce type de transmission est appelé anthroponotique. Le processus de maturation chez les phlébotomes prend 4 à 25 jours selon les espèces (**Figure 13**) [161,168,169].

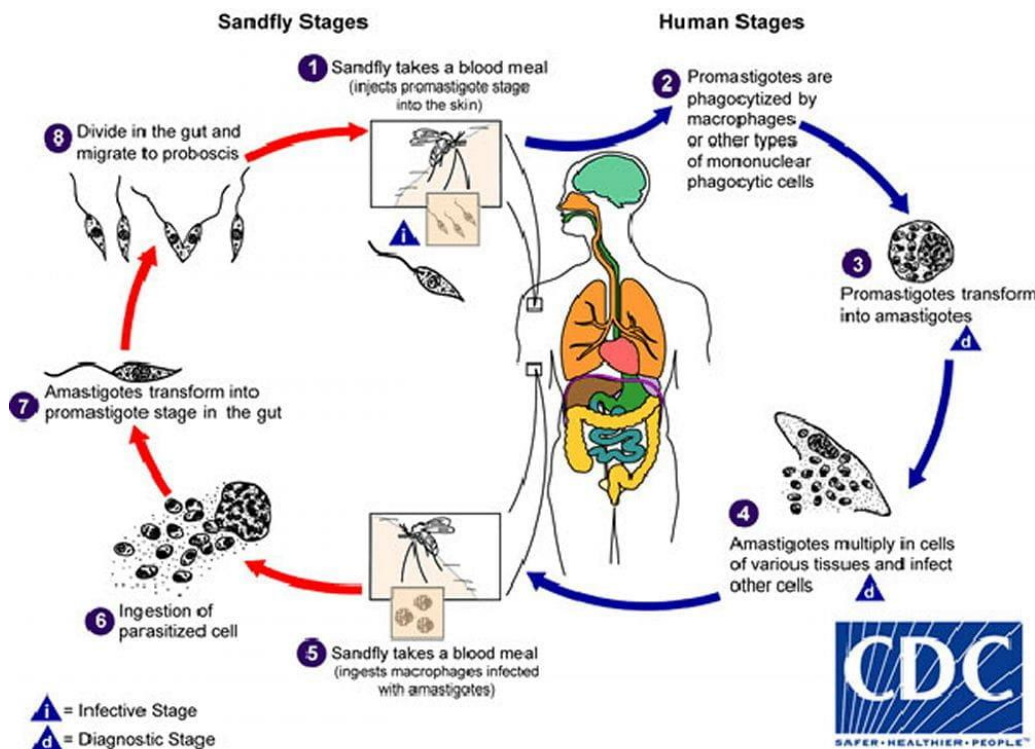


Figure 13 : Cycle de vie de *Leishmania*

Dans l'immunité innée, les neutrophiles sont les premières cellules immunitaires qui s'accumulent sur le site d'entrée du parasite. Ils peuvent participer à l'élimination de *Leishmania* ou prolonger sa survie, en fonction de l'espèce du parasite et des antécédents génétiques de l'hôte. En revanche, dans l'immunité adaptative, l'IFN- γ et le TNF- α , dérivés des cellules TH1, activent les macrophages pour exercer leurs effets anti-leishmaniaux dépendants des NO et des ROS. Les réponses liées aux cellules TH1 confèrent une protection, tandis que les réponses liées aux cellules TH2 provoquent une susceptibilité à la leishmaniose [158,170].

III.2.3. Symptomatologie et diagnostic

L'évolution de la maladie dépend de l'espèce de *Leishmania* en cause, de l'état immunitaire de l'hôte et de l'état environnemental. En cas d'infection, les manifestations cliniques peuvent être différenciées en quatre grandes formes : la leishmaniose cutanée (LC), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM), la leishmaniose viscérale (LV) et la leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPK). Elles se différencient toutes par le degré de gravité [163,168].

La forme la plus courante, la leishmaniose cutanée, connue sous le nom de bouton d'orient ou furoncles de Delhi ou clou d'Alep, ulcères d'Uta ou des Chicleros ou pian-bois, provoque des plaies cutanées [161,162]. Cette forme est généralement causée par *L. major* et *L. tropica* (en Europe du Sud, en Asie et en Afrique) ou par *L. mexicana* et *L. braziliensis* (en

Amérique Centrale et du Sud). Les plaies se développent généralement quelques semaines ou quelques mois après la piqûre de phlébotome et peuvent changer de taille et d'apparence avec le temps. Elles débutent par des papules ou des nodules et peuvent se terminer par des ulcères pouvant être recouverts de croûtes où sont concentrés les parasites intracellulaires. Les plaies sont généralement indolores mais peuvent être parfois douloureuses. Certaines personnes peuvent développer des ganglions enflés près des plaies (par exemple, sous le bras, si les plaies sont sur le bras ou la main). Les lésions cicatrisent spontanément après quelques mois ou des années et laissent une cicatrice déprimée, semblable à une brûlure [164,168].

Cependant, la forme la moins courante, la leishmaniose cutanéomuqueuse causée par *L. braziliensis* et les microorganismes apparentés commencent généralement par un ou plusieurs ulcères cutanés primitifs. La propagation à la muqueuse par voie lymphatique et dans la circulation sanguine se produit probablement au début de l'infection. Les lésions cutanées cicatrisent spontanément, des lésions muqueuses se développent progressivement et peuvent apparaître que des mois ou des années plus tard. Généralement, on observe une congestion, un écoulement et une douleur nasale. Au fil du temps, l'infection peut progresser, entraînant une mutilation grave du nez, du palais, du pharynx oral ou du visage [157].

La forme la plus grave et la plus mortelle, la leishmaniose viscérale (également connue sous le nom de kala-azar, qui signifie fièvre noire en hindi), est généralement causée par *L. donovani* ou *L. infantum*. On la note en Inde, en Afrique (en particulier au Soudan), en Asie centrale, dans le bassin méditerranéen, en Amérique du Sud et centrale. La plupart des cas sont observés dans le Nord-Est de l'Inde. Elle peut provoquer une infection systémique affectant le foie, la rate, le système hématogène et lymphatique. On observe une fièvre irrégulière, une hépatosplénomégalie, une pancytopenie et une hypergammaglobulinémie polyclonale avec un rapport albumine/globuline inversée. Dans certains cas un état cachectique et la mort surviennent après plusieurs mois ou années en cas d'infection évolutive. Cette forme est une infection opportuniste du SIDA ou d'autres maladies responsables de déficit immunitaire [159,171].

Quant à la leishmaniose cutanée post-kala-azar, elle peut se développer après le traitement de la leishmaniose viscérale chez certains patients au Soudan et en Inde. Elle est caractérisée par des lésions cutanées plates ou nodulaires qui contiennent de nombreux parasites qui se développent habituellement 1 à 2 ans après la fin du traitement et qui peuvent durer plusieurs années [163,168,171].

Pour le diagnostic de la leishmaniose, plusieurs approches sont utilisées pour maximiser la probabilité d'un résultat positif de *Leishmania* (**Figure 14**) [163]. Parmi ceux-ci, on peut noter des méthodes telles que la visualisation microscopique de l'amastigote caractéristique dans les frottis sanguins ou les tissus (histopathologie) ; isolement des parasites par culture *in vitro* ; détection moléculaire (séquençage de l'ADN, sondes de l'ADN des parasites) ; et, pour la LV, les tests sérologiques (DAT, rK39 Rapid Test, antigène brut ELISA, etc.) et les tests basés sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Certaines de ces méthodes ne sont disponibles que dans les laboratoires de références [168,169,172].

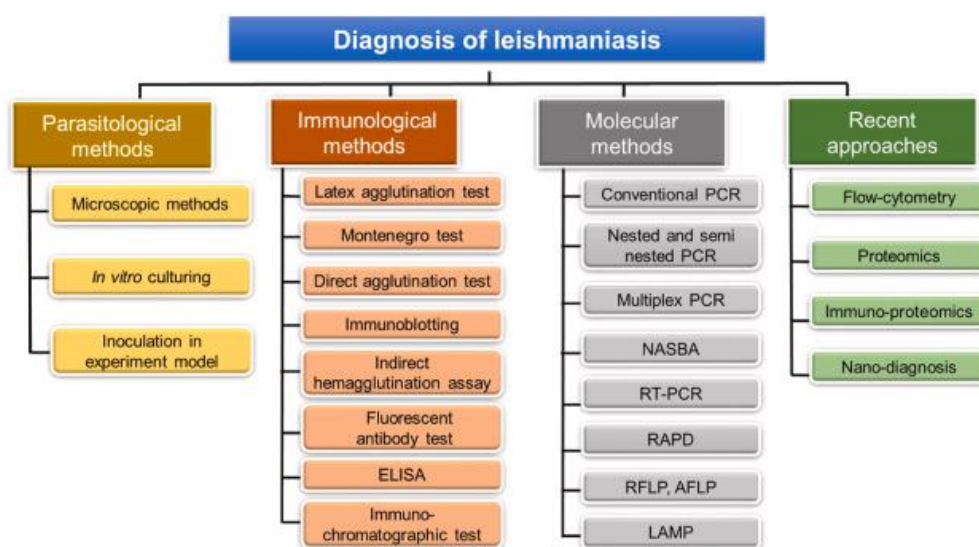


Figure 14 : Diverses approches diagnostiques de la leishmaniose [163].

III.2.4. Traitements

Le traitement de la leishmaniose doit être adapté individuellement au patient et au type de leishmaniose, ainsi qu'à la sous-espèce parasitaire et à la zone géographique [172]. Les tests PCR pour l'identification des espèces sont particulièrement utiles pour guider le traitement des patients atteints de la LC, qui peuvent être à risque de LCM. Comme nous l'avons souligné, le système immunitaire des patients joue également un rôle crucial dans le traitement et la guérison. La chimiothérapie antileishmaniale repose principalement sur les antimoniaux pentavalents (l'antimoniote de méglumine (glucantime) ou le stibogluconate de sodium (pentostam)), l'amphotéricine B liposomale, la miltéfosine et la paromomycine. Un aperçu des médicaments actuellement utilisés pour traiter la leishmaniose est présenté dans le **Tableau 4**, ainsi que leurs structures chimiques à la **figure 15** [163,168,169]. L'OMS recommande l'administration d'antimoniaux pentavalents parentéraux comme traitement de première intention, à raison de 20 mg/kg/j pendant 20 à 28 jours consécutifs. La miltéfosine, administrée par voie orale à raison de 2,5 mg/kg/j pendant 28 jours, peut être efficace dans la leishmaniose

cutanée, en particulier celle causée par *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, et *L. panamensis* [12,166,168,172]. L'amphotéricine B liposomale, qui est administrée par perfusion intraveineuse, est approuvée par la FDA pour le traitement de la leishmaniose viscérale. D'autre part, certains médicaments dont les agents parentéraux, désoxycholate d'amphotéricine B et l'isethionate de pentamidine, ainsi que les « azoles » administrés par voie orale (kétoconazole, itraconazole et fluconazole), sont souvent utilisés contre la leishmaniose bien que la FDA n'ait pas encore approuvé leurs utilisations à cet effet [163,164,172].

Sur le plan thérapeutique, la toxicité des médicaments, la lourdeur des traitements, le coût et l'émergence d'une résistance aux médicaments limitent l'arsenal de traitement antiparasitaire. Il faudra noter qu'il n'existe aucun vaccin pour la leishmaniose. Néanmoins, pour faire face à la résistance de certaines espèces de *Leishmania* aux médicaments actuels et le fort taux de rechute du traitement dans le monde entier, plusieurs groupes de chercheurs essaient de trouver une meilleure alternative avec une efficacité améliorée des médicaments mais également d'identifier les biomarqueurs cruciaux à cibler.

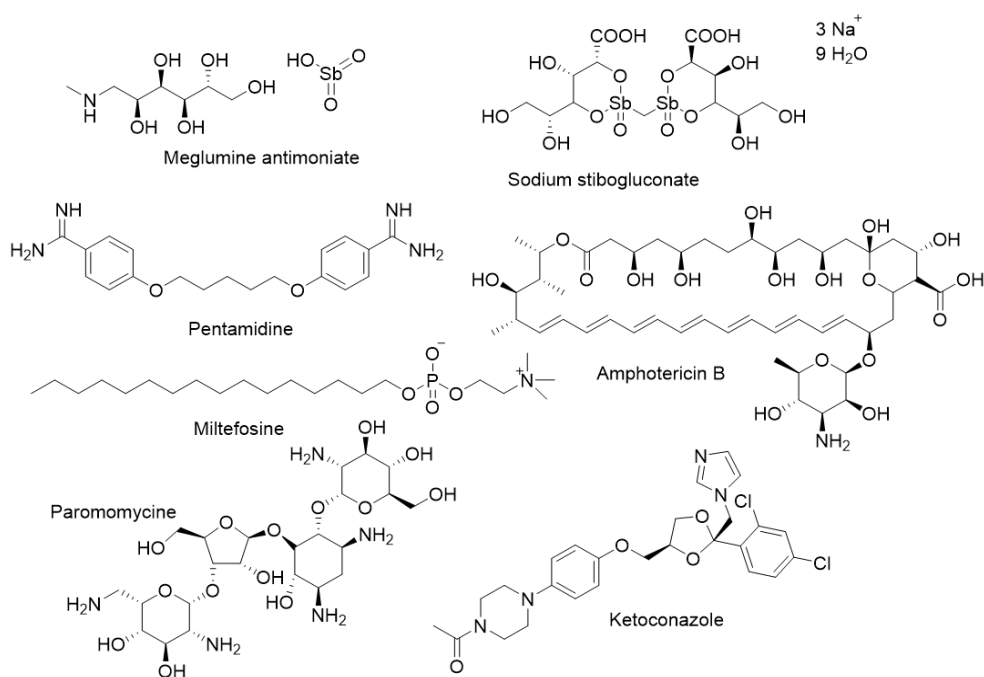


Figure 15 : Structures des médicaments antileishmaniaux actuels

Tableau 4 : Aperçu des médicaments actuellement utilisés pour traiter la leishmaniose

Médicaments	Classe chimique	Mécanisme d'action	voie d'administration (forme de leishmaniose)	Limites
Stibogluconate de sodium et antimoniate de méglumine	Antimoniaux pentavalents	Inhibition de la glycolyse, de l'oxydation des acides gras, de la synthèse de l'ATP et du GTP	Intramusculaire ou intraveineuse ou intralymphatique ou intralésionnelle (LC)	Traitement long, douleur au site d'injection, cardiotoxicité, hépatotoxicité et néphrotoxicité
Amphotéricine B liposomale	Antibiotique polyène	Formation de pores dans la membrane ou se lie à l'ergostérol de la membrane cellulaire, interrompant sa synthèse	Intraveineuse (LV)	Frissons lors d'une perfusion lente avec anaphylaxie, néphrotoxicité, hypokaliémie
Miltéfosine	Phospholipide d'alkyle	Modulation des récepteurs de surface cellulaire et modification la composition des stérols et des phospholipides	Oral	Longue demi-vie, tératogène, troubles gastro-intestinaux, néphrotoxicité et hépatotoxicité
Paromomycine	Amino-glycoside	Obstruction de la machinerie de synthèse des protéines en se liant à une sous-unité 30S plus petite du complexe ribosomique	Topique (LC) ou intramusculaire (LV)	Douleur au site d'injection, hépatotoxicité, néphrotoxicité et ototoxicité
Isethionate de pentamidine	Diamidine aromatique	Complexation de l'ADN, inhibition de la topoisomérase II, action sur la chaîne respiratoire	Intramusculaire ou intraveineuse	Nausées, vomissements, dysgueusie, maux de tête, hypoglycémie, DM insulino-dépendant, pancréatite, hypotension, allongement de l'intervalle QT, néphrotoxicité, hépatotoxicité, cytopénies, anomalies électrolytiques, douleur par injection IM, rhabdomyolyse
Kétoconazole	Azoles	Inhibiteur du métabolisme des stérols (biosynthèse de l'ergostérol)	Oral	Efficacité réduite, Symptômes gastro-intestinaux, hépatotoxicité, allongement de l'intervalle QT, perte de cheveux, agranulocytose, diminution de la sécrétion de corticostéroïdes surrénaliens

IV. Système de santé sénégalais et place de la médecine traditionnelle au Sénégal

IV.1. Présentation du Sénégal

Le Sénégal est situé à l'extrême ouest du continent africain, entre 12°5 et 16°5 de latitude Nord et 11°5 et 17°5 de longitude Ouest. Le pays couvre une superficie de 196 712 km² avec une façade maritime occidentale de plus de 700 km. Il est limité au Nord par la République Islamique de Mauritanie, à l'Est par la République du Mali, au Sud par la République de Guinée et la République de Guinée Bissau, et à l'Ouest par l'océan Atlantique. La République de Gambie constitue une enclave de 25 km de large et de près de 300 km de long à l'intérieur du territoire sénégalais (**Figure 16**) [173]. Le Sénégal est divisé à ce jour en 14 régions, 46 départements, 117 arrondissements et 557 communes. Dakar est la capitale du Sénégal.

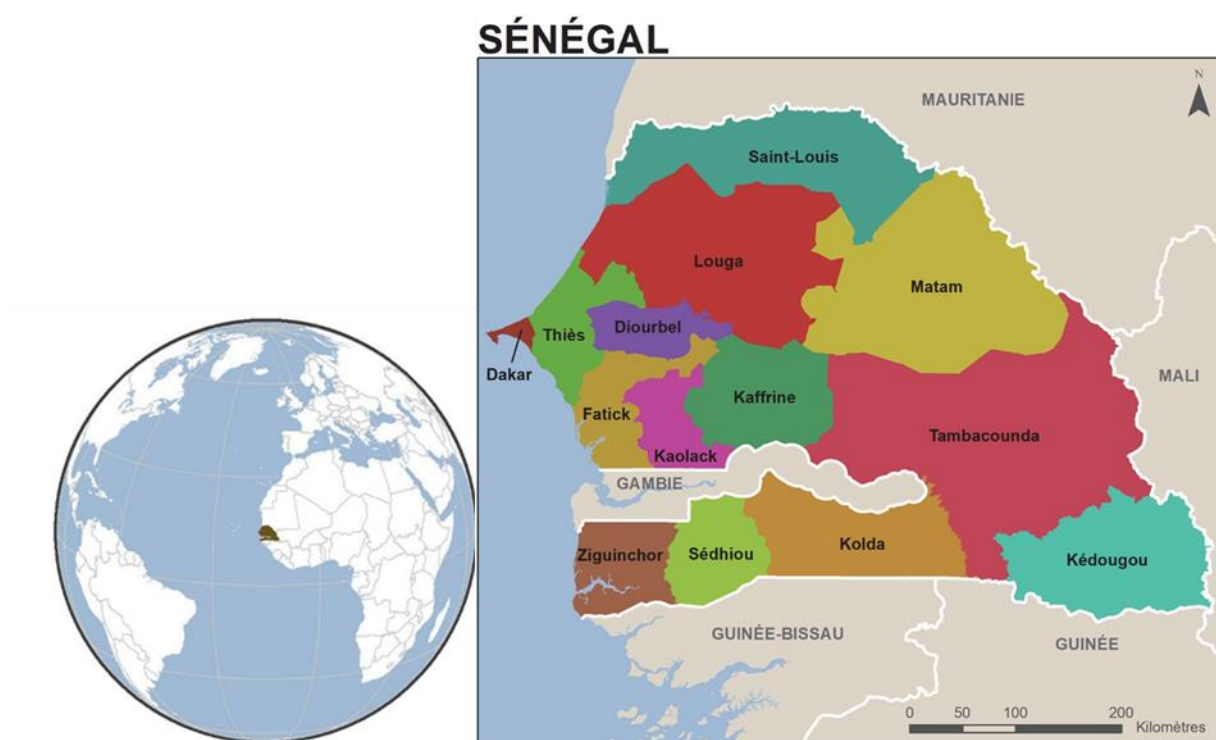


Figure 16 : Carte du Sénégal avec ses pays limitrophes et ses différentes régions [173]

Le Sénégal est un État laïc, démocratique, social et indépendant depuis 1960. Le pays est sous un régime présidentiel pluraliste où le Président de la République est élu au suffrage universel direct.

Sur le plan démographique, en 2020, la population du Sénégal était estimée à 16 705 608 habitants (85 habitants/km²), soit une hausse de l'ordre de 3% par rapport à l'année 2019. L'accroissement relativement élevé de la population est expliqué par une natalité toujours élevée (taux brut de natalité 38‰), un indice synthétique de fécondité à 4,6 (EDS-C 2017), et une mortalité globale en constante baisse passant de 8,2‰ en 2013 à 6,8‰ en 2019. La

population sénégalaise en 2020, comme les années précédentes, est caractérisée par sa jeunesse. La moyenne d'âge est de l'ordre de 19 ans. L'espérance de vie à la naissance est de 67,4 ans. L'effectif des individus de sexe féminin (50,2%) est légèrement supérieur à celui de sexe masculin (49,8%). Plus de la moitié de la population (54,82%, ANSD) réside en milieu rural. La région de Dakar concentre à elle seule 23% de la population totale du pays en 2020. En outre, plus de 55% de la population totale résident dans quatre régions administratives à savoir Dakar, Thiès, Diourbel et Kaolack. Certaines régions comme Matam (4,4%), Kaffrine (4,4%), Ziguinchor (4,1%), Sédhiou (3,4%) et Kédougou (1,1%) sont faiblement peuplées [173].

Sur le plan social, le Sénégal se caractérise par sa diversité ethnique, linguistique et religieuse. Les principales ethnies sont les Ouolofs (wolofs) représentant 39% de la population, les Peuls (31%), les Sérères (15%), les Mandingues (4,5%) et les Joolas (Djolas) (4%). Divers autres groupes et sous-groupes ethniques composent les 8% restants : Arabes hasanyas, Manjacks, Balantes, Bambaras, Arabes d'origine libano-syrienne, etc. Le français est la langue officielle du pays. La langue majoritairement parlée est le « Ouolof » suivi du de langue peule « pular ». Sur le plan religieux, la population du Sénégal est composée majoritairement de musulmans (96,8%). Les chrétiens représentent 3,1%, tandis que les autres religions représentent 0,1% de la population. La liberté de culte, le cousinage à plaisanterie entre les différentes ethnies participent au maintien de la cohésion sociale. Les ethnies étrangères viennent renforcer ce brassage [173,174].

Sur le plan économique, comme la plupart des pays subsahariens, le Sénégal est caractérisé par une stagnation relative de la pauvreté, expliquée en partie par un taux annuel de croissance du PIB par tête d'habitant d'environ 0,5% sur la période 2005-2011. Les premiers résultats de pauvreté de l'Enquête Harmonisée sur les Conditions de Vie des Ménages (EHCVM 2018/2019) montrent que l'incidence de la pauvreté individuelle au Sénégal est de 37,8% selon l'approche basée sur l'élaboration d'un seuil de pauvreté national. Selon l'approche basée sur le seuil international de pauvreté monétaire modérée qui est de 3,2 dollars par personne et par jour en Parité du Pouvoir d'Achat (PPA) de 2011, l'incidence de la pauvreté au Sénégal est de 32,6 % (**Tableau 5**). Toutefois, la légère baisse de l'incidence de la pauvreté a été accompagnée par une augmentation du nombre absolu de pauvres sur la période [173].

Tableau 5 : Pauvreté au Sénégal en 2018/2019

Indicateurs de pauvreté monétaire et d'inégalité				
Dépense moyenne annuelle normalisée par tête en FCFA (\$)	Seuil de pauvreté national en FCFA (\$)	Incidence de la pauvreté nationale en %	Indice de Gini	Indice d'inégalité inter décile P90/P10
507 350 (914)	333 441 (600)	37,8	0,351	4,391
Indicateurs de pauvreté suivant le seuil international de \$3,2 en PPA 2011				
Dépense moyenne annuelle nominale par tête en FCFA (\$)	Seuil international de pauvreté en 2018 en FCFA (\$)	Incidence de pauvreté en %		
527 800 (951)	298 448 (537)	32,6		

Sources, EHCVM 2018/2019, ANSD [173]

La pauvreté est plus élevée en zone rurale qu'en zone urbaine. Avec 26,1% de pauvres en 2011, la région de Dakar bénéficie d'une situation nettement plus favorable que les autres régions du pays, même si elle contribue de façon importante (13,5%) à la pauvreté du fait qu'elle concentre un quart de la population [173].

Sur le plan climatologique, le Sénégal est un pays de l'Afrique subsaharienne, avec un climat de type soudano-sahélien. Le climat est tropical au Sud et semi désertique au Nord ; il se caractérise par l'alternance d'une saison sèche de novembre à mi-juin et d'une saison humide et chaude de mi-juin à octobre. L'écart de température peut être important entre le littoral et l'intérieur du pays, de l'ordre d'une dizaine de degrés, ainsi on enregistre plus de 40 °C à l'intérieur des terres pendant la saison sèche. La pluviométrie moyenne annuelle suit un gradient décroissant du Sud au Nord du pays. Elle passe de 1200 mm au Sud à 300 mm au Nord, avec des variations d'une année à l'autre. Trois principales zones de pluviométrie correspondant à trois zones climatiques sont ainsi déterminées : une zone forestière au Sud, une savane arborée au Centre et une zone semi-désertique au Nord. En plus de l'océan Atlantique qui le limite à l'Ouest, les ressources en eaux de surface au Sénégal sont constituées par quatre fleuves : le fleuve Sénégal au nord (1700 km de long), le fleuve Saloum (250 km) au centre, le fleuve Gambie (1 130 km) au centre et le fleuve Casamance (300 km) au sud. Des lacs et des rivières complètent le régime hydrologique. La réalisation des Grands Barrages de Diama et de Manantali, en particulier, que le Sénégal partage avec le Mali et la Mauritanie à travers l'Organisation pour la Mise en Valeur du Fleuve Sénégal (OMVS), contribue à la maîtrise des ressources hydrauliques et, participe au développement de l'agriculture, de l'élevage, de la

navigation, de l'approvisionnement en eau potable et en énergie pour les populations [173,175–177].

Le secteur de l'environnement demeure confronté aux actions anthropiques (déforestation, dégradation des sols, etc.) accentuées par le phénomène des changements climatiques. Ces phénomènes ont pour conséquences la réduction de la biodiversité et la destruction de la microfaune et de la microflore du sol. Une gestion efficace et rationnelle de l'environnement et des ressources naturelles s'avère alors nécessaire, afin de pouvoir asseoir un développement durable dans le pays [178]. Des études sur les sols ont permis de faire l'inventaire des types de sols existants au Sénégal [179]. Les grands types de sols du Sénégal sont :

- Les sols minéraux bruts de cuirasse sur schiste (2,4 %) ;
- Les sols minéraux bruts de cuirasse sur grès argileux (8,1 %) ;
- Les sols gravillonnaires sur cuirasse (11,6 %) ;
- Les sols brun-rouge subarides sur sable (14,2 %) ;
- Les sols ferrugineux tropicaux faiblement lessivés sur sable (20 %) ;
- Les sols ferrugineux tropicaux lessivés sur grès sablo-argileux (17,2 %) ;
- Les sols ferrugineux tropicaux lessivés cuirassés sur schiste (12,4 %) ;
- Les sols faiblement ferralitiques sur grès sablo-argileux (6,2 %) ;
- Les sols halomorphes sur alluvions argileuses (1,9 %) ;
- Les sols hydromorphes sur argile de décantation (0,2 %) ;
- Les sols hydromorphes sur argile (3,3 %) ;
- Les sols sulfatés acides sur sable (2,5 %).

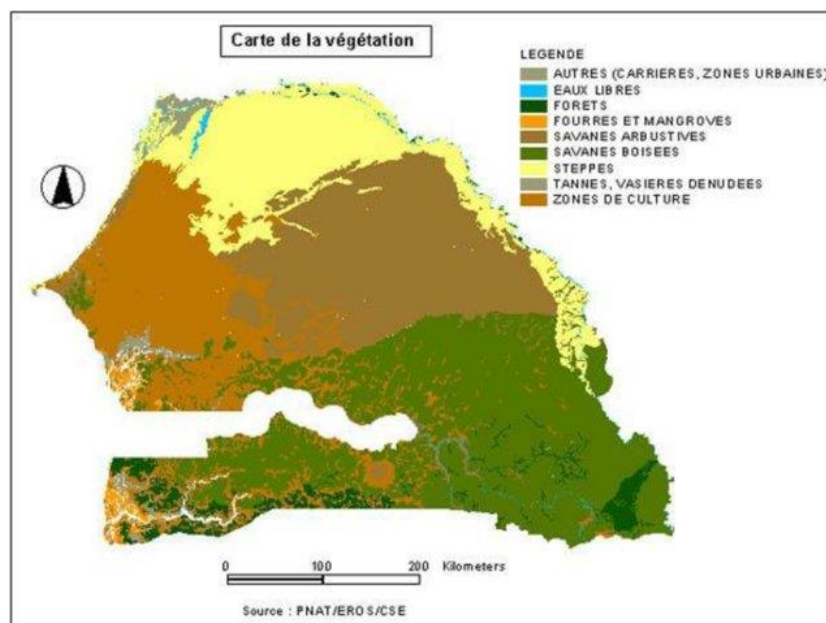


Figure 17 : Principaux types de végétation du Sénégal [182]

Du fait de sa position en zone de transition climatique, le Sénégal présente des steppes, des savanes et des forêts qui forment souvent des mosaïques (**Figure 17 et Tableau 6**). Le pays dispose également d'une importante végétation aquatique et des peuplements spécifiques très caractéristiques comme les mangroves, les palmeraies, les bambousaies et les gonakeraies [180,181].

Tableau 6 : Les types de végétation et leurs espèces dominantes [180,181]

Types de végétation	Espèces dominantes
Steppes	<i>Spermacoce verticillata</i> , <i>Indigofera oblongifolia</i> , <i>Chloris prieurii</i> , <i>Schoenefeldia gracilis</i> , les genres <i>Aristida</i> et <i>Cenchrus</i> , <i>Vachellia raddiana</i> , <i>Vachellia senegal</i> , <i>Vachellia seyal</i> , <i>Vachellia nilotica</i> , <i>Tamarix senegalensis</i> , <i>Vetiveria nigritana</i> , <i>Salvadora persica</i> , <i>Schoenefeldia gracilis</i> et <i>Balanites aegyptiaca</i> .
Savanes	<i>Cordyla pinnata</i> , <i>Ficus sycomorus</i> , <i>Diospyros mespiliformis</i> , <i>Dichrostachys cinerea</i> , <i>Acacia macrostachya</i> , <i>Combretum</i> spp, <i>Ziziphus mauritiana</i> , <i>Sclerocarya birrea</i> , <i>Neocarya macrophylla</i> , <i>Sterculia setigera</i> , <i>Lannea acida</i> , <i>Sclerocarya birrea</i> , <i>Pterocarpus erinaceus</i> , <i>Parkia biglobosa</i> , <i>Terminalia macroptera</i> , <i>Daniellia oliveri</i> , les genres <i>Andropogon</i> , <i>Hyparrhenia</i> , <i>Digitaria</i> .
Forêts	<i>Pterocarpus erinaceus</i> , <i>Khaya senegalensis</i> , <i>Daniellia oliveri</i> , <i>Ceiba pentandra</i> , <i>Terminalia macroptera</i> , <i>Erythrophleum guineensis</i> , <i>Detarium senegalensis</i> , <i>Malacantha alnifolia</i> , <i>Parinari excelsa</i> , <i>Pentaclethra macrophylla</i> , <i>Raphia sudanica</i> , <i>Carapa procera</i> , <i>Elaeis guineensis</i> , <i>Alchornea cordifolia</i>

Environ 8% du territoire sénégalais est constitué d'aires protégées dont 6 parcs nationaux (**Figure 18**). De nombreuses réserves et aires marines protégées sont également présentes dans le pays. C'est l'exemple de la réserve de Bandia, près de Saly, ou la réserve de Guembeul à côté de Saint-Louis [182].



Le Parc National des Oiseaux du Djoudj



Le Parc National de la Langue de Barbarie



Le Parc National des Îles de la Madeleine



Le Parc National de Basse-Casamance



Le Parc National du Niokolo Koba



Le Parc National du Delta du Saloum

Figure 18 : Les parcs nationaux du Sénégal [183]

IV.2. Système de santé au Sénégal

La santé est considérée comme une composante essentielle du développement économique du pays, comme l'affirme l'article 17 de la Constitution « l'État et les collectivités

publiques ont le devoir social de veiller à la santé physique, morale et mentale de la famille » et par la ratification des textes internationaux, tels que la Déclaration Universelle des Droits de l'Homme, la charte de l'Union Africaine (UA) et la Convention des droits de l'enfant [184].

Depuis 2012, le ministère de la santé et de l'action sociale est constitué de deux sous-secteurs :

- le sous-secteur de la santé ; et
- le sous-secteur de l'action sociale.

Cependant, d'autres intervenants contribuent à la mise en œuvre de la politique nationale de santé et d'action sociale (autres départements ministériels, Collectivités Territoriales, Institutions, Agences, autres Organisations, Partenaires). Cette diversité d'acteurs devrait déterminer une approche résolutive des problèmes de santé et d'action sociale dans un cadre multisectoriel et à travers une gouvernance partagée [173].

L'organisation du secteur socio-sanitaire est de type pyramidal, adossée au découpage administratif du pays (**Figures 19 et 20**) [173,174]. Elle comprend :

- un niveau central qui regroupe le Cabinet du Ministre, le Secrétariat Général, les Directions générales, les Directions nationales, les services centraux rattachés, les Centres Nationaux de Réinsertion Sociale et les Établissements Publics de Santé de niveau 3 ;
- un niveau intermédiaire stratégique qui regroupe les Régions Médicales, les Brigades Régionales de l'Hygiène (BRH), les Services Régionaux de l'Action Sociale et les Établissements Publics de Santé de niveau 2 ; et
- un niveau périphérique opérationnel avec les Districts Sanitaires, les Sous-Brigades de l'Hygiène, les Services Départementaux de l'Action Sociale, les Centres de Promotion et de Réinsertion Sociale (CPRS) et les Établissements Publics de Santé de niveau 1.

L'offre de services est assurée par des établissements publics de santé (EPS) hospitaliers et non hospitaliers (au nombre de 38), des centres de santé (101), des postes de santé (1 344) et des cases de santé (2 666). L'offre du secteur privé vient compléter ce dispositif avec 4 hôpitaux, 24 cliniques, 414 cabinets médicaux et des services médicaux d'entreprises et de laboratoires d'analyses médicales. Toutefois, la complémentarité des secteurs public et privé est faible, attribuable sans doute à une approche stratégique insuffisante de la part de l'État. Les structures de l'action sociale offrent des soins promotionnels et préventifs principalement dans les centres de promotion et de réinsertion sociale, centres nationaux de réadaptation sociale et dans les services sociaux des structures sanitaires [173,184,185].



Figure 19 : Organisation du système de santé sénégalais

(Plan National de Développement Sanitaire et Social (PNDSS) 2019-2028, Sénégal)

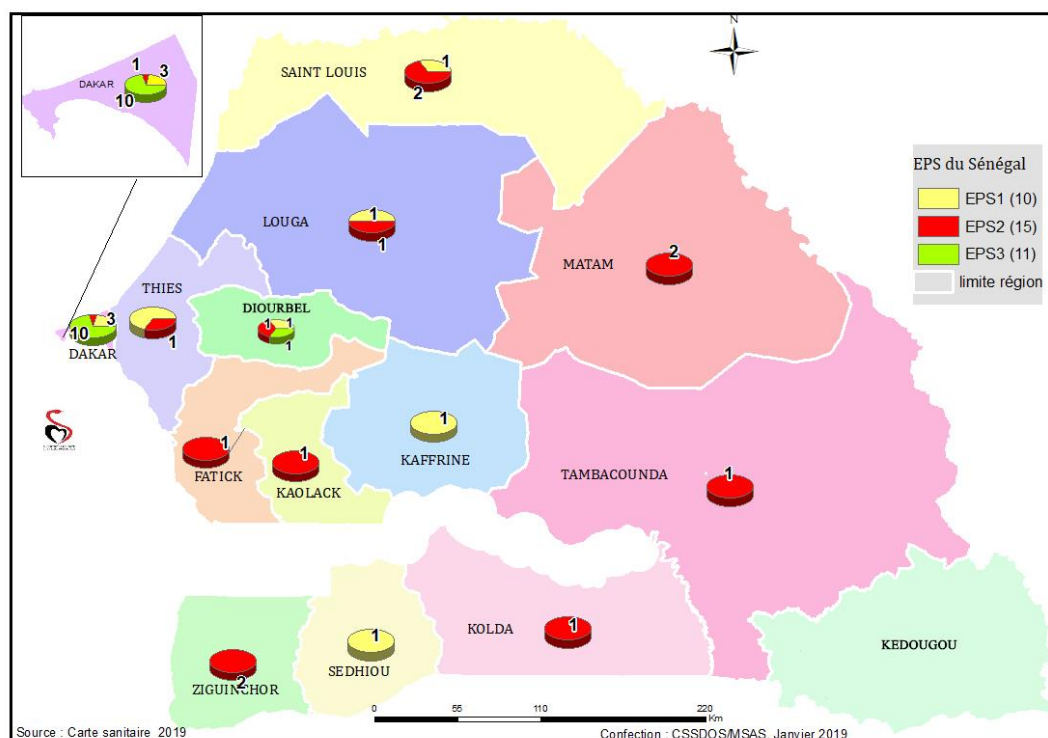
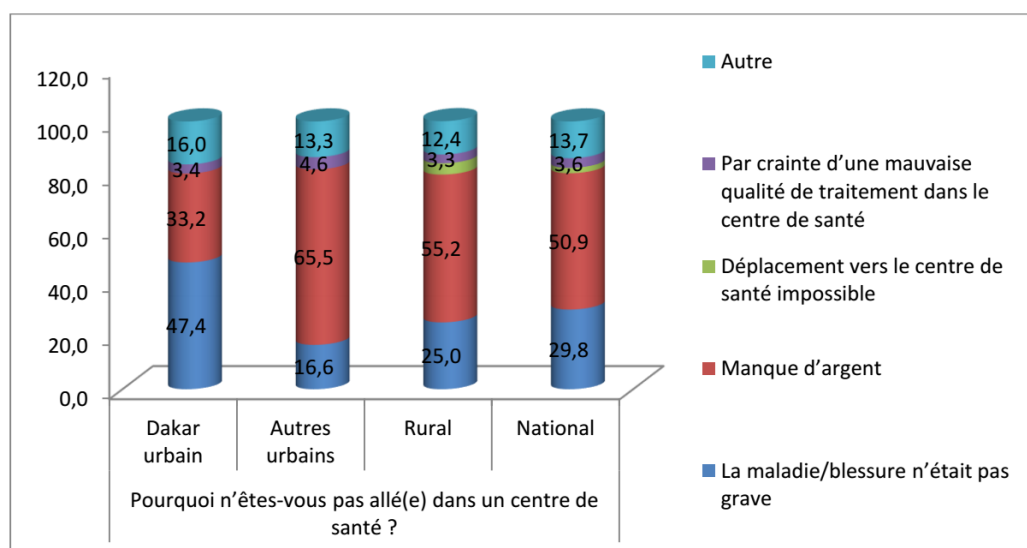


Figure 20 : Répartition des Établissements Publics de Santé (EPS) hospitaliers au Sénégal

En plus des longues distances qui séparent les établissements de santé dans certaines régions, le système de santé sénégalais est marqué par la mauvaise répartition des ressources humaines en santé qualifiées [186]. En 2020, au niveau national, 68% des spécialistes étaient concentrés dans la région de Dakar, 8% à Thiès, 5% dans chacune des régions de Ziguinchor et Diourbel. Les 14% restants sont répartis entre les dix autres régions de la façon suivante : Saint Louis 4%, Tambacounda et Kaolack 2%, Matam, Kolda, Louga, Kédougou, Kaffrine et Fatick 1%, Sédhiou moins de 1% [173,174].

Dans le cadre des orientations stratégiques de sa politique sanitaire, le Sénégal a déjà entrepris des réformes du secteur pharmaceutique pour assurer l'accès à tous aux médicaments essentiels de qualité et à moindre coût. L'objectif est d'assurer une disponibilité, une accessibilité et une utilisation rationnelle des médicaments dans les secteurs public et privé [184].

Du point de vue de la protection sociale, le Sénégal a un niveau de couverture faible. Le filet de protection sociale est peu réactif et de faible envergure lors des crises. Les systèmes formels d'assurance maladie n'offrent l'opportunité de couverture du risque maladie qu'aux familles sénégalaises dont le chef de famille est employé dans le secteur formel, public ou privé. Ce dispositif ne prend en compte que 20% de la population et délaisse la majorité des Sénégalais employés dans les secteurs ruraux et informels. Cette situation a amené l'État à mettre en place le programme de Couverture Maladie Universelle (CMU) pour permettre, à travers la mutualisation, de garantir l'accès de la population à un paquet minimum de soins. Mais l'application de ce programme dans tout le pays reste timide [173,187,188]. De ce fait, plus de la moitié de la population ne fréquente pas les structures de santé par manque de moyens. Pour se soigner, les populations ont recours très souvent soit à l'automédication, soit aux remèdes traditionnels. C'est ce que montre cette étude réalisée par l'Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), sur 1 255 ménages (**Figure 21** et **Tableau 7**) [173].



Source : ANSD. Enquête téléphonique Santé_L2S, Décembre 2016 –janvier 2018

Figure 21 : Raisons, selon la zone de résidence, pour lesquelles les personnes enquêtées ne vont pas dans un centre de santé (%)

Tableau 7 : Répartition des types de consultations selon la zone de résidence

Qu'avez-vous fait pour soulager la maladie/blessure ?	Zone de résidence			
	Dakar urbain	Autres urbains	Rural	National
J'ai consulté un établissement public de santé	30,8	41,3	47,1	41,4
Rien (aucune consultation)	15,2	11,4	14,9	14,2
Je suis allé (e) dans une pharmacie	15,4	12,5	8,0	11,0
J'ai utilisé des remèdes que je connais	6,2	12,3	10,3	9,6
J'ai consulté un guérisseur traditionnel	1,9	4,3	8,3	5,7
J'ai utilisé les médicaments présents au domicile	9,5	6,5	2,8	5,5
J'ai consulté un centre de santé privé/ONG	5,8	3,8	1,9	3,4
J'ai utilisé des médicaments donnés par un ami, un parent ou un voisin	5,9	3,6	1,8	3,3
Autre	6,5	1,7	1,3	2,8
Je suis allé (e) dans une épicerie locale pour trouver des médicaments	1,8	0,7	2,6	1,9
J'ai consulté une église/mission	0,8	1,1	0,8	0,9
J'ai consulté un guérisseur spirituel	0,3	0,8	0,3	0,4
Total	100	100	100	100
Total automédication	21,6	22,4	14,9	18,4

Source : ANSD. Enquête téléphonique Santé_L2S, Décembre 2016 –janvier 2018

IV.3. Thérapie par les plantes

Au Sénégal, comme partout en Afrique, plus de 80 % de la population a eu recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire [189]. Les facteurs influençant l'utilisation des plantes médicinales en Afrique [190] sont :

- Le manque de médicaments essentiels
- Le coût élevé des médicaments
- La croyance des ruraux et de leurs cultures indigènes
- Une perception que les médicaments à base de plantes sont naturels et sûrs
- Accessibilité et rentabilité
- Efficacité supérieure des plantes médicinales
- Confidentialité des informations sur les problèmes de santé
- Automédication
- Peur d'un diagnostic erroné
- Longue période d'attente et file d'attente pour consulter un médecin
- Publicité sur les produits à base de plantes

Dans la plupart des marchés et artères de Dakar, nous trouvons plusieurs points de vente de plantes médicinales (**Figure 22**). À Keur Massar (département de la région de Dakar) est implanté un hôpital traditionnel par le Dr Yvette Pares, Docteur en Biologie et en Médecine, Chercheur au CNRS, et enseignante à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD) de 1960 à 1992 (**Figure 23**).

De nombreuses plantes médicinales sont utilisées soit directement par les populations locales ou administrées par les tradipraticiens après une consultation. C'est le cas du *Guiera senegalensis* J.F. Gmel., *Combretum glutinosum* Perr. ex DC., *Senna occidentalis* (L.) Link, *Khaya senegalensis* (Desr.) A. Juss....[16,191,192].



Figure 22 : Produits de la médecine traditionnelle sur un marché à Dakar



Figure 23 : Produits de plantes médicinales de l'hôpital traditionnel de Keur Massar (Dakar)

IV.4. Médicaments à base de plantes (MTA) et réglementation

Les médicaments traditionnels améliorés (MTA) sont les médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle locale, à limites de toxicité déterminées, à activité pharmacologique confirmée par la recherche scientifique, à dosage quantifié et à qualité contrôlée [192].

Au Sénégal, cinq tisanes préparées à la Faculté de Médecine et de Pharmacie et distribuées par ENDA (Environnement, Développement et Action dans le Tiers Monde), sont en vente dans certaines officines pharmaceutiques : Mbaltisane, antidiarrhéique à base d'*Euphorbia hirta* L. ; Laxatisane, laxatif (feuilles de *Senna italica* Mill. = *Cassia italica* Mill.

(Mill.) Spreng) ; Mbanta poudre, antispasmodique (*Senna occidentalis* (L.) Link = *Cassia occidentalis* L.) ; Bakis poudre, hépatoprotecteur (racine de *Tinospora bakis* (A. Rich.) Miers.) ; Nguertisane, et Elooko, tisane et sirop antitussifs (feuilles de *Guiera senegalensis* J.F. Gmel.) [16,191,192].

La médecine traditionnelle constitue pour la majorité de la population sénégalaise une offre de premier recours en matière de soins. Or, elle fait encore l'objet de stigmatisation de la part des élites dirigeantes, depuis son interdiction par la loi n° 66-069 du 4 juillet 1966 relative à l'exercice de la médecine et à l'Ordre des médecins. Cependant, le 31 mai 2017, un projet de loi relatif à l'exercice de la médecine traditionnelle au Sénégal a été finalement adopté en Conseil des Ministres, avant d'être voté à l'Assemblée Nationale [193,194].

Ce retard dans la promotion et la valorisation de la médecine traditionnelle a fait du Sénégal le dernier de la classe dans la sous-région (Afrique de l'Ouest) pour ce qui est de la mise en place d'un cadre légal d'exercice de la médecine traditionnelle [193].

IV.5. Réglementation sur l'accès aux ressources génétiques

La Convention sur la Diversité biologique (CDB) est le premier accord mondial sur la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité adopté lors du Sommet de la Terre organisé à Rio de Janeiro au Brésil en 1992 [195]. Elle est entrée en vigueur le 29 décembre 1993. Le Protocole de Nagoya sur l'accès aux ressources génétiques et le partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation a été adopté par la Conférence des Parties à la Convention sur la diversité biologique lors de sa dixième réunion le 29 octobre 2010 à Nagoya, au Japon. Le Protocole est entré en vigueur le 12 octobre 2014 (<https://absch.cbd.int/countries/status/party>).

À la suite de la ratification de la CDB le 17 octobre 1994, le Sénégal a signé le 26 janvier 2012 et a ratifié le 03 mars 2016 le Protocole de Nagoya (<https://www.cbd.int/abs/nagoya-protocol/signatories/>). Il a élaboré et validé sa première stratégie d'Accès et de Partage des Avantages (APA) en 2013. Cette dernière est toujours en cours d'actualisation et sera assortie d'un plan d'action pour permettre l'application du Protocole de Nagoya ([Country Profiles \(cbd.int\)](https://countryprofiles.cbd.int)).

IV.6. Affections de la sphère ORL et leur prévalence au Sénégal

Les atteintes de la sphère ORL (Oto-Rhino-Laryngée) représentent l'ensemble des affections qui affectent le nez, la gorge, les oreilles. Ces dernières peuvent être provoquées par des virus, des bactéries, des parasites ou encore des allergènes et constituent l'un des principaux

motifs de consultations chez le médecin ou, le cas échéant, chez l'oto-rhino-laryngologiste (ORL). En effet, les traitements varient considérablement en fonction de la typologie du trouble, mais également de l'âge du patient [196,197]. Les principaux troubles ORL sont les suivants :

- Les maladies du nez : rhume, rhinite, sinusite, rhino-pharyngite, hypersécrétion nasale, congestion nasale, coryza spasmodique, polypose nasosinusienne... ;
- les maladies des oreilles : otite interne, otite externe, otite moyenne, labyrinthite, mastoïdite, myringite, bouchon de cérumen... ;
- les maladies de la gorge : angine, pharyngite, amygdalite, aphonie, enrouement... ;
- les troubles de l'audition : acouphènes, surdité, otorrhée purulente, otalgie, baisse de l'acuité auditive... ; et
- les troubles des voies aériennes supérieures : infections respiratoires aiguës basses, bronchites...

Au Sénégal, les affections de la sphère ORL constituent un véritable problème de santé pour les populations. Cependant, il y a un manque considérable de données sur les maladies ORL dans le pays. Seules les données de deux études sont disponibles.

La plus importante étude a été réalisée au niveau de 29 districts sanitaires de Dakar de 2011 à 2016 et portait sur tous les individus venus en consultation pour une symptomatologie respiratoire. Durant les six années, 342 203 patients avaient consulté pour une symptomatologie respiratoire. La bronchite aiguë représentait 42,49 % (n = 145 402) des motifs de consultations, 15,08 % des patients (n = 51 611) avaient une bronchite chronique, 14,10 % (n = 48 237) avaient une infection respiratoire aiguë basse non transmissible. L'angine était retrouvée chez 12,35 % (n = 42 257) des patients ; 9,01 % (n = 30 834) avaient consulté pour une crise d'asthme et 6,97 % (n = 23 862) présentaient d'autres affections de la sphère ORL telles que la sinusite ou la rhinite [198].

La deuxième, est une étude descriptive rétrospective impliquant la revue du dossier médical des patients âgés de 0 à 16 ans ayant présenté des pathologies ORL d'avril 2011 à mai 2013. Il ressort de cette étude que sur 1 329 patients, les troubles nasaux (54,6%) se sont avérés être le groupe le plus fréquent, suivis des troubles de l'oreille (22,8%) et du thorax (22,7%) [199].

Ces affections peuvent être à l'origine de complications locorégionales et générales graves qui nécessitent une prise en charge diagnostique et thérapeutique rapide. Les traitements sont souvent à base de corticoïdes oraux et inhalés, d'antihistaminiques, de bêta-2 mimétiques de courte et longue durée d'action et d'antibiotiques [185].

IV.7. Phytothérapie anti-infectieuse de la médecine traditionnelle sénégalaise

Les infections d'origine microbienne sont la principale cause de mortalité dans le monde. Le manque de médicaments modernes et les faibles moyens financiers en Afrique poussent les populations locales à recourir aux plantes médicinales pour soigner les nombreuses maladies infectieuses [200]. Au Sénégal, certaines plantes médicinales sont utilisées comme médicaments anti-infectieux. Cependant, en allant du Nord au Sud, les diversités ethniques, culturelles et la variété de la végétation font qu'aucune plante n'est utilisée de la même façon et pour une maladie particulière. C'est pourquoi il est difficile voire impossible de donner une liste de plantes médicinales faisant l'unanimité. En outre, il manque des données scientifiques approfondies concernant les propriétés anti-infectieuses des plantes médicinales sénégalaises. Toutefois, quelques études non approfondies portant sur un screening d'une cinquantaine de plantes médicinales utilisées pour le traitement des maladies infectieuses ont été réalisées chez les Diola-boulouf (ethnie) de la Basse Casamance (région de Ziguinchor, Sud du Sénégal). L'activité antibactérienne d'une dizaine de plantes a été confirmée principalement sur certaines bactéries à Gram-positif. Il s'agit de : *Adansonia digitata* L., *Azadirachta indica* A.Juss., *Carica papaya* L., *Senna tora* (L.) Roxb. (= *Cassia tora* L.), *Fagara leprieurii* (Guil. & Perr.) Engl., *Guiera senegalensis* J.F. Gmel., *Khaya senegalensis* (Desr.) A.Juss., *Mangifera indica* L., *Psidium guajava* L. et *Voacanga africana* Stapf [16,17,201]. Ailleurs dans le pays, principalement chez les peuls, *Spermacoce verticillata* L. (syn. *Borreria verticillata* (L.) G. F. W. Mey.) est utilisée pour le traitement des infections de la peau et de la lèpre [202]. Récemment, Diop et al. (2018) ont mené une étude sur *Mycobacterium marinum* d'une douzaine de plantes sénégalaises utilisées dans le traitement de la tuberculose. Parmi les plantes citées par leurs informateurs, figuraient *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (41,4%), *Sterculia setigera* Delile. (2,9 %), *Ficus thonningii* Blume (10 %) et *Pterocarpus erinaceus* Poir. (14,3%). Parmi les extraits aqueux analysés, seuls *Combretum aculeatum* (Combretaceae) et *Guiera senegalensis* (Combretaceae) ont présenté des activités antimycobactériennes [203]. En outre, diverses plantes dont *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler et *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. sont également utilisées contre différentes infections parasitaires [204–206].

IV.8. Exemples de plantes anti-infectieuses de la pharmacopée sénégalaise

D'après les résultats obtenus et présentés dans la deuxième partie du manuscrit, nous avons choisi d'étudier les espèces *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler et *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr..

IV.8.1. Présentation de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae)

IV.8.1.1. Description botanique de la plante et distribution géographique

Le genre *Zanthoxylum* L. (famille des Rutaceae) est représenté par 232 espèces acceptées à travers le monde [207]. Il est constitué d'arbres et d'arbustes distribués entre les régions tropicales et tempérées. En Afrique, ce genre est représenté par 35 espèces principalement réparties dans les pays de l'Afrique de l'ouest : Sénégal, Gambie, Guinée-Bissau, Guinée, Mali, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ghana, Bénin, Togo, Nigéria et Cameroun [208–210]. Les espèces du genre *Zanthoxylum* sont largement utilisées en médecine traditionnelle en décoction ou en infusion soit seule, soit en combinaison avec d'autres plantes dans le traitement de nombreuses maladies de divers types, en particulier celles causées par les parasites (malaria, trypanosomiase, leishmaniose...), les bactéries, les pathogènes fongiques, certains virus, mais aussi la drépanocytose ou certaines tumeurs [210–213]. Au Sénégal, il existe trois espèces du genre *Zanthoxylum* L. : *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler ; *Zanthoxylum rubescens* Planch. ex Hook. et *Zanthoxylum leprieurii* Guill. & Perr. [214]. L'espèce *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler est de loin la plus connue et la plus utilisée en médecine traditionnelle sénégalaise [192,215].

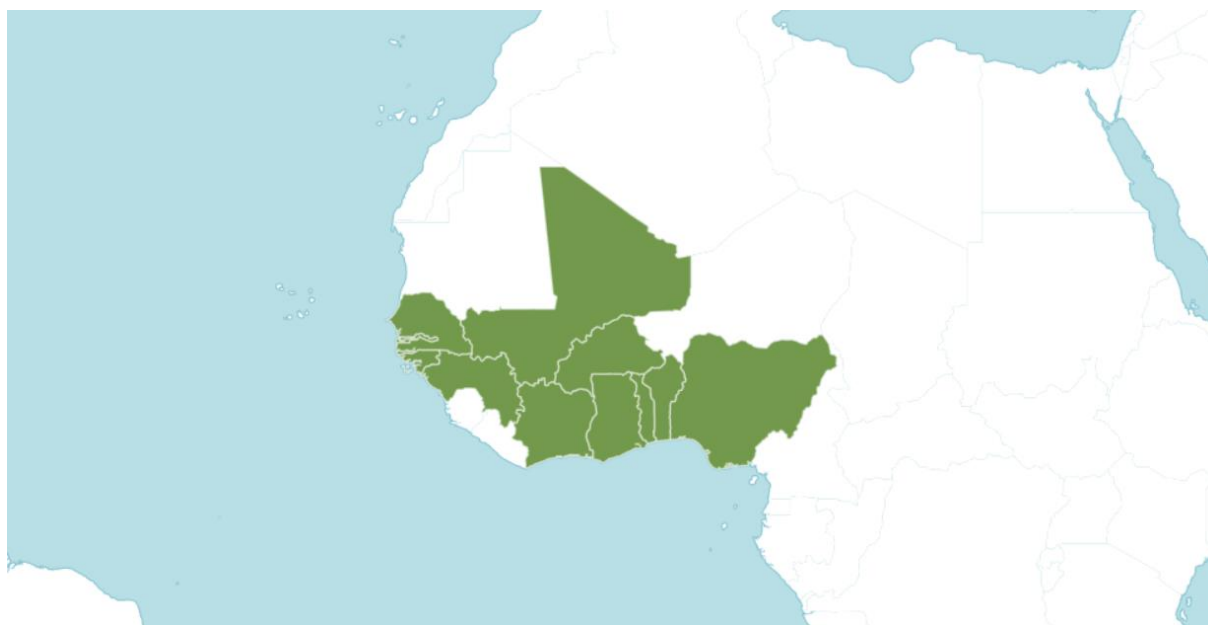


Figure 24 : Distribution géographique de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler [216]



Figure 25 : Images de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler (Ba, 2022)

Règne : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : *Zanthoxylum* L.

Espèce : *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler

Synonymes : *Fagara senegalensis* (DC.) A.Chev. ; *Fagara zanthoxyloides* Lam. ; *Zanthoxylum polygamum* Schumach. ; *Zanthoxylum senegalense* DC.

Noms vernaculaires au Sénégal :

Wolof : *guene gui deg, denguidek, génidek, génégidek, nden* ; **Peul** : *barkedey, bulébarkelé* ;

Sérère : *niom, inok*

Zanthoxylum zanthoxyloides est un arbuste sarmenteux, ou petit arbre glabre de 6 à 7 m de haut, ramifié près de la base ; portant des branches avec de nombreuses épines crochues et robustes. Tous les organes dégagent quand on les froisse une odeur très aromatique poivrée citronnée. Les feuilles sont alternes, composées imparipennées ; le rachis mesure de 10 à 15 cm, épineux dessous, avec trois à cinq paires de folioles dont la nervure médiane est également souvent épineuse à la face inférieure ; les folioles sont ovales, elliptiques, plus ou moins cunées à la base, obtuses et courtement acuminées au sommet, entières ou très finement crénelées sur les bords ; nombreuses cellules translucides. Les fleurs sont blanches, parfumées et les fruits sont ellipsoïdes d'environ 6 mm de diamètre. Très commun dans les taillis de la Casamance maritime, il suit les secteurs côtiers dans les sols frais, jusqu'aux environs de Dakar, près des Niayes [192,209,214].

IV.8.1.2. Utilisations en médecine traditionnelle

Z. zanthoxyloides est considéré partout où il se trouve au Sénégal comme un parasiticide polyvalent interne et externe d'une activité indéniable. Les wolofs font grand usage des feuilles et racines pour les entérites, les dysenteries, les diarrhées profuses, les vers intestinaux, les urétrites... En usage externe, les préparations de racines sont très utilisées pour les ulcères phagédéniques, le pian, les plaies suppurantes, les morsures de serpents. L'écorce de la racine, à saveur piquante, est nettement sialogogue et fréquemment prescrite comme anti-odontalgique. Les racines, après avoir été fractionnées et plus ou moins froissées, sont utilisées en aromathérapie contre les migraines et les névralgies selon diverses modalités (applications sur la tête ou le front, répartition sur la couche du malade, etc.). La racine et/ou les écorces sont employées contre les infections. La plante est aussi un remède confirmé contre la drépanocytose, maladie très répandue en Afrique noire [15,192,208,217].

IV.8.1.3. Constituants chimiques de *Z. zanthoxyloides* et activités biologiques

Généralement, les métabolites spécialisés sont des composés non nutritifs synthétisés par la plante pour se défendre et s'adapter aux facteurs biotiques et abiotiques externes. De nombreuses classes de composés phytochimiques ont été détectées dans l'espèce *Z. zanthoxyloides* comme des flavonoïdes, des terpènes incluant des sesquiterpènes, des coumarines, des acides phénoliques, des acides gras, des amides et des alcaloïdes [213,218–222]. Les alcaloïdes de type benzophénanthridine et quinoléiques, les amides et les acides vanilloylquiniques sont les familles de composés les plus décrites de la plante [213,218,219,222–224]. Une centaine de composés ont été isolés et/ou identifiés à partir des feuilles, des fruits, des racines et écorces de racines et de tronc de *Z. zanthoxyloides* [225]. Ces composés sont très communs aux autres espèces de la famille botanique. Les plus connus sont les alcaloïdes de type benzophénanthridine tels que la fagaronine, la chélérythrine, la dihydrochélérythrine et la skimmianine [222,224]. La plante est très riche en amides polyinsaturés parfois majoritaires dans les extraits apolaires [219]. Plus de 5000 composés sont actuellement connus dans le genre *Zanthoxylum* (232 espèces) et la composition chimique de ses espèces est très similaire surtout pour les alcaloïdes de type benzophénanthridine et les amides polyinsaturés. Nous présentons aux **Figures 25, 26 et 27** certains des composés isolés et/ou identifiés de différentes parties de *Z. zanthoxyloides* [25].

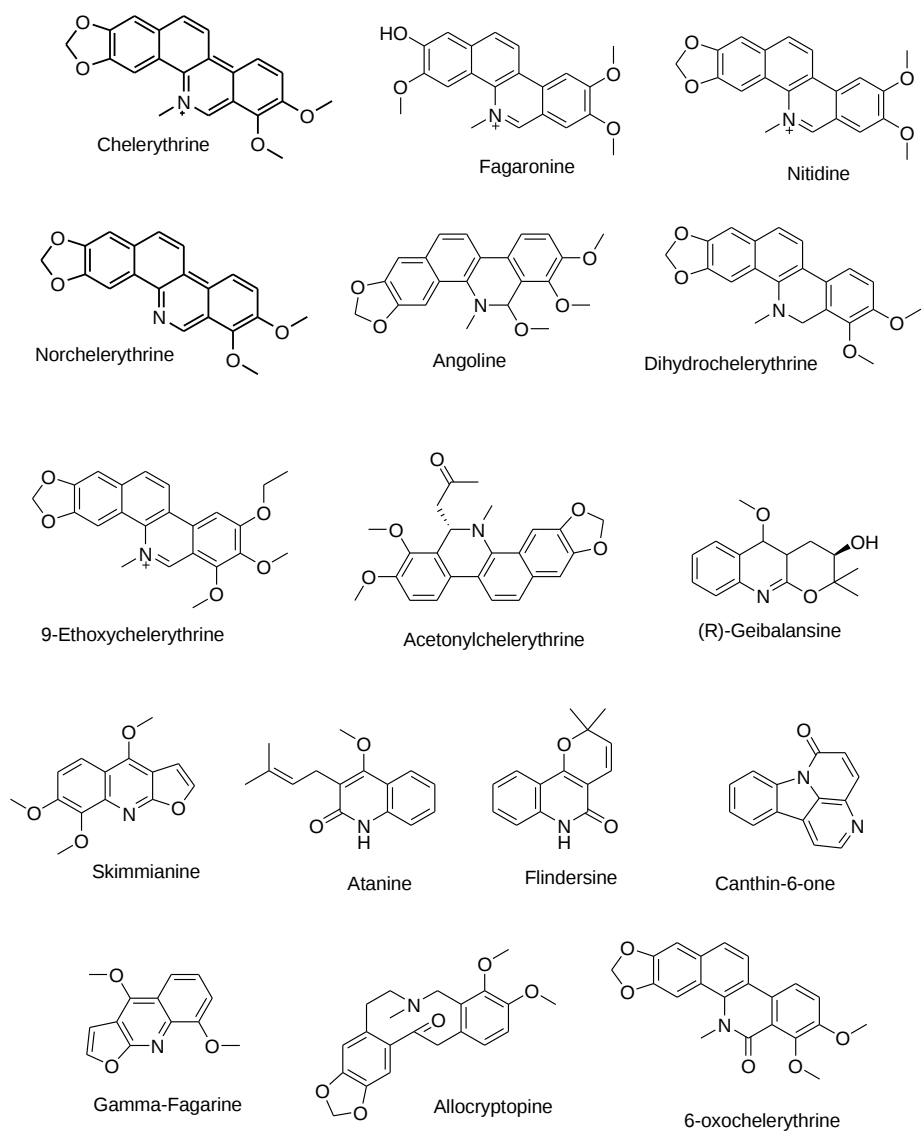


Figure 26 : Quelques alcaloïdes isolés ou identifiés de différentes parties de *Z. zanthoxyloides*

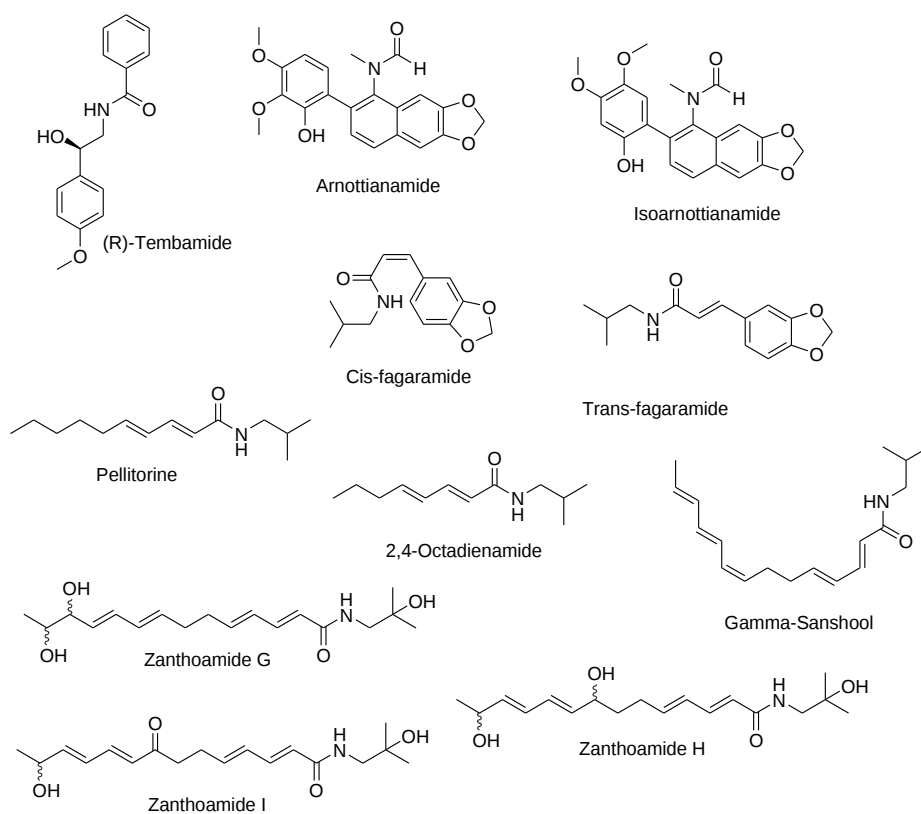


Figure 27 : Quelques amides isolés ou identifiés de différentes parties de *Z. zanthoxyloides*

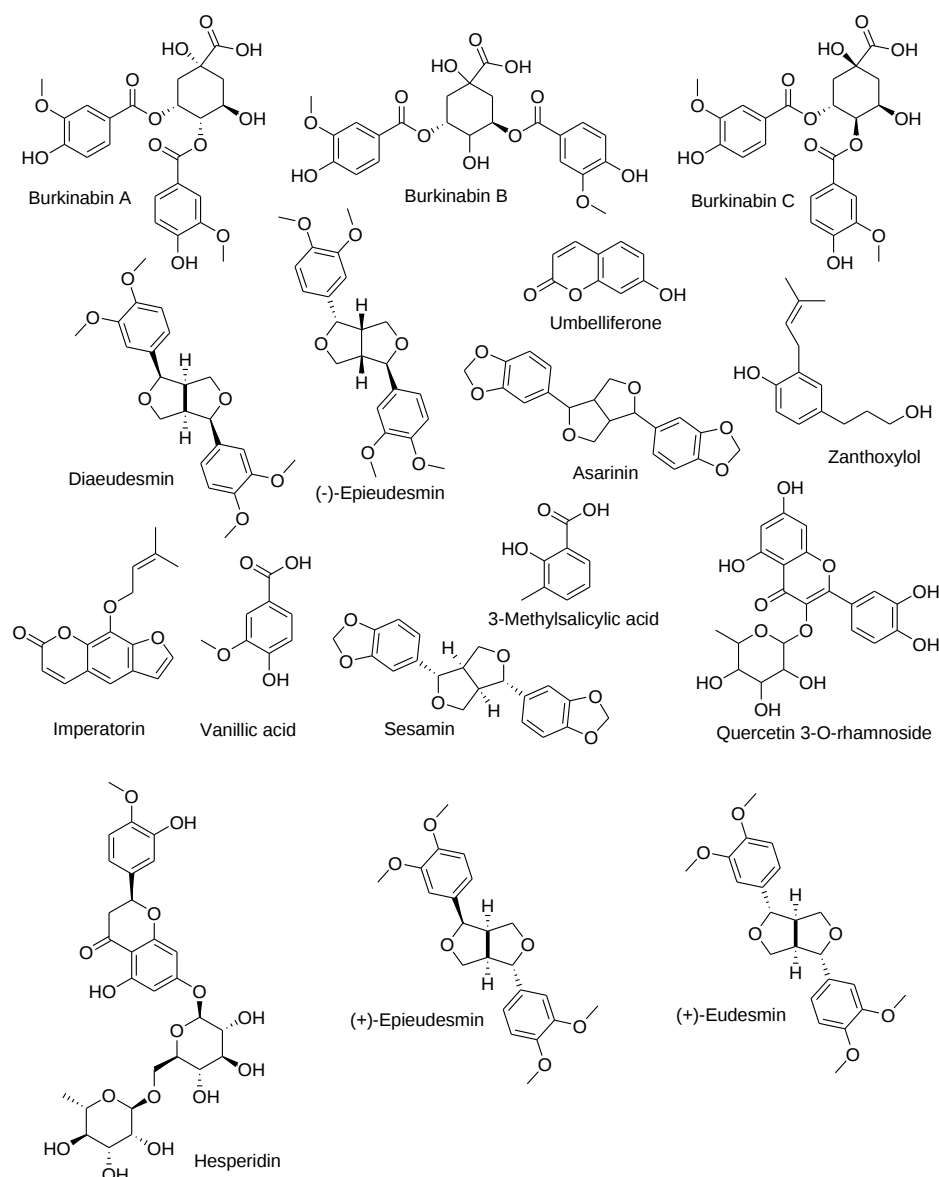


Figure 28 : Autres composés isolés ou identifiés de différentes parties de *Z. zanthoxyloides*

Les activités biologiques de certains composés issus de *Z. zanthoxyloides* ont été très longtemps investiguées. C'est le cas de la fagaronine qui est une molécule antitumorale, antileucémique et différenciante, ainsi qu'un inhibiteur, *in vitro*, des topoisomérases I et II de l'ADN [223,226,227]. La chélérythrine est un agent antibactérien et antinéoplasique mais aussi un inhibiteur spécifique de la protéine kinase C [228,229]. La dihydrochélérythrine est connue comme ayant des propriétés antimicrobiennes au sens large [229]. Dofuor et *al.* [224] ont montré des activités antitrypanosomales de la skimmianine ($CI_{50} = 1,7 \mu M$) et de l'acide oxylipine 9-oxo-10,12-octadécadiénoïque ($CI_{50} = 1,2 \mu M$) isolés des racines de *Z. zanthoxyloides* contre *Trypanosoma brucei brucei*. De plus, de nombreuses études ont déjà décrit les effets de l'extrait de racines et écorces de racines de *Z. zanthoxyloides* sur les érythrocytes drépanocytaires. Les

composés responsables de l'effet antifalcémiant ont été identifiés comme étant des dérivés de l'acide benzoïque principalement les burkinabin A, B et C [218,230]. Des isobutylamides antifongiques et antioxydants et des alcaloïdes cytotoxiques de type benzophénanthridine ont été identifiés dans les racines [213,231,232]. Dans le **Tableau 8**, nous présentons les molécules les plus étudiées avec leurs activités biologiques décrites dans la littérature.

Tableau 8 : Quelques composés isolés de différentes parties de *Z. zanthoxyloides* et leurs activités biologiques *in vitro* étudiées

Composés isolés	Activités biologiques	Parties de la plante	Réf.
N,N-dimethylindiacarpine	Antioxydante	Ecorces de racines	[219]
1,8-di-O-(3-methoxy-4-hydrobenzoyl)-3,6-dihydroxycyclooctane-2,7-endoperoxide	Antioxydante	Ecorces de racines	
Fagaronine	Antioxydante, antitumorale	Ecorces de racines	
Norchelerythrine	Antioxydante	Ecorces de racines	
Trans-fagaramide	Antioxydante	Ecorces de racines	
8-acetonyldihydrochelerythrine	Antioxydante	Ecorces de racines	
N-isobutyl-(2E,4Z)-octa-2,4-dienamide, N-isobutyl-(2E,4Z)-deca-2,4- dienamide	Antioxydante	Ecorces de racines	[230]
Burkinabin A	Antioxydante	Racines	
Burkinabin B	Antioxydante	Racines	
Burkinabin C	Antioxydante	Racines	[210]
Skimmianine	Antioxydante et chimiopréventive	Fruits	
Myrtopside	Antioxydante	Fruits	
Ribalinine	Antioxydante	Fruits	[233]
(-)-R-Geilbalansine	Antispasmodique	Ecorces de racines	
Hyemaline	Antispasmodique	Ecorces de racines	
O-Methylbalsamide	Antispasmodique	Ecorces de racines	
Zanthoxyline	Antispasmodique	Ecorces de racines	[234]
Quercitrin	Anti-inflammatoire	Feuilles	
Datiscine	Antioxydante	Racines et feuilles	
Neohesperidin	Antioxydante	Racines et écorces de tronc	
Eriocitrine	Antioxydante	Fruits	

Tableau 8 : (suite)

Composés isolés	Activités biologiques	Parties de la plante	Réf.
Hyperoside	Antioxydante	Racines et écorces de tronc	[210]
Hesperidin	Antioxydante	Racines et écorces de tronc	
Quercetin	Chimiopréventive	Feuilles	
Quercetin-3-O-glucopyranoside	Antioxydante et chimiopréventive	Feuilles	
Hesperetin	Antioxydante	Fruits	
Germacrene D	Antioxydante	Racines et écorces de tronc	[220]
Methylbutyloxy-2- phenylethanol	Antioxydante	Ecorces de racines	[219]
(+)-Sesamin	Antioxydante et chimiopréventive	Fruits	[213]
Zanthoamide G	Antioxydante	Fruits	
Zanthoamide H	Antioxydante	Fruits	
Zanthoamide I	Antioxydante	Fruits	
(R)-tembamide	Antispasmodique	Ecorces de tronc	
O-methyltembamide	Antispasmodique	Ecorces de tronc	[235]
4'-(3''-methylbut-2''-enyloxy)-3-phenylpropanol	Antioxydante	Ecorces de racines	[236]
Cuspidiol	Antioxydante	Ecorces de racines	
Dihydrocuspidiol	Antioxydante	Ecorces de racines	
Cafeic acid	Antioxydante	Ecorces de tronc	
Chlorogenic acid	Antioxydante	Ecorces de tronc	
Hydrocuspidiol	Antioxydante	Ecorces de racines	[219]
Acide hexadécanoïque	Antioxydante	Racines et écorces de racines	[210]
Atanine (dérivé de l'alanine)	Antioxydante	Fruits	
Isoplatydesmine	Antioxydante	Fruits	
N-methylatanine	Antioxydante	Fruits	
Decanal	Antioxydante	Racines et écorces de racines	[219]
furoquinoline 4, 7, 8-triméthoxyfuro (2, 3-b) quinoline (skimmianine)	Antitrypanosomale / antioxydante	Racines	[224]
Oxylipine 9-oxo-10, 12-octadécadiénoïque acid	antitrypanosomale/ antioxydante	Racines	

NB : Dans les tableaux ci-dessus, les noms des molécules sont laissés selon leur dénomination dans la littérature.

IV.8.2. Présentation de *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. (Combretaceae)

IV.8.2.1. Description de la plante et répartition géographique

Le genre *Terminalia* L. (Combretaceae) est répandu dans toutes les régions tropicales et subtropicales avec 279 espèces acceptées [237]. Plus de 50 espèces sont utilisées dans l'alimentation par les populations. En Afrique, il existe environ 30 espèces indigènes. Les

espèces africaines vont de la forêt tropicale à la brousse semi-désertique, avec 11 espèces indigènes en Afrique tropicale occidentale [238]. Au Sénégal, il existe sept espèces de *Terminalia* dont la plus importante est *Terminalia avicennioides* pour son utilisation médicinale [15].



Figure 29 : Distribution géographique de *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. [239]



Figure 30 : Images de *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. [240,241]

Règne : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Combretaceae

Genre : *Terminalia* L.

Espèce : *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr.

Synonymes : *Terminalia dictyoneura* Diels ; *Terminalia lecardii* Engl. & Diels

Noms vernaculaires au Sénégal :

Wolof : *reub reub* ; **Peul :** *poulémi, poulémé* ; **Sérère :** *mbulèm*

Terminalia avicennioides est un arbuste ou petit arbre haut de 3 à 10 m. L' écorce des rameaux est fibreuse, les feuilles matures sont étroitement lancéolées le plus souvent de 11–19,5 × 3,5–6 cm, glabres et souvent luisantes, glabrescentes ou duveteux formant un indumentum tomenteux lâchement velouté, qui est blanc à brun pâle lorsqu'il est frais, séchant brunâtre pâle à brun. Le réceptacle est toujours densément tomenteux, les lobes du calice sont subaigus et le style est pileux. Les fruits sont toujours moins de 3 fois plus longs que larges, 5,5–8 × 2,5–3,5 cm, densément veloutineux-tomenteux, mais l'indumentum s'efface facilement. Ce petit arbre est fréquent, au Sénégal, dans la savane boisée, souvent en compagnie du *Terminalia macroptera*. Il est disséminé irrégulièrement dans les diverses savanes boisées depuis la Casamance jusqu'au fleuve Sénégal [15,238].

IV.8.2.2. Utilisations en médecine traditionnelle

D'après les populations locales, *Terminalia avicennioides* posséderait de nombreuses propriétés thérapeutiques telles que : antibactériennes, cicatrisantes, anti-inflammatoires et hémostatiques. Les feuilles, les racines et écorces de racines de *T. avicennioides* sont utilisées contre les plaies, la carie dentaire, la lèpre, la syphilis, la toux, la diarrhée infantile, la malaria, la dysenterie, les brûlures, l'ecchymose, l'amibiase, l'œdème, l'ulcère phagédénique, la gastralgie, l'ictère, l'avitaminose, la colique, les ankylostomes, le diabète ... Pour les Socés du Niombato, c'est un grand fétiche de maladies et il n'est pas de bonne préparation médicinale sans l'addition de sept feuilles de *T. avicennioides* [15,192].

IV.8.2.3. Étude phytochimique et activités biologiques réalisées sur *T. avicennioides*

Des screening phytochimiques menés sur les racines et les écorces de *T. avicennioides* ont montré la présence de phénols, de flavonoïdes, de terpènes, de tanins, de saponosides, d'acides phénoliques et de stérols [242–244].

Shuaibu et *al.* ont identifié et isolé à partir de la fraction butanolique de l'écorce de tronc de *T. avicennioides* divers composés : des tanins hydrolysables, y compris l'acide ellagique rhamnoside, la punicalagine, l'acide flavogallonique bislactone, l'acide ellagique et la terchébuline (**Figure 31**). La plage d'activité trypanocide de ces composés est : 7,5 < CMI < 91,0 µM [245].

Mann et *al.* ont pu isoler à partir de l'extrait hexanique d'écorces de racines de *T. avicennioides*, trois triterpènes : l'acide arjunolique, la bêta-amyrine et le 2,3,23-trihydroxyolean-12-ène (**Figure 31**). Leur activité antimycobactérienne a été évaluée et seul l'acide arjulonique a montré une activité avec une CMI de 156 µg/mL. Le triterpène nommé

friedelane, isolé de l'extrait éther de pétrole d'écorces de racines de cette plante par Mann et *al.* a montré, *in vitro*, une activité antimycobactérienne sur *Bacillus Calmette Guérin* (BCG) avec une CMI de 4,9 µg/mL [243,244].

D'autres études ont montré que les racines et les écorces de racines de *T. avicennioides* possédaient des propriétés antioxydantes, hépato-protectrices, anti-tumorales, anti-convulsions et anti-malariques [246–249].

L'activité cytotoxique des écorces de racines de la plante, a été mise en évidence contre des cellules d'*Ehrlich Ascites Carcinoma* [250].

Okpoko et *al.* ont confirmé l'effet anti-inflammatoire aigu de l'extrait éthanolique d'écorces de tiges de *T. avicennioides* [251].

Sanjo et *al.* ont pu évaluer le potentiel de cicatrisation de l'extrait aqueux des feuilles de *T. avicennioides*. Ils ont remarqué l'augmentation de la résistance à la rupture des plaies dans le groupe de rats wistar traité par l'extrait aqueux des feuilles (0,35 mg/Kg, $p < 0,001$), un taux de contraction de la plaie (98%) et une période d'épithélisation précoce dans les plaies infectées par *S. aureus* et *P. aeruginosa* par rapport au groupe témoin [242]. En revanche, nous n'avons pas noté d'étude phytochimique réalisée sur les feuilles de *T. avicennioides*.

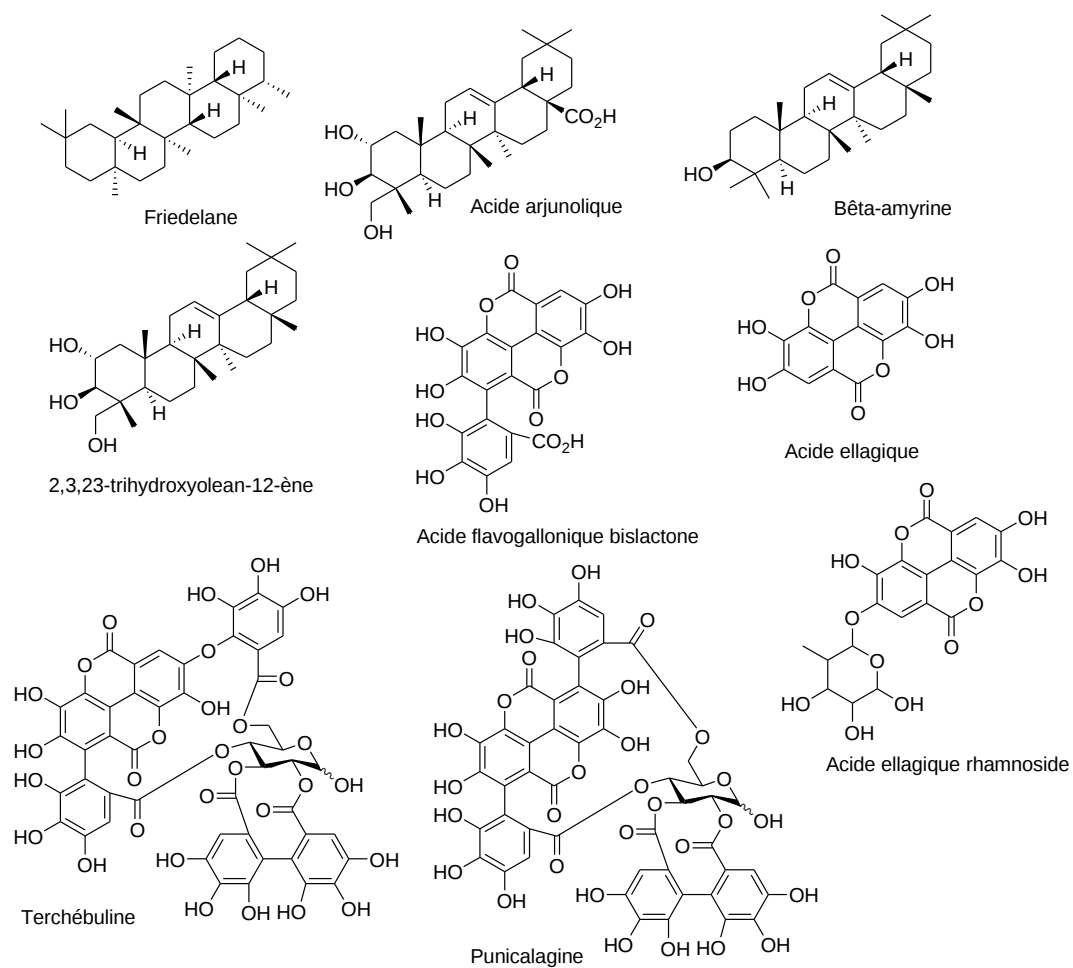


Figure 31 : Composés isolés des racines et écorces de racines de *T. avicennioides*

OBJECTIF DE LA THÈSE

Dans ce travail, nous avons combiné plusieurs compétences relevant de l'ethnobotanique, de la chimie et de la microbiologie pour l'exploration de la composition chimique et des effets pharmacologiques de plantes issues de la pharmacopée sénégalaise dans le but d'applications ultérieures. L'objectif de la thèse a été de confirmer scientifiquement les activités antimicrobiennes (antibactérienne, antivirale et antiparasitaire) de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Sénégal pour la prise en charge de pathologies infectieuses et d'identifier, par un processus bioguidé, les molécules responsables de ces activités. Cette thèse contribue ainsi à la recherche de nouvelles thérapies antimicrobiennes, centrée sur les produits naturels et leurs composants bioactifs. Deux axes principaux peuvent être mis en évidence : la valorisation des plantes utilisées en médecine traditionnelle et la caractérisation des effets biologiques des produits d'origine naturelle issus de ces plantes.

Dans un premier temps, une enquête ethnobotanique a été menée au Sénégal auprès d'herboristes, de tradipraticiens et de ménages, afin de recenser des plantes utilisées en médecine traditionnelle dans la prise en charge des pathologies infectieuses notamment celles de la sphère ORL. Ensuite, des criblages *in vitro* avec les extraits bruts méthanoliques de l'ensemble des plantes récoltées, ont été réalisés sur un panel de 36 souches bactériennes pathogènes de l'homme, sur des coronavirus humains (HCoV-229E et SARS-CoV-2) et sur des parasites protozoaires (*Trypanosoma brucei brucei* et *Leishmania mexicana mexicana*). Ces criblages ont été accompagnés de tests de cytotoxicité sur des lignées cellulaires Huh-7, Vero-81 et WI-38. Enfin, sur la base des résultats des différents criblages biologiques, deux plantes ont été sélectionnées pour la purification des composés bioactifs : *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae) pour ses propriétés antileishmaniales, antitrypanosomales et anti-coronavirus et *Terminalia avicennioides* (Combretaceae) pour ses propriétés antitrypanosomales. Ces travaux de recherche seront présentés dans trois chapitres sous forme d'articles de recherche.

Tout d'abord, dans le **chapitre 1**, nous nous sommes concentrés sur l'enquête ethnobotanique, les criblages antibactérien, antifongique et anti-coronavirus des espèces végétales sénégalaises sélectionnées à la suite de cette enquête.

Dans le **chapitre 2**, sont développées les activités antiparasitaires des plantes sénégalaises récoltées lors de l'enquête ethnobotanique et l'étude phytochimique de *T. avicennioides*.

Enfin, les recherches présentées dans le **chapitre 3**, se concentrent sur les activités antileishmaniales, antitrypanosmales et anti-coronavirus de métabolites spécialisés isolés de *Z. zanthoxyloides*, plante bien connue de la médecine traditionnelle sénégalaise pour ses propriétés anti-infectieuses, ainsi que leur élucidation structurale. Une étude déréplicative par UHPLC-UV-HRMS/MS, intégrant des réseaux moléculaires, a été parallèlement conduite sur les sous-extraits apolaires actifs.

Contribution personnelle

Cette étude est le fruit d'un long travail de réflexion, de recherche et de sélection de plantes médicinales de la flore sénégalaise. En effet, j'ai conçu le questionnaire semi-structuré et mené l'enquête ethnobotanique auprès d'herboristes et de tradipraticiens dans différents marchés de la région de Dakar et auprès de ménages dans quatre villages du département de Podor ayant un accès très limité aux infrastructures sanitaires. J'ai effectué les récoltes de la matière végétale en quantité suffisante sur différents terrains, la mise en herbier et leur dépôt à l'herbier de Dakar. J'ai réalisé toutes les étapes de préparation de la matière première (séchage, broyage, emballage, etc.) et le transport vers la France. J'ai réalisé toutes les étapes d'extractions (solide/liquide et liquide/liquide), de préparations des extraits, les dosages des polyphénols totaux et tanins. J'ai effectué toutes les étapes de préparation des échantillons (de la matière première aux molécules pures). J'ai participé à la sélection des 36 souches microbiennes. Dans cette étude, après avoir été formé dans les différents laboratoires, j'ai effectué de manière autonome toutes les expériences des tests antiparasitaires, de cytotoxicité, antibactériens et antifongique. J'ai participé aux préparations des milieux de culture, à la culture bactérienne, parasitaire et cellulaire, aux tests d'activités antibactérienne et antifongiques (Steers) incluant leur interprétation. J'ai préparé les échantillons des extraits testés contre les coronavirus par des collègues de l'Institut Pasteur de Lille et également participé au traitement des données. J'ai optimisé toutes les méthodes d'analyse en UHPLC-UV-MS, HR-MS/MS, CPC et CLHP. J'ai réalisé toutes les étapes d'extractions, de fractionnement, de purification des composés, d'analyse par RMN, IR, UV, des mesures de points de fusion, etc. J'ai réalisé tous les traitements de données de la RMN, MS, ainsi que la déréplication et la mise en réseau moléculaire par l'utilisation des outils métabolomiques tels que MZmine, GNPS, Cytoscape et des bases de données des produits naturels, etc. J'ai effectué toutes les élucidations structurales de tous les composés isolés dans cette étude.

Partie II

B. TRAVAUX PERSONNELS

« La nature fait toujours, selon les conditions dont elle dispose et autant que possible, les choses les plus belles et les meilleures. »

Aristote (env. 385-322 av. J.-C.)

Chapitre 1

I. Enquête ethnobotanique et criblages antibactérien, antifongique et anti-coronavirus (HCoV-229E et SARS-CoV-2) menés sur les extraits bruts méthanoliques des plantes sélectionnées

Résumé détaillé

Cette étude avait pour objectif de vérifier scientifiquement les activités antibactériennes, antifongiques et anti-coronavirus de plantes sénégalaises utilisées en médecine traditionnelle pour la prise en charge de pathologies infectieuses en mettant l'accent sur celles touchant les voies respiratoires supérieures et inférieures.

Tout d'abord, une enquête ethnobotanique a été menée au Sénégal, entre février et mars 2021, auprès d'herboristes, de tradipraticiens et des ménages. Au total, 127 informateurs ont participé à cette étude soit 100 hommes (78,74 %) et 27 femmes (21,26 %). Cette enquête a permis d'identifier un total de 41 espèces appartenant à 19 familles prétendument utilisées dans la prise en charge des affections de la sphère ORL. Parmi les 41 espèces végétales citées, *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (95,2%), *Combretum glutinosum* Perr. ex DC. (93,9 %) et *Eucalyptus* spp. (82,8 %) étaient les plus fréquemment mentionnées dans l'enquête. Les Combretaceae (30,2 %) représentaient la famille botanique la plus citée avec six espèces, suivie des Fabaceae (29,3 %, 12 espèces). Sur la base du nombre de citations par plante, différentes parties de 25 plantes (feuilles, racines, écorces de racines, écorces de tronc, tiges, gousses) ont été récoltées à différentes périodes de l'année entre février 2021 et décembre 2022. Après broyage, les échantillons ont fait l'objet d'une extraction solide-liquide avec du méthanol pour obtenir 33 extraits bruts.

Après l'obtention des 33 extraits bruts des plantes récoltées, leur teneur en composés phénoliques totaux et en tanins a été déterminée en utilisant la méthode spectrophotométrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les écorces (de racines et de tronc) et les gousses ont présenté les teneurs en tanins les plus élevées. Ce dosage a permis d'écarter les drogues dont l'activité antibactérienne était vraisemblablement liée à la présence de tanins et donc de discriminer les drogues sans originalité phytochimique pour leurs composés antibactériens. Nous avons ainsi mis de côté les extraits avec de fortes teneurs en tanins (teneur supérieure à 300 mg EAG/g d'extrait), en particulier les sous-extraits polaires qui étaient globalement actifs.

Les activités antibactérienne et antifongique des extraits bruts méthanoliques de tous les échantillons de plantes récoltées ont été évaluées *in vitro* sur un panel de 36 souches pathogènes

de l'homme, incluant des bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif et des levures. Ces tests ont été réalisés au sein du Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie de Lille grâce à une collaboration avec le Dr Christel Neut de l'équipe Infinite U1286. Les extraits bruts des plantes telles que *Guiera senegalensis*, *Combretum glutinosum*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (Benth.) Kyal. & Boatwr, *Eucalyptus camaldulensis*, *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. ont montré les meilleures activités antibactérienne et antifongique. Ainsi, ces extraits bruts ont par la suite fait l'objet d'un fractionnement liquide-liquide par des solvants de polarité croissante (cyclohexane-dichlorométhane-acétate d'éthyle) afin d'obtenir différents sous-extraits enrichis en métabolites spécialisés. Leurs activités antibactérienne et antifongique ont été évaluées sur les mêmes souches pathogènes. Les sous extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle des plantes telles que *T. avicennioides* (feuilles), *C. glutinosum* (feuilles), *G. senegalensis* (feuilles), *V. nilotica* (gousses), *E. camaldulensis* (feuilles) ont montré des activités élevées, avec des CMI $\leq 0,3$ mg/mL, contre certaines souches de *Staphylococcus* spp. et *Streptococcus* spp. ainsi que contre *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* et *Pseudomonas* spp. Les résultats complets des activités antibactérienne et antifongique des extraits sur les 36 souches pathogènes de l'homme sont présentés en **Annexe A**.

Les tests d'activités anti-coronavirus ont été effectués dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Dr Karin Séron au sein du Centre d'Infection et d'Immunité de Lille (CIIL, CNRS, UMR9017, INSERM U1019) localisé à l'Institut Pasteur de Lille. Les 33 extraits bruts méthanoliques ont été évalués à 25 µg/mL pour leur activité antivirale tout d'abord sur des cellules Huh-7 infectées par un coronavirus humain HCoV-229E-Luc. Avant de mener notre étude antivirale contre HCoV-229E, l'absence de cytotoxicité des extraits bruts méthanoliques sur les cellules Huh-7 a été vérifiée à l'aide d'un test MTS à 25 et à 100 µg/mL. Seules les écorces de tronc de *Piliostigma reticulatum*, *Pterocarpus erinaceus* et *Balanites aegyptiaca* ont présenté une certaine toxicité pour les cellules Huh-7 à 100 µg/mL avec une réduction significative de la viabilité cellulaire. Les résultats ont montré que 13 extraits bruts diminuaient significativement l'infection par HCoV-229E-Luc. Les extraits de plantes montrant la réduction la plus significative de l'infection virale étaient : *Vachellia seyal* (écorce de tronc), *Terminalia leiocarpa* (feuilles), *Bauhinia rufescens* Lam. (écorce de tronc et gousses), *Cochlospermum tinctorium* (racines), *Ficus sur* Forssk. (racines), *Ficus sycomorus* L. (écorce du tronc), *Guiera senegalensis* (feuilles), *Khaya senegalensis* (écorce de tronc), *Mitragyna inermis* (feuilles), *Piliostigma reticulatum* (écorce du tronc), *Pterocarpus erinaceus* (écorce du tronc) et

Spermacoce verticillata (feuilles). Quatre des extraits bruts les plus actifs, *P. erinaceus* (écorce du tronc), *M. inermis* (feuilles), *F. sycomorus* (écorce du tronc) et *S. verticillata* (feuilles), ont ensuite été sélectionnés pour étudier leur activité antivirale contre le SARS-CoV-2, à 25 et 50 µg/mL, dans des lignées cellulaires Vero-81 exprimant la protéase cellulaire TMPRSS2. Les résultats ont montré que tous les extraits réduisaient l'expression de la nucléocapside N du SARS-CoV-2 à 50 µg/mL. L'extrait brut de *M. inermis* (feuilles), s'est montré le plus actif en réduisant significativement l'infection par le SARS-CoV-2 *in vitro* (avec une expression relative de la nucléocapside N de 58,7 %).

Ces travaux ont permis de vérifier et de confirmer les propriétés antibactérienne, antifongique et antivirale de certaines plantes récoltées et traditionnellement utilisées au Sénégal. Dans l'ensemble, les espèces végétales les plus fréquemment citées ont montré les meilleures activités antibactériennes. De plus, certaines des espèces végétales sélectionnées pourraient être considérées comme une source potentielle pour la gestion des infections à coronavirus. Ces nouvelles données scientifiques confirment l'intérêt de l'utilisation de certaines plantes dans la prise en charge de pathologies infectieuses, notamment celles des voies respiratoires.

Ce **chapitre 1** sera présenté sous format d'un article de recherche publié dans *Journal of Ethnopharmacology* (<https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118070>).

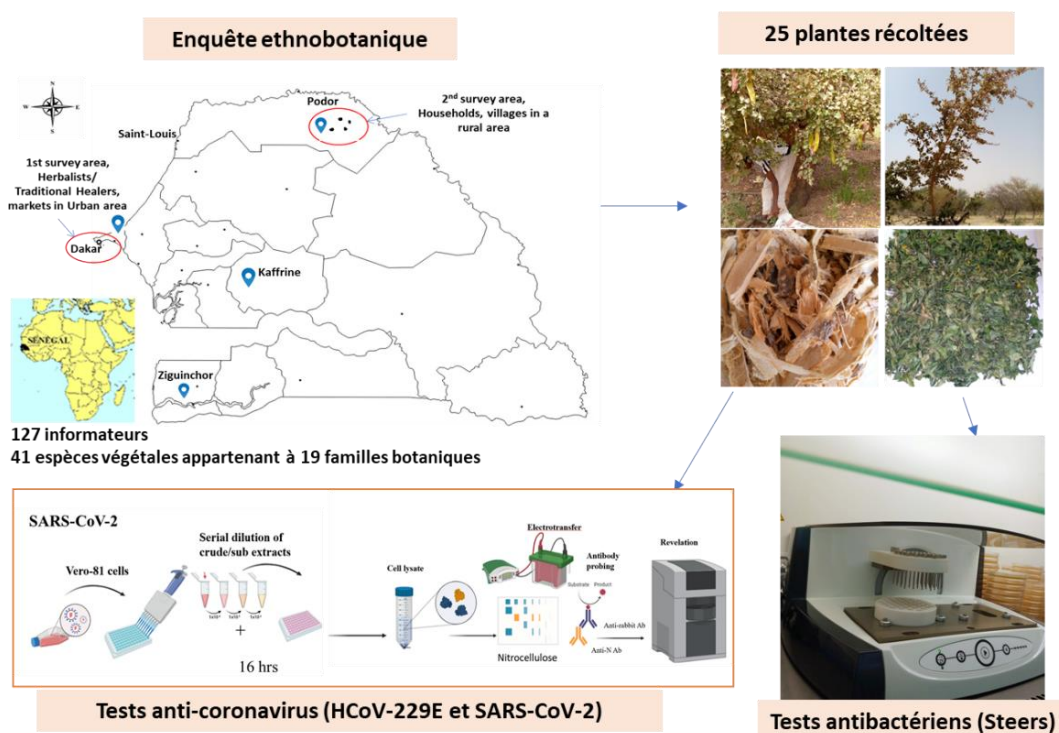


Figure 32 : Illustration graphique du chapitre 1

Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey

Abda Ba^{1,2}, Vincent Roumy¹, Malak Al Ibrahim^{1,3}, Imelda Racziewicz^{1,3}, Jennifer Samaillie¹, Asma Hakem¹, Sevser Sahpaz¹, Sandrine Belouzard³, William Diatta⁴, Mamadou Sidybé⁵, Christel Neut⁶, Karin Séron³, Matar Seck², Céline Rivière^{1,*}

Journal Pre-proof

Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey

Abda Ba, Vincent Roumy, Malak Al Ibrahim, Imelda Racziewicz, Jennifer Samaillie, Asma Hakem, Sevser Sahpaz, Sandrine Belouzard, William Diatta, Mamadou Sidybé, Christel Neut, Karin S ron, Matar Seck, Céline Riv re

PII: S0378-8741(24)00369-6

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118070>

Reference: JEP 118070

To appear in: *Journal of Ethnopharmacology*

Received Date: 23 September 2023

Revised Date: 28 February 2024

Accepted Date: 17 March 2024



Please cite this article as: Ba, A., Roumy, V., Al Ibrahim, M., Racziewicz, I., Samaillie, J., Hakem, A., Sahpaz, S., Belouzard, S., Diatta, W., Sidybé, M., Neut, C., S ron, K., Seck, M., Riv re, C ., Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey, *Journal of Ethnopharmacology* (2024), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118070>.

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

  2024 Published by Elsevier B.V.

Highlights

An ethnobotanical survey was carried out in Senegal on respiratory tract infections.

The survey led to the inventory of 41 species belonging to 19 botanical families.

The 33 methanolic extracts were evaluated for antibacterial, antiviral, and cytotoxic activities.

Some species showed promising antibacterial and antiviral activities.

One species among the 24 selected, *Mitragyna inermis*, was active against SARS-CoV-2.

Journal Pre-proof

Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey

Abda Ba^{1,2}, Vincent Roumy¹, Malak Al Ibrahim^{1,3}, Imelda Raczkiewicz^{1,3}, Jennifer Samaillie¹, Asma Hakem¹, Sevser Sahpaz¹, Sandrine Belouzard³, William Diatta⁴, Mamadou Sidybé⁵, Christel Neut⁶, Karin Séron³, Matar Seck², Céline Rivière^{1,*}

¹ Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

² Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal

³ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR9017 – Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), F-59000 Lille, France

⁴ Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal

⁵ Laboratoire de botanique et biodiversité (LBB), Département Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal

⁶ Univ. Lille, INSERM, CHU Lille, U1286 INFINITE, F-59000 Lille, France

*Corresponding author. Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Laboratory of pharmacognosy, UFR3S Pharmacy, University of Lille, 3 rue du Professeur Laguesse, 59000 Lille.

Tel. + 33 3 20 96 40 41; E-mail address: celine.riviere@univ-lille.fr (C. Rivière)

Abstract

Ethnopharmacological relevance: In Senegal, upper and lower respiratory tract infections constitute a real health problem. To manage these disorders, most people rely on the use of local medicinal plants. This is particularly the case for species belonging to the botanical families, Combretaceae, Fabaceae, Myrtaceae and Rubiaceae, which are widely used to treat various respiratory problems such as colds, flu, rhinitis, sinusitis, otitis, angina, bronchitis, bronchiolitis and also pneumonia.

Aim of the study: The aim of this study was to identify medicinal plants traditionally used for the management of infectious diseases, in particular those of the respiratory tract. On the basis of these ethnopharmacological uses, this study made it possible to highlight the antibacterial, antiviral and cytotoxic activities of selected plant species.

Materials and methods: An ethnobotanical survey was conducted in Senegal among informants, including herbalists, traditional healers, and households, using medicinal plants in the management of infectious diseases, with a focus on respiratory tract infections. The most cited plant species were evaluated *in vitro* on a panel of 18 human pathogenic bacteria may be involved in respiratory infections and against the human coronavirus HCoV-229E in Huh-7 cells. The antiviral activity of the most active extracts against HCoV-229E was also evaluated on COVID-19 causing agent, SARS-CoV-2 in Vero-81 cells. In parallel, cytotoxic activities were evaluated on Huh-7 cells.

Results: A total of 127 informants, including 100 men (78.74%) and 27 women (21.26%) participated in this study. The ethnobotanical survey led to the inventory of 41 plant species belonging to 19 botanical families used by herbalists and/or traditional healers and some households to treat infectious diseases, with a specific focus on upper respiratory tract disorders. Among the 41 plant species, the most frequently mentioned in the survey were *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (95.2%), *Combretum glutinosum* Perr. ex DC. (93.9%) and *Eucalyptus* spp. (82.8%). Combretaceae (30.2%) represented the most cited botanical family with six species, followed by Fabaceae (29.3%, 12 species). A total of 33 crude methanolic extracts of the 24 plant species selected for their number of citations were evaluated *in vitro* for their antimicrobial and cytotoxic activities. *Guiera senegalensis*, *Combretum glutinosum*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (Benth.) Kyal. & Boatwr, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., and *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr., showed antibacterial activities. The most active plants against HCoV-229E were: *Ficus sycomorus* L., *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze, *Pterocarpus erinaceus* Poir., and *Spermacoce verticillata* L. One of these plants, *Mitragyna inermis*, was also active against SARS-CoV-2.

Conclusion: This work confirmed the anti-infective properties of plant species traditionally used in Senegal. Overall, the most frequently cited plant species showed the best antibacterial

activities. Moreover, some of the selected plant species could be considered as a potential source for the management of coronavirus infections. This new scientific data justified the use of these plants in the management of some infectious pathologies, especially those of the respiratory tract.

Keywords: Senegal, Anti-infective agents, HCoV-229E, SARS-CoV-2, Ethnobotanical Survey, Traditional medicine

1. Introduction

Infectious diseases are one of the leading causes of death worldwide and those of upper and lower airway occupy a prominent place (WHO, 2021). The etiology of these diseases can be multiple, caused by different agents such as bacteria, viruses, fungus, parasites and allergens (Moulin et al., 2005; Mardassi et al., 2014). In Senegal, ENT (Ear, Nose, Throat) and bronchus disorders are a real health problem for the population (Ndiaye et al., 2009). The treatment of these diseases may involve the use of some antibiotics depending on the type of infection and the age of the patient (Mardassi et al., 2014; Stansfield et al., 2021). However, there is a considerable lack of epidemiologic data on ENT diseases in the country, due to the fact that most patients resort to traditional medicine for self-medication. (Ndiaye et al., 2009; Ndao et al., 2018). Some Gram-positive and Gram-negative bacteria can be implicated in airway disorders. Upper respiratory tract infections (RTIs) mainly affect the nose, sinuses, pharynx, larynx and esophagus. Bacteria can be the cause of around 15% of pharyngitis. The most common is *Streptococcus pyogenes*, a group A streptococcus. By contrast, lower RTIs affect the trachea and lungs and are characterized by bronchitis, bronchiolitis and pneumonia (Demoré and Charmillon, 2018). Certain Gram-positive pathogens, such as *Streptococcus pneumoniae*, are responsible for severe pneumonia, but other Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* or Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes* may cause community-acquired pneumonia or pneumonia in immunocompromised patients (Boyer et al., 2011; Ramirez et al., 2020).

In addition to these bacteria-related infections, other pathogens, in particular viruses (rhinovirus, parainfluenza virus, enterovirus, respiratory syncytial virus), can affect the respiratory tract. Some are recently emerging. This is particularly the case of the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) responsible for COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), which caused, between January 2020 and July 2023, more than 6.9 million deaths worldwide. At the same date, in Senegal, WHO reported 89 003 cumulative cases, including 1 971 deaths (Romagnoli et al., 2020; Hu et al., 2021; Chow et al., 2023; WHO, 2023). Human coronaviruses can cause symptoms of varying severity. For example, except in the elderly and immunocompromised patients, HCoV-229E is responsible for common cold with mild symptoms (fever, cough, sore throat, runny nose) similar to ENT disorders caused by other viruses such as rhinoviruses (Farsani et al., 2012; Kesheh et al., 2022). Conversely, Betacoronavirus, such as SARS-CoV-2, can in some cases lead to life-threatening lower respiratory tract illnesses (Czubak et al., 2021; Bafandeh et al., 2023).

This health emergency led the WHO to strongly encourage research and development of new antibacterial and antiviral agents (WHO, 2021). This search for new antimicrobials can rely on plant biodiversity, which is an inexhaustible reservoir of bioactive substances. Africa in general, and Senegal in particular, is full of many medicinal plants used in traditional medicine

in the treatment of infectious diseases (Kerharo & Adam, 1974; Le Grand and Wondergem, 1987; Le Grand et al., 1988; Pousset, 2004; Diop et al., 2018). The lack of health infrastructures and qualified health professionals in certain areas as well as the lack of modern medicines and their high costs compared to the standard of living of the general population in Africa, push local populations to use medicinal plants to treat many infectious diseases (Obakiro et al., 2020; Okaiyeto and Oguntibeju, 2021). Moreover, in Senegal, as elsewhere in Africa, more than 80% of people has had recourse to traditional medicine and uses medicinal plants in primary health care (Kerharo & Adam, 1974; Pousset, 2004; Dièye et al., 2008). In this context, an ethnobotanical survey was conducted among traditional healers, herbalists, and households in Senegal (**Figure 1**) to identify medicinal plants used for the management of infectious diseases, especially related to the upper and lower airways.

Based on this ethnopharmacological study, a biological screening was performed on 33 crude methanolic extracts of the 24 most cited plant species to demonstrate their antibacterial, antiviral and cytotoxic activities.

2. Materials and methods

2.1. Study area

This study aimed to identify plants from the traditional Senegalese pharmacopoeia used in the management of infectious diseases and more specifically affecting the respiratory tract. An ethnobotanical survey was carried out in two different regions. The first part of our investigation was conducted among identified herbalists and traditional healers using wild plants in Dakar, capital of Senegal, and its peri-urban area (550 km²). The second part was carried out with households, and in particular adults familiar with medicinal plants, from isolated villages (Gnargo, Wendu Thille, Djamel and Wawi Hoda) in the rural area of the Podor district (Saint-Louis region, 500 km northeast of Senegal) (**Figure 1**). The main spoken language in Dakar is wolof. However, households surveyed only spoke fulani and the interviews were conducted in this case in this language known by the first author. The climate is tropical in the south and semi-desert in the north. It is characterized by a dry season from November to mid-June and a wet and hot season from mid-June to October. Because of its position in a climate transition zone, Senegal has steppes, savannahs and forests that often form mosaics. The ecosystems in the department of Podor are characterized by steppes and savannah running from north to south (ANDS, 2019). Herbalists and/or traditional healers from the Dakar region travel all over the country to collect medicinal plants, where the biodiversity is far greater.

2.2. Data analysis and plant collection

The ethnobotanical survey was carried out between February and March 2021 (**Table 1**). Consent was requested and granted by the Traditional Medicine Unit (CMT) attached to the Directorate-General for Public Health of the Ministry of Health and Social Action of Senegal (MSAS/DGS/CMT/18-01-21). After consent and the explanation of the objectives of the study,

an oral interview, in the local language (wolof and/or fulani) was carried out with 127 informants according to a semi-structured questionnaire (in French, translated in English and added as Supplementary Information) designed to obtain qualitative and quantitative information relevant to the study. Informants were interviewed at their workplace (herbalists and traditional practitioners) or at home (households). The questionnaire used includes personal information about the respondent and information about the plant mentioned. Personal information concerns age, gender, seniority in practice, level of education, socio-professional activity, and origin of knowledge about plants. Informants were asked about the plants they use in the treatment of lower and upper respiratory tract infections (colds, flu, rhinitis, sinusitis, otitis, angina, bronchitis, asthma...). The informants told us each plant (vernacular name) used with its description, also specifying the parts of the plant used, the indications, the type(s) of administration, the dosage, the toxicity of the plant, the location of the plant as well as its availability (growth period).

A total of 41 plant species belonging to 33 genera distributed over 19 botanical families were inventoried (**Table 1**). The data collected on the field were processed by the Microsoft Office 2013 application (Excel). To assess the local importance of each cited plant, the percentage of positive respondents (%) was used to analyze and compare the use of a single medicinal plant versus the others.

Percentage of positive respondents (%) = $Np \times 100 / N$

(with Np: number of informants who reported at least once using a given plant species to treat upper and lower airway disorders, and N: total number of informants)

The data obtained during the survey have been then completed with traditional uses mentioned in the Senegalese pharmacopeia (**Table 1**).

The most frequently mentioned plant species (percentage of positive respondents superior to 12) were collected in several regions of Senegal between February 2021 and December 2021. In the Podor district, the first author collected plants mentioned by households in fulani during interviews, with the help of a local herbalist guide who was very familiar with local plants and their vernacular names. In Dakar and its peri-urban area, as the plants were not always available at the time of the interview, the informants (herbalists and traditional practitioners) gave specific information in order to be able to determine precisely plant species and to collect them. Except for *Senna occidentalis*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Khaya senegalensis* which were collected in Dakar, the other plants were collected from other regions (Saint-Louis, Kaffrine and Ziguinchor). The plant samples were identified by the botanists William Diatta and Mamadou Sidybé and voucher specimens were deposited at the Dakar Herbarium (Plant Biology Department of the Faculty of Science and Technology, Cheikh Anta Diop University) (**Table 2**). To comfort the botanical identification, the scientific names of each species were checked on World Flora Online (<http://www.worldfloraonline.org/>), African Plant

Database (<https://africanplantdatabase.ch/>), The Prelude Database (<http://www.ethnopharmacologia.org/>), as well as regional floras and Senegalese pharmacopoeia.

2.3. Plant extraction

Collected plant parts of the selected botanical species were oven-dried between 25-37 °C for two weeks in the dark and pulverized using a mechanical grinder (SK100, RETSCH®, Germany). The powder of each plant part was stored in the dark and at ambient temperature until use.

The powder plant material (20 g) was subjected to solid-liquid (S/L) extraction with methanol (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France) and a ratio 1/10. Three sessions of 24 h maceration were performed using an orbital shaker (GFL 3015, Germany). At the end of each maceration, the filtered methanolic extract was evaporated at 35°C under vacuum by a rotary evaporator (Heidolph™, Grosseron, Germany). The yield of each crude methanolic extract (%) was calculated based on the dry weight (**Table 3**).

Following the results of the first screening, some selected methanolic extracts, after being suspended in water 300 mL were fractionated by liquid-liquid extraction with an equivalent volume of organic solvents of increasing polarity. The partitioning was repeated three or five times until complete extraction of metabolites and was performed successively with cyclohexane (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France), dichloromethane (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France) and finally ethyl acetate (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France). The organic phases were dried over on anhydrous sodium sulphate (Na₂SO₄), filtered and then evaporated under vacuum. The aqueous phase was frozen and then freeze dried (Telstar Cryodos™, Spain). The yield percentages of the sub-extracts were calculated based on the dry weight of the crude methanolic extract (**Table 3**).

2.4. Determination of the total polyphenol and tannin contents in crude methanolic extracts

The determination of total phenolic content was carried out in microplates using spectrophotometric method with the Folin-Ciocalteu reagent (mixture of phosphotungstic acid (H₃PW₁₂O₄₀) and phosphomolybdic acid (H₃PMo₁₂O₄₀)) (Liu et al., 2009). Gallic acid was used as the positive control with concentrations ranging from 200 to 12.5 µg/mL.

In a microtube, 5 mg of methanolic extract in 1.5 mL of distilled water were sonicated and heated at 95 °C for 30 minutes. Then, suspensions were centrifuged at 4400 rpm (3500 x g) for 5 minutes (AWEL® centrifugeuse, C 20, France) and 500 µL of the supernatant were kept for the determination of total polyphenols. The tannins were eliminated from the remaining 500 µL by precipitation with addition of 10 mg of hide powder (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) for 1 h and a centrifugation conducted at 4400 rpm for 5 minutes.

To conduct the determination of total phenolic content in microplates, 100 μL of Folin-Ciocalteu reagent diluted to 1/10 were added to 20 μL of each sample, then shaken for 4 minutes. The plate was then removed and 80 μL of a solution of Na_2CO_3 (106 g/L) were then added to each well. Finally, absorbance was read at two wavelengths, 690 and 760 nm, every 15 minutes for 120 minutes by using a spectrophotometer (SPECTROstar^{Nano}, BMG LABTECH, Germany). To follow the evolution of the reaction at the same time, the kinetic method was performed for the determination of total polyphenols. Ginger and white garlic were used as controls.

Tannin content was obtained by subtracting the total tannin-free polyphenol content from the total polyphenol content of the same extract. The contents were expressed in mg GAE/g of extract.

2.5. UHPLC-UV-MS and HPLC-ITMS analysis

The crude methanolic extract (4 mg/mL) of the leaves of *Mitragyna inermis* was analysed by UHPLC-UV-MS (Waters® Acquity UPLC® H-Class, Guyancourt, France) equipped with two independent pumps, an automatic injector, a controller, a diode array detector (PDA) and a quadrupole (QDA) mass spectrometer with ESI as ionization source. The stationary phase was an Interchim Uptisphere C18-AQ column (2.1 x 100 mm, 2.6 μm). The mobile phase was composed of two solvents: (A) H_2O + 0.1% formic acid and (B) Acetonitrile + 0.1% formic acid. A method was developed for the analysis of the MeOH extract (1 mg/mL) by following a specific elution program with solvent B: 10% (0-0.5 min), 10-25% (0.5-8.5 min), 25-100% (8.5-9 min), 100% (9-11 min), 100-10% (11-11.5 min) and 10% (11.5-14 min). The injection volume was 4 μL . The flow rate was set at 0.3 mL/min and the column temperature was stabilized at 30 °C. Nitrogen was used as the carrier gas. The cone voltage was 15 V, the capillary voltage was set at 0.8 kV, and the ionization energy was 15 eV. Mass spectra were obtained in positive and negative mode in a range of m/z from 100 to 950 Da.

To detect alkaloids from the leaves of *Mitragyna inermis*, the crude extract (20 mg) was solubilized in 2% sulphuric acid solution. After alkalization of the solution with concentrated ammonia, a liquid-liquid extraction with dichloromethane was performed to obtain a total alkaloid extract (DCM) (1.4 mg). DCM extract (1 mg/mL) was analysed by HPLC-ITMS (Thermo Scientific LTQ-XL). The stationary phase was a Kinetex C18 column (2.1 x 100 mm, 1.7 μm) and the mobile phase was made of (A) water and (B) Acetonitrile. Another method was developed for the analysis of the DCM sub-extract by following a specific elution program with solvent B: 10-40% (0-5 min), 40-100% (0-25 min) and 100% (25-30 min). Mass detection was set between m/z 100 and 1000 in positive and negative ionization mode, the resolution of the mass spectrometer is 9200. The same ionization parameters were used than with UHPLC-UV-MS.

2.6. Antibacterial activity of extracts against human pathogens

2.6.1. Strains

The antibacterial activities of crude extracts and sub-extracts were evaluated *in vitro* on a panel of 18 bacterial strains including Gram-positive (*Corynebacterium striatum* T40A3, *Mycobacterium smegmatis* 5003, *Staphylococcus aureus* 8146, *Staphylococcus aureus* 8241, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* T28-1, *Staphylococcus aureus* T17-4, *Streptococcus pyogenes* 16138, *Streptococcus pyogenes* 16135) and Gram-negative bacteria (*Acinetobacter baumannii* 9010, *Burkholderia cepacia* 13003, *Enterobacter aerogenes* 9004, *Klebsiella pneumoniae* 11016, *Klebsiella pneumoniae* 10270, *Pseudomonas aeruginosa* 8131, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27583 and *Pseudomonas aeruginosa* 8129, *Stenotrophomonas maltophilia* 21170), may be involved in respiratory tract infections. The tests were carried out in Mueller-Hinton Agar (MHA) medium (solid medium). These strains were provided from the American Type Culture Collection (ATCC) or are clinical bacterial isolates from human samples (mostly from sputum) collected in Lille (CHU Lille). The identification of isolated clinical bacterial was carried out in collaboration with the team of Dr. Christel Neut from the bacteriology laboratory (INSERM U1286 Infinite, Faculty of Pharmacy of Lille). Their sensitivity was assessed against several reference antibiotics: vancomycin, gentamicin, and amoxicillin.

2.6.2. Culture conditions and strain preparations

Bacterial strains were grown in liquid Brain Heart (BH) medium (Bacto™ Agar, France) and transferred in Mueller-Hinton Agar (MHA) medium (MHB Oxoid™, UK) for MIC evaluation. After 24 hours of growth at 37 °C, strains were diluted in Cysteine Ringer's (CR) (Merck™, Germany) to prepare a suspension at 10⁵ CFU/mL.

2.6.3. Antibacterial activity of extracts

The crude methanolic extracts and sub-extracts (cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate and aqueous) were first dissolved in DMSO (Sigma Aldrich®, USA) to obtain a stock solution of 12 mg/mL. A series of four half successive dilutions was carried out in DMSO from the stock solution to obtain the following concentrations: 12, 6, 3, 1.5 and 0.75 mg/mL. These solutions were diluted 1/20 in MHA culture medium, then the mixture was poured into a Petri dish to achieve five final concentrations of the extract: 0.6, 0.3, 0.15, 0.075 and 0.0375 mg/mL. Blanks (MHA alone) and three DMSO (5%) controls were used to verify the absence of solvent effect on microbial growth. A multi-headed inoculator or Steers apparatus (MASTURI® DOT, UK) was then used to inoculate the 21 bacterial strains at 10⁵ CFU/mL in Cysteine Ringer's solution (Merck®, France). After 24 hours of incubation at 37 °C, the MIC was visually defined as the lowest concentration of extract without bacterial growth. Tests were carried out in triplicate.

2.7. Antiviral activity against the human coronavirus

The human hepatoma (Huh-7) and African monkey kidney (Vero-81) cell lines were grown in DMEM supplemented in GlutaMax-I and 10% fetal bovine serum at 37 °C in 5% CO₂ humidified incubator.

Crude methanolic extracts were resuspended in DMSO at 25 mg/mL as stock solutions. Then, the stock solutions were diluted in DMEM for antiviral assays.

2.7.1. Antiviral activity of extracts against HCoV-229E

Huh-7 cells were used for all HCoV-229E-Luc infection, a recombinant HCoV-229E virus encoding firefly Renilla reporter gene (kindly gifted by V. Thiel).

Huh-7 were seeded in 96-well plates and inoculated with HCoV-229E-Luc in the presence of extracts for 1 h. Inoculum was then removed and replaced with culture medium containing the extracts for another 6 h. Cells were lysed in 20 µL of luciferase lysis buffer (Promega, Madison, WI, USA). The luciferase activity was quantified in a CentroXS luminometer (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) using the Renilla luciferase assay kit (Promega, Madison, WI, USA) as recommended by the manufacturer.

2.7.2. Antiviral activity of extracts against SARS-CoV-2

Vero81 cells expressing TMPRSS2 was produced using a lentiviral vector expressing TMPRSS2 (Belouzard et al., 2022). Vero-81/TMPRSS2 cells seeded in 24-well plates were inoculated with SARS-CoV-2 at a MOI of 0.3 in the presence of crude extract or control molecules, at 25 and 50 µg/ml, or 10 µM respectively. Chloroquine and GC376, two known inhibitors of SARS-CoV-2, were used as positive controls. Chloroquine, anti-malarial drug, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection *in vitro*, while GC376 is a protease inhibitor that inhibits replication of the virus. Cells were lysed 16 h post-inoculation. The lysates were analyzed by immunoblotting using an anti-viral nucleocapsid protein N antibody (Novus) and an anti-β-tubulin antibody (Sigma-aldrich) and revealed by chemiluminescence using horse radish peroxidase (HRP)-conjugated anti-rabbit or anti-mouse goat antibody, respectively. The graph (**Figure 8B**) represents the quantification of the band intensity corresponding to the N protein, relative to the DMSO control.

2.7.3 Cytotoxic activity against Huh-7 cells

Before carrying out the antiviral activity assays, cytotoxicity was evaluated on Huh-7 cells (immortal cell line composed of epithelial-like, tumorigenic cells isolated from hepatocarcinoma). 6×10⁴ Huh-7 cells were seeded in 96-well plates and incubated with 100 µL of culture medium containing increasing concentrations of each extract for 24 h. A MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium]-based viability assay (Cell Titer 96 Aqueous non-radioactive cell proliferation assay, Promega, Madison, WI, USA) was performed as recommended by the manufacturer. The absorbance of

formazan at 490 nm was measured using a plate reader (ELX 808 Bio-Tek Instruments Inc., Charlotte, VT, USA).

2.7.4 Statistical analysis

For antiviral screening, data were analyzed by a Kruskal Wallis test following by a Dunn post-hoc test, using Prism 10 statistical software (Graph Pad Inc., La Jolla, CA, USA). For SARS-CoV-2 assay, a non-parametric Mann-Whitney test was conducted to compare each value to the control (DMSO).

3. Results and discussion

3.1. Ethnobotanical study

The ethnobotanical survey was conducted between February and March 2021 in Senegal in wolof, the most commonly spoken language in the country, or in fulani among traditional healers, herbalists, and households (**Figure 1**) to identify medicinal plants used for the management of diseases of the respiratory tract. The **Table 4** presents the socio-demographic characteristics of the informants.

A total of 127 informants participated in this study: 100 men (78.74%) and 27 women (21.26%). Among herbalists and/or traditional healers (67.72% of informants), 84.88% of them had more than 10 years of experience (84.88%) and 79.07% were in the 40-60 age group. This survey highlighted that the profession of herbalist and/or traditional healer was mainly represented by men (87.21%). This gender difference may be related to socio-cultural factors, beliefs, and religious practices in the country. In general, regardless of the religion practiced, Senegalese traditional healers prefer to pass on their knowledge of the therapeutic use of plants to their sons, with rare exceptions. Women very often take care of the family home while the function of traditional healer requires a certain mobility. Among the informants, 35 traditional healers (40.70%) claimed to use medicinal plants only after consultation and diagnosis of the disease according to different criteria. Their reputation depends on the number of patients that they receive. Only 32 herbalists (37.21%) explained that they sell medicinal plants to traditional healers or population with prices between 250 and 1000 FCFA (0.4-1.5 euro) according to the interest and rarity of the species. The other herbalists/traditional healers (22.09%) sell medicinal plants after or without consultation. Most traditional healers claimed to have acquired their healing knowledge through the education they received from their ancestors (from father to son), but this knowledge deepens with experience of practicing the profession. Herbalists and traditional healers collect medicinal plants from all regions of the country. Households represented 32.28% of informants and most were farmers (46.34%) or pastoralists (36.59%). They use plants to heal themselves or their family members. They collect medicinal plants near their villages or sometimes 30 km or more from their homes.

The data obtained from this ethnobotanical survey (**Table 1**) made it possible the identification of 41 plant species belonging to 19 families used in traditional medicine in the treatment of upper and lower airway disorders. Vernacular names were referenced in wolof or in fulani and were checked with various references such as World Flora Online, African Plant Database The Prelude Database, and publications focused on the "traditional Senegalese pharmacopoeia" (Kerharo and Adam, 1964, 1964, 1964; Kerharo, 1967; Kerharo & Adam, 1974; Kerharo, 1977; Le Grand and Wondergem, 1987; Le Grand, 1989; Pousset, 2004; Diatta et al., 2013, 2019).

A total of 127 informants were interviewed leading to the collection of 1337 citations (average of 10.5/informant). Among the 41 species mentioned, *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. was the most cited species (95.2%), followed by *Combretum glutinosum* Perr. ex DC. (93.9%), and *Eucalyptus* spp. (82.8%). Among the botanical families identified during the study, Combretaceae (30.2%) represented the most cited botanical family with six species, followed by Fabaceae (29.3%, 12 species), Myrtaceae (7.7%, one species) and Moraceae (5.5%, three species). The other botanical families were cited at less than 5% (**Figure 2**). The genus *Eucalyptus*, commonly named *khottou boutel* (*Bottle shards*), is well spread in the country and contained nearly 80 species across Senegal (Adam, 1956). Some plant species like *Spermacoce verticillata* L., *Vachellia sieberiana* (Delile) P.J.H. Hurter and *Sesbania sesban* (L.) Merr. were only mentioned by households. Conversely, only herbalists and/or traditional healers cited *Cochlospermum tinctorium* Perrier ex A. Rich, *Pterocarpus erinaceus* Poir., *Lepisanthes senegalensis* (Poir.) Leenh., *Moringa oleifera* Lam., *Diospyros mespiliformis* Hochst. ex A. DC., *Cassia sieberiana* DC, *Ficus thonningii* Blume and *Ocimum basilicum* L..

Among the taxa, trees were represented by 22 species (53.7%), followed by shrubs (13 species, 31.7%) and herbaceous plants (six species, 14.6%). The most used plant parts were leaves (32.3%), trunk bark (23.1%), roots (20.0%) and root bark (10.8%) (**Figure 3**). Among the routes of administration, oral route (77.1%) is favoured by informants for most medicinal plants (**Figure 4**). The modes of preparation in this case are mostly decoction (43.2%), then infusion (25.9%), maceration (20.6%) and powder directly swallowed or mixed with food (10.3%) (**Figure 5**). However, modes of administration such as inhalation (14.6%), instillation (4.2%), ablution (2.1%) and external application (2.1%) have been adopted for certain medicinal plants, but without consensus on a precise dosage (**Figure 4**). The inhalation route is characterized by fumigation. The whole or pulverized plant is burned directly on the embers and the smoke is then inhaled by the sick. The traditional healers do not use water vapor for inhalation. The trunk bark of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile is used in this way to cure sinusitis and otitis. In the case of instillation, the powder of the trunk bark of *Sterculia setigera* Delile is absorbed such as snuff tobacco. For the ablutions, the patient washes his body with the cooled decoction of the plant. *Sesbania sesban* (L.) Merr. is used in this way to cure colds and to reduce fever. Finally, *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler is used externally

to treat flu and colds, as well as associated headaches. In this case, the fresh leaves, sometimes crushed, are directly applied to the head.

In order to avoid confusion as much as possible, interviews were conducted in the local wolof or fulani languages with the most appropriate translations such as cough (*sékhât* in wolof and *doyru* or *dojjugol* or *dojjo* in fulani); cold (*soy* or *xurfaan* in wolof and *durma* in fulani); sinusitis (*yaaf* in wolof or *sinusite* in fulani); angina (*waxu* or *angine* in wolof and *keccekal* in fulani); flu (*tooy* in wolof, *wabaa* in fulani or sometimes *flu* in wolof and fulani); asthma (*xiix* or *assmaa* in wolof and *yëegol* or *siiro* in fulani); otitis (translated as *ear disease* in both languages). This investigation took place in the midst of the Covid-19 pandemic. People with this viral infection had symptoms such as fever, cough, sore throat, runny nose, shortness of breath or difficulty breathing, repeated tremors or accompanied by chills, recent loss of smell or taste, fatigue, muscle pain, headaches, etc. (El-Anwar et al., 2020; Hu et al., 2021). Some symptoms of Covid-19 are similar to those of the common cold, flu, or other respiratory tract infections (Czubak et al., 2021). At the start of our ethnobotanical survey conducted in Senegal (February 2021), we requested information regarding the use of plants in the management of Covid-19. Most of the informants preferred to evade the question or respond vaguely by saying "it's a simple cold." Indeed, due to the low number of Covid-19 tests, their unavailability in most localities in the country, a lack of knowledge of the disease or the lack of information relayed by the media, some people may have contracted Covid-19 without knowing it and others did not want to recognize the existence of the disease. In this context, most people resorted to plants usually used in cases of respiratory tract infections. Moreover, we know that during the Covid-19 crisis, numerous episodes of colds and flu were observed among local populations in Senegal. Three traditional practitioners we met in Dakar told us that certain effective cough plants could be used against Covid-19. They also pointed out that due to the restrictions imposed on Covid-19 patients and their confinement, they have not had the opportunity to test their traditional remedies much.

The main indications mentioned by informants were cough (37.1%, 31 species, 16 families), cold (28.6%, 22 species, 10 families), flu (13.5%, 6 species, 5 families), sinusitis (6.3%, 15 species, 8 families), otitis (5.9%, 13 species, 7 families), angina (5.6%, 4 species, 3 families) and asthma (3%, 8 species, 6 families). Species belonging to Combretaceae, the most cited family (30.2%), had the highest citation indexes for cough (6 species/6), colds (5 species/6) and flu (2 species/6) and were followed by the Fabaceae family (29.3%) with citation indexes for cough (8 species/12), colds (4 species/12) and flu (1 species/12). Nevertheless, Fabaceae species were the most used against sinusitis (7 species/12) and otitis (7 species/12). Rubiaceae and Rutaceae species were also regularly cited for cough, cold and flu.

In addition to these symptoms/diseases, some plant species were also cited in this context for their antipyretic (*Senna occidentalis* (L.) Link, *Sesbania sesban* (L.) Merr.,

Spermacoce verticillata L., *Ziziphus jujuba* Mill) or analgesic properties (*Strychnos spinosa* Lam., *Spermacoce verticillata* L., *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler, *Cocculus pendulus* (JRForch. & G. Forst.) Diels).

Apart from their use in the management of disorders of the respiratory tract, all the plants mentioned are used in the treatment of other ailments by Senegalese populations (**Table 1**). Combretaceae, the most cited family during this survey, with six species (*G. senegalensis*, *C. glutinosum*, *Combretum micranthum* G. Don, *Terminalia leiocarpa* Baill., *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. and *Combretum molle* R. Br. ex G. Don), is widespread in Senegal and widely used in traditional herbal medicine. *G. senegalensis* known as *nger* in wolof and *yelloko* in fulani is the most used and quoted cough remedy in Senegal. Herbal tea and antitussive syrup made from *G. senegalensis* leaves, named *Nguertisane* and *Elooko*, are currently sold in pharmacies. Decoctions of its roots are prescribed in bronchitis and pneumonia and often associated with *C. glutinosum* or *C. micranthum* (Le Grand and Wondergem, 1987; Pousset, 2004). *T. avicennioides* also seems to show some effectiveness in treating coughs. Combretaceae species are widely mentioned in senegalese traditional medicine for different infectious diseases. For example, *C. glutinosum* and *C. micranthum* are known for their use in the treatment of malaria, whereas *Terminalia leiocarpa* and *Terminalia avicennioides* are used for external infections such as abscesses and wounds (Kerharo J. & Adam J. G 1974). The existing scientific literature confirms these traditional uses (Bosisio et al., 1997; Fiot et al., 2006; de Morais Lima et al., 2012; Bajaj et al., 2020).

Plant species belonging to the other two botanical families most frequently cited during the survey, Myrtaceae and Fabaceae, are also very widely used in traditional medicine for their antimicrobial effects.

The family Myrtaceae represented here by the genus *Eucalyptus* spp. (with more than 80 species in Senegal) is extensively utilized in Senegal for its antimicrobial effects (Adam, 1956; Aleksic Sabo and Knezevic, 2019). It is a very accessible genus, introduced in Senegal in 1863, and available in gardens or forest plantations throughout the country. In Senegal, the essential oil and some extracts of the leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., the most widely used species, are traditionally considered as antiseptic, and mainly used to treat respiratory diseases such as colds, cough, asthma, laryngoplegia, laryngitis, pharyngitis, sore throat, brachialgia (Adam, 1956; Kerharo, 1971; Aleksic Sabo and Knezevic, 2019).

Concerning the Fabaceae family, one of the largest in Senegal in terms of number of species, the three most cited plant species in this survey were *Vachiella nilotica* subsp. *tomentosa* (Benth.) Kyal. & Boatwr, *Senna occidentalis* (L.) Link and *Piliostigma reticulatum* (DC.) Hochst., with citation frequencies of 70%, 55.9% and 54.3% respectively (**Table 1**). *Vachiella nilotica* subsp. *tomentosa* fruits are traditionally used to treat cough, cold and fever. They are also commonly used as anti-dysenteric agents and against ulcers. These indications are explained by their important tannin content (Eldeen et al., 2010; Sadiq et al., 2017, 2015).

However, a particular attention is paid to *V. nilotica* subsp. *tomentosa* pods which are broadly but judiciously used in traditional Senegalese medicine (only a pinch of pod powder per day). *S. occidentalis* is extensively used by the Senegalese population alone or very often in combination with *G. senegalensis* to treat cough, flu, and colds. However, in the framework of our survey, *Senna occidentalis* was not considered as a medicinal plant by most fulani breeders who considered it toxic for livestock and humans. Finally, the leaves and barks of *P. reticulatum* are also used traditionally to treat different infections including cough and bronchitis (Kerharo and Adam, 1964; Kerharo & Adam, 1974; Pousset, 2004) supported by scientific literature (Babajide et al., 2008; Daniels et al., 2019; Daniel et al., 2020).

Among the 41 plant species cited in the survey, the 24 most cited species (at least 15 citations >12%) were collected, identified and stored for further biological investigations (**Table 2**).

3.2. Biological tests

3.2.1. Extraction and determination of polyphenol content

A total of 33 methanolic extracts from the 24 most cited plants were prepared. Methanol maceration was chosen as the extraction method because it avoided deterioration of heat-labile compounds, and it is accepted that methanolic plant extracts provide more consistent activity in bioassays. In addition, methanol offers a more complete extraction, extracting both hydrophilic and moderately lipophilic substances, and is more representative of traditional preparations than other chemical solvents (Roumy et al., 2020). The yields of the solid-liquid extractions of the 33 samples were presented in **Table 3**.

In order to observe a potential correlation between high content in polyphenols and tannins and antiviral/antibacterial activities of the crude methanolic extracts, the determination of the total phenolic compounds in the crude methanolic extracts was carried out in microplates using the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method. The content of polyphenols in the extracts was reported in gallic acid equivalent (GAE, **Table 5**). Precipitation of tannins by hide-powder was used additionally for the evaluation of tannin content. Overall, the bark (roots and trunk) and pods of senegalese medicinal plants showed the highest polyphenol and tannin content. The two botanical families, Combretaceae and Fabaceae, contained species particularly rich in polyphenols. In addition, the plant species with the highest contents of total polyphenols and tannins were: *V. nilotica* subsp. *tomentosa* (pods), *V. seyal* (trunk bark), *P. reticulatum* (trunk bark), and *T. avicennioides* (root bark and roots) with contents superior to 300 mg GAE/g extract (**Table 5**). These results were in agreement with previous studies which highlighted the presence of tannins in some of the plant parts studied as part of our work and could partly explain the anti-infective properties of these plant species (Bosisio et al., 1997; Shuaibu et al., 2008; Babajide et al., 2008; Sadiq et al., 2015, 2017; El-Kashak et al., 2017; de la Luz Cádiz-Gurrea et al., 2021).

3.2.2. Antibacterial activity

3.2.2.1. Antibacterial activity of crude methanolic extracts

The antibacterial activity of the 33 crude methanolic extracts was evaluated for the first time on 18 human pathogenic strains including Gram-positive and Gram-negative bacteria. These pathogens, both standard organisms and clinical isolates, can be responsible for different respiratory tract infections. Among the selected bacteria, *Corynebacterium striatum* (Asgin and Otlu, 2020), *Acinetobacter baumannii* (Ayoub Moubareck and Hammoudi Halat, 2020), *Burkholderia cepacia* (Häfliger et al., 2020), *Enterobacter aerogenes* (Davin-Regli et al., 2019) and *Stenotrophomonas maltophilia* (Sánchez, 2015) can be opportunistic and infect the upper and lower respiratory tract. Plant drugs were collected based on their use in various conditions of the upper and lower respiratory tract (flu, coughs, colds, otitis, angina, asthma sinusitis, pneumonia) during the ethnobotanical survey. The antibacterial activities (MIC) of the 33 extracts are presented in **Table 6**.

Of the 33 crude methanolic extracts evaluated, 26 exhibited antibacterial activity with MICs between 0.6 and 0.075 mg/mL and 16 extracts were active against more than half of bacterial strains (11/18). Crude extracts of some medicinal plants, in particular *V. nilotica* subsp. *tomentosa* (pods), *Eucalyptus camaldulensis* (leaves), as well as some Combretaceae species including *Combretum glutinosum* (leaves), *Guiera senegalensis* (leaves) and *Terminalia avicennioides* (leaves, roots, and root bark), showed the most promising antibacterial activities (most of the MICs $\leq$ 0.3 mg/mL). Gram-positive strains such as *Staphylococcus* and *Streptococcus* were the most sensitive to extracts with MICs between 0.3 and 0.075 mg/mL for the most active ones. Most of the extracts also showed a high antibacterial activity against the Gram-positive bacterium. In addition, some Gram-negative strains including *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas aeruginosa* were sensitive to some plant extracts. By contrast, the crude extracts showed relatively low antibacterial activity against *Enterobacter aerogenes*, and *Klebsiella pneumonia* strains. The crude methanolic leaf extracts of *Combretum glutinosum*, *Guiera senegalensis* and *Terminalia avicennioides* were highly active against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*. and *Streptococcus pyogenes*), as well as some Gram-negative bacteria (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, and *Pseudomonas aeruginosa*) with MICs $\leq$ 0.3 mg/mL. Plant species belonging to the botanical family Combretaceae are known for their antibacterial activities (Elegami et al., 2002; Silén et al., 2023).

The bacterial strains used in our study are responsible for many infections of the respiratory tract infections (Maniatis et al., 1996; Milner et al., 2015; Sánchez, 2015; Wong et al., 2017; Mielko et al., 2019; Kanwal and Vaitla, 2023). The antibacterial activity obtained for some plant extracts could explain their traditional use in the treatment of various infections

affecting the lungs, throat, nose, and ears. The antibacterial activity highlighted for some extracts against *Streptococcus pyogenes* implicated in lower RTIs, as well as *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteria (*Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas aeruginosa*) responsible opportunistic or community-acquired pneumonia, is particularly relevant (Boyer et al., 2011; Demoré and Charmillon, 2018; Ramirez et al., 2020). Other pathogens such as *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* are very often implicated in severe pneumonia (Su et al., 2020) but could not be studied as part of our study because they are not available in the laboratory. It could be interesting in the future to also test our extracts against these different strains.

There is a lack of in-depth scientific data regarding the anti-infective properties of most of the plants cited in this study. However, some previous ethnobotanical studies conducted in Senegal on different medicinal plants used for the treatment of infectious diseases and tuberculosis have already highlighted the antimicrobial potential of certain species mentioned in the context of our survey, such as *Guiera senegalensis* and *Combretum glutinosum* (Le Grand and Wondergem, 1987; Le Grand et al., 1988; Le Grand, 1989; Yahaya et al., 2012; Diop et al., 2018).

Moreover, we observed a strong correlation between antibacterial activity and total polyphenol content. The extracts with the highest content of phenolic compounds, including tannins, were the most active against the bacterial strains. In the literature, the most active Combretaceae species in this study are also known for their richness in tannins (de Morais Lima et al., 2012; Cock, 2015).

3.2.2.2. Antibacterial activity of sub-extracts

Subsequently, the crude extract of the most active plants (*Combretum glutinosum*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Guiera senegalensis*, *Terminalia avicennioides*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa*) were subjected to a partitioning by solvents of increasing polarity (cyclohexane, dichloromethane, and ethyl acetate). The antibacterial activity was evaluated against the 18 bacterial strains and a high antibacterial activity of some sub-extracts (MICs of 0.0375 mg/mL) was observed against several strains, both all Gram-positive bacteria and one Gram-negative bacteria (*Burkholderia cepacia*) (Table 7).

In particular, a high antibacterial activity (CMI = 0.0375 g/mL) was observed for the cyclohexane sub-extract of *Eucalyptus camaldulensis* against *C. striatum*, *S. aureus*, *S. pyogenes* and *B. cepacia*. Its antibacterial activity was probably related to its essential oil previously tested in other studies and active (Begum et al., 1997; Aleksic Sabo and Knezevic, 2019). The antibacterial activity of *V. nilotica* subsp. *tomentosa* pods is particularly linked to its ethyl acetate sub-extract. By contrast, its cyclohexane and DCM sub-extracts are four times less active. The antibacterial properties of the ethyl acetate sub-extract could be strongly

related to its high content of tannins highlighted in the methanolic crude extract in our study (Table 5) and also mentioned in previous studies (Sadiq et al., 2015).

Finally, some sub-extracts of the two species of the Combretaceae family were also active, in particular those obtained from the leaves of *C. glutinosum* and *T. avicennioides*. *G. senegalensis*, was the most active plant. Its EtOAc leaf sub-extract showed high antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* 10270 (MIC = 0.3 mg/mL). *Mycobacterium smegmatis* (MIC = 0.0375 mg/mL), *Staphylococcus aureus* strains (MIC = 0.075 to 0.3 mg/mL), *Stenotrophomonas maltophilia* (MIC = 0.075 mg/mL). Its DCM sub-extract demonstrated a moderate antibacterial activity, except against *Streptococcus pyogenes* and *Burkholderia cepacia* strains with MICs of 0.0375 mg/mL. *C. glutinosum* is one of the most known Senegalese Combretaceae species for its biological activities including antibacterial, antifungal, antiviral and anti-inflammatory ones. Several previous studies underlined an antimicrobial activity of *G. senegalensis* against *Staphylococcus spp.* (MICs between 0.0185 and 0.0375 mg/mL) and an antimycobacterial activity against *Mycobacterium marinum* of a polar extract (IC₅₀ = 0.098 mg/mL) (Diop et al., 2018; Dirar and Devkota, 2021). β -carboline alkaloids including harman and tetrahydroharman, naphthopyrones, as well as guieranone A, a naphthyl butanone, were previously identified in the leaves of *G. senegalensis* and showed antimicrobial and antimalarial activities (Silva and Gomes, 2003; Fiot et al., 2006). Different specialized metabolites were identified and purified from the leaves of *Combretum glutinosum* including methoxylated flavones (umuhengerine, 5-demethylsinensetin, corymbosin), hydrolyzable tannins (combreglutinin) and triterpenoids and phytosterols ((20S, 24R)-ocotillone, lupeol, β -sitosterol, oleanolic acid, betulinic acid) (Jossang et al., 1994; de Morais Lima et al., 2012; Sene et al., 2019). Flavones might be responsible for the activity of the ethyl acetate sub-extract, while terpenoids and phytosterols might explain at least part of the effect of cyclohexane and DCM sub-extracts. For example, umuhengerin has already demonstrated antibacterial and antifungal activities against various pathogens such as *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* or *Trychophyton mentagrophytes* (Rwangabo et al., 1988). (20S, 24R)-ocotillone showed antibacterial activity against Gram-negative bacteria (Gun et al., 2002). One previous study highlighted that the leaf methanolic extract of *C. glutinosum* at 0.1 mg/mL inhibited the growth of pathogenic bacteria such as *P. aeruginosa* and *S. aureus*, as in our study (Muhammad et al., 2020).

The leaves of *T. avicennioides* were more active than the other plant parts (roots and root bark). The leaf EtOAc sub-extract showed a moderate activity on almost all of the strains tested (19/21) with CMIs ranging from 0.15 to 0.6 mg/mL. The leaf apolar sub-extracts (cyclohexane and DCM) were selectively active against *S. pyogenes* strains (CMIs = 0.0375 or 0.15 g/mL). *T. avicennioides* produces phenolic compounds such as ellagic acid rhamnoside, punicalagin, flavogallonic acid dilactone, terchebulin, previously isolated from the stem bark. Triterpenoids

isolated from the root bark such as arjunolic acid, amarin, 2,3,23-trihydroxyolean-12-ene, friedelin were also described for their antibacterial activities (Mann et al., 2012). However, no phytochemical studies were previously published on *T. avicennioides* leaves.

3.2.3. Antiviral activity against human coronaviruses

This survey took place during the COVID-19 crisis caused by SARS-CoV-2. Due to national restrictions and lack of clinical experience, informants did not experiment many traditional remedies for this disease but were already aware of plants used to treat some viral lower and upper RTIs. The different symptoms associated with Covid-19 can be high fever, cough, sore throat, runny nose, shortness of breath or difficulty breathing, repeated tremors or tremors with chills, loss of smell or taste, fatigue, muscle aches, headache (Czubak et al., 2021; Hu et al., 2021; Bafandeh et al., 2023). These different symptoms are like those of the respiratory tract disorders (Czubak et al., 2021) and were mentioned by the population during our ethnobotanical survey. Additionally, some medicinal plants and specialized metabolites may have some potential to combat a number of coronaviruses (Nawrot et al., 2022; Hakem et al., 2023). At first, HCoV-229E was used as a human coronavirus model before testing the most active extracts on Sars-CoV-2.

The 33 crude methanolic extracts were screened at 25 µg/mL for their antiviral activity on HCoV-229E in the Huh-7 cells. Before conducting our antiviral study against HCoV-229E, the absence of cytotoxicity of the crude methanolic extracts on Huh-7 cells was verified by using a MTS assay at 25 µg/mL and 100 µg/mL (**Figure 6**). Only the trunk barks of *Piliostigma reticulatum*, *Pterocarpus erinaceus*, and *Balanites aegyptiaca* appeared to be toxic on Huh-7 cells at 100 µg/mL with a significant reduction of cell viability.

The antiviral effect of the crude methanolic extracts at 25 µg/mL on HCoV-229E-Luc is represented in **Figure 7**. The results showed that 13 crude extracts significantly decreased HCoV-229E-Luc infection. The plant extracts showing the most significant reduction in viral infection were: *Vachellia seyal* (trunk bark), *Terminalia leiocarpa* (leaves), *Bauhinia rufescens* Lam. (trunk bark and pods), *Cochlospermum tinctorium* (roots) *Ficus sur* Forssk. (roots), *Ficus sycomorus* L. (trunk bark), *Guiera senegalensis* (leaves), *Khaya senegalensis* A. Juss. (trunk bark), *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze (leaves), *Piliostigma reticulatum* (trunk bark), *Pterocarpus erinaceus* (trunk bark) and *Spermacoce verticillata* (leaves).

Four of the most active crude extracts, *P. erinaceus* (trunk bark), *M. inermis* (leaves), *F. sycomorus* (trunk bark) and *S. verticillata* (leaves), were further selected to investigate their antiviral activity against SARS-CoV-2 in Vero-81 cell lines expressing the cellular protease TMPRSS2 to mimic the *in vivo* entry pathway. Human coronavirus can use indeed two entry pathways, either direct fusion to the cell surface with the help of TMPRSS2 protease or endocytosis followed by fusion in the endosome. *In vivo*, the virus enters the cells preferentially by the first pathway (Hoffmann et al., 2020). Two concentrations were tested, 25 and 50 µg/mL.

Chloroquine and GC376, two known inhibitors of SARS-CoV-2 were added as controls. Chloroquine is an inhibitor of the endocytic entry pathway, and GC376 is a viral protease inhibitor and inhibits the replication of SARS-CoV-2. The results showed that all extracts reduced SARS-CoV-2 nucleocapsid N expression at 50 µg/mL (**Figure 8A**). As expected, chloroquine was not active in Vero81/TMPRSS2 and GC376 strongly inhibited N expression. The cellular β -tubulin was also detected to that the compounds did not affect cellular protein expression. However, after quantification of the band intensity of four Western blot corresponding to four independent experiments, only *M. inermis* (leaves) extract significantly reduced SARS-CoV-2 infection *in vitro* (relative N expression of 58.7%) (**Figure 8B**).

M. inermis and *S. verticillata*, belonging to Rubiaceae family, are characterized by their high content of pharmacologically active alkaloids (indole and oxindole for *M. inermis* and indole and bis-indole alkaloids for *S. verticillata*), in addition to iridoids in *S. verticillata* (**Table 8**) (Shellard and Sarpong, 1971; Toure et al., 1996; Fiot et al., 2005; Shellard and Sarpong, 2011; Ferreira Júnior et al., 2012). The chromatographic profile of the crude methanolic extract of *M. inermis* leaves underlined the presence of various chemical families including alkaloids and flavonoids according to UV and MS spectra (**Figures 9 and 10, Tables 9 and 10**). Previously, in *M. inermis* many alkaloids such as routundifoline, isorotundifoline, rhynchophylline, isorhynchophylline, ciliaphylline, rhynchociline, speciophylline, uncarine F, mitraciliatine, corynanthine, speciogynine as well as terpenoids such as quinovic acid and derivatives have been described (Shellard and Sarpong, 1971; Fiot et al., 2005; Shellard and Sarpong, 2011). The antiviral potential of *M. inermis* leaves has already been highlighted for a dichloromethane extract against poliovirus and rhinovirus type 2 (EC_{50} = 12,5-25 µg/mL, SI = 2) and for a methanolic extract against HSV (EC_{50} = 50-100 µg/mL, SI = 2) (Beuscher et al., 1994; Beressa et al., 2021). Additionally, a crude alkaloid extract of *S. verticillata* showed weak activity against HIV (Balde et al., 2014). These two species have also been studied for their antibacterial, antiplasmodial and antileishmanial activities (Conserva and Ferreira, 2012).

Concerning the trunk bark of *F. sycomorus*, previous studies have attested to the presence of flavonoids, phenolic acids and triterpenoids responsible for antimicrobial properties (**Table 8**) (Ahmadu et al., 2007; Al-matani et al., 2015; Abdel-Aty et al., 2019). *F. sycomorus* extracts have previously shown antiviral activity against the *Herpes Simplex Virus* type 1 and HIV-1 (Maregesi et al., 2008, 2010).

Finally, the former studies carried out on *P. erinaceus* revealed the presence of triterpenoids, flavonoids and pterocarpinoids (**Table 8**) (Tittikpina et al., 2018, 2019; Arbain et al., 2021). *P. erinaceus* is known for its antimicrobial activities, but no antiviral activities of this species have been described yet at our knowledge. However, a closely related species, *P. indicus*, has already shown an antiviral effect against a clinical strain of dengue virus (Dewi et al., 2018; Arbain et al., 2021).

Taken together, these results showed that Senegalese plant extracts could be a source of antiviral agents against human coronaviruses and that one of these extracts, *M. inermis* (leaves), contained active compounds with pan-coronavirus activities. Thus, this screening reinforced the traditional use of these species in the management of respiratory tract diseases.

4. Conclusion

Senegal is particularly rich in medicinal plants used in traditional medicine in the treatment of infectious diseases. Therefore, this ethnobotanical survey was conducted in Senegal among 127 informants, including herbalists, traditional healers, and households, and allowed the identification of 41 plant species belonging to 19 botanical families used in the management of infections of the respiratory tract. Based on the number of citations, the antimicrobial activity of the crude methanolic extracts of 24 species was evaluated *in vitro* on a panel of 18 human pathogenic bacteria. The antiviral activity of the crude extracts was also determined *in vitro* against the human coronaviruses HCoV-229E and SARS-CoV-2.

Crude extracts of plants such as *Terminalia avicennioides*, *Combretum glutinosum*, *Guiera senegalensis*, *Combretum micranthum*, *Terminalia leiocarpa*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa*, *Vachellia seyal*, *Spermacoce verticillata*, *Bauhinia rufescens*, and *Eucalyptus camaldulensis* showed the best antibacterial activities. Moreover, the dichloromethane and ethyl acetate sub-extracts of *Terminalia avicennioides*, *Combretum glutinosum*, *Guiera senegalensis*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa*, *Eucalyptus camaldulensis*, showed high activities, with low MICs (0,0375-0,075 mg/mL), against *Staphylococcus* and *Streptococcus* spp. as well as against *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, and *Pseudomonas* spp. The most active plant extracts at 25 µg/mL against the human HCoV-229E were: *F. sycomorus* (trunk bark), *M. inermis* (leaves), *P. erinaceus* (trunk bark) and *S. verticillata* (leaves). Moreover, *M. inermis* (leaves) extract was also active against SARS-CoV-2. The potential involvement of alkaloids of this plant could be checked in the future.

This study highlighted the antibacterial and antiviral potential of 24 plant species with an evaluation of their cytotoxicity on Huh-7 cells. Overall, the plants most cited in the survey were found to have the best antibacterial or antiviral potential.

This study improved our scientific knowledge on the different applications of Senegalese flora and contributed to the preservation of traditional ethnopharmacological knowledge for future generations.

Declaration of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

CRedit authorship contribution statement

Abda Ba: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Resources, Writing – original draft (abda.ba.etu@univ-lille.fr). **Vincent Roumy:** Methodology, Validation, Supervision, Writing – review & editing (vincent.roumy@univ-lille.fr). **Malak Al Ibrahim:** Formal analysis, Investigation (malak.alibrahim.etu@univ-lille.fr). **Imelda Raczkiewicz:** Formal analysis, Investigation, Writing – review & editing (imelda.raczkiewicz.etu@univ-lille.fr). **Jennifer Samaillie:** Formal analysis, Investigation (jennifer.samaillie@univ-lille.fr). **Asma Hakem:** Investigation (asma.hakem.etu@univ-lille.fr). **Sevser Sahpaz:** Project administration (sevser.sahpaz@univ-lille.fr). **Sandrine Belouzard:** Methodology (sandrine.belouzard@ibl.cnrs.fr). **William Diatta:** Resources, Validation (william.diatta@ucad.edu.sn). **Mamadou Sidybé:** Resources, Validation (mamadou.sidybe@ucad.edu.sn). **Christel Neut:** Methodology, Resources, Validation (christel.neut@univ-lille.fr). **Karin Séron:** Methodology, Resources, Validation, Writing – review & editing (karin.seron@ibl.cnrs.fr). **Matar Seck:** Conceptualization, Funding acquisition, Methodology, Resources, Supervision, Writing – review & editing (matar.seck@ucad.edu.sn). **Céline Rivière:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Methodology, Project administration, Validation, Supervision, Writing – review & editing (celine.riviere@univ-lille.fr)

Acknowledgments

The authors are grateful to the French Government through the French Embassy in Senegal (SCAC Scholarship), the Senegalese Government through the Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (PhD Foreign Scholarship), but also to the Haut-de-France Doctoral College (Mobility Scholarship to Belgium) and the University of Lille (Mobillex Scholarship) for the various funding granted. The authors also acknowledge Dr. Abdoul Aziz Camara from Dakar Herbarium at the Plant Biology Department of the Faculty of Science and Technology of the Cheikh Anta Diop University in Dakar for this help in identifying plants and preparing herbarium boards. The authors warmly thank the Traditional Medicine Unit (CMT) in Senegal for its agreement (MSAS/DGS/CMT/18-01-21), as well as the herbalists, traditional healers and all households who participated and agreed to share their traditional knowledge with the greatest generosity during the ethnobotanical survey. The authors are grateful to other members of the implicated research teams who gave their technical assistance, in particular Isabelle Houcke and Séverine Mahieux from Infinite team. We also greatly thank Professor Joelle Quetin Leclercq (Catholic University of Louvain, Belgium) for her relevant comments on the article and Dr Gabriel Lefèvre for his advice about botanical identification and herbarium.

Appendix A. Supplementary data

List of abbreviations

AMB: Amphotericin B; AMX: Amoxicillin; BA: *Balanites aegytiaca*; BR: *Bauhinia rufescens*; BS: *Boscia senegalensis*; C: Calyces; CG: *Combretum glutinosum*; CM: *Combretum micranthum*; CS: *Chrozophora senegalensis*; CT: *Cochlospermum tinctorium*; EC: *Eucalyptus camaldulensis*; FLC: Fluconazole; FS: *Ficus sycomorus*; FSu: *Ficus sur*; GEN: Gentamicin; GS: *Guiera senegalensis*; HS: *Hibiscus sabdariffa*; KS: *Khaya senegalensis*; L: Leaf; MI: *Mitragyna inermis*; PE: *Pterocarpus erinaceus*; P: Pod; PR: *Piliostigma reticulatum*; RA: Route of administration; R: Root; Rb: Root Bark; SER: Sertaconazole; SI: *Senna italica*; SO: *Senna occidentalis*; Sspinoso: *Strychnos spinosa*; S: Stem; SV: *Spermacoce verticillata*; TA: *Terminalia avicennioides*; Tb: Trunk Bark; TL: *Terminalia leiocarpa*; VAN: Vancomycin; VN: *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa*; VS: *Vachellia seyal*

References

- Abdel-Aty, A.M., Hamed, M.B., Salama, W.H., Ali, M.M., Fahmy, A.S., Mohamed, S.A., 2019. *Ficus carica*, *Ficus sycomorus* and *Euphorbia tirucalli* latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 20, 101199. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>
- Adam, J.G., 1956. Les Eucalyptus de la presqu'île du Cap-Vert (Dakar), et de quelques régions de l'Afrique Occidentale Française. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* 3, 457–511. <https://doi.org/10.3406/jatba.1956.2330>
- African Plant Database (version 4.0.0). Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria, from <<http://africanplantdatabase.ch>> (accessed 21.09.23).
- Ahmadu, A., Grougnet, R., Magiatis, P., Skaltsounis, A., Tillequin, F., 2007. New peltogynoids from *Ficus sycomorus* L. *Planta Med.* 73, s-2007-987165. <https://doi.org/10.1055/s-2007-987165>
- Ahmadu, A., Agunu, A., Enhimidu, J., Magiatis, P., Skaltsounis, A., 2007. Antibacterial, anti-diarrheal activity of *Daniellia oliveri* and *Ficus sycomorus* and their constituents. *Planta Med.* 73, s-2007-986953. <https://doi.org/10.1055/s-2007-986953>
- Aleksic Sabo, V., Knezevic, P., 2019. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Ind. Crops Prod.* 132, 413–429. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.051>
- Al-matani, S.K., Al-Wahaibi, R.N.S., Hossain, M.A., 2015. In vitro evaluation of the total phenolic and flavonoid contents and the antimicrobial and cytotoxicity activities of crude fruit extracts with different polarities from *Ficus sycomorus*. *Pac. Sci. Rev. Nat. Sci. Eng.* 17, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.psra.2016.02.002>
- Andrioli, W., Conti, R., Manfrim, V., Toledo, J., Cruz, Â., Nanayakkara, D., Araújo, J., Pupo, M., Bastos, J., 2010. Anti-leishmania activity of isochromenes from an unidentified endophytic fungus isolated from *Spermacoce verticillata* L. *Planta Med.* 76, s-0030-1264736. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1264736>
- Arbain, D., Saputri, G.A., Syahputra, G.S., Widiyastuti, Y., Susanti, D., Taher, M., 2021. Genus *Pterocarpus*: A review of ethnopharmacology, phytochemistry, biological activities, and clinical evidence. *J. Ethnopharmacol.* 278, 114316. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114316>

- Asgin, N., Otlu, B., 2020. Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of *Corynebacterium striatum* Isolated in a Tertiary Hospital in Turkey. *Pathogens* 9, 136. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020136>
- Ayoub Moubareck, C., Hammoudi Halat, D., 2020. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics* 9, 119. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030119>
- Babajide, O.J., Babajide, O.O., Daramola, A.O., Mabusela, W.T., 2008. Flavonols and an oxychromonol from *Piliostigma reticulatum*. *Phytochemistry* 69, 2245–2250. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.05.003>
- Bafandeh, S., Khodadadi, E., Ganbarov, K., Asgharzadeh, M., Köse, Ş., Samadi Kafil, H., 2023. Natural Products as a Potential Source of Promising Therapeutics for COVID-19 and Viral Diseases. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* 2023, 5525165. <https://doi.org/10.1155/2023/5525165>
- Bajaj, A., Mishra, B., Loomba, P.S., Thakur, A., Sharma, A., Rathod, P.G., Das, M., Bhasin, A., 2020. Tigecycline Susceptibility of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter* spp. isolates from Respiratory Tract: A Tertiary Care Centre Study. *J. Krishna Inst. Med. Sci. JKIMSU* 9, 1–7.
- Baldé, A.M., Pieters, L.A., Gergely, A., Wray, V., Claeys, M., Vlietinck, A.J., 1991. Spermacoceine, a bis-indole alkaloid from *Borreria verticillata*. *Phytochemistry* 30, 997–1000. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85294-A](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85294-A)
- Balde, Oulare K, Barry M. S, Diallo M. S. T, Balde E. S, Diane S, Vlietinck A. J, 2014. Chemotherapeutical Evaluation of *Borreria verticillata* Extracts. *J. Plant Sci.* 3, 28. <https://doi.org/10.11648/j.jps.s.2015030102.16>
- Begum, S., Farhat, Siddiqui, B.S., 1997. Triterpenoids from the Leaves of *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusa*. *J. Nat. Prod.* 60, 20–23. <https://doi.org/10.1021/np960535z>
- Belouzard, S., Machelart, A., Sencio, V., Vausselein, T., Hoffmann, E., Deboosere, N., Rouillé, Y., Desmarests, L., Séron, K., Danneels, A., Robil, C., Belloy, L., Moreau, C., Piveteau, C., Biela, A., Vandeputte, A., Heumel, S., Deruyter, L., Dumont, J., Leroux, F., Engelmann, I., Alidjinou, E.K., Hober, D., Brodin, P., Beghyn, T., Trottein, F., Deprez, B., Dubuisson, J., 2022. Clofoctol inhibits SARS-CoV-2 replication and reduces lung pathology in mice. *PLoS Pathog.* 18, e1010498. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010498>
- Beressa, T.B., Deyno, S., Mtewa, A.G., Aidah, N., Tuyiringire, N., Lukubye, B., Weisheit, A., Tolo, C.U., Ogwang, P.E., 2021. Potential Benefits of Antiviral African Medicinal Plants in the Management of Viral Infections: Systematic Review. *Front. Pharmacol.* 12, 682794. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.682794>
- Beuscher, N., Bodinet, C., Neumann-Haefelin, D., Marston, A., Hostettmann, K., 1994. Antiviral activity of African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 42, 101–109. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90103-1](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90103-1)
- Bosisio, E., Mascetti, D., Verotta, L., Zani, F., Mazza, P., Talbot, M., 1997. *Guiera senegalensis* J. F. Gmelin (Combretaceae): Biological activities and chemical investigation. *Phytomedicine* 3, 339–348. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(97\)80007-4](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(97)80007-4)
- Boyer, A., Amadeo, B., Vargas, F., Yu, M., Maurice-Tison, S., Dubois, V., Bébéar, C., Rogues, A.M., Gruson, D., 2011. Severe community-acquired Enterobacter pneumonia: a plea for greater awareness of the concept of health-care-associated pneumonia. *BMC Infect. Dis.* 11, 120. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-11-120>
- Cheng, Z.-H., Yu, B.-Y., Yang, X.-W., 2002. 27-Nor-triterpenoid glycosides from *Mitragyna inermis*. *Phytochemistry* 61, 379–382. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00244-3)
- Chow, E.J., Uyeki, T.M., Chu, H.Y., 2023. The effects of the COVID-19 pandemic on community respiratory virus activity. *Nat. Rev. Microbiol.* 21, 195–210. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00807-9>
- Cock, I.E., 2015. The medicinal properties and phytochemistry of plants of the genus *Terminalia* (Combretaceae). *Inflammopharmacology* 23, 203–229. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0246-z>
- Conserva, L., Ferreira, J., 2012. *Borreria* and *Spermacoce* species (Rubiaceae): A review of their ethnomedicinal properties, chemical constituents, and biological activities. *Pharmacogn. Rev.* 6, 46. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95866>

- Czubak, J., Stolarczyk, K., Orzeł, A., Frączek, M., Zatoński, T., 2021. Comparison of the clinical differences between COVID-19, SARS, influenza, and the common cold: A systematic literature review. *Adv. Clin. Exp. Med. Off. Organ Wroclaw Med. Univ.* 30, 109–114. <https://doi.org/10.17219/acem/129573>
- Daniel, T., emikotan, K., F., D. A., I., 2020. Toxicology studies and antibacterial activities of the ethyl acetate extract of *Piliostigma reticulatum*. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.* 7, 24–35. <https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2020.705.004>
- Daniels, A.O., Owoyemi, O.O., Famurewa, O., Oluyeye, J.O., 2019. Characterization of Sesquiterpenes and Antibacterial Activities of Extracts from *Piliostigma reticulatum* (DL.) Hochst and *Cleistopholis patens* (Benth.) Engl & Diels against *Shigella dysenteriae* and *Streptococcus pyogenes*. *Microbiol. Res. J. Int.* 1–14. <https://doi.org/10.9734/mrji/2019/v27i530112>
- Davin-Regli, A., Lavigne, J.-P., Pagès, J.-M., 2019. *Enterobacter* spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 32, e00002-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19>
- de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Sinan, K.I., Zengin, G., Bene, K., Etienne, O.K., Leyva-Jiménez, F.J., Fernández-Ochoa, Á., del Carmen Villegas-Aguilar, M., Mahomoodally, M.F., Lobine, D., Ferrante, C., Segura-Carretero, A., 2021. Bioactivity assays, chemical characterization, ADMET predictions and network analysis of *Khaya senegalensis* A. Juss (Meliaceae) extracts. *Food Res. Int.* 139, 109970. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109970>
- de Moraes Lima, G.R., de Sales, I.R.P., Caldas Filho, M.R.D., de Jesus, N.Z.T., de Sousa Falcão, H., Barbosa-Filho, J.M., Cabral, A.G.S., Souto, A.L., Tavares, J.F., Batista, L.M., 2012. Bioactivities of the Genus *Combretum* (Combretaceae): A Review. *Molecules* 17, 9142–9206. <https://doi.org/10.3390/molecules17089142>
- Demoré, B., Charmillon, A., 2018. Chapitre 44 - Traitement des infections respiratoires basses et hautes, in: *Pharmacie Clinique et Thérapeutique* (Cinquième Édition). Elsevier Masson, Paris, pp. 801-814.e1. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75077-9.00044-X>
- Dewi, B.E., Angelina, M., Meilawati, L., Hartati, S., Dewijanti, I.D., Santi, M.R., Desti, H., Sudiro, M., 2018. Antiviral Effect of *Pterocarpus indicus* Willd Leaves Extract Against Replication of Dengue Virus (DENV) In Vitro. *J. Trop. Life Sci.* 8, 55–61. <https://doi.org/10.11594/jtls.08.01.10>
- Diatta, C., Gueye, M., Akpo, L., 2013. Les plantes médicinales utilisées contre les dermatoses dans la pharmacopée Baïnouk de Djibonker, région de Ziguinchor (Sénégal). *J. Appl. Biosci.* 70, 5599. <https://doi.org/10.4314/jab.v70i1.98762>
- Diatta, Diatta, W., Fall, A.D., Dieng, S.I.M., Mbaye, A.I., Sarr, A., Seye, M.B., 2019. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants Used to Treat Human Diseases in the Tivaouane Department, Senegal. *Eur. J. Med. Plants* 1–13. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2019/v30i330178>
- Dièye, A.M., Sarr, A., Diop, S.N., Ndiaye, M., Sy, G.Y., Diarra, M., Rajraji/Gaffary, I., Ndiaye/Sy, A., Faye, B., 2008. Medicinal plants and the treatment of diabetes in Senegal: survey with patients. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 22, 211–216. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00563.x>
- Diop, E.A., Queiroz, E.F., Kicka, S., Rudaz, S., Diop, T., Soldati, T., Wolfender, J.-L., 2018. Survey on medicinal plants traditionally used in Senegal for the treatment of tuberculosis (TB) and assessment of their antimycobacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 216, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.037>
- Dirar, A.I., Devkota, H.P., 2021. Ethnopharmacological uses, phytochemistry and pharmacological activities of *Guiera senegalensis* J.F. Gmel. (Combretaceae). *J. Ethnopharmacol.* 267, 113433. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113433>
- Eldeen, I.M.S., Van Heerden, F.R., Van Staden, J., 2010. In vitro biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of *Acacia nilotica* subsp. *kraussiana*. *J. Ethnopharmacol.* 128, 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.057>
- Elegami, A.A., El-Nima, E.I., Tohami, M.S.E., Muddathir, A.K., 2002. Antimicrobial activity of some species of the family Combretaceae. *Phytother. Res.* 16, 555–561. <https://doi.org/10.1002/ptr.995>

- El-Kashak, W.A., Osman, S.M., Gaara, A.H., El-Toumy, S.A., Mohamed, T.K., Brouard, I., 2017. Phenolic metabolites, biological activities, and isolated compounds of *Terminalia muelleri* extract. *Pharm. Biol.* 55, 2277–2284. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1406531>
- El-Sayyad, S.M., Makboul, M.A., Wahman, R., Farag, S.F., 2020. A New Dihydrocoumarin from *Ficus sycomorus*. *Chem. Nat. Compd.* 56, 1013–1015. <https://doi.org/10.1007/s10600-020-03216-7>
- Farsani, S.M.J., Dijkman, R., Jebbink, M.F., Goossens, H., Ieven, M., Deijs, M., Molenkamp, R., van der Hoek, L., 2012. The first complete genome sequences of clinical isolates of human coronavirus 229E. *Virus Genes* 45, 433–439. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0807-9>
- Ferreira Júnior, J.C., Lyra Lemos, R.P., Conserva, L.M., 2012. Chemical constituents from *Spermaceoce verticillata* (Rubiaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 44, 208–211. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.05.011>
- Fiot, J., Baghdikian, B., Boyer, L., Mahiou, V., Azas, N., Gasquet, M., Timon-David, P., Balansard, G., Ollivier, E., 2005. HPLC quantification of uncarine D and the anti-plasmodial activity of alkaloids from leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze. *Phytochem. Anal.* 16, 30–33. <https://doi.org/10.1002/pca.806>
- Fiot, J., Sanon, S., Azas, N., Mahiou, V., Jansen, O., Angenot, L., Balansard, G., Ollivier, E., 2006. Phytochemical and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae). *J. Ethnopharmacol.* 106, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.030>
- Gun, L.D., Chang, Y.-S., Park, Y., Hahm, K.-S., Woo, E.-R., 2002. Antimicrobial Effects of Ocotillone Isolated from Stem Bark of *Ailanthus altissima* 12, 854–857.
- Häfliger, E., Atkinson, A., Marschall, J., 2020. Systematic review of healthcare-associated *Burkholderia cepacia* complex outbreaks: presentation, causes and outbreak control. *Infect. Prev. Pract.* 2, 100082. <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2020.100082>
- Hakem, A., Desmarests, L., Sahli, R., Malek, R.B., Camuzet, C., François, N., Lefèvre, G., Samailie, J., Moureu, S., Sahpaz, S., Belouzard, S., Ksouri, R., Séron, K., Rivière, C., 2023. Luteolin Isolated from *Juncus acutus* L., a Potential Remedy for Human Coronavirus 229E. *Molecules* 28, 4263. <https://doi.org/10.3390/molecules28114263>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T.S., Herrler, G., Wu, N.-H., Nitsche, A., Müller, M.A., Drosten, C., Pöhlmann, S., 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., Shi, Z.-L., 2021. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.* 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Jossang, A., Poussel, J.-L., Bodo, B., 1994. Combreglutinin, a Hydrolyzable Tannin from *Combretum glutinosum*. *J. Nat. Prod.* 57, 732–737. <https://doi.org/10.1021/np50108a008>
- Kanwal, S., Vaitla, P., 2023. *Streptococcus Pyogenes*, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Kerharo, 1977. [Senegalese pharmacopoeia. Note on several traditional leprosy treatments practiced in Baouer (prefecture of Kebemer)]. *Bull. Soc. Med. Afr. Noire Lang. Fr.* 22, 321–329.
- Kerharo, 1971. L'aromathérapie et la gemmothérapie dans la pharmacopée sénégalaise traditionnelle. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* 18, 109–141. <https://doi.org/10.3406/jatba.1971.6847>
- Kerharo, 1967. [Senegalese pharmacopoeia: catalog of medicinal and toxic plants of Wolof and Serer, augmented by the mention of common and vernacular names, of properties and uses, generally recognized in traditional medicine]. *Ann. Pharm. Fr.* 25, 385–438.
- Kerharo & Adam, 1974. *La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*, Editions VIGOT FRÈRES. ed. 23, Rue de l'Ecole de Médecine, 75006 PARIS.

- Kerharo, Adam, 1964. Plantes médicinales et toxiques des Peul et des Toucouleur du Sénégal. J. Agric. Trop. Bot. Appliquée 11, 384–444. <https://doi.org/10.3406/jatba.1964.2785>
- Kesheh, M.M., Hosseini, P., Soltani, S., Zandi, M., 2022. An overview on the seven pathogenic human coronaviruses. Rev. Med. Virol. 32, e2282. <https://doi.org/10.1002/rmv.2282>
- Le Grand, A., 1989. Les phytothérapies anti-infectieuses de la forêt-savane, senegal (afrique occidentale) III: Un resume des substances phytochimiques et l'activite anti-microbienne de 43 species. J. Ethnopharmacol. 25, 315–338. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(89\)90037-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(89)90037-8)
- Le Grand, A., Wondergem, P.A., 1987. Les phytothérapies anti-infectieuses de la foretsavane, Senegal (afrique occidentale) I. Un inventaire. J. Ethnopharmacol. 21, 109–125. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(87\)90122-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(87)90122-X)
- Le Grand, A., Wondergem, P.A., Verpoorte, R., Pouset, J.L., 1988. Anti-infectious phytotherapies of the tree-savannah of senegal (West-Africa) II. Antimicrobial activity of 33 species. J. Ethnopharmacol. 22, 25–31. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90227-9](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90227-9)
- Liu, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X., 2009. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng. Food Chem. 112, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.038>
- Maniatis, A.N., Palermos, J., Kantzanou, M., Maniatis, N.A., Christodoulou, C., Legakis, N.J., 1996. Streptococcus agalactiae: a vaginal pathogen? J. Med. Microbiol. 44, 199–202. <https://doi.org/10.1099/00222615-44-3-199>
- Mann, A., Ibrahim, K., Oyewale, A.O., Amupitan, J.O., Fatope, M.O., Okogun, J.I., 2012. Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of Terminalia avicennioides. Am. J. Chem. 1, 52–55. <https://doi.org/10.5923/j.chemistry.20110102.11>
- Mardassi, A., Mathlouthi, N., Mezri, S., Ben Mhamed, R., Akkari, K., Benzarti, S., 2014. Les manifestations ORL du reflux gastro-oesophagien chez l'adulte. Ann. Fr. Oto-Rhino-Laryngol. Pathol. Cervico-Faciale 131, A108. <https://doi.org/10.1016/j.aforl.2014.07.215>
- Maregesi, S., Van Miert, S., Pannecouque, C., Feiz Haddad, M., Hermans, N., Wright, C., Vlietinck, A., Apers, S., Pieters, L., 2010. Screening of Tanzanian Medicinal Plants against *Plasmodium falciparum* and Human Immunodeficiency Virus. Planta Med. 76, 195–201. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1186024>
- Maregesi, S.M., Pieters, L., Ngassapa, O.D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Berghe, D.A.V., Vlietinck, A.J., 2008. Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. J. Ethnopharmacol. 119, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.05.033>
- Mielko, K.A., Jabłoński, S.J., Milczewska, J., Sands, D., Łukaszewicz, M., Młynarz, P., 2019. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. World J. Microbiol. Biotechnol. 35, 178. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>
- Milner, D.A., Pecora, N., Solomon, I., Soong, T.R. (Eds.), 2015. Staphylococcus Species Infections, in: Diagnostic Pathology: Infectious Diseases, Diagnostic Pathology. Elsevier, Philadelphia, p. II-2–18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37677-8.50051-6>
- Moreira, V.F., Oliveira, R.R., Mathias, L., Braz-Filho, R., Curcino Vieira, I.J., 2010. New Chemical Constituents from *Borreria verticillata* (Rubiaceae). Helv. Chim. Acta 93, 1751–1757. <https://doi.org/10.1002/hlca.200900457>
- Moulin, G., Monnet, O., Jacquier, A., Vidal, V., Façon, F., Paris, J., Aycard-Ayari, L., Varoquaux, A., Bartoli, J.M., 2005. Urgences cervico-faciales : infections de la sphere ORL. J. Radiol. 86, 1326. [https://doi.org/10.1016/S0221-0363\(05\)75443-3](https://doi.org/10.1016/S0221-0363(05)75443-3)
- Muhammad, Shaban, N.Z., Elrashidy, F.H., Ghareeb, D.A., 2020. Antioxidant, Anti-inflammatory, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Combretum glutinosum and Gardenia aqualla Extracts in vitro. Free Radic. Antioxid. 9, 66–72. <https://doi.org/10.5530/fra.2019.2.12>
- Nawrot, J., Gornowicz-Porowska, J., Budzianowski, J., Nowak, G., Schroeder, G., Kurczewska, J., 2022. Medicinal Herbs in the Relief of Neurological, Cardiovascular,

- and Respiratory Symptoms after COVID-19 Infection A Literature Review. *Cells* 11, 1897. <https://doi.org/10.3390/cells11121897>
- Ndao, M., Thiam, K., Mbaye, F.B.R., Sarr, M.F., Sagne, J.M.A.N., Dia, S., Ka, W., Mbow, A., Kane, Y.D., Badiane, N.O.T., 2018. Prévalence de certaines manifestations respiratoires dans la région de Dakar : corrélation avec le niveau de particule en suspension fine inférieure à 10 μm (PM10). *Rev. Mal. Respir.* 35, A231. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2017.10.536>
- Ndiaye, M., Diop, B.K., Sow, M.-L., 2009. Différences dans la prise en charge de l'asthme associé à la polypose nasosinusienne : cas de deux patients travaillant dans les secteurs privé et informel sénégalais. *Rev. Fr. Allergol.* 49, 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2009.01.015>
- Obakiro, S.B., Kiprop, A., Kowino, I., Kigundu, E., Odero, M.P., Omara, T., Bunalema, L., 2020. Ethnobotany, ethnopharmacology, and phytochemistry of traditional medicinal plants used in the management of symptoms of tuberculosis in East Africa: a systematic review. *Trop. Med. Health* 48, 68. <https://doi.org/10.1186/s41182-020-00256-1>
- Okaiyeto, K., Oguntibeju, O.O., 2021. African Herbal Medicines: Adverse Effects and Cytotoxic Potentials with Different Therapeutic Applications. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18, 5988. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115988>
- Pousset, 2004. Plantes médicinales d'Afrique: comment les reconnaître et les utiliser, Je choisis le naturel ! SECUM Édisud, [S.I.] Aix-en-Provence.
- Pousset, J.-L., Kerharo, J., Maynard, G., Monseur, X., Cavé, A., Goutarel, R., 1973. La borrerine: Nouvel alcaloïde isolé du *Borreria verticillata*. *Phytochemistry* 12, 2308–2310. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(73\)85148-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(73)85148-9)
- Ramirez, J.A., Musher, D.M., Evans, S.E., Dela Cruz, C., Crothers, K.A., Hage, C.A., Aliberti, S., Anzueto, A., Arancibia, F., Arnold, F., Azoulay, E., Blasi, F., Bordon, J., Burdette, S., Cao, B., Cavallazzi, R., Chalmers, J., Charles, P., Chastre, J., Claessens, Y.-E., Dean, N., Duval, X., Fartoukh, M., Feldman, C., File, T., Froes, F., Furmanek, S., Gnoni, M., Lopardo, G., Luna, C., Maruyama, T., Menendez, R., Metersky, M., Mildvan, D., Mortensen, E., Niederman, M.S., Pletz, M., Rello, J., Restrepo, M.I., Shindo, Y., Torres, A., Waterer, G., Webb, B., Welte, T., Wittenrath, M., Wunderink, R., 2020. Treatment of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompromised Adults: A Consensus Statement Regarding Initial Strategies. *Chest* 158, 1896–1911. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.05.598>
- Romagnoli, S., Peris, A., De Gaudio, A.R., Geppetti, P., 2020. SARS-CoV-2 and COVID-19: From the Bench to the Bedside. *Physiol. Rev.* 100, 1455–1466. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2020>
- Roumy, V., Ruiz Macedo, J.C., Bonneau, N., Samaillie, J., Azaroual, N., Encinas, L.A., Rivière, C., Hennebelle, T., Sahpaz, S., Antherieu, S., Pinçon, C., Neut, C., Siah, A., Gutierrez-Choquevilca, A.-L., Ruiz, L., 2020. Plant therapy in the Peruvian Amazon (Loreto) in case of infectious diseases and its antimicrobial evaluation. *J. Ethnopharmacol.* 249, 112411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112411>
- Rwangabo, P.C., Claeys, M., Pieters, L., Corthout, J., Vanden Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., 1988. Umuhengerin, a New Antimicrobially Active Flavonoid from *Lantana trifolia*. *J. Nat. Prod.* 51, 966–968. <https://doi.org/10.1021/np50059a026>
- Sadiq, M.B., Hanpithakpong, W., Tarning, J., Anal, A.K., 2015. Screening of phytochemicals and in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *Ind. Crops Prod.* 77, 873–882. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.067>
- Sadiq, M.B., Tharaphan, P., Chotivanich, K., Tarning, J., Anal, A.K., 2017. In vitro antioxidant and antimalarial activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *BMC Complement. Altern. Med.* 17, 372. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1878-x>
- Sánchez, M.B., 2015. Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front. Microbiol.* 6, 658. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00658>
- Sandabe, U.K., Onyeyili, P.A., Chibuzo, G.A., 2006. Phytochemical screening and effect of aqueous extract of *Ficus sycomorus* L. (Moraceae) stem bark on muscular activity in laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.* 104, 283–285. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.066>

- Sene, M., Ndiaye, D., Gassama, A., Barboza, F.S., Mbaye, M.D., Yoro, S.Y.G., 2019. Analgesic and Anti-inflammatory Activities of Triterpenoid Molecules Isolated from the Leaves of *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae). *J. Adv. Med. Pharm. Sci.* 1–8. <https://doi.org/10.9734/jamps/2018/v19i430096>
- Shellard, E.J., Sarpong, K., 2011. The alkaloids of the leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze. *J. Pharm. Pharmacol.* 21, 113S-117S. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1969.tb08359.x>
- Shellard, E.J., Sarpong, K., 1971. Isolation of speciogynine from the leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.), O. Kuntze. *J. Pharm. Pharmacol.* 23, 559–560. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1971.tb08716.x>
- Shuaibu, M.N., Wuyep, P.T.A., Yanagi, T., Hirayama, K., Ichinose, A., Tanaka, T., Kouno, I., 2008. Trypanocidal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennoides*. *Parasitol. Res.* 102, 697–703. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0815-1>
- Silén, H., Salih, E.Y.A., Mgbeahuruik, E.E., Fyhrqvist, P., 2023. Ethnopharmacology, Antimicrobial Potency, and Phytochemistry of African *Combretum* and *Pteleopsis* Species (Combretaceae): A Review. *Antibiotics* 12, 264. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020264>
- Silva, O., Gomes, E.T., 2003. Guieranone A, a Naphthyl Butenone from the Leaves of *Guiera senegalensis* with Antifungal Activity. *J. Nat. Prod.* 66, 447–449. <https://doi.org/10.1021/np0204904>
- Société Française d'Ethnopharmacologie, <http://www.ethnopharmacologia.org/recherche-dans-prelude/> (accessed 21.09.23).
- Stansfield, J., Dobbs, S., Harrison, R., Lee, K., Sharma, S., Okour, K., Agrawal, S., Miah, M.S., 2021. Management of ENT emergencies during the coronavirus disease 2019 pandemic. *J. Laryngol. Otol.* 135, 117–124. <https://doi.org/10.1017/S0022215121000530>
- Su, P.-Y., Huang, A.-H., Lai, C.-H., Lin, H.-F., Lin, T.-M., Ho, C.-H., 2020. Extensively drug-resistant *Haemophilus influenzae* – emergence, epidemiology, risk factors, and regimen. *BMC Microbiol.* 20, 102. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01785-9>
- Tittikpina, N.K., Nana, F., Fontanay, S., Philippot, S., Batawila, K., Akpagana, K., Kirsch, G., Chaimbault, P., Jacob, C., Duval, R.E., 2018. Antibacterial activity and cytotoxicity of *Pterocarpus erinaceus* Poir extracts, fractions and isolated compounds. *J. Ethnopharmacol.* 212, 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.020>
- Tittikpina, N.K., Sandjo, L.P., Nana, F., Vaillant, V., Fontanay, S., Philippot, S., Diop, Y.M., Batawila, K., Akpagana, K., Kirsch, G., Duval, R.E., Jacob, C., Chaimbault, P., 2019. Investigation of the antifungal activity of *Pterocarpus erinaceus* led to the identification of two new diarylpropanoids from its roots. *Phytochem. Lett.* 32, 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.05.013>
- Toukam, P.D., Tagatsing, M.F., Tchokouaha Yamthe, L.R., Baishya, G., Barua, N.C., Tchinda, A.T., Mbafor, J.T., 2018. Novel saponin and benzofuran isoflavonoid with in vitro anti-inflammatory and free radical scavenging activities from the stem bark of *Pterocarpus erinaceus* (Poir). *Phytochem. Lett.* 28, 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.09.006>
- Toure, H., Balansard, G., Pauli, A.M., Scotto, A.M., 1996. Pharmacological investigation of alkaloids from leaves of *Mitragyna inermis* (Rubiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 54, 59–62. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01446-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01446-8)
- Traore, F., Gasquet, M., Laget, M., Guiraud, H., Di Giorgio, C., Azas, N., Doumbo, O., Timon-David, P., 2000. Toxicity and genotoxicity of antimalarial alkaloid rich extracts derived from *Mitragyna inermis* O. Kuntze and *Nauclea latifolia*. *Phytother. Res. PTR* 14, 608–611. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200012\)14:8<608::aid-ptr667>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200012)14:8<608::aid-ptr667>3.0.co;2-d)
- WFO: World Flora Online. Version v.2019.10. Published on the Internet; <http://www.worldfloraonline.org> (accessed 11.11.23).
- WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [WWW Document], 2023. URL <https://covid19.who.int> (accessed 5.22.23).

- 1148 Wong, D., Nielsen, T.B., Bonomo, R.A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., Spellberg, B., 2017.
1149 Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: a Century of
1150 Challenges. Clin. Microbiol. Rev. 30, 409–447. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>
1151 World Health Organization, 2021. Global antimicrobial resistance and use surveillance system
1152 (GLASS) report: 2021. World Health Organization, Geneva.
1153 Yahaya, O., Yabefa, J.A., Usman, B., 2012. Phytochemical Screening and Antibacterial
1154 Activity of Combretum glutinosum Extract against Some Human Pathogens. Br. J.
1155 Pharmacol. Toxicol. 3, 233–236.
1156

1157

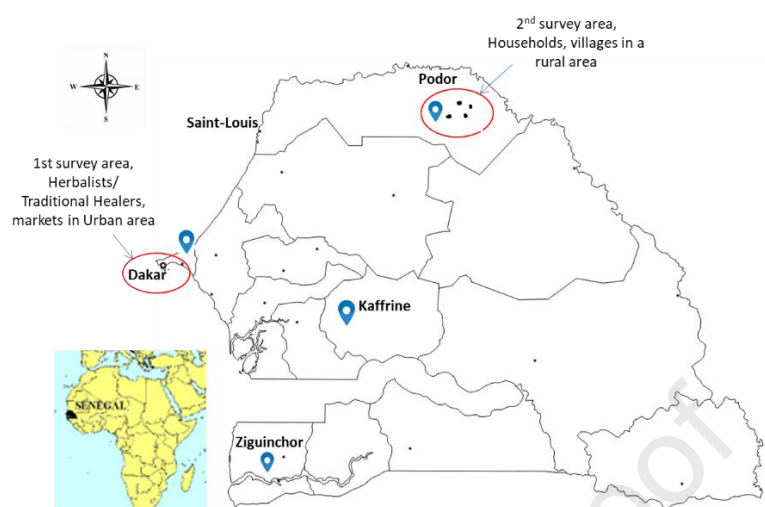
Figures

Figure 1. Map of Senegal with the two survey areas and the four plant collection areas.

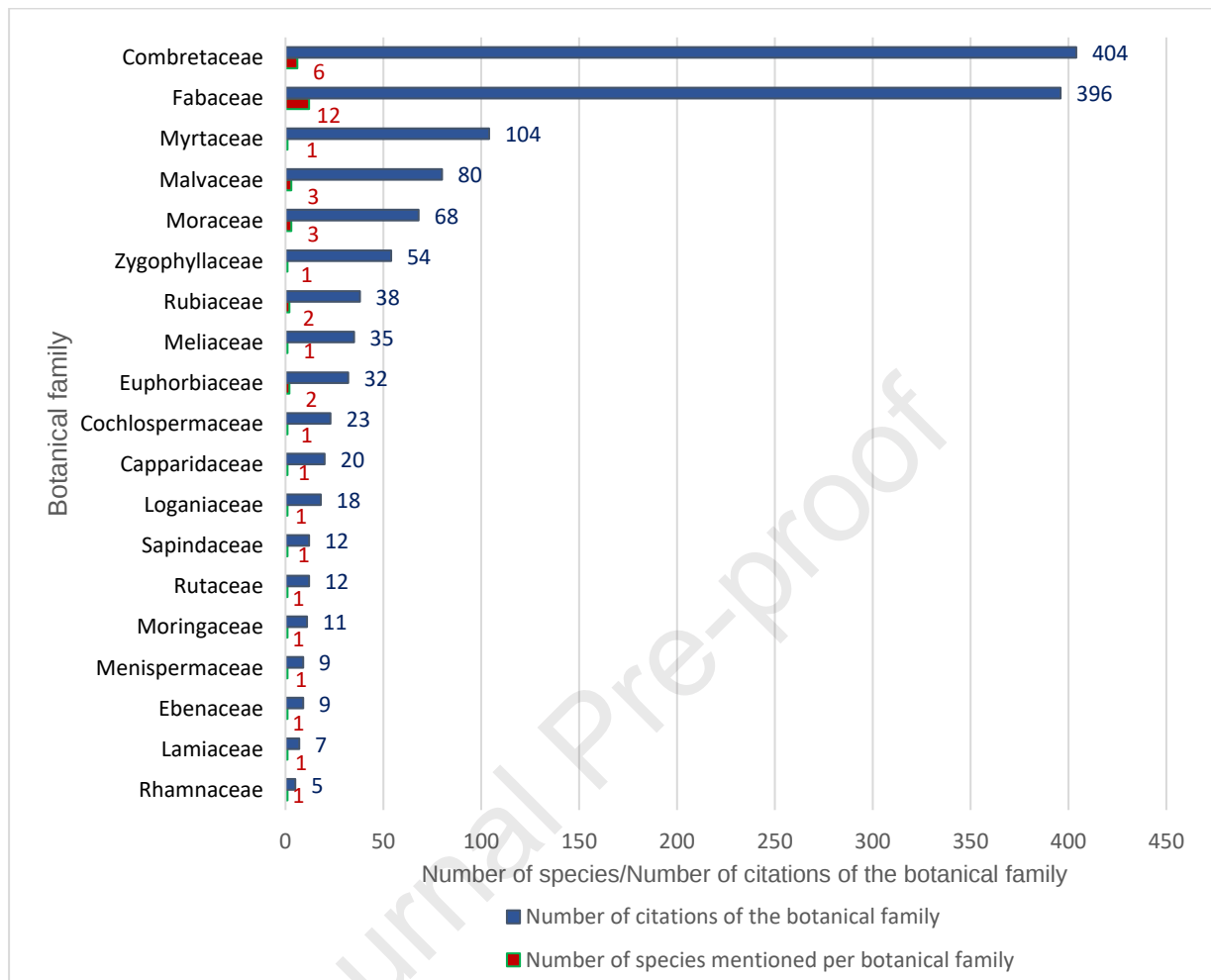


Figure 2. Distribution of the botanical families according to the number of citations reported and the number of species mentioned.

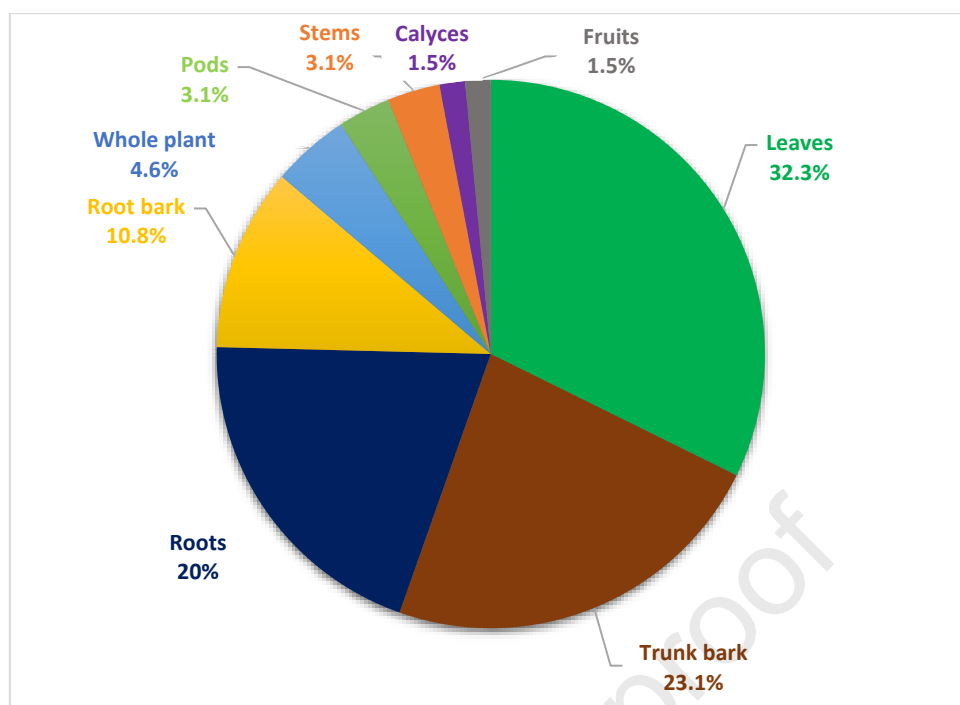


Figure 3. Plant parts used.

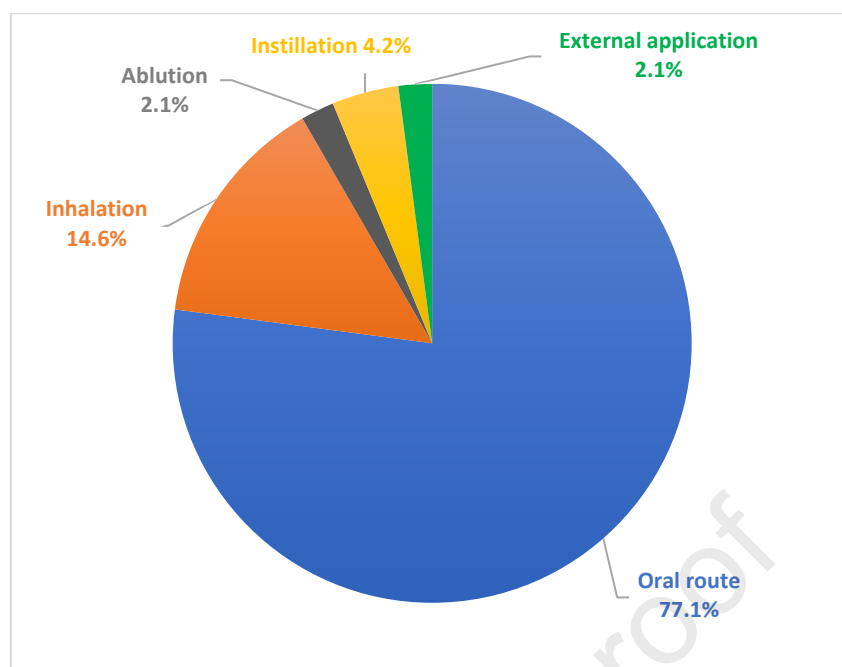


Figure 4. Mode of administration.

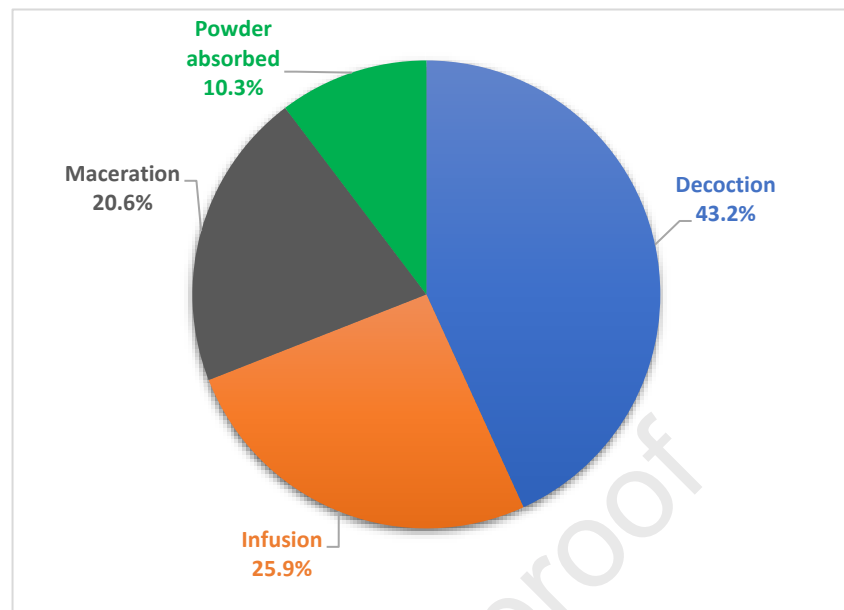


Figure 5. Mode of preparation according to the oral route of administration

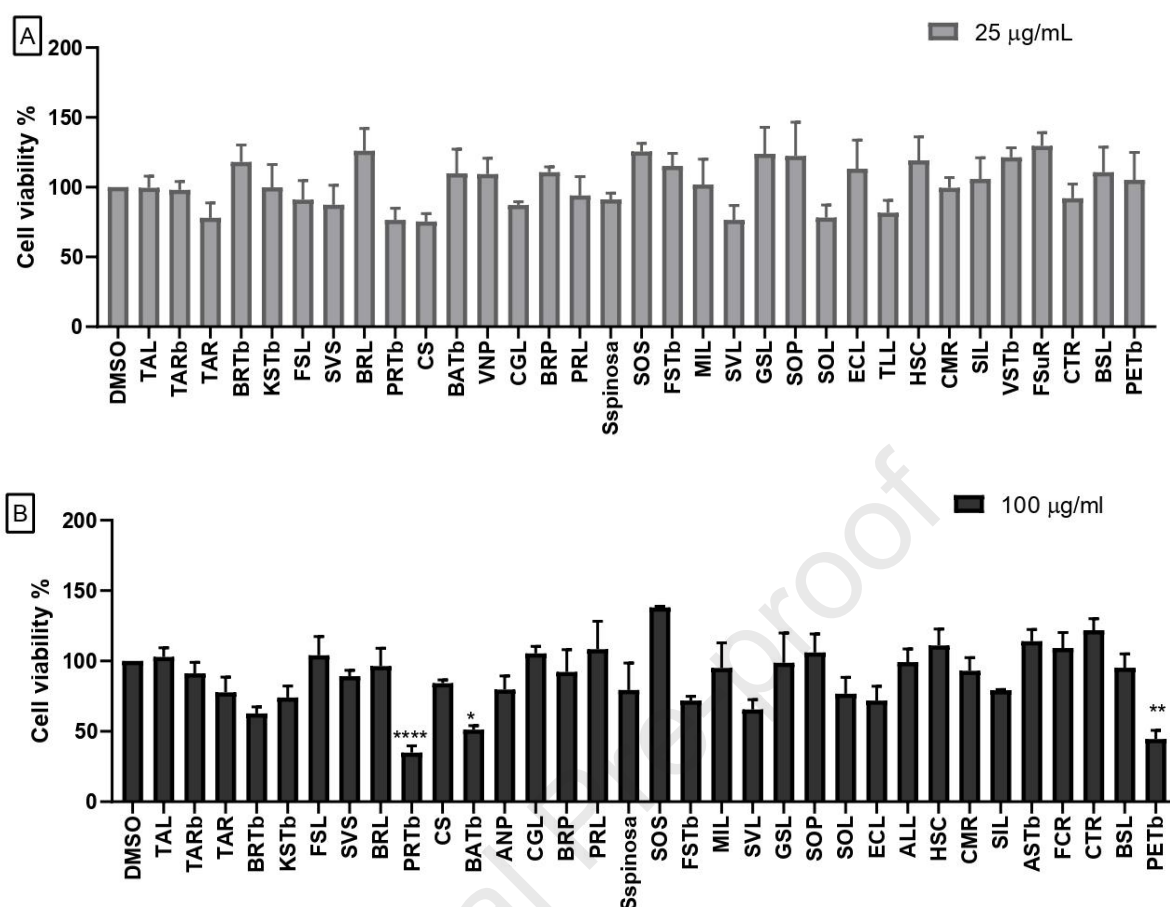


Figure 6. Effect of the crude extracts on the Huh-7 cell proliferation by using the MTS at (A) 25 µg/mL and (B) 100 µg/mL. Data are expressed relative to the DMSO control. Data were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn tests and are expressed as mean $\pm$ SEM from three independent experiments, performed in triplicates. Significantly different from the control: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

Piliostigma reticulatum (PR), *Combretum glutinosum* (CG), *Guiera senegalensis* (GS), *Spermacoce verticillata* (SV), *Bauhinia rufescens* (BR), *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (VN), *Balanites aegyptiaca* (BA), *Mitragyna inermis* (MI), *Ficus sycomorus* (FS), *Khaya senegalensis* (KS), *Chrozophora senegalensis* (CS), *Strychnos spinosa* (Sspinoso), *Senna occidentalis* (SO), *Terminalia avicennioides* (TA), *Eucalyptus camaldulensis* (EC), *Terminalia leiocarpa* (TL), *Hibiscus sabdarifa* (HS), *Combretum micranthum* (CM), *Senna italica* (SI), *Vachellia seyal* (VS), *Ficus sur* (FSu), *Cochlospermum tinctorium* (CT), *Boscia senegalensis* (BS), *Pterocarpus erinaceus* (PE)

Plant parts: L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; P: pod; C: calyces

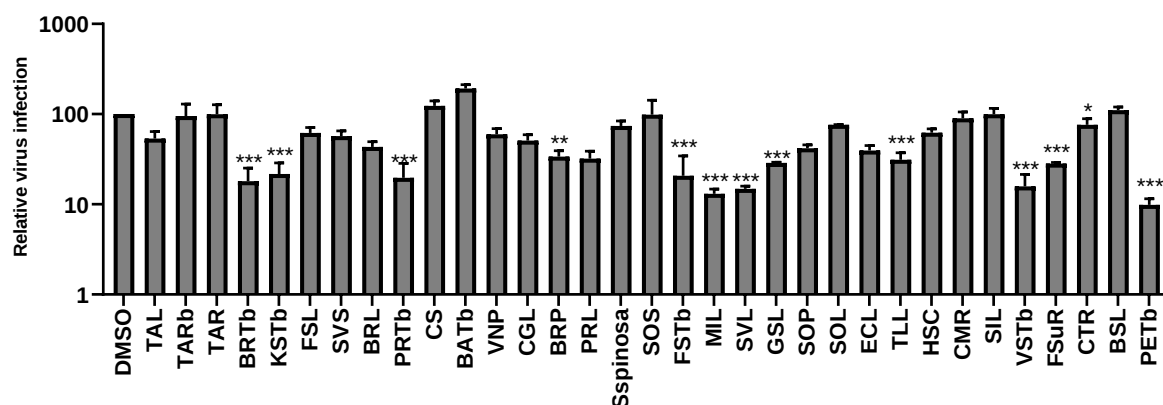


Figure 7. Antiviral activity of the crude extracts on HCoV-229E-Luc. Huh-7 cells were inoculated with the different extracts at 25 µg/mL. Cells were lysed 7h post-inoculation and luciferase activity was quantified. Data are expressed relative to the DMSO control. Data were analyzed by Kruskal-Wallis followed by Dunn post-hoc test and are expressed as mean ± SEM from three independent experiments, performed in triplicates. Significantly different from the control: *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

Piliostigma reticulatum (PR), *Combretum glutinosum* (CG), *Guiera senegalensis* (GS), *Spermacoce verticillata* (SV), *Bauhinia rufescens* (BR), *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (VN), *Balanites aegyptiaca* (BA), *Mitragyna inermis* (MI), *Ficus sycomorus* (FS), *Khaya senegalensis* (KS), *Chrozophora senegalensis* (CS), *Strychnos spinosa* (Sspinosa), *Senna occidentalis* (SO), *Terminalia avicennioides* (TA), *Eucalyptus camaldulensis* (EC), *Terminalia leiocarpa* (TL), *Hibiscus sabdarifa* (HS), *Combretum micranthum* (CM), *Senna italica* (SI), *Vachellia seyal* (VS), *Ficus sur* (FSu), *Cochlospermum tinctorium* (CT), *Boscia senegalensis* (BS), *Pterocarpus erinaceus* (PE)

Plant parts: L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; P: pod; C: calyces

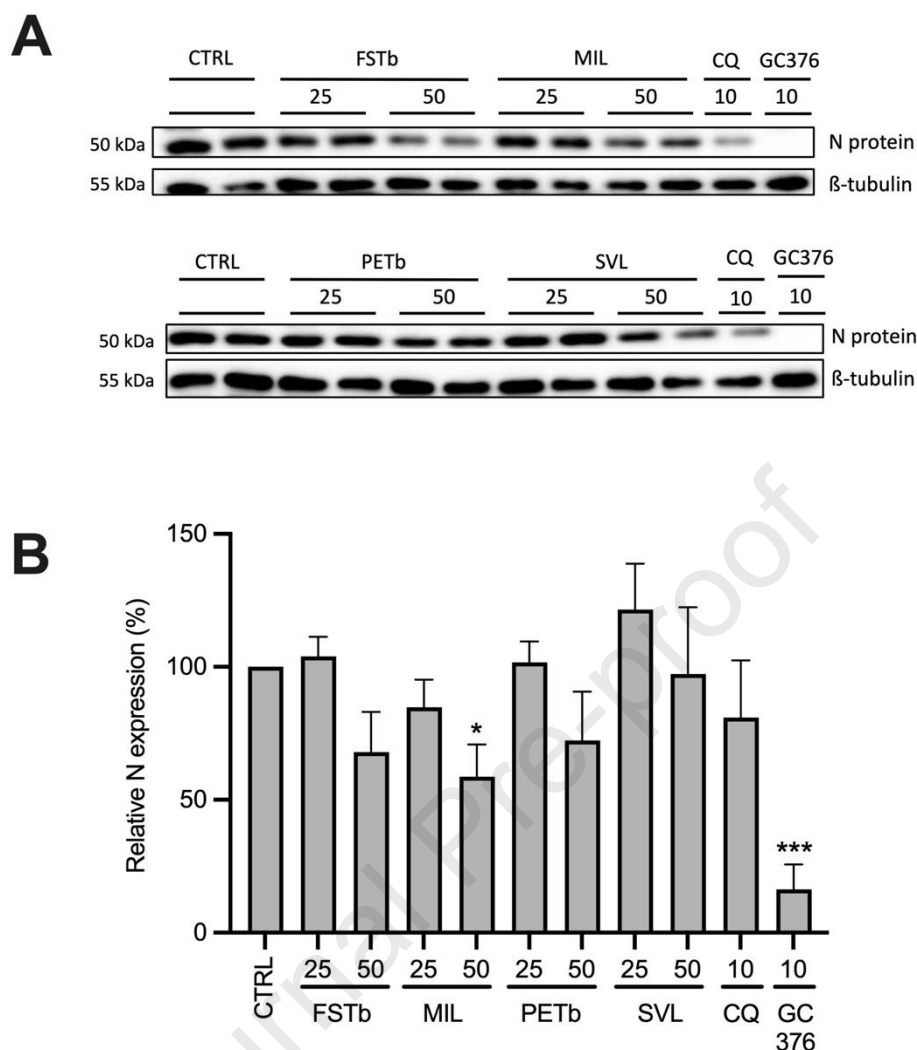


Figure 8. Antiviral activity of the crude extracts on SARS-CoV-2. Vero81 cells expressing TMPRSS2 were inoculated with SARS-CoV-2 in the presence of the extracts at 25 and 50 $\mu\text{g/mL}$ or 10 μM chloroquine or 10 μM GC376. 16 h post-inoculation cells were lysed and lysates analyzed by immunoblotting with either SARS-CoV-2 anti-N or anti- β -tubulin antibodies. Western blot in (A) is representative of four independent Western blots. SARS-CoV-2 N and β -tubulin bands were quantified from the four Western blots (B). Results were analyzed using Mann-Whitney non-parametric test and are expressed as mean $\pm$ SEM from four independent experiments performed in duplicates. * $P < 0.05$

Spermacoce verticillata (SV), *Mitragyna inermis* (MI), *Ficus sycomorus* (FS), *Pterocarpus erinaceus* (PE)

L: leaf, Tb: trunk bark

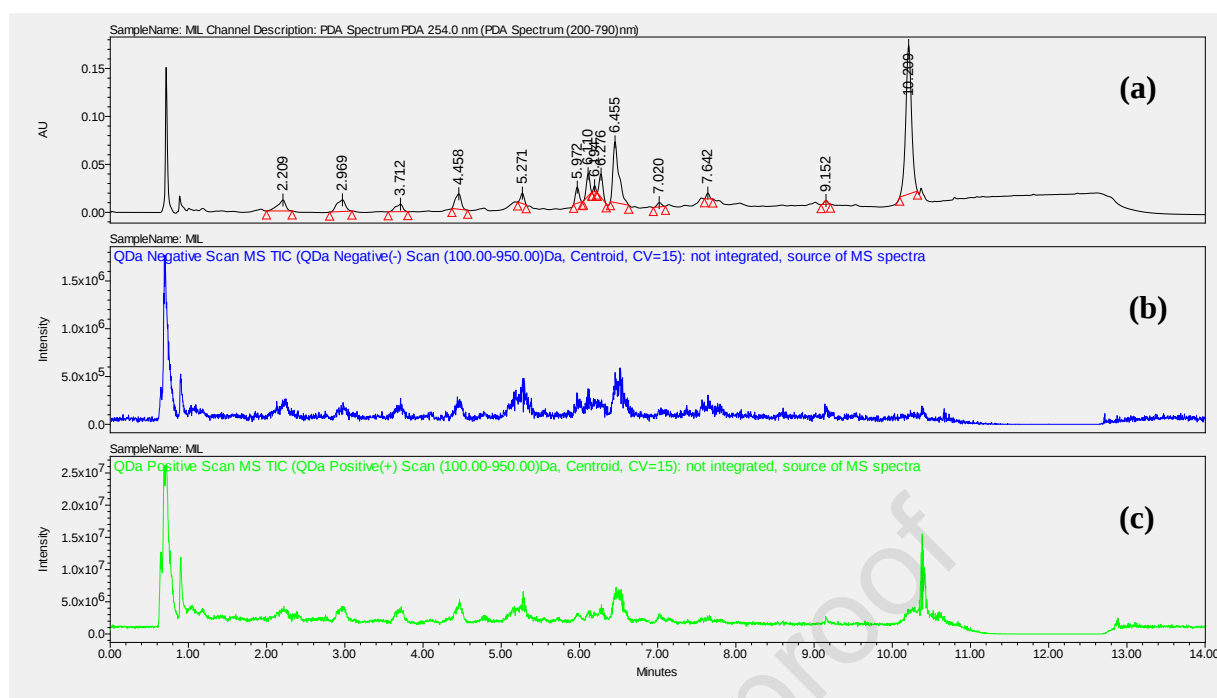
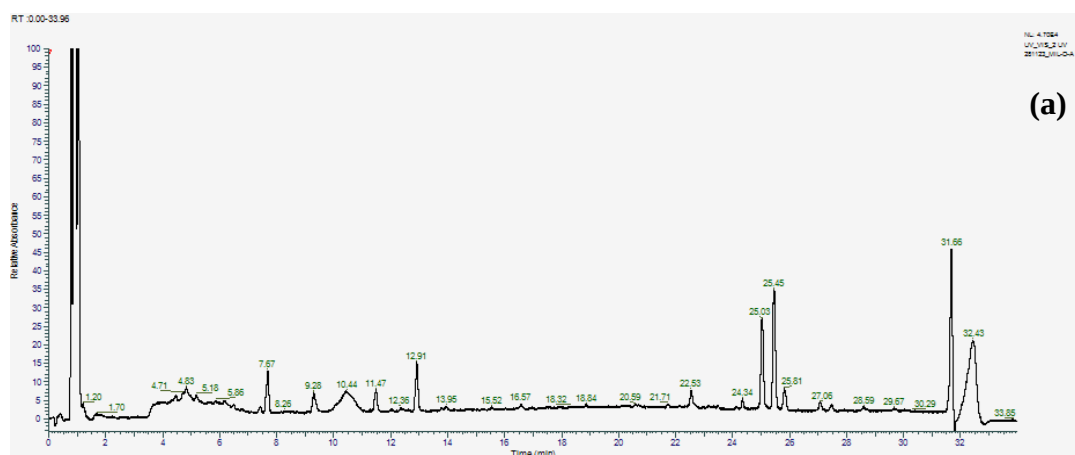
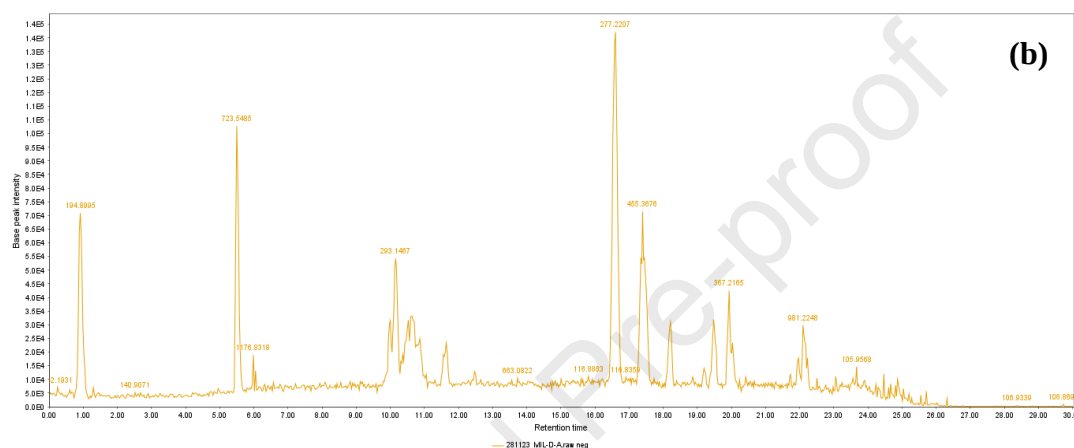


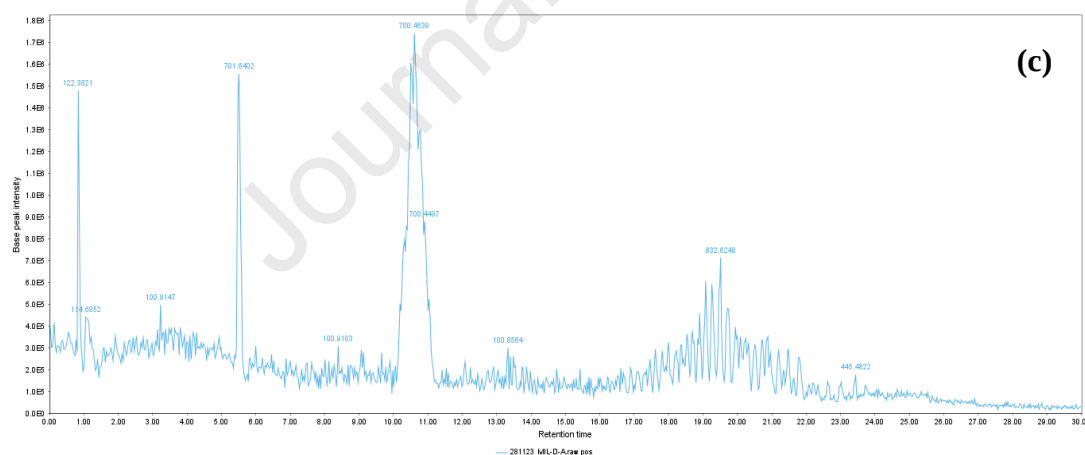
Figure 9. Chromatographic profiles obtained by UHPLC-UV-MS of the crude methanolic extract of *Mitragyna inermis* leaves: UV chromatogram at 254 nm (a) TIC in negative (b) and positive (c) ion mode



(a)



(b)



(c)

Figure 10. Chromatographic profiles obtained by HPLC-ITMS of the dichloromethane sub-extract of *Mitragyna inermis* leaves: UV chromatogram at 254 nm (a) BPI in negative (b) and positive (c) ion mode

1270 **Tables**1271 **Table 1.**

1272 List of the most cited medicinal plants of the flora of Senegal identified following the ethnobotanical survey for their use in the treatment of upper and lower airway

1273 disorders.

Scientific name ¹	Family ¹	Local name	Parts used	Method of preparation	RA	Np	Percentage (%)	Specific traditional use cited (number of citations)	General traditional use of the plant in Senegal ²	Plant type
<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel.	Combretaceae	Guéloki (p)/ Nguer (w)	L	Decoction, infusion	Oral	121	95.2	Cough (115), flu (110), colds (115), sinusitis (25), angina (11), asthma (5)	L: cough, febrile states, pneumonia, bronchopathies, dyspneic states, malaria, impotence, dysenteric diarrhea, syphilis, leprosy R: bronchitis and pneumonia.	Shrub up to 3 m
<i>Combretum glutinosum</i> Perr. ex DC.	Combretaceae	Doki gori (p)/ Rat (w)	L	Infusion, decoction	Oral	118	93.9	Cough (103), flu (95), colds (103), sinusitis (13), angina (20)	L: bronchitis, pneumonia, coryzas, cough, constipation, colic, malaria, anemia, anorexia, hepatobiliary ailments, hematuria, bilious fever Rb: anthelmintic.	Shrub from 4 to 12 m
<i>Eucalyptus</i> spp. (<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.)	Myrtaceae	Khottou boutel (p, w)	L	Infusion, decoction	Oral	104	82.8	Cough (104), flu (87), colds (102), sinusitis (29), angina (67), asthma (35)	L: respiratory diseases such as cold, cough, asthma, laryngoplegia, laryngitis, pharyngitis, sore throat, brachialgia.	Tree from 15 to 20 m
<i>Vachellia nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i> (Benth.) Kyal. & Boatwr (syn. <i>Acacia nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i> (Benth.) Brenan)	Fabaceae	Gawdi (p)/Neb Neb (w)	P	Infusion, maceration, powder	Oral	89	70.0	Cough (63), colds (26), sinusitis (9), otitis (18)	P: anti dysentery agent, ulcers, cough, cold, fever, burn, sore, heartburn, upset stomach and digestive. Pod powder is widely used as an antidysentery and against ulcers. However, it is necessary to strictly adhere to the doses of taking the powder of the pods.	Tree from 10 to 12 m
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link	Fabaceae	Aldianawi (p)/ bamtamaré (w)	L/P/ Wp	Infusion, decoction	Oral	71	55.9	Cough (65), flu (51), colds (68)	Wp: cough, flu, colds (combination with <i>G senegalensis</i>), febrile states, malaria, hepatitis, helminthiasis, venereal diseases, burns, eye diseases. The plants and the pods are considered poisonous by the Fula of fouta toro.	Annual or semi-perennial herb 50 cm to 1 m tall
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst. (syn. <i>Bauhinia reticulata</i> DC.)	Fabaceae	Barkéwi (p)/ nguiguiguis (w)	L/R/T b	decoction (F, R), smoke (Et)	Oral, inhalation	69	54.3	Cough (25), colds (39), otitis (32)	L/R/Tb: cough, bronchitis, malaria, hepato-biliary disorders, anuria, gonorrhea, dropsy, ascites, headache, phagedenic ulcer, syphilitic chancres, as an antiseptic and healing (wounds and wounds). Tb: antidiarrheal, and anti-dysenteric properties	Tree, 8 to 9 m high
<i>Terminalia leiocarpa</i> Baill. (syn. <i>Anogeissus leiocarpa</i> (DC.) Guill. & Perr.)	Combretaceae	Kodoli (p)/ guédiane (w)	L	Maceration	Oral	59	46.4	Cough (45), colds (35)	R: hernia, leprosy. Rb: aphrodisiac. Fr: healing, Leprosy. T/L: vermifuge, childhood diarrhea, fever, cough, otitis, abscess, jaundice, rheumatism, wound, jaundice.	Tree, 15 to 25 m high
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile	Zygophyllaceae	Murtoki (p)/soump (w)	Tb	Smoke	Inhalation	54	42.5	Sinusitis (12), angina (43), asthma (2), otitis (10)	R: snake bite. Tb: jaundice, yellow fever, syphilis, cough, epilepsy, leprosy, and anxiety. L: asthenia. Fr: rheumatism. P: oil used in ointment and ointment with many medications.	Tree up to 8-9 m tall

(Continued on next page)

1276 Table 1 (continued)

Scientific name	Family	Local name	Parts used	Method of preparation	RA	Np	Percentage (%)	Specific traditional use cited (number of citations)	General traditional use of the plant in Senegal	Plant type
<i>Hibiscus</i> spp.	Malvaceae	Folléré (p)/bissap (w)	C	Infusion, decoction, maceration	Oral	54	42.5	Cough (50), colds (43)	C: refreshing and invigorating drink, a diuretic and urinary antiseptic and cough and, in gargles toothache.	Bushy herbaceous plant, 1-2 m tall
<i>Combretum micranthum</i> G. Don	Combretaceae	Tallika, kinkéliba (p, w)/sehew (w)	L/R	Infusion, decoction	Oral	53	41.7	Cough (38), colds (27)	L: liver diseases, jaundice, yellow fever. R/L: fever, body aches, hematuria, malaria, anorexia, colic and diarrhea, gonorrhea, colds, bronchitis, pneumonia	Small shrub from 2 to 5 m
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	Combretaceae	Poulémi (p)/reub reub (w)	L/R/R _b	Maceration, infusion, decoction	Oral	44	34.6	Cough (38), colds (36)	L/R: wounds, tooth decay, leprosy, syphilis, cough, childhood diarrhea, dysentery, burns, bruising, amoebiasis, oedema, phagedenic ulcer, gastralgia, jaundice, avitaminosis, colic, hookworms, diabetes ... For the Soces of Niombato, it is a great fetish of disease and there is no good medicinal preparation without the addition of seven leaves of <i>T. avicennioides</i> .	Shrub from 3 to 10 m
<i>Senna italica</i> Mill.	Fabaceae	Badulo (p)/laydour(w)	L/R	Decoction, infusion	Oral	39	30.7	Cough (30), colds (21), sinusitis (2), otitis (5)	L/R: stomachache, constipation, helminthiasis, jaundice, yellow fever, as a purgative, and coughs.	Annual or biennial herb 30-50 cm tall
<i>Vachellia seyal</i> (Delile) P.J.H.Hurter (syn. <i>Acacia seyal</i> Delile)	Fabaceae	Bulbibodéw i (p)/Surur (w)	Rb	Decoction	Oral	36	28.3	Cough (23), sinusitis (6), otitis (7)	Tb: leprosy, syphilis, colds, and pain in the ears	Small thorny tree 6 to 12 m high
<i>Khaya senegalensis</i> A.Juss.	Meliaceae	Kay (p)/hay (w)	Tb	Maceration, powder, smoke	Oral, inhalation	35	27.5	Cough (27), sinusitis (16), otitis (21)	Tb: The bark decoct is given as a drink against stomach aches, but not for women, because of the abortive properties. Tb: purifies the blood in fever and bronchitis, anti-malarial febrifuge	Tree up to 35 m tall
<i>Ficus sur</i> Forssk. (syn. <i>Ficus capensis</i> Thunb.)	Moraceae	Ninguiribét é(p)/soto aldana (w)	R	Decoction	Oral	34	26.7	Cough (30), colds (23),	R: febrile body aches, headaches, and bronchial diseases.	Small tree 4 to 6 m high
<i>Ficus sycomorus</i> L.	Moraceae	Iwi (p)	L/Tb	Infusion, decoction, powder + meal	Oral	34	26.7	Cough (27)	L/Tb: cough, dysmenorrhea, agalactia, skin diseases, asthenia, food poisoning, stomach aches, female sterility ...	Tree from 12 to 15 m
<i>Bauhinia rufescens</i> Lam. (syn. <i>Piliostigma rufescens</i> (Lam.) Benth.)	Fabaceae	Namari (p)/Randa (w)	L/R/T _b	Maceration	Oral	27	21.2	Cough (18), sinusitis (11), otitis (13)	L/R/Tb: colds, fever and as cholagogue, stomachic, antidiarrheal, antidyenteric, antisiphilic, antiicteric and antiblennoragic.	Small tree 4 to 15 m high
<i>Chrozophora senegalensis</i> (Lam.) Spreng.	Euphorbiaceae	Pouré (p)/ndamat (w)	Wp	Infusion	Oral	27	21.2	Cough (23)	Wp: colds, diarrhoea, gonorrhea, eye diseases (conjunctivitis, blindness) and as a galactagogue.	Perennial stump, 25-40 cm

1277

(Continued on next page)

1278

1279 Table 1 (continued)

Scientific name	Family	Local name	Parts used	Method of preparation	RA	Np	Percentage (%)	Specific traditional use cited (number of citations)	General traditional use of the plant in Senegal	Plant type
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A. Rich.	Cochlospermaceae	Fadu grated, dâdéré (p)/fayar (w)	R	Maceration	Oral	23	18.1	Cough (16)	R: after eliminated a toxic substance it contains it is given in baths, rubs, and drinks against epilepsy, pneumonia, intercostal pain, bronchial disorders, and generalized edema	Semi-tuberous perennial strain and woody emitting
<i>Boscia integrifolia</i> J.St.-Hil. (syn. <i>Boscia senegalensis</i> Hochst. ex Walp.)	Capparaceae	Guidiili (p)/Ndiandam (w)	L	Powder + feed	Oral	20	15.7	Sinusitis (18), otitis (12)	L: asthenia, otitis, sinusitis, deworming, rheumatism and aches, abscesses and wounds, hives, ophthalmia, schistosomiasis, jaundice, gastritis, hemorrhoids, colic. Fr: syphilis.	Shrub from 3 to 4 m
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze	Rubiaceae	Koyli(p)/khos(w)	L	Decoction, infusion	Oral	20	15.7	Colds (19), flu (10)	L: cachexia diseases, febrile states, adynamic states, arthritis, myalgia, intercostal pain, enteralgia, syphilis, jaundice, mental illness...	Small low-branched tree, 2-10(-16) m tall
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir.	Fabaceae	Bali Baléwi (P)/vèn (W)	Tb/R	Decoction, Smoke	Orale, Inhalation	19	14.9	Sinusitis (9), otitis (13)	Tb: wound, tooth decay, cough, chronic ulcer, anemia, hematuria, dysmenorrhea (powerful astringent). R: wound, cough. R/L: mental illnesses.	Small tree 10 to 15 m high
<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	Loganiaceae	Dâto kuléwi (p)/tombö (w)	L	Maceration, decoction	Oral	18	14.1	Cough (18)	R: calming and healing, gastritis, ulcer, colic, diarrhea, fever. L: analgesics, cough, otitis, headache, ophthalmia, conjunctivitis and trachoma, wound, abscess, syphilitic chancroid and elephantiasis, leprosy, snakebite, trypanosomiasis, growth retardation, infantile colic.	Small tree 2 to 4 m high
<i>Spermacoce verticillata</i> L.(syn. <i>Borreria verticillata</i> G.Mey)	Rubiaceae	Tiamtarlé (p)/ndatukan u gor (w)	L/S	Infusion	Oral	17	13.3	Cough (14), colds (16)	L/S: flu-like conditions, colds, skin diseases, bruises, and as an antipyretic and analgesic.	Perennial herbaceous plant or small bush, 50-100 cm long
<i>Adansonia digitata</i> L.	Malvaceae	Boki (p)/guy (w)	Fr/L	Maceration/ water	Oral	13	10.2	Asthma (5), colds (13)	Fr: Emmenagogue (fruit fiber decoction). Tb: anti-menorrhagia. L: anti-diarrheal, anti-enteralgia and anti-dysenteric,	Tree 10 to 25 m high
<i>Daniellia oliveri</i> (Rolfe) Huche. & Dalziel	Fabaceae	Tewi, téwé (p)	L/R/T b	Maceration	Oral	13	10.2	Asthma (11), colds (13)	R: anxiety, madness. Tb: migraine, headache, body ache, wound, ulcer, skin disease and tooth decay, leprosy, snakebite, tuberculosis.	Tree 10 to 25 m high
<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timler	Rutaceae	Barkelley, Bulébarkelé (p)/ Guene Gui Deg (w)	Rb/R	Maceration, infusion, decoction, wrinkling	Oral, external application	12	9.4	Cough (9), flu (11), colds (7), otitis (3), asthma (8)	R: wounds, ulcers, syphilitic cankers, leprosy ulcerations, sickle cell disease and as like a parasiticide. L: odontalgic, in fumigations and gargles colds, and respiratory problems.	Shrub bushy, 2-6 m tall
<i>Lepisanthes senegalensis</i> (Poir.) Leenh.	Sapindaceae	Hewer (w)	Tb	Decoction	Oral	12	9.4	Cough (10)	Tb/T/L: bronchitis and bronchopneumonia.	Shrub bushy, with drooping branches, 2-3 m tall
<i>Cordyla pinnata</i> (A. Rich.) Milne-Redh.	Fabaceae	Duki (p)/dimb (w)	Tb/R b	Powder, Smoke	Inhalation	11	8.6	Sinusitis (5), otitis (8)	Tb: (in nasal intakes) headaches, coryzas, otitis and rhinitis.	Tree, 10 to 15 m high

(Continued on next page)

1280

1281

1282 Table 1 (continued)

Scientific name	Family	Local name	Parts used	Method of preparation	RA	Np	Percentage (%)	Specific traditional use cited (number of citations)	General traditional use of the plant in Senegal	Plant type
<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Moringaceae	Neboday (p)/ nebeday (w)	L/Tb	Decoction	Oral	11	8.6	Cough (11), colds (10), asthma (8)	Rb: antiviral, bactericidal, analgesic, wound, boil, dermatosis, hypertension, coryza, headache, bronchitis, gonorrhea, dyspepsia, jaundice. L: hypertension, dropsy, scurvy, constipation, conjunctivitis, headache, convulsions.	Shrub barely exceeding 7 to 8 m in height.
<i>Vachellia sieberiana</i> (DC.) Kyal. & Boatwr. (syn. <i>Acacia sieberiana</i> DC.)	Fabaceae	Aluki (p)	Rb	Maceration	Oral	10	7.8	Cough (5), colds (3), asthma (1), sinusitis (2)	L/Tb: colds and headaches.	Thorny tree 10 to 25 m high
<i>Cocculus pendulus</i> (JRForch. & G. Forst.) Diels	Menispermaceae	Guirloy (p)	Rb/S	Decoction, infusion	Oral	9	7.0	Cough (8), colds (6)	Sb/R: internal parasiticide, virus hepatitis, and febrifuge	Small subwoody shrub with cumbersome, pendulous
<i>Combretum molle</i> R. Br. ex G. Don	Combretaceae	Nanakawi (p)	L	Decoction, Powder + meal	Oral	9	7.0	Cough (9)	L: dropsy, ascites, and edema.	Shrub from 4 to 10 m
<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. ex A. DC.	Ebenaceae	Nelbi, nelbé (p)/ Alom (w)	L/Tb/ Rb	Decoction	Oral	9	7.0	Colds (7)	Tb/Rb/L: pneumonia, infectious pyretic states, syphilis. And, in external use in headaches, joint pain, swelling.	Tree from 12 to 30 m in height
<i>Euphorbia balsamifera</i> Aiton	Euphorbiaceae	Badékarey (p)/ salan (w)	R/Tb	Smoke, Powder	Inhalation, instillation	9	7.0	Cough (6), sinusitis (1), otitis (4)	R/Tb: purgative, vomitive, deworming, Wound, leprosy, syphilis and blennorrhagia.	Shrub 1 to 2 m high
<i>Sterculia setigera</i> Delile	Malvaceae	Bobori (p)	Tb	Smoke, powder, maceration	Inhalation, instillation, oral	9	7.0	Cough (9)	Tb: cough, febrile conditions, broncho- and pneumopathies, enteropathies, oliguria, dysuria, leprosy.	Tree from 15 to 20 m
<i>Cassia sieberiana</i> DC.	Fabaceae	Side (p) /sendiene (w)	R	Decoction	Oral	7	5.5	Cough (3)	R: stubborn constipation, anuria, dysuria and in cases of enteralgia, intestinal parasitism, leprosy, edema, venereal diseases, schistosomiasis, kidney pain, febrile body aches.	Shrub from 2 to 5 m
<i>Ficus thonningii</i> Blume	Moraceae	Loro, lodo (w)	R/Tb	Decoction	Oral	7	5.5	Sinusitis (3), otitis (6)	Tb/R: dysenteric diarrhea	Small tree 10 to 25 m high
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	Ngungun (w)	Wp	Decoction	Oral	7	5.5	Cough (7)	Wp: cordial, cephalic, diuretic, emmenagogue, astringent, anti-febrile, antipyretic, diaphoretic, attenuating, depurative, digestive.	Semi-perennial herbaceous plant, 25-40 cm tall
<i>Sesbania sesban</i> (L.) Merr.	Fabaceae	Dialdialki (p)	Wp	Decoction	Ablution	5	3.9	Colds (5)	Wp: flu, colds, fever, itching, scorpion bites and as an antirheumatic and analgesic (external use especially).	Shrub or small tree, up to 8 m tall
<i>Ziziphus jujuba</i> Mill	Rhamnaceae	Diabî (p)/ sidem (w)	L/Tb	Decoction	Oral	5	3.9	Cough (5)	R: emeto-purgative, but in moderate doses, because they are toxic. L: anti-febrile.	Small tree, (1-)3-8(-16) m tall.

1283 ¹ Scientific names and botanical families were checked on the website World Flora Online (<http://www.worldfloraonline.org/>) (Accessed on: 11/11/2023)

1284 ² Traditional use obtained according to (Diatta et al., 2019; Kerharo & Adam, 1974; Kerharo, 1967; Kerharo and Adam, 1964; Pousset, 2004)

1285 P: fula; w: wolof; L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; Sb: stem bark; Wp: whole plant; P: pod; Fr: fruit; C: calyces; RA: route of administration; Np: number of informants who claimed to use

1286 a given plant species to treat upper and lower airway disorders; Percentage: percentage of positive respondents. Number of plants mentioned: 41; Total number of informants: 127.

1287 **Table 2.**
 1288 The different plants harvested.

Scientific name	Botanical family	percentage (%)	Harvested parts	Voucher specimen number	Environment	Collection date	GPS coordinates/ or location
<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel.	Combretaceae	95.2	L	BA04	savannah	02/23/2021	16°03'29.6"N 14°04'23.6"W
<i>Combretum glutinosum</i> Perr. Ex DC.	Combretaceae	93.9	L	BA05	savannah	02/23/2021	16°03'58.6"N 14°04'52.6"W
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Myrtaceae	82.8	L	BA14	forest	12/10/2021	14°43'34"N 17°26'02"W
<i>Vachellia nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i> (Benth.) Kyal. & Boatwr (syn. <i>Acacia nilotica</i> var <i>tomentosa</i> (L.) Delile)	Fabaceae	70.0	P	BA07	steppe	02/24/2021	16°10'34.1"N 13°58'04.9"W
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link (syn. <i>Cassia occidentalis</i> L.)	Fabaceae	55.9	F, S, P	BA09	savannah	02/26/2021	14°41.622'N 17°26.6436' W
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst. (syn. <i>Bauhinia reticulata</i> DC.)	Fabaceae	54.3	L, Tb	BA03	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6"N 13°57'59.2"W
<i>Terminalia leiocarpa</i> Baill. (syn. <i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. & Perr.)	Combretaceae	46.4	L	BA12	forest	12/22/2021	14°10'52"N 15°55'02"W
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile	Zygophyllaceae	42.5	Tb	BA27	steppe	02/25/2021	16°11'50.6"N 13°57'34.2"W
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae	42.5	C	BA22	hibiscus field	12/01/2021	16°10'50.1"N 13°57'59.2"W
<i>Combretum micranthum</i> G. Don	Combretaceae	41.7	R	BA13	savannah	12/17/2021	16°03'31.6"N 14°04'52.6"W
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	Combretaceae	34.6	L, R, Rb	BA11	forest	June 2020, March 2021 and December 2021	12° 34' 47"N 16°17' 2"W
<i>Senna italica</i> Mill.	Fabaceae	30.7	L	BA15	forest	12/22/2021	14°10'49"N 15°55'22"W
<i>Vachellia seyal</i> (Delile) P.J.H.Hurter (syn. <i>Acacia seyal</i> Delile)	Fabaceae	28.3	Tb	BA16	steppe	12/16/2021	16°10'12.3"N 13°58'33.9"W
<i>Khaya senegalensis</i> (Desv.) A.Juss.	Meliaceae	27.5	Tb	BA23	in the arteries of the city of Dakar	03/20/2021	14°41'.62"N 17°26'64" W
<i>Ficus sur</i> Forssk. (syn. <i>Ficus capensis</i> Thunb.)	Moraceae	26.7	R	BA24	forest	12/22/2021	14°10'50"N 15°55'25"W
<i>Ficus sycomorus</i> L.	Moraceae	26.7	L, Tb	BA10	on the banks of the Doué river/clay soil	02/27/2021	16°12'6.3"N 14°1'36.6"W
<i>Bauhinia rufescens</i> Lam.	Fabaceae	21.2	L, Tb, P	BA02	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'52.6"N 13°57'57.5"W
<i>Chrozophora senegalensis</i> (Lam.) Spreng.	Euphorbiaceae	21.2	Wp	BA01	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6"N 13°57'59.2"W
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A. Rich.	Cochlospermaceae	18.1	R	BA19	forest	12/25/2021	14°10'58"N 15°55'09"W
<i>Boscia integrifolia</i> J.St.-Hil. (syn. <i>Boscia senegalensis</i> Hochst. ex Walp.)	Capparaceae	15.7	L	BA18	savannah	12/18/2021	16°11'49.5"N 13°57'30.3"W
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze	Rubiaceae	15.7	L	BA06	savannah/ at the edge of a pond	02/23/2021	16°04'19.6"N 14°06'34.8W
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir.	Fabaceae	14.9	Tb	BA17	savannah	12/22/2021	14°10'18"N 15°35'23"W
<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	Loganiaceae	14.1	L	BA20	savannah	03/20/2021	14°10'18"N 15°35'23"W
<i>Spermacoce verticillata</i> L. (syn. <i>Borreria verticillata</i>)	Rubiaceae	13.3	L, S	BA26	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6"N 13°57'59.2"W

1289
 1290 L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; Wp: whole plant; P: pod; C: calyces
 1291

1292 **Table 3.**

1293 Yields (%) of crude methanolic extracts and sub-extracts.

Plants species	Plant parts	Crude extract	Sub-extracts			
		MeOH	Cyclohexane	Dichloromethane	EtOAc	Aqueous
Combretaceae						
<i>C. glutinosum</i>	Leaves	18.7	15.8	7.3	8.9	67.7
<i>C. micranthum</i>	Roots	19.3				
<i>T. leiocarpa</i>	Leaves	19.4				
<i>G. senegalensis</i>	Leaves	24.5	7.1	2.9	9.3	71.6
<i>T. avicennioïdes</i>	Root bark	30.0	1.2	1.4	17.4	70.7
	Leaves	18.3	2.1	5.9	36.6	51.7
	Roots	11.5	1.1	3.1	26.1	60.6
Myrtaceae						
<i>E. camaldulensis</i>	Leaves	17.9	24.9	3.6	11.7	54.3
Fabaceae						
<i>V. nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i>	Pods	60.8	8.5	2.14	36	53.3
<i>V. seyal</i>	Trunk bark	16.9				
<i>P. reticulatum</i>	Leaves	17.7				
	Trunk bark	13.3				
<i>B. rufescens</i>	Leaves	15.9				
	Pods	9.4				
<i>P. erinaceus</i>	Trunk bark	8.7				
<i>S. italica</i>	Leaves	14.1				
<i>S. occidentalis</i>	Leaves	15.1				
	Pods	8.3				
	Stems	9.3				
Moraceae						
<i>F. sur</i>	Roots	4.3				
<i>F. sycomorus</i>	Trunk bark	18.5				
	Leaves	9.61				
Loganiaceae						
<i>S. spinosa</i>	Leaves	8.6				
Cochlospermaceae						
<i>C. tinctorium</i>	Roots	16.1				
Euphorbiaceae						
<i>C. senegalensis</i>	Whole plant	11.2				
Malvaceae						
<i>H. sabdariffa</i>	Calyces	33.6				
Meliaceae						
<i>K. senegalensis</i>	Trunk bark	13.9				
Capparidaceae						
<i>B. senegalensis</i>	Leaves	17.7				
Zygophyllaceae						
<i>B. aegyptiaca</i>	Trunk bark	10.5				
Rubiaceae						
<i>M. inermis</i>	Leaves	20.0				
<i>S. verticillata</i>	Leaves	16.6				
	Stems	13.6				

1294

Table 4.
Socio-demographic characteristics of informants

Type of informant	Characteristics		Number of informants	Percentage (%)
Herbalists and/or traditional healers	Kinds	Masculine	75	87.21
		Feminine	11	12.79
	Ages	[20-30]	3	2.58
		] 30-40]	6	6.98
		] 40-50]	41	47.67
		] 50-60]	27	31.40
		] 60-70]	7	8.14
		] 70-80]	2	2.33
	Profession	Herbalists	32	37.21
		Herbalists and traditional healers	19	22.09
		Traditional healers	35	40.70
	Instruction	French	53	61.63
		Qur'anic	21	24.42
		No	12	13.95
	Professional experience (years)	[0-5]	2	2.33
		] 5-10]	11	12.79
		] 10-15]	14	16.28
		] 15-20]	17	19.77
		] 20-25]	18	20.93
		] 25-30]	12	13.95
		] 30-35]	5	5.81
		] 35-40]	7	8.14
Households	Kinds	Masculine	25	60.98
		Feminine	16	39.02
	Ages	[20-30]	2	4.88
		] 30-40]	3	7.32
		] 40-50]	15	36.59
		] 50-60]	11	26.83
		] 60-70]	9	21.95
		] 70-80]	1	2.44
	Profession	Farmers	15	36.59
		Breeders	19	46.34
		Traders	3	7.32
		Retirees	2	4.88
		No	2	4.88

Table 5.

Total Polyphenols and Tannins Content in the various crude methanolic extracts with the Folin-Ciocalteu reagent method.

Plants species	Plant parts	Content in mg GAE/g extract $\pm$ SD	
		TPC	TTC
<i>T. leiocarpa</i>	Leaves	240.5 $\pm$ 12.8	236.2 $\pm$ 12.9
<i>V. nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i>	Pods	398.7 $\pm$ 11.8	314.4 $\pm$ 12.1
<i>V. seyal</i>	Trunk bark	355.8 $\pm$ 0.4	345.5 $\pm$ 2.0
<i>B. aegyptiaca</i>	Trunk bark	28.6 $\pm$ 2.0	26.1 $\pm$ 2.2
<i>P. reticulatum</i>	Trunk bark	318.2 $\pm$ 7.0	306.2 $\pm$ 7.1
	Leaves	120.4 $\pm$ 1.8	98.6 $\pm$ 2.0
<i>B. rufescens</i>	Trunk bark	305.4 $\pm$ 4.1	288.2 $\pm$ 4.5
	Leaves	154.1 $\pm$ 2.5	128.2 $\pm$ 2.7
	Pods	169.8 $\pm$ 9.2	156.0 $\pm$ 9.1
<i>B. senegalensis</i>	Leaves	3.9 $\pm$ 0.6	0.0
<i>C. glutinosum</i>	Leaves	211.0 $\pm$ 8.2	177.6 $\pm$ 8.2
<i>C. micranthum</i>	Roots	196.2 $\pm$ 3.1	131.6 $\pm$ 2.7
<i>C. senegalensis</i>	Whole plant	163.1 $\pm$ 4.2	142.8 $\pm$ 4.2
<i>C. tinctorium</i>	Roots	106.8 $\pm$ 0.9	99.9 $\pm$ 0.5
<i>E. camaldulensis</i>	Leaves	93.5 $\pm$ 2.9	65.4 $\pm$ 2.4
<i>F. sur</i>	Roots	171.8 $\pm$ 4.3	161.0 $\pm$ 4.9
<i>F. sycomorus</i>	Trunk bark	296.5 $\pm$ 13.3	287.2 $\pm$ 13.0
	Leaves	163.1 $\pm$ 2.0	137.0 $\pm$ 1.5
<i>G. senegalensis</i>	Leaves	162.9 $\pm$ 5.5	128.7 $\pm$ 5.5
<i>H. sabdariffa</i>	Calyces	11.6 $\pm$ 0.7	7.8 $\pm$ 1.3
<i>K. senegalensis</i>	Trunk bark	297.2 $\pm$ 2.9	280.8 $\pm$ 2.7
<i>M. inermis</i>	Leaves	166.4 $\pm$ 4.2	149.9 $\pm$ 4.3
<i>P. erinaceus</i>	Trunk bark	280.6 $\pm$ 3.5	273.0 $\pm$ 3.9
<i>S. italica</i>	Leaves	38.9 $\pm$ 4.4	22.4 $\pm$ 4.3
<i>S. occidentalis</i>	Leaves	52.9 $\pm$ 1.4	25.2 $\pm$ 2.5
	Pods	28.5 $\pm$ 1.4	13.5 $\pm$ 1.4
	Stems	31.9 $\pm$ 0.9	12.8 $\pm$ 0.8
<i>S. spinosa</i>	Leaves	68.0 $\pm$ 3.5	19.7 $\pm$ 2.3
<i>S. verticillata</i>	Leaves	103.3 $\pm$ 1.5	80.0 $\pm$ 1.4
	Stems	135.2 $\pm$ 1.3	114.1 $\pm$ 1.3
<i>T. avicennoides</i>	Root bark	384.9 $\pm$ 1.8	359.4 $\pm$ 3.3
	Leaves	243.4 $\pm$ 2.9	218.1 $\pm$ 2.8
	Roots	322.6 $\pm$ 10.0	301.7 $\pm$ 10.4

TPC: total polyphenol content; TTC: total tannin content

Colors: red (high concentration), yellow (intermediate concentration) and green (moderate to low concentration)

Controls: **Ginger**: TPC (37.8 $\pm$ 0.8 mg GAE/g extract) and TTC (7.9 $\pm$ 0.1 mg GAE/g extract);

White Garlic: TPC (11.8 $\pm$ 0.3 mg GAE/g extract) and TTC (0.6 $\pm$ 0.1 mg GAE/g extract)

For the determination of total polyphenols, data are expressed as mean $\pm$ SEM from two separate experiments, performed in triplicates.

Table 6.

Antibacterial activity (MIC in mg/mL) of the active crude methanolic extracts of the different plant samples: *Bauhinia rufescens* (BR), *Combretum glutinosum* (CG), *Combretum micranthum* (CM), *Chrozophora senegalensis* (CS), *Cochlospermum tinctorium* (CT), *Eucalyptus camaldulensis* (EC), *Ficus sur* (FSu), *Ficus sycomorus* (FS), *Guiera senegalensis* (GS), *Khaya senegalensis* (KS), *Mitragyna inermis* (MI), *Pterocarpus erinaceus* (PE), *Piliostigma reticulatum* (PR), *Strychnos spinosa* (Sspinosa), *Spermacoe verticillata* (SV), *Terminalia avicennioides* (TA), *Terminalia leiocarpa* (TL), *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (VN), *Vachellia seyal* (VS), and some antibiotics (Gentamicin (GEN), Vancomycin (VAN), Amoxicillin (AMX), MIC (in µg/mL)).

Plant parts: L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; P: pod; C: calyces. (-) = no activity: MIC > 0.6 mg/mL (n = 3)

Strains	MICs of crude methanolic extracts (mg/ml)													MICs of antibiotics (µg/mL)		
	BRG	BRL	BRTb	CGL	CMR	CS	CTR	ECL	FSL	FSTb	FSuR	GSL	KSTb	GEN	VAN	AMX
Gram-positive																
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.6	0.6	0.3	0.15	0.6	0.3	-	-	0.6	0.6	-	0.3	0.3	0.03	1	0.25
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	-	-	-	0.3	-	0.6	0.15	-	-	0.6	-	-	0.03	1	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	-	-	0.6	0.6	-	0.6	0.075	-	-	0.6	0.6	-	0.5	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	-	-	0.6	0.6	0.6	0.6	-	0.6	-	-	0.6	0.6	0.6	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	0.6	0.6	0.25	2	0.125
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	-	-	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	0.3	0.6	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	-	-	0.6	0.3	0.15	0.6	0.6	0.075	-	-	0.6	0.6	-	0.5	2	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.6	0.15	0.3	0.15	0.3	0.6	0.6	0.075	0.3	0.3	0.6	0.15	0.6	0.125	0.25	0.03
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	-	0.6	0.6	0.15	0.6	-	0.6	0.075	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.125	0.25	0.03
Gram-negative																
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	-	-	-	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-	0.6	0.6	0.25	16	0.5
<i>Burkholderia cepacia</i> 1033	-	-	-	0.3	0.3	-	0.6	0.075	-	-	0.6	-	0.6	0.25	16	0.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	-	0.3	-	0.6	0.6	-	-	0.6	-	-	0.5	> 64	> 64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	0.25	> 64	> 64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	-	0.3	-	0.6	0.075	-	-	0.6	-	-	8	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	-	0.6	-	0.3	0.3	-	0.6	0.15	-	-	0.6	0.6	-	1	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.3	0.3	0.3	0.15	0.15	0.3	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	2	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.3	0.6	0.3	0.3	0.15	0.6	0.6	0.3	-	-	0.6	0.3	0.6	0.03	> 64	> 64
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.6	0.6	0.6	0.3	-	0.6	-	-	-	-	-	0.3	0.6	4	16	2

1327 **Table 6.** (continued)

Strains	MICs of crude methanolic extracts (mg/ml)													MICs of antibiotics (µg/mL)		
	MIL	PETb	PRL	PRTb	Sspinosa	SVL	SVS	TAL	TAR	TARb	TLL	VNP	VSTb	GEN	VAN	AMX
Gram-positive																
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.6	-	0.3	0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.3	0.15	0.6	0.075	0.6	0.03	1	0.25
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.6	0.15	0.03	1	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-	-	0.6	0.6	0.3	0.5	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	-	-	-	0.6	0.6	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.15	0.3	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.6	-	-	0.6	-	-	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.15	0.3	0.25	2	0.125
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	-	-	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3	0.6	0.15	0.6	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	0.6	0.6	-	0.6	-	0.6	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.15	0.3	0.5	2	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.6	0.6	0.6	0.3	0.075	0.075	0.15	0.075	-	0.6	0.6	0.3	0.3	0.125	0.25	0.03
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	0.6	0.6	-	0.3	0.075	0.3	0.6	0.3	-	-	0.6	0.3	0.3	0.125	0.25	0.03
Gram-negative																
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	-	-	-	0.6	-	0.6	0.6	0.3	0.6	0.3	-	0.15	0.6	0.25	16	0.5
<i>Burkholderia cepacia</i> 1033	-	0.6	-	-	-	0.6	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.25	16	0.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.6	0.15	0.5	> 64	> 64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	0.6	0.25	> 64	> 64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.6	0.6	8	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	-	-	-	0.6	-	0.6	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.15	0.6	1	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.3	0.6	0.15	0.3	0.6	0.3	0.3	0.15	0.15	0.15	0.3	0.075	0.3	2	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.03	> 64	> 64
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.6	-	-	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3	0.15	-	0.15	-	4	16	2

1328

Table 7.
Antibacterial activity (MIC in mg/mL) of the sub-extracts of the most active plant species. nd: MIC not determined; (-) = no activity: MIC > 0.6 mg/mL (n = 3).

Strains	MIC in mg/mL														
	<i>Combretum glutinosum</i> (leaves)					<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (leaves)					<i>Guiera senegalensis</i> (leaves)				
	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous
Gram-positive															
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.3	0.075	0.0375	0.075	0.6	-	0.3	-	0.3	0.3	0.6
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	-	0.3	0.15	0.15	nd	nd	nd	nd	nd	-	0.6	0.3	0.0375	0.15
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	0.6	-	0.6	0.3	0.6	0.15	0.0375	0.3	0.3	-	0.6	-	0.3	0.3	0.6
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	0.6	-	0.6	0.15	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-	0.6	0.6	0.3	0.075	0.15
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.6	-	0.6	0.3	0.6	0.15	0.0375	0.3	0.3	-	0.6	-	0.3	0.15	0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	0.6	-	0.6	0.15	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-	0.3	-	0.3	0.075	0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	0.3	-	0.6	0.15	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-	0.6	-	0.3	0.075	0.3
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.15	0.0375	0.0375	0.15	-	0.075	0.0375	0.0375	0.3	-	0.15	0.6	0.0375	0.3	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	0.15	0.0375	0.0375	0.15	-	0.075	0.0375	0.0375	0.3	-	0.6	0.6	0.0375	0.3	-
Gram negative															
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	0.3	-	-	0.15	0.6	0.6	-	-	0.15	0.6	0.6	0.6	0.3	0.15	0.3
<i>Burkholderia cepacia</i> 1033	0.3	0.0375	0.0375	0.15	0.6	0.075	0.0375	0.15	0.6	-	-	0.6	0.3	0.15	0.6
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	0.6	0.6	-	-	-	0.6	-	-	-	-	0.3	0.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	0.3	-	-	0.15	0.6	-	-	-	0.3	-	0.6	-	-	0.3	0.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.15	-	-	0.15	0.3	0.6	0.6	-	0.15	0.15	0.3	-	-	0.3	0.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.3	-	-	0.15	0.3	0.6	0.6	-	0.15	0.3	0.3	-	0.6	0.075	0.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.3	-	0.3	0.15	0.15	0.3	0.15	0.6	0.15	0.15	0.3	0.6	0.3	0.075	0.15

Table 7. (continued)

	MIC in mg/mL																							
	<i>Terminalia avicennioides</i> (leaves)					<i>Terminalia avicennioides</i> (roots)					<i>Terminalia avicennioides</i> (root bark)					<i>Vachellia nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i> (pod)								
Strains	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous				
Gram-positive							No activity	No activity				No activity	No activity											
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.3	-	0.075	0.3	-	0.3			0.6	0.6	0.15			-	0.6	0.075	0.6	0.3	0.3	0.6				
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	0.6	0.6	0.15	0.6	-			0.15	0.6	-			0.15	0.3	0.6	0.3	0.15	0.075	0.3				
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	-	-	0.3	0.6	-			0.6	0.6	-			0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.15	0.6				
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	0.6	-	0.6	0.15	0.6	0.6			0.3	0.6	0.6			0.15	0.6	0.15	0.3	0.3	0.075	0.3				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6			0.6	0.6	0.3			0.6	0.6	0.15	0.6	0.6	0.15	0.6				
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3			0.3	0.6	0.3			0.3	0.6	0.15	0.6	0.3	0.15	0.3				
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	0.3	0.6	-	0.15	0.6	0.6			0.3	0.6	0.3			0.15	0.6	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3				
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.075	0.0375	0.0375	0.15	-	-			0.6	-	0.6			-	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.6				
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	0.3	0.15	0.0375	0.3	-	-			-	-	-			-	0.6	0.3	0.6	0.3	0.3	0.6				
Gram negative									No activity	No activity						No activity	No activity							
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	0.3	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6					0.3			0.6	0.3			0.15	0.6	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3
<i>Burkholderia cepacia</i> 1033	0.6	0.6	-	0.3	-	0.6					0.3			0.6	0.6			0.15	0.6	0.3	0.6	0.6	0.3	0.6
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	0.6	-	-					0.6			0.6	-			-	0.6	0.6	0.6	-	0.3	0.6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-					-			-	-			-	-	-	-	-	0.6	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	0.6	-	-					-			-	-			-	0.6	0.6	-	-	0.6	0.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6					0.6			0.6	0.3			0.6	0.6	0.15	-	0.6	0.3	0.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.15	-	-	0.3	-	0.15					0.3			0.6	0.15			0.3	0.6	0.075	0.3	0.3	0.15	0.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.15	-	-	0.15	0.6	0.3					0.3			0.6	0.15			0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.15	0.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.3	0.6	0.6	0.15	0.6	0.3	0.15	0.6			0.15	0.15	0.3	0.15	0.3			0.15	0.15	0.3				

Table 8.
Phytochemical constituents and biological activities (antimicrobial and antiviral) of the most active plants against HCoV-229E and SARS-CoV-2.

Scientific name (family)	Phytochemistry	Biological activities	References
<i>Ficus sycomorus</i> L. (Moraceae)	- Fatty acid: betulinic acid, - Flavan-3-ols: catechin, epicatechin - Carbohydrates: ethyl-β-D-glucopyranoside, ethyl-α-D-arabinofuranoside, - Phenolic acid: vanillic acid, - Flavonoids: quercetin, quercetrin, quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin), luteolin-7-O-glucoside (cinaroside), 3-methoxyquercetin, - Triterpenes: β-amyrin, lupenone, lupenol, - Phytosterols: campesterol-3-O-glucoside, β-sitosterol, β-sitosterol-3-O-glucoside, stigmasterol - Coumarins: psoralen, 4-carboxylic-4-hydroxy-3,4-dihydrocoumarin	- Antimicrobial - Antiviral	(Sandabe et al., 2006; Ahmadu et al., 2007; A. Ahmadu et al., 2007; Abdel-Aty et al., 2019; El-Sayyad et al., 2020)
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	- Flavonoid: rutin - Coumarin: scopoletin - Triterpenoids: quinovic acid, 3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1$\rightarrow$4)-α-L-rhamnopyranosyl]-quinovic acid, β-D-glucopyranosyl-[3-O-(β-D-glucopyranosyl)]-quinovate acid, 3-O-(β-D-6-deoxy-glucopyranosyl)-quinovic acid, inermiside I and II (27-nor-triterpenoid glycosides) - Alkaloids: rotundifoline, isorotundifoline, rhynchophylline, isorhynchophylline, ciliaphylline, rhynchocilin, speciophylline, uncarine F, mitraciliatin, corynanthin, speciogynine, corynoxene, isocorynoxene	- Antimicrobial - Antiviral	(Shellard and Sarpong, 1971; Traore et al., 2000; Cheng et al., 2002; Fiot et al., 2005; Shellard and Sarpong, 2011)
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir. (Fabaceae)	- Triterpenes: friedelin, lupeol, 3α-hydroxyfriedelin-2-one, α-sophoradiol, 2,3-dihydroxypropyloctacosanoate - Glycosides: maltol-6-O-apiofuranoside-glucopyranoside - Phytosterols: stigmasterol, β-sitosterol-β-D-glucopyranoside, β-sitosterol, campesterol, Stigmast-5-en-3-beta-ol, - Ketone: (2R)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl) propan-1-one, - Flavonoids: angolensin, muningin, formononetin, pseudobaptigenin, boutotone, isoliquiritigenin, homopterocarpin, boutomycone, epicatechin	- Antimicrobial	(Tittikpina et al., 2018; Toukam et al., 2018; Tittikpina et al., 2019; Arbain et al., 2021)
<i>Spermacoce verticillata</i> L. (Rubiaceae)	- Iridoids: daphylloside, asperuloside, feretoside, methyledeacetylasperulosidate, deacetylasperulosidate, asperulosidic acid, deacetulasperulosidic acid, methyl ester 6'-O- (2-glycerol) scandoside, borrieriaginine - Alkaloids: whorlin A, whorlin B, borrierine, isoborreverine, borreverine, spermacoceine, - Terpenoids and phytosterols: campesterol, caryophyllene, β-sitosterol, stigmasterol, guaiane, 3,5-dioxo-friedelane, sitosterone, stigmastene, - Fatty acids: morolic acid, ursolic acid, oleanolic acid, - Flavonoids: quercetin, 3-O-α-L-rhamnopyranosylquercetin, - Anthraquinones: 2-hydroxy-3-methylantraquinone, - Isochromenes: austidiol, austidiol dimer, austidiol diacetate	- Antimicrobial (borreverine, spermacoceine) - Antiviral	(Pousset et al., 1973; Baldé et al., 1991; Andrioli et al., 2010; Moreira et al., 2010; Conserva and Ferreira, 2012; Ferreira Júnior et al., 2012)

Table 9.

Putative Identification by UHPLC-UV-MS of major compounds in the crude methanolic extract of *Mitragyna inermis*

Retention Time (min)	Absorbance $\lambda_{\max}$ (nm)	Molecular ion (negative mode) m/z	Ion type	Molecular ion (positive mode) m/z	Ion type	Putative chemical constituents
2.2	325	353.21	$[M-H]^-$	355.02	$[M+H]^+$	Chlorogenic acid
2.9	241, 333	431.36	$[M-H]^-$	409.19	$[M+H]^+$	Flavonoid
3.7	237, 342	593.32	$[M-H]^-$	595.11	$[M+H]^+$	Flavonoid
4.4	238, 334	563.13	$[M-H]^-$	565.19	$[M+H]^+$	Flavonoid
5.2	278	575.23	$[M-H]^-$	577.12	$[M+H]^+$	Procyanidin A1
5.9	255, 354	609.30	$[M-H]^-$	611.09	$[M+H]^+$	Rutin or structural analogue
6.1	255, 352	463.24	$[M-H]^-$	465.09	$[M+H]^+$	Flavonoid
6.2	278	861.30	$[M-H]^-$	863.15	$[M+H]^+$	Condensed tannin
6.2	256, 352	463.24	$[M-H]^-$	465.13	$[M+H]^+$	Flavonoid
6.4	268, 352	575.27	$[M-H]^-$	577.17	$[M+H]^+$	Flavonoid
7.0	240	863.23	$[M-H]^-$	865.09	$[M+H]^+$	Unknown
7.6	278	861.38	$[M-H]^-$	863.08	$[M+H]^+$	Condensed tannin
9.1	279	737.31	$[M-H]^-$	739.12	$[M+H]^+$	Condensed tannin
10.2	228, 279	737.36	$[M-H]^-$	577.15	$[M+H-160u]^+$	Condensed tannin

Table 10.

Some putative alkaloids detected by HPLC-ITMS in the dichloromethane sub-extract of *Mitragyna inermis* leaves in positive ion mode

Retention time (min)	Peak intensity	Molecular ion (m/z)	Ion type	Putative alkaloids
15.2	1.6E5	385.32	$[M+H]^+$	Isorhynchophylline ^a
15.3	1.2E5	385.35	$[M+H]^+$	Rhynchophylline ^a
18.5	2.2E5	369.42	$[M+H]^+$	Speciophylline
19.6	2E5	383.43	$[M+H]^+$	Isocorynoxine ^b
19.7	4.1E5	383.37	$[M+H]^+$	Corynoxine ^b

^{a,b} compounds maybe interchanged.

Chapitre 2

II. Activités antiparasitaires des plantes récoltées et isolement de molécules antitrypanosomales et antileishmaniales des feuilles de *Terminalia avicennioides*

Résumé détaillé

La découverte de nouveaux agents antiparasitaires contre les trypanosomiasés et les leishmaniosés reste essentielle pour une grande partie de la population mondiale. Les plantes médicinales de la pharmacopée sénégalaise sont connues pour leurs propriétés anti-infectieuses et peuvent être une excellente source d'agents naturels antiparasitaires. L'objectif de cette étude était, tout d'abord de cribler les plantes médicinales récoltées, traditionnellement utilisées dans la prise en charge des maladies infectieuses, pour leurs activités antiparasitaires. Dans ce **chapitre 2**, nous présentons les résultats des tests d'activités antiparasitaires et de cytotoxicité de 24 plantes récoltées ainsi que l'étude phytochimique menée sur l'espèce *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr.

Les tests d'activités antiparasitaires et de cytotoxicité ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration avec le Pr Joëlle Quetin-Leclercq au sein de l'Université Catholique de Louvain (Bruxelles, Belgique). Au total, 33 extraits bruts méthanoliques de 24 espèces végétales sélectionnées ont été évalués *in vitro* pour leurs propriétés antiparasitaires contre *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb) et *Leishmania mexicana mexicana* (Lmm). Les extraits ont été testés d'abord à deux concentrations (50 et 100 µg/mL) sur les parasites. Les résultats ont montré que *T. brucei brucei* était plus sensible aux extraits que *L. mexicana mexicana*. La plupart des extraits (24/33) ont montré des activités intéressantes contre *T. brucei brucei* à 50 µg/mL (moins de 40 % de survie des parasites), tandis que seuls *Balanites aegyptiaca* (0,9 ± 0,0 %) et *Eucalyptus camaldulensis* (1,0 ± 0,8 %) étaient actifs contre *L. mexicana mexicana* à la même concentration. En revanche, douze extraits ont fortement inhibé *L. mexicana mexicana* à 100 µg/mL et étaient actifs contre *T. brucei brucei* à 50 µg/mL. Afin de ne pas réaliser une sélection trop étroite, les extraits actifs à la fois à 50 µg/mL contre *T. brucei brucei* et à 100 µg/mL contre *L. mexicana mexicana* ont été conditionnés pour la détermination des CI₅₀ contre *T. brucei brucei*. Parallèlement, l'activité cytotoxique des extraits a été évaluée sur des cellules normales de fibroblastes pulmonaires humains WI-38. Les résultats ont mis en évidence la forte activité antitrypanosomale de toutes les plantes récoltées appartenant à la famille des Combretaceae avec une faible cytotoxicité. *Terminalia avicennioides* a montré des activités prometteuses contre *T. brucei brucei* : feuilles (CI₅₀ = 11,53 ± 3,25 µg/mL), écorces de racines (CI₅₀ = 16,67

$\pm 0,61 \mu\text{g/mL}$) et racines ($\text{CI}_{50} = 6,26 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$) avec une cytotoxicité modérée à faible. De plus, les extraits de *G. senegalensis* (feuilles) et de *C. glutinosum* (feuilles) ont montré des activités antiparasitaires contre *T. brucei brucei* ($\text{CI}_{50} = 12,33 \pm 2,45 \mu\text{g/mL}$ et $17,29 \pm 0,15 \mu\text{g/mL}$, respectivement), mais avec une sélectivité plus faible. Parmi les espèces d'autres familles, l'extrait des gousses de *V. nilotica* s'est montré être le plus actif contre *T. brucei brucei* ($\text{CI}_{50} = 3,58 \pm 1,47 \mu\text{g/mL}$) avec une cytotoxicité modérée contre les cellules WI-38 ($\text{CC}_{50} = 66,28 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$). Cependant, *V. nilotica* est connu pour sa teneur élevée en tanins condensés et hydrolysables (**cf. chapitre 1**) et son activité antitrypanosomale est déjà décrite. Les extraits bruts de *B. aegyptiaca* (écorce du tronc) et d'*E. camaldulensis* (feuilles) se sont révélés plus actifs contre *T. brucei brucei* ($\text{CI}_{50} = 13,37 \pm 4,36 \mu\text{g/mL}$ et $12,09 \pm 2,82 \mu\text{g/mL}$ respectivement) par rapport à *L. mexicana mexicana* ($\text{CI}_{50} = 20,01 \pm 0,53 \mu\text{g/mL}$ et $62,64 \pm 6,73 \mu\text{g/mL}$, respectivement). Cependant, l'extrait brut d'écorces de tronc de *B. aegyptiaca* s'est avéré toxique sur les cellules WI-38 ($\text{CC}_{50} = 14,02 \pm 3,30 \mu\text{g/mL}$). Les activités antitrypanosomale et antileishmaniale des feuilles de *E. camaldulensis* sont également décrites dans la littérature. Concernant *T. avicennioides*, l'activité antitrypanosomale des racines est déjà connue et serait liée principalement à l'acide ellagique et aux tanins hydrolysables. Nous avons noté des teneurs en tanins de $359,4 \pm 3,3 \text{ mg EAG/g}$ d'extrait pour l'écorce de racines et $301,7 \pm 10,4 \text{ mg EAG/g}$ d'extrait pour les racines (partie interne) qui sont supérieures à notre limite fixée ($< 300 \text{ mg EAG/g}$ d'extrait) (**cf. chapitre 1**). Cependant, les activités antitrypanosomale et antileishmaniale des feuilles de *T. avicennioides* n'ont pas été décrites auparavant. La phytochimie des feuilles de *T. avicennioides* n'a pas non plus été explorée dans le passé. Notre choix s'est donc porté sur les feuilles de *T. avicennioides* pour l'isolement de composés antiparasitaires.

Les sous-extraits apolaires (cyclohexane et DCM) des feuilles de *T. avicennioides* ont montré des activités intéressantes et assez proches contre *T. brucei brucei* ($\text{CI}_{50} = 16,26 \pm 0,77 \mu\text{g/mL}$ et $13,56 \pm 3,50 \mu\text{g/mL}$, respectivement) et contre *L. mexicana mexicana* ($\text{CI}_{50} = 19,53 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$ et $20,74 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$, respectivement). Ces deux sous-extraits apolaires présentaient une composition chimique très similaire d'un point de vue qualitatif mais un peu différente au niveau quantitatif sans avoir réalisé de réels dosages.. Le sous-extrait AcOEt a présenté quant à lui l'activité antitrypanosomale la plus élevée ($\text{CI}_{50} = 5,85 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) mais n'a pas montré d'activité antileishmaniale. Cet extrait s'est révélé riche en acide ellagique et ses dérivés pouvant être responsables de cette activité antileishmaniale. L'acide ellagique (**1**),

standard commercial, a été testé et a montré une activité antitrypanosomale élevée contre *T. brucei brucei* avec une CI_{50} de $3,35 \pm 1,27 \mu\text{g/mL}$ ($11,08 \mu\text{M}$).

En raison des activités antitrypanosomales et antileishmaniales du sous-extrait DCM et de ses teneurs relativement élevées en composés d'intérêt, son fractionnement a été réalisé par CLHP préparative et a conduit à l'isolement de quatre dérivés de l'acide ellagique (**2-5**), dont trois acides coruleoellagiques (**Figure 33**). Leur élucidation structurale a été réalisée par RMN (1D et 2D) et HR-ESI-MS/MS. Les composés ont été identifiés comme étant l'acide 3,4,3'-tri-*O*-méthylellagique (**2**), l'acide 3,4,5-*O*-triméthyl-3',4'-*O,O,O*-méthylidène flavellagique (**3**), l'acide hexaméthylcoruleoellagique (**4**) et l'acide pentaméthylflavellagique (**5**). Les composés **3-5** ont été isolés pour la première fois de *T. avicennnioides* et des Combretaceae et il peut être souligné que ces métabolites spécialisés sont plutôt rares dans le règne végétal.

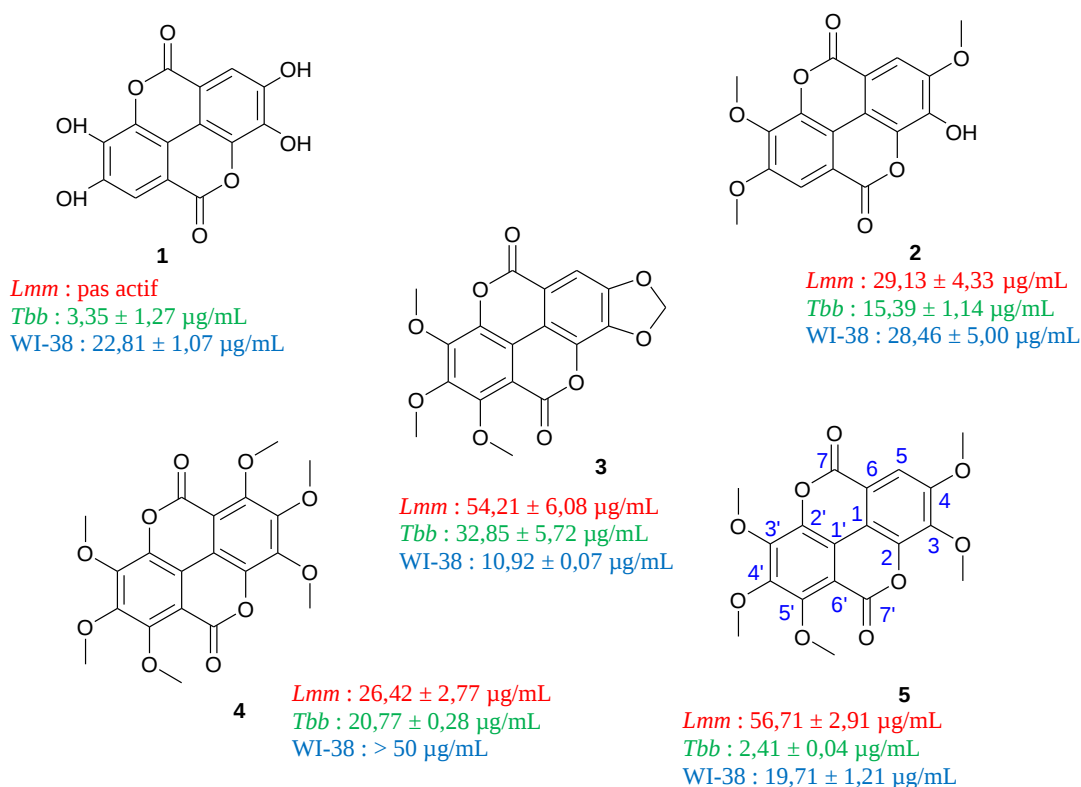


Figure 33 : Structures des composés **1-5** et leurs activités antiparasitaires et cytotoxiques

Les résultats ont montré des activités significatives de tous les composés isolés contre *T. brucei brucei* avec des CI_{50} allant de $2,41$ à $32,85 \mu\text{g/mL}$. L'acide pentaméthylflavellagique (**5**) a montré l'activité la plus prometteuse contre *T. brucei brucei* ($CI_{50} = 2,41 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ ou $6,20 \mu\text{M}$). Cependant, *L. mexicana mexicana* semble être plus résistant à ces différents composés, la CI_{50} variant entre $26,42$ et $56,71 \mu\text{g/mL}$. L'acide hexaméthylcoruleoellagique (**4**) était le plus actif contre *L. mexicana mexicana* par rapport aux autres analogues de la série (CI_{50}

= $26,42 \pm 2,77 \mu\text{g/mL}$). L'évaluation de la cytotoxicité sur les cellules WI-38 a montré que les composés **2**, **3** et **5** étaient potentiellement toxiques ($10,92 \pm 0,07 \mu\text{g/mL} < \text{CC}_{50} < 28,46 \pm 5,00 \mu\text{g/mL}$). Seul le composé **4** n'était pas toxique sur les cellules WI-38 à $50 \mu\text{g/mL}$. C'est la première fois que ces composés ont été isolés de *T. avicennioides* et ont été évalués pour leurs activités antitrypanosomiques et antileishmaniales.

Afin de comparer les différents profils chimiques des extraits de feuilles, de racines et d'écorce de racines de *T. avicennioides* et réaliser l'identification putative d'autres composés, des analyses ont été effectuées en UHPLC-UV-MS et UPLC-LTQ orbitrap XL-MS/MS. Les données MS/MS ont été analysées sur MZmine pour une déréplication. Cette étude a permis de montrer les différentes parties de la plante sont une source de tanins hydrolysables, d'acide gallique et dérivés, d'acide ellagique et dérivés, ainsi que de flavone-C-glucosides et d'autres flavonoïdes. Les profils chromatographiques des différents extraits et les identifications putatives sont présentés en **annexe B**.

Ces résultats confirment les propriétés antiparasitaires de certaines espèces végétales traditionnellement utilisées au Sénégal et pourraient constituer une alternative dans la prise en charge de la trypanosomiase et de la leishmaniose.

Le **chapitre 2** sera présenté sous forme d'un article de recherche qui sera prochainement soumis dans la revue *Fitoterapia*.

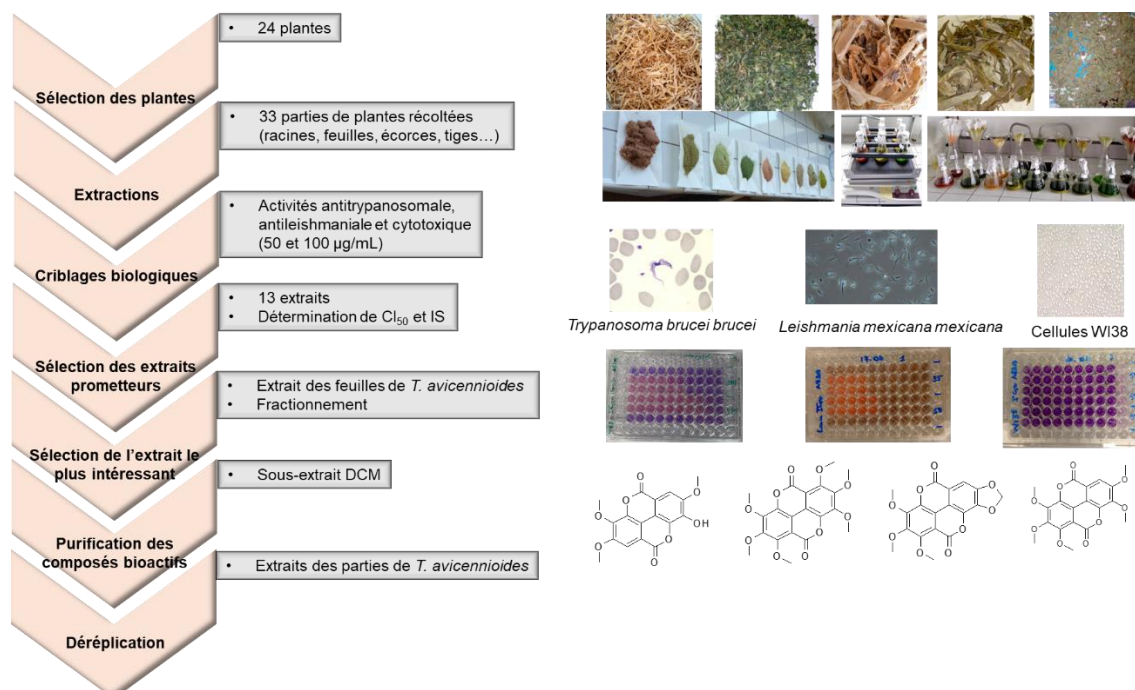


Figure 34 : Résumé graphique du chapitre 2

Antiparasitic activities of plants from the traditional Senegalese pharmacopoeia and isolation of antitrypanosomal and antileishmanial compounds from *Terminalia avicennioides*

Abda Ba^{1,2}, Vincent Roumy¹, Kristelle Hughes³, Jennifer Samaillie¹, Maude Bourlet³, Marie-France Herent³, Samba Fama Ndoye², Thierry Hennebelle¹, Joëlle Quetin-Leclercq³, Matar Seck², Céline Rivière^{1,*}

¹ Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ.Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France;

² Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal;

³ Pharmacognosy Research Group, Louvain Drug Research Institute, Université Catholique de Louvain (UCLouvain), Avenue E. Mounier, 72, B B01.72.03-1200 Brussels, Belgium

* Corresponding author: celine.riviere@univ-lille.fr (C.R.)

Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Laboratory of pharmacognosy, UFR3S Pharmacy, University of Lille, 3 rue du Professeur Laguesse, 59000 Lille, France

ABSTRACT

Parasitic diseases such as trypanosomiasis and leishmaniasis cause serious health damage in Africa. Senegalese Pharmacopoeia, known for its numerous medicinal plants with anti-infectious properties, can be a source of antiparasitic natural products. The aim of this study was to evaluate *in vitro* the antiparasitic activities of 33 methanolic extracts of ethopharmacologically selected plants against *Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania mexicana mexicana* and their cytotoxic activities on WI-38 cells. *Balanites aegyptiaca* *Combretum glutinosum* *Eucalyptus camaldulensis*, *Guiera senegalensis*, *Terminalia avicennioides*, *Terminalia leiocarpa* and *Vachellia nilotica* were the most active. Antitrypanosomal and antileishmanial ellagic acid derivatives were isolated by preparative

HPLC from one of the most active plant extract, *Terminalia avicennioides* leaf. These compounds were identified as 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (2), 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O,O*-methylideneellagic acid (3), hexamethylcoruleoellagic acid (4) and pentamethylflavellagic acid (5) by NMR (1D & 2D) and HR-ESI-MS/MS. Moreover, HR-ESI-MS/MS based dereplication analysis were performed to identify unpurified compounds in active cyclohexane and DCM sub-extracts. Pentamethylflavellagic acid (5) showed the most promising activity against *T. brucei brucei* (IC₅₀ = 6.20 µM). This is the first time that these compounds have been isolated from *T. avicennioides* and evaluated for their antitrypanosomal and antileishmanial activities. Our study confirms the antiparasitic properties of certain plants traditionally used in Senegal and could be a suitable alternative in the management of trypanosomiasis and leishmaniasis.

Keywords: Senegal, Antiparasitic agents, Cytotoxicity, *Trypanosoma brucei brucei*, *Leishmania mexicana mexicana*, *Terminalia avicennioides*, coruleoellagic acids

1. Introduction

Parasitoses can be responsible for many diseases in Africa. Among these, the Human African Trypanosomiasis (HAT), also known as “sleeping sickness”, is a vector-borne parasite disease caused by *Trypanosoma brucei* and is considered as a Neglected Tropical Diseases (NTD) [1,2]. This pathology, endemic in sub-Saharan Africa, particularly affects rural populations living from agriculture, livestock, fishing, or hunting [3,4]. At least 54 million people have varying levels of risk for sleeping sickness [5]. HAT has a high lethality if left untreated and can lead to neurological and behavioural disorders [3]. Leishmaniasis, another parasitic infection caused by various *Leishmania* species, can lead to devastating clinical manifestations affecting the skin, mucous membranes, and visceral organs. In an advanced stage, it can lead to the ulcerative destruction of the nose (such as perforation of the nasal septum), mouth, and pharynx with a fatal outcome without introduction of treatment [6–8]. Two million new cases per year are observed and 12 million people are currently infected. Visceral

leishmaniasis (VL) is the most virulent with 500,000 annual cases and causing more than 50,000 deaths per year. This disease occurs in 88 countries and considerably impacts West and East Africa [1,9,10].

Few drugs are available against these two infections (pentamidine, amphotericin B, suramin, miltefosine, melarsoprol, eflornithine, nifurtimox, etc.) due to several factors: numerous side effects, complex route of administration, need for qualified health personnel, cost, lack of supply in endemic areas [9,11–13]. It is therefore necessary to find new antileishmanial and antitrypanosomal compounds that are effective and accessible to people in rural areas.

In Senegal, many plants are traditionally used for their antiparasitic properties, particularly in the treatment of malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis. Among the most widely used plant family are the Combretaceae including several species as *Guiera senegalensis* J.F.Gmel., *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC., *Combretum micranthum* G. Don, *Terminalia leiocarpa* Baill., and *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. [14–16]. However, the anti-infectious properties of most of these plants have not yet been scientifically verified.

In this study, 33 crude methanolic extracts from 24 plant species were evaluated for their antiparasitic properties against *Leishmania mexicana mexicana* and *Trypanosoma brucei brucei*, as well as for their cytotoxic activity against non-cancerous human lung fibroblasts WI-38. These plants had been previously selected on the basis of an ethnopharmacological survey carried out in Senegal for their anti-infectious properties, in particular antibacterial and antiviral [17]. A bioguided investigation was performed on *Terminalia avicennioides*, one of the most active species, as part of this work in order to identify and isolate the compounds responsible for these antiparasitic activities.

2. Materials and Methods

2.1 General Experimental Procedures

LC-HR-ESI-MS/MS were performed on a Accela UHPLC system from Fisher Scientific (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) associated to a photodiode array (PDA) detector and a Thermo Fisher Scientific LTQ orbitrap XL mass spectrometer with ESI source. The LC

system was piloted by ChromQuest software, whereas the mass spectrometry system was piloted by Xcalibur software. Data acquisition was realized under full scan switch positive mode ionization from m/z 100 to 2000 at 30000 resolution. UHPLC-UV-MS analyses were carried out on a Waters ACQUITY equipment (Waters® Acquity UPLC® H-Class, Guyancourt, France) consisting of a diode array UV detector (PDA) and a quadrupole (QDA) mass spectrometer with ESI as ionization source in positive and negative mode from m/z 100 to 950. The preparative HPLC was performed on a Shimadzu chain equipped with a SPD-M20A diode array UV detector and a CBM-20A control system. The 1D (^1H and ^{13}C) and 2D (COSY, HSQC and HMBC) NMR spectra were obtained on a 500 MHz Bruker® spectrometer (NEO AVANCE console), operating at 500 MHz for proton (^1H) and 125.77 MHz for carbon-13 (^{13}C). All spectra were acquired in deuterated chloroform (CDCl_3) (99.96% D, D029T, EurisoTop®, France). The data were processed with Bruker TopSpin software (4.1.4). Extraction solvents (methanol, cyclohexane, dichloromethane, and ethyl acetate), acetonitrile and formic acid for LC-MS analysis were purchased from Carlo Erba Reagents® (Val de Reuil, France). Ultrapure water was obtained after filtration on a system Millipore Integral 5 Milli-Q (Merck™, Germany).

2.2 Plant materials

The plants studied were collected in Senegal during a previous ethnobotanical survey [17]. The 24 plant species collected were authenticated by the botanists William Diatta and Mamadou Sidybé. Vouchers specimens were deposited at the Dakar Herbarium (Department of Vegetable Biology of the Faculty of Science and Technology of the Cheikh Anta Diop University) (Table S1). For some species, different plant parts have been studied. A review of biological activities and chemical composition of harvested plants is presented in **Table 1**.

2.3 Plant extraction

Plant parts of the selected botanical species were oven-dried between 25-37 °C for two weeks in the dark and pulverized using a mechanical grinder (SK100, RETSCH®, Germany). Plant powder (20 or 100 g), stored in the dark and at room temperature, were subjected to a solid-liquid (S/L) extraction with methanol, with a ratio 1/10. Three sessions of 24h maceration were performed using an orbital shaker (GFL 3015, Germany). At the end of each maceration,

the filtered methanolic extract was evaporated at 35 °C under vacuum by a rotary evaporator 113
(Grosseron, Heidolph™, Germany) to obtain crude extracts [17]. 114

Following the results of the first biological screening, certain selected crude methanolic 115
extracts, were suspended in water (500 mL) and partitioned by successive liquid-liquid 116
extractions with an equivalent volume of organic solvents of increasing polarity: cyclohexane, 117
dichloromethane and ethyl acetate (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France). The organic 118
phases were dried with anhydrous sodium sulphate (Na₂SO₄), filtered and then evaporated 119
under vacuum [17]. 120

2.4 Purification of *Terminalia avicennioides* metabolites by preparative HPLC 121

The preparative HPLC was a Shimadzu chain equipped with two LC-20AP pumps, a 500 122
μL injection loop, a Shimadzu® SPD-M20A diode array UV detector and a CBM-20A control 123
system. The column was an Interchim C18-HQ column (5 μm, 250 mm x 21.2 mm, 124
Interchim™, France) preceded by a pre-column C18-HQ (7.5 mm x 21.2 mm). Mobile phase 125
was composed of two solvents (A) ultrapure water + 0.1% formic acid and (B) acetonitrile. 126
Several injections of 500 μL of a stock solution of the leaf DCM sub-extract of *T. avicennioides* 127
at 80 mg/mL in MeOH were performed. The flow rate was set at 16 mL/min. Preparative HPLC 128
was performed following the elution program: 40% B (0-5 min), 40-45% B (5-35 min), 45- 129
100% B (35-37 min) and 100% B (37-45 min). The fractionation monitoring was carried out at 130
2 main wavelengths: 254 nm and 280 nm. The pure compounds 2-5 were collected and dried. 131
Their purity was evaluated by UHPLC-UV (Figure S10). 132

2.5 UHPLC-UV-MS analysis 133

Extraction and purification were followed by UHPLC-UV-MS (Waters® Acquity UPLC® 134
H-Class, Guyancourt, France). The system is equipped with two independent pumps, an 135
automatic injector, a controller, a diode array UV detector (PDA) and a quadrupole (QDA) 136
mass spectrometer with ESI as an ionization source. The stationary phase was an Interchim 137
Uptisphere C18-AQ column (2.1 x 100 mm, 2.6 μm, Interchim™, France) connected to a 0.2 138
μm in-line filter. The mobile phase was composed of two solvents: (A) ultrapure water + 0.1% 139
formic acid (Carlo Erba Reagents®, Val de Reuil, France) and (B) acetonitrile (Carlo Erba 140

Reagents[®], Val de Reuil, France) + 0.1% formic acid. Different methods in UHPLC-UV-MS were developed depending on the sample. The method adapted for the analysis of crude methanolic extracts, as well as of EtOAc and aqueous sub-extracts was developed with the following elution gradient: 10% B (0-0.5 min), 10-25% B (0.5-8.5 min), 25-100% B (8.5-9 min), 100% B (9-11 min), before equilibration for 3 minutes. The analysis of cyclohexane and DCM sub-extracts and their fractions was performed according to another elution method: 10-40% B (0-1 min), 40% B (1-6 min), 40-100% B (6-9 min), and 100% B (9-11 min), before re-equilibration for 3 minutes. The flow rate was 0.3 mL/min. The temperature of the column was stabilized at 30 °C. The UV detection was carried out between 200 and 790 nm. For mass spectrometry detection, the carrier gas was nitrogen. The voltage cone was 15 V with an ionization energy of 15 eV. Mass spectra were obtained in positive and negative mode in a range of m/z from 100 to 950 uma, using the Empower[®] software.

2.6 UHPLC-LTQ Orbitrap XL MS analysis for dereplicative approach

For cyclohexane and DCM sub-extracts of *T. avicennioides* leaves, further analyses were performed using an Accela UHPLC system from Fisher Scientific (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) piloted by ChromQuest software consisting in a photodiode array (PDA) detector, an autosampler, a tray compartment cooler (set to 20 °C), a quaternary pump and coupled to a Thermo Fisher Scientific LTQ orbitrap XL mass spectrometer. The same Interchim column and methods described above were used for UPLC-LTQ orbitrap XL MS analyses. HR-MS were measured with an ESI source in positive ionization mode using full-scan MS with a mass range of 100-2000 m/z . The orbitrap operated at 30000 resolutions (FWHM definition). All experimental data were acquired using daily external calibration prior to data acquisition. Appropriate tuning of the electrospray ion source was performed, and the following electrospray inlet conditions were applied: flow rate: 1000 μ L/min with a split of 50/50 before reaching mass detector; with spray voltage: 5 kV; sheath gas (N₂) flow rate: 20 a.u.; auxiliary gas (N₂) flow rate: 20 a.u.; discharge current of 5 μ A; capillary temperature of 250 °C; capillary voltage of 21 V and tube lens voltage of 75 V. For the extracts, the data-dependent MS/MS

events were performed on the most intense ion detected in full scans MS with a collision energy of 35 eV. Data acquisition and processing were performed with Xcalibur software.

2.7 MZmine data preprocessing analysis and dereplication

First, the raw mass data was acquired by UPLC-LTQ orbitrap XL MS and converted to .mzML file format by using MScovert software. All HRMS run data (.mzML) files were exported to the open-source software package MZmine 3 (v3.3.0) for data processing. Mass detection was realized with all exact mass detector with noise level set to 1.0E4 for MS¹ level. For MS² detection, the noise level was set to 0. The ADAP Chromatogram builder was achieved using a minimum group size of scan of five, a group intensity threshold of 1.0E4, a minimum highest intensity of 1.0E4, and an *m/z* tolerance of 0.01 (or 10 ppm). The smoothing parameters were set to 5. The ADAP wavelet was used for chromatogram deconvolution with the following settings: S/N threshold of 10, minimum feature height of 1.0E4, coefficient/area threshold of 10, peak duration range of 0.01-0.7 min, RT wavelet range of 0.01-0.10 min. The *m/z* and RT range for MS/MS scan pairing were set to 0.02 Da and 0.2 min, respectively. Isotopes were detected using the isotope peak grouper with a *m/z* tolerance of 10 ppm, a RT tolerance of 0.3 min (absolute), the maximum charge set at 1, and the representative isotope used was the most intense. Alignment was achieved with a *m/z* tolerance of 10 ppm and a RT tolerance of 0.7 min. Then, the aligned list peak was gap-filled with RT range of 0.3 min and *m/z* tolerance of 10 ppm. The resulting list was filtered using the peak list rows filter option to remove all the duplicates and all the features without MS² spectrum associated. The prediction of molecular formulae of ions in positive mode was performed with MZmine with isotope *m/z* tolerance 5 ppm and a minimum score of 0.7. Putative identification of peaks was conducted comparing available MS/MS fragmentation patterns in the literature and using the databases integrated into the MZmine software such as KEGG and PubChem.

2.8 Structure elucidation

The structures of the purified compounds were determined using HR-MS/MS, UV, and NMR data. The NMR mono-(¹H and ¹³C) and two-dimensional (COSY, HSQC-DEPT, HMBC) in CDCl₃ were obtained with a 500 MHz Bruker[®] spectrometer, NEO AVANCE console,

operating at 500 MHz for proton (^1H) and 125 MHz for carbon-13 (^{13}C). The measurements were made with a 5 mm TXI probe at 25 °C. The NMR data were processed with Bruker TopSpin software (4.1.4).

Compound 3 (3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*,*O*-methylidene flavellagic acid). White amorphous powder; HR-MS: m/z 373.0551 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_9$, 372.0484. MS/MS (75 eV, ESI): m/z 373 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 91%), 358 (100), 343 (19), 327 (3), 185 (0.3), 104 (0.3), 92 (0.3). UV spectrum: 248, 303 (sh), and 367 nm. Spectra ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ_{H} (ppm) 7.63 (1H, s, 5-H), 6.31 (2H, s, -OCH₂O-), 4.29 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.09 (3H, s, 5'-OCH₃), 4.03 (3H, s, 4'-OCH₃); ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} (ppm) 158.4 (C-7), 154.7 (C-7'), 154.1 (C-5'), 151.3 (C-3'), 148.4 (C-3), 147.4 (C-4), 138.58 (C-4'), 137.8 (C-2), 132.3 (C-2), 114.6 (C-1'), 114.2 (C-1), 113.1 (C-6'), 112.8 (C-6), 104.8 (C-5), 103.9 (3-OCH₂O), 62.3 (5'-OCH₃), 62.1 (3'-OCH₃), 62.0 (4'-OCH₃).

Compound 4 (hexamethylcoruleoellagic acid). White amorphous powder; HR-MS: m/z 419.0966 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$, 418.0900. MS/MS (75 eV, ESI) m/z 419 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 57%), 404 (100), 389 (9), 375 (5). UV spectrum: 248, 303 (sh), and 370 nm. Spectra ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz): all the protons appeared as two singlets at 4.26 and 4.03 ppm and integrated respectively 6 and 12 protons. ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} (ppm) 62.0 (4C), 62.4 (2C), 108.2 (2C), 119.9 (2C), 138.5 (4C), 141.6 (2C), 154.1 (1C), 154.7 (1C), 158.4 (2C).

Compound 5 (pentamethyl flavellagic acid). White amorphous powder; HR-MS: m/z 389.0871 $[\text{M}+\text{H}]^+$, calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_9$, 388.0794. MS/MS, (75 eV, ESI) m/z 389 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 59%), 374 (100), 358 (2), 343 (1), 328 (1). UV spectrum: 247, 303 (sh), and 370 nm. Spectra ^1H (CDCl_3 , 500 MHz): δ_{H} (ppm) 7.71 (1H, s, 5'-H), 4.30 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.24 (3H, s, 3-OCH₃), 4.07 (3H, s, 5'-OCH₃), 4.06 (3H, s, 4'-OCH₃), 4.03 (3H, s, 4-OCH₃). ^{13}C -NMR (125 MHz) δ_{C} (ppm) 158.8 (C-7), 155.4 (C-7'), 154.7 (C-5'), 153.8 (C-3'), 148.2 (C-3'), 147.3 (C-3), 141.6 (C-4'), 141.4 (C-4), 137.5 (C-2'), 130.9 (C-2), 114.6 (C-1'), 113.1 (C-1), 112.9 (C-6), 107.4 (C-5), 105.7 (C-6'), 62.3 (5'-OCH₃), 62.1 (3'-OCH₃), 62.0 (3-OCH₃), 61.9 (4'-OCH₃), 56.7 (4-OCH₃).

2.9 Antiparasitic activity against *T. brucei brucei* and *L. mexicana mexicana*

The antiparasitic activity of plant extracts and pure compounds was evaluated *in vitro* on *Trypanosoma brucei brucei* (strain 427) (Tbb) and on promastigotes of *Leishmania mexicana mexicana* (MHOM/BZ/84/BEL46) (Lmm) according to the protocol described by Bero J. et al. [4]. Extracts and pure compounds were solubilized initially in DMSO to obtain stock solutions of 20 mg/mL.

Tbb strains were cultured in HMI9 (Sigma-Aldrich) medium containing 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS, Sigma-Aldrich, Germany), 150 mM L-cysteine and 20 mM beta-mercaptoethanol (Sigma-Aldrich, Germany) and were incubated at 37 °C in an atmosphere moistened with 5% CO₂. Lmm strains were cultured in HOMEM (Sigma-Aldrich) medium with 15% heat-inactivated FBS and 5 µg/mL of hemin. Lmm strains were then incubated at 28 °C in an atmosphere moistened with 5% CO₂. Suramin and pentamidine (2 mg/mL) (Sigma-Aldrich, Germany) were used as positive controls for antitrypanosomal and antileishmanial activities, respectively.

All plant extracts were first evaluated at 50 and 100 µg/mL. Then IC₅₀ (concentration of extract that can inhibit 50% of the growth of parasites) were determined for the most active extracts and for pure compounds. In this case, extracts and purified compounds were serially diluted for eight concentrations from 100 to 0.046 µg/mL (or from 10 to 0.0046 µg/mL for positive controls). All tests were done in a 96-well microplate containing 5.10⁴ parasites/well. After 72 hours of incubation, 10 µL of an Alamar Blue[®] solution diluted in PBS solution (1:1) were added. After 4h incubation, the fluorescence at 590 nm was measured with a spectrophotometer (SpectraMax M2^e, Molecular Devices, UK). The tests were performed in triplicate and repeated three times. Statistical analyses were conducted using Microsoft Excel software or GraphPad Prism, version 8.4.2 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

2.10 Cytotoxic activity Against human lung fibroblast cell line WI-38

The cytotoxic activity of the extracts and pure compounds was evaluated according to the protocol described by Bero J. et al. [18] on non-cancerous human lung fibroblast cell line WI-38 (ATCC CCL-75, bought from LGC standards, Molsheim, France), using the tetrazolium salt

colorimetric method MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) [19].

All extracts and pure compounds were solubilized in DMSO to have a stock solution of 20 mg/mL. Camptothecin (2 mg/mL) (Sigma-Aldrich, Germany) was used as a positive control. All plant extracts were first tested at 50 and 100 µg/mL, then CC₅₀ (cytotoxic concentration 50%) were determined for plants characterized by good antiparasitic activity and for pure compounds to determine the selectivity index.

To determine CC₅₀, the cells were seeded in a 96-well microplate at a final concentration of 5000 cells/well in a modified Dulbecco Eagle medium (DMEM) (Gibco™) containing 4 mM L-glutamine, 1 mM sodium pyruvate and enriched with 10% heat-inactivated FBS (Thermo Fisher Scientific®, France) and antibiotics (penicillin/streptomycin mixture 100 UI/mL, Lonza, Verviers, Belgium). After 24h incubation, serial dilutions of extracts or pure compounds in DMEM culture medium were added to obtain eight concentrations ranging from 100 to 0.046 µg/mL or from 10 to 0.0046 µg/mL (for the positive control). After 72 hours of incubation at 37 °C in an atmosphere humidified with 5% CO₂, the culture medium was completely replaced with 100 µL MTT (Thermo Fisher Scientific®, Illkirch, France), then the plates were incubated for 40 minutes. The MTT solution was replaced by 100 µL of DMSO (Sigma-Aldrich, Germany) and absorbance was measured at 570 and 620 nm using a spectrophotometer (SpectraMax M2^e, Molecular Devices, UK). Tests were performed in triplicate and repeated three times. The CC₅₀ were determined using Microsoft Excel and GraphPad Prism 8.4.2 software.

2.11 Statistical analysis

Data were analyzed and processed using Microsoft Excel and GraphPad Prism 8.4.2 and by comparing each treated group and untreated group (DMSO control). Data were analyzed by one-way ANOVA and were expressed as mean ± SEM from three independent experiments, performed in triplicates.

3. Results and discussion 280

3.1 Antiparasitic activity of crude methanolic extracts 281

In addition to our previous ethnopharmacological study [17] on the uses of Senegalese medicinal plants in the management of respiratory tract infections, the extensive bibliographic study of the traditional Senegalese pharmacopoeia and scientific literature showed that these plants could produce numerous potential antiparasitic metabolites. Regarding the plant species cited in our previous study [17], *Guiera senegalensis* J.F.Gmel. [20], *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC. [21], *Vachellia nilotica* subsp. tomentosa (Benth.) Kyal. & Boatwr [22], *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. [23], *Senna occidentalis* (L.) Link [24], *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. [25], *Strychnos spinosa* Lam [26] and *Spermacoce verticillata* L. [27,28], only the crude extracts or sub-extracts have been studied and no antitrypanosomal nor antileishmanial active compounds have been isolated yet (**Table 1**). 291

First, the 33 methanolic crude extracts were tested on the two protozoa, *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb) and *Leishmania mexicana mexicana* (Lmm), at two concentrations (50 and 100 µg/mL). Secondly, for the most active ones, the IC₅₀ were determined. Cytotoxicity was also evaluated on non-cancerous human lung fibroblasts WI-38 to determine the selectivity index. The results showed that the *T. brucei brucei* strain was more sensitive to the extracts than the *L. mexicana mexicana* strain (**Table 2**). Most of the extracts (24/33) showed interesting activities against the *T. brucei brucei* strain at 50 µg/mL (less than 40 % parasite survival), while only *Balanites aegyptiaca* (0.9 ± 0.0%) and *Eucalyptus camaldulensis* (1.0 ± 0.8%) were active against *L. mexicana mexicana* at the same concentration. However, twelve extracts strongly inhibited *L. mexicana mexicana* at 100 µg/mL. Crude extracts active at both 50 µg/mL against *T. brucei brucei* and at 100 µg/mL against *L. mexicana mexicana* were selected for the determination of IC₅₀ against *T. brucei brucei* (**Table 3**). 303

Table 1. Isolated chemical constituents and biological activities of harvested plants

Scientific name (family)	Phytochemistry	Biological activities	Ref.
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile (Zygophyllaceae)	More than 73 molecules isolated from different parts (phenolic acids, flavonoids, alkaloids, coumarins, saponosides of natural steroids. -phenolic acids: syringic acid, vanillic acid -Coumarines: bergapten, marmesine -Alkaloids: feruloyltyramine, trigonelline -Sterols: yamogenine -Saponin: balanitins 1-3	-Antimicrobial -Anti-inflammatory -Antioxidant	[29–32]
<i>Bauhinia rufescens</i> Lam. (Fabaceae)	-Triterpenes: acetate α -amyryne -Sterol: β -sitosterol -Carbohydrates: 3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside, sequoyitol -Phenols: 4-(2'-hydroxyphenethyl)-5-methoxy-2-methylphenol, 6-methoxy-7-methyl-8-hydroxydibenz[b, f]oxepine -Cyanogenic glycoside: menisdaurine -Phenanthrenoid: 5,6-dihydro-11-methoxy-2,2,12-trimethyl-2- <i>H</i> -phenanthro [2,1-B]pyran-8,9-diol	-Antimicrobial -Inhibition of tyrosinase	[33–36]
<i>Boscia integrifolia</i> J.St.-Hil. (syn. <i>Boscia senegalensis</i> Hochst. ex Walp.) (Capparidaceae)	-Lignans: dehydroadiconiferyl alcohol, alangilignoside, methylyangambin, pinoresinol, lariciresinol, lyoniresinol derivatives, liriodendrin, -Glucosinolate: methyl, 2-propyl, and 2-butyl-glucosinolate -flavanol glucosides from rhamnocitrinlasiathionoside and syringin, austroside	-sEH inhibitory activity	[37–40]
<i>Chrozophora senegalensis</i> (Lam.) A.Juss. ex Spreng. (Euphorbiaceae)	-Flavonoids: quercetin, acacetin-, and apigenin glycoside derivatives methyl ether amentoflavone, rutin -Phenolic acids: ellagic acid, gallic acid, brevifolincarboxylic acid, protocatechic acid, corillagin -Sesquiterpenoid: roseoside -Other compounds: icariside B5, ampelopsinonoside, 3,4,8,9,10-pentahydroxy-dibenzopyran-6-one	-Antiplasmodial -Antimicrobial	[41–44]
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A. Rich. (Cochlospermaceae)	-Phenolic acids: gallic acid, ellagic acid -Terpenes and terpenoids: (R)- β -bisabolene; arjunolic acid. -Fatty alcohols: 2-tridecanone; 2-pentadecanone; 1-dodecanol; 1-nonadecanol; 3-octadecanone; 3-hexadecanone; β -bisabolene; 2- <i>O</i> - <i>p</i> -coumaroyllaliphitolic acid; aliphitolic acid; 1-hydroxyoctadecan-3-one; 1-hydroxy-3-hexadecanone; 3-oxohexadecyl acetate; 1-[3,5-di(tetradecanoyl)phenyl]hexadecan-1-one; 1-hydroxytetradecan-3-one; -Apocarotenoids: cochloxanthin; dihydrocochloxanthin -Fatty acids: octaenoic acid derivatives	-Antiplasmodial -Antibacterial -Anthelmintics	[45–53]
<i>Combretum glutinosum</i> Perr. Ex DC. (Combretaceae)	-Phenolic compounds: combreglutinin (hydrolyzable tannin), 5-demethylsinensetine, umuhengerine, corymbosin -Triterpenes and phytosterols: (20S, 24R)-ocotillone, lupeol, β -sitosterol (and glycosides), oleanolic acid, bethulinic acid	-Antimicrobial -Anti-inflammatory -Antitrypanosomal -Anti-HBV -Antihelminthic	[54–59]
<i>Combretum micranthum</i> G. Don (Combretaceae)	-Alkaloids: betaine, choline, stachydrine -Phenolic acids: gallic acid -Terpenes: inositol -Flavonoids: isoorientin, isovitexin, vitexin, orientin, myricetin 3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside, myricetin 3-rutinoside	-Antidiabetic -Antiviral (HSV-1 and HSV-2) -Antimalarial -Anti-inflammatory	[60–66]

305

306

307

Table 1. Continued

Scientific name (family)	Phytochemistry	Biological activities	Ref.
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh. (Myrtaceae)	More than 100 compounds from the leaves: 0.1–0.4% essential oil (EO), 5–11% tannin, triterpenes, sterols, glycosides, flavonoids, and phenols -Terpenes: α -pinene, β -pinene, α -thujene, β -phellandrene, <i>p</i> -cymene, γ -terpinene, aromadendrene, allo-aromadendrene, bicyclogermacrene, α -copaene -Terpenoids: 1,8-cineole, trans-pinocarveol, terpinen-4-ol, myrtenol, cuminal, spathulenol, elemol, β -eudesmol, <i>cis</i> -farnesol -Flavonoids: kaempferol, quercetin, myricetin, myricetin 3-arabinoside, hyperoside, isoquercetin, spiraeoside, rutin -Triterpenes and triterpenoids: 3-hydroxy-11-ursen-28,13-olide, urs-12-en-28-oic acid, ursolic acid lactone, epibetulinic acid, betulinic acid, ursolic acid, oleanolic acid, beta-amyrin acetate, camaldulenic acid, maslinic acid, alphitolic acid, alphitolic acid, ursenolide derivatives, acetobetulinic acid, camaldulensic acid, methylacetylcucalyptanoate, methyl acetyl oleanolate, camaldulic acid, 3-beta-O-(trans-p-coumaroyl)maslinic acid -Phenolic compounds: gallic acid, ellagic acid and derivatives, proanthocyanidins...	-Antimicrobial -Antitrypanosomal -Antileishmanial -Antiviral	[23,67–70]
<i>Ficus sur</i> Forssk. (syn. <i>Ficus capensis</i> Thunb.) (Moraceae)	-Flavonoids: alpinumisoflavone, wighteone, epi- ψ -taraxastanolone -Fatty acids: oleanolic acid, -Phytosterols: β -sitosterol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside	-Anti-inflammatory -Antisickling -Antiviral (human herpes virus type 1 (HHV-1)) -Antidiuretic	[71–77]
<i>Ficus sycomorus</i> L. (Moraceae)	-Fatty acid: betulinic acid, -Flavan-3-ols: catechin, epicatechin -Carbohydrates: ethyl- β -D-glucopyranoside, ethyl- α -D-arabinofuranoside, -Phenolic acid: vanillic acid -Flavonoids: quercetin, quercetrin, quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin), 3-methoxyquercetin, luteolin-7-O-glucoside (cinaroside) -Triterpenes: β -amyrin, lupenone, lupenol -Phytosterols: campesterol-3-O-glucoside, β -sitosterol, β -sitosterol-3-O-glucoside, stigmasterol -Coumarins: psoralen, 4-carboxylic-4-hydroxy-3,4-dihydrocoumarin	-Antimicrobial -Hepato-protective -Antioxidant	[78–83]
<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel. (Combretaceae)	46 isolated molecules including: - β -carboline alkaloids: harman, harmalan, tetrahydroharman, 5-naphthylbutenones and naphthopyrones; guieranone A, methyl dihydroflavasperone, 5-methylflavasperone - Gallic acid and derivatives: quinic gallate acid, O-galloylquinic acid derivatives, (-)-gallo catechin, gallic acid, methyl gallate, ethyl gallate -Flavonoids: myricetin, myricitrin, quercetin, etc.	-Antiplasmodial -Antiviral -Anti-HBV -Antimicrobial -Antitrypanosomal -Antivenom	[84–87,60,88–93]
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Malvaceae)	-Alkaloids: trigonelline, -Flavonoids: quercetin, myricetin, gossypitrin, delphinidin-3-O-sambubioside, Hibiscetin, 5,7,8-trihydroxy-3-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)chromen-4-one -Fatty acids: allo-hydroxycitric acid lactone, lauric acid, hibiscus acid 6-methyl ester, hydroxycitric acid, myristic acid, linoleic acid, oleic acid, arachidic acid, hexadecanoate;hydron, hydron;octadecenoate -Allylbenzene: eugenol -Disaccharides: alpha-maltose -Anthocyanins: delphinidin-3-sambubioside, cyanidin-3-sambubioside -Phenanthrenic dervivatives	-Anti-neuro-inflammatory -Antioxidant -Hypertension -Antimicrobial	[94–99]

Table 1. Continued

Scientific name (family)	Phytochemistry	Biological activities	Ref.
<i>Khaya senegalensis</i> (Desv.) A.Juss. (Meliaceae)	More than 130 compounds isolated including limonoids, flavonoids, phytosterols, tetranortriterpenoids, coumarins, phenols	-Antimicrobial -Anti-inflammatory	[100–105]
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze (Rubiaceae)	-Triterpenoids: quinovic acid and derivatives, inermisides -Alkaloids: rotundifoline, isorotundifoline, rhynchophylline, isorhynchophylline, ciliaphylline, rhynchocilin, speciophylline, uncarine F, mitraciliatin, corynanthin, speciogynine	-Antimicrobial -Antiplasmodial	[106–110]
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst. (syn. <i>Bauhinia reticulata</i> DC.) (Fabaceae)	-Diterpenes: labrane and kaurane derivatives, -Flavonoids: C-methylflavonols, quercetin, C-methylquercetin derivatives, 6,8-di-C-methylkaempferol-3-trimethylether, quercetrin, quercetin-3-O-glucoside - Proanthocyanidins - Phenoxychromones: piliostigmol (oxychromonol), piliostigmine	-Antibacterial -Antispasmodic -Antioxidant -Antiinflammatory	[111–113]
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir. (Fabaceae)	-Triterpenes: friedelin, lupeol, 3 α -hydroxyfriedelan-2-one, α -sophoradiol, 2,3-dihydroxypropyloctacosanoate, -Glucoside: maltol-6-O-apiofuranoside-glucopyranoside -Phytosterols: stigmasterol, β -sitosterol, campesterol and derivatives -Ketone: (2R)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl) propan-1-one, -Flavonoids: angolensin, muningin, formononetin, pseudobaptigenin, boutotone, isoliquiritigenin, homopterocarpin, boutomycone, epicatechin	-Antifongic -Antioxydant -Hepato-protective	[114–118]
<i>Senna italica</i> Mill. (Fabaceae)	-Phytosterol: β -sitosterol, stigmasterol, daucosterol -Triterpenes: α -amyrin, (22E)-3- β -hydroxycycloart-22-en-24-one, uvaol, -Anthraquinones in the pods: 1,5-dihydroxy-3-methyl anthraquinone, physcion, chrysophanol and derivatives, emodin, aloin -Flavonoids: quercetin, apigenin, cosmosiin, rutin, kaempferol, quercimeritrin, nicotiflorin, kaempferol and associated glycosides -Others: 2,6-di-sec-butylphenol, 2,2'-methylenebis(5-methyl-6-tert-butylphenol), tetratriacontane, methyl-3,4-dihydroxybenzoate, 4-hydroxypheny-O- β -D-glucopyranoside	-Insecticidal -Antifungal - Antibacterial -Antiviral	[119–123]
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link (syn. <i>Cassia occidentalis</i> L.) (Fabaceae)	-Anthraquinones: achrosin, aloe-emodin, emodin, anthraquinones, anthrones, rhein, 2,2'-dimethylantraquinone, trimethoxyflavon-5-O- β -D-allopyranoside, physcion, 1,8-dihydroxy-2-methylantraquinone, biantraquinone, germichrysone, chryso-obtusine, chrysophanic acid, chrysarobin, chrysophanol, helminthosporin, icelicin, occidentol-I, occidentol-II, sennoside -Fatty acids: linoleic acid, linolenic acid, oleic acid -Phytosterols: campesterol, sitosterol -Carbohydrates: galactopyranosyl, lignoceric acid, mannitol, mannopyranosyl, rhamnosides -Flavonoids: apigenin, chrysoeriol, kaempferol, quercetin, vitexin, 3,2'-dihydroxy-7,8,4'-trimethoxyflavon-5-O- β -D-allopyranoside-2, cassiaoccidentals A-C, 1,1-bi-4,4',5,5'-tetrahydroxy-metterucinol-7-O- α -L-rhamnoside, matteucinol, obtusifoline, obtusine, aurantiobtusine -Other phenolic compounds: cassiollin, rubrofusarin	-Antibacterial -Antifungal -Antidiabetic -Anti-inflammatory -Antimutagenic -Hepatoprotector, -Antioxidant -Antiplasmodial -Antitrypanosomal	[24,124–127,45,128]

310

311

312

313

Table 1. Continued

314

Scientific name (family)	Phytochemistry	Biological activities	Ref.
<i>Spermacoce verticillata</i> L. (Rubiaceae)	-Iridoids: daphylloside, asperuloside with derivatives, feretoside, deacetulasperulosidic acid, methyl ester 6'-O-(2-glycerol) scandoside, borrieriagine -Alkaloids: whorlin A, whorlin B, borrerine, isoborreverine, borreverine, spermacoceine -Terpenoids and phytosterols: campesterol, cariophyllene, β -sitosterol, stigmasterol, guaiane, 3,5-dioxo-friedelane, sitosterone, stigmastene, -Fatty acids: morolic acid, ursolic acid, oleanolic acid -Flavonoids: quercetin and glycosides -Anthraquinones: 2-hydroxy-3-methylanthraquinone, -Isochromenes: austidiol, austidiol dimer, austidiol diacetate	-Antimicrobial -Antileishmania -Larvicide -Schistosomicide -Uterine stimulant	[27,28, 129–132]
<i>Strychnos spinosa</i> Lam. (Loganiaceae)	Approximately 88 compounds -Alkaloids: diaboline derivatives tetrahydrocantlyne, cantleyne, 10-hydroxyakagerine, henningsoline, colchicine, brucine, strictosidine -Flavonoids: trifoline, geraldol, hyperin, astragalin, hirsutrin, nicotiflorin -Iridoids: strychnoside, kinside, strychnoside, vogeloside, epi-vogeloside, carboxystrictosidine, cantleyoside, secologanoside, secologanoside 7-methyl ester, secologanoside dimethyl ester, secologanic acid, triploside A, aldosecologanin, loganine, secologanin, sweroside, secoxyloganine, secologanin dimethyl acetal	-Antimicrobial -Antiplasmodial -Antitrypanosomal -Antileishmanial	[26,13 3–136,18, 137]
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (Combretaceae)	-Phenolic compounds from trunk bark: ellagic acid rhamnoside, punicalagin, flavogallonic acid bislactone, ellagic acid, terchebulin -Triterpenes from root bark: arjunolic acid, amarin, 2,3,23-trihydroxyolean-12-ene, friedelin	-Antibacterial -Antimycobacterial (BCG) -Antiplasmodial -Trypanocidal	[138–142]
<i>Terminalia leiocarpa</i> Baill. (syn. <i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. & Perr.) (Combretaceae)	-Phenolic acids: 3,3,4-tri-O-methylflavellagic acid, 3,3,4-tri-O-methylflavellagic acid-4-D-glucoside, gentisic acid, protocatechic acid, chebulagic acid, chebulinic acid, and ellagic acid, flavogallonic acid bislactone, castalagin -Flavonoids: 4-H-1-Benzopyran-4-one, catechin, quercetin, isoquercetin, rutin, vitexin, kaempferol, procyanidin B2 -Triterpenes and triterpene glycosides: namelysericoside, aglyconesericic acid, rachelosperoside; aglyconerachelosperogenin, arjungenin	-Antidiabetic -Antioxidant -Antiparasitic -Antibacterial -Anthelmintic -Antihyperlipidemic	[25,14 3–151]
<i>Vachellia nilotica</i> subsp. <i>tomentosa</i> (Benth.) Kyal. & Boatwr (syn. <i>Acacia nilotica</i> var <i>tomentosa</i> (L.) Delile) (Fabaceae)	-Tannins and gallic acid derivatives: galloocatechin-5-O-gallate, methyl gallate, gallic acid, digallic acid, (+)-catechin, catechin-5-O-gallate, 1-O-galloyl- β -D-glucose, 1,6-di-O-galloyl- β -D-glucose, (-) epigalloocatechin-7-gallate, (-) epigalloocatechin-5,7-digallate, (+)-catechin-5-O-gallate -Cassane diterpene (niloticane) -Flavonoids: narachenenine	-Antimicrobial -Antispasmodic -Antihypertensive -Antimalarial -Antioxidant -Antileishmania	[22,15 2–156]
<i>Vachellia seyal</i> (Delile) P.J.H.Hurter (syn. <i>Acacia seyal</i> Delile) (Fabaceae)	-Phenolic acids and polyphenols: gallic acid, salicylic acid, <i>p</i> -coumaric acid, caffeic acid, 3,4-dihydroxy benzoic acid, ferulic acid, catechin, epicatechin -Triterpenes: lupeol, -Phytosterols: campesterol, stigmasterol, clionasterol -Amides: oleamide	-Antimicrobial -Antimalarial -Antidiabetic -Dermatological	[157–161]

315

316

Table 2. Antiparasitic activities of methanolic crude extracts against the two parasites, *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb) and *Leishmania mexicana mexicana* (Lmm), and cytotoxic activity on non-cancerous human lung fibroblasts WI-38. Data are expressed relative to the negative control, DMSO, as mean $\pm$ SD (n = 2 or n = 3 in triplicates).

Methanolic crude extracts	Tbb (% viability $\pm$ SD)		Lmm (% viability $\pm$ SD)		WI-38 (% viability $\pm$ SD)	
	50 μ g/mL	100 μ g/mL	50 μ g/mL	100 μ g/mL	50 μ g/mL	100 μ g/mL
<i>B. aegyptiaca</i> Tb	0.8 $\pm$ 0.6	0.3 $\pm$ 0.0	0.9 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	1.3 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.5
<i>B. integrifolia</i> L	92.9 $\pm$ 3.5	68.7 $\pm$ 11.3	91.4 $\pm$ 4.2	86.6 $\pm$ 1.3	84.8 $\pm$ 0.6	87.4 $\pm$ 1.7
<i>B. rufescens</i> L	3.4 $\pm$ 2.1	0.5 $\pm$ 0.3	117.7 $\pm$ 18.0	107.1 $\pm$ 8.5	87.4 $\pm$ 2.5	74.8 $\pm$ 0.4
<i>B. rufescens</i> P	0.4 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.5	106.4 $\pm$ 7.9	81.9 $\pm$ 16.4	84.2 $\pm$ 2.9	78.3 $\pm$ 3.8
<i>B. rufescens</i> Tb	2.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	112.8 $\pm$ 15.6	132.6 $\pm$ 39.1	84.5 $\pm$ 4.2	78.3 $\pm$ 2.6
<i>C. glutinosum</i> L	0.2 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	104.6 $\pm$ 41.2	1.2 $\pm$ 0.1	98.1 $\pm$ 0.7	48.1 $\pm$ 2.9
<i>C. micranthum</i> R	24.7 $\pm$ 4.5	0.4 $\pm$ 0.3	45.8 $\pm$ 3.2	11.9 $\pm$ 1.7	91.6 $\pm$ 1.1	88.1 $\pm$ 9.8
<i>C. senegalensis</i> Wp	0.7 $\pm$ 0.7	0.1 $\pm$ 0.1	110.6 $\pm$ 12.3	95.0 $\pm$ 4.1	96.0 $\pm$ 1.4	99.6 $\pm$ 0.4
<i>C. tinctorium</i> R	22.3 $\pm$ 3.2	0.1 $\pm$ 0.1	89.6 $\pm$ 2.2	112.8 $\pm$ 4.8	91.6 $\pm$ 0.6	70.2 $\pm$ 3.4
<i>E. camaldulensis</i> L	1.0 $\pm$ 0.6	0.2 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.8	1.0 $\pm$ 1.4	3.7 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.7
<i>F. sur</i> R	15.3 $\pm$ 1.7	7.3 $\pm$ 1.4	97.2 $\pm$ 6.2	106.7 $\pm$ 0.6	88.0 $\pm$ 0.6	95.0 $\pm$ 2.3
<i>F. sycomorus</i> L	91.1 $\pm$ 2.7	1.2 $\pm$ 1.1	109.1 $\pm$ 18.3	108.1 $\pm$ 19.5	82.0 $\pm$ 0.5	80.4 $\pm$ 1.5
<i>F. sycomorus</i> Tb	0.6 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	104.1 $\pm$ 19.5	125.7 $\pm$ 33.0	89.0 $\pm$ 4.9	27.0 $\pm$ 0.5
<i>G. senegalensis</i> L	1.4 $\pm$ 0.6	0.6 $\pm$ 0.3	49.2 $\pm$ 3.0	0.4 $\pm$ 0.3	84.2 $\pm$ 1.9	21.5 $\pm$ 0.3
<i>H. sabdariffa</i> . C	89.8 $\pm$ 2.9	74.8 $\pm$ 3.0	101.4 $\pm$ 1.4	105.5 $\pm$ 3.0	81.9 $\pm$ 2.2	79.5 $\pm$ 4.0
<i>K. senegalensis</i> Tb	2.7 $\pm$ 2.7	0.6 $\pm$ 0.6	86.6 $\pm$ 1.1	64.0 $\pm$ 30.0	89.2 $\pm$ 0.0	78.2 $\pm$ 4.7
<i>M. inermis</i> L	101.1 $\pm$ 14.6	0.6 $\pm$ 0.3	111.7 $\pm$ 13.3	99.0 $\pm$ 1.0	105.5 $\pm$ 5.0	78.6 $\pm$ 8.7
<i>P. erinaceus</i> Tb	3.4 $\pm$ 2.0	14.2 $\pm$ 2.5	75.4 $\pm$ 7.1	76.2 $\pm$ 2.9	93.0 $\pm$ 0.8	11.9 $\pm$ 0.8
<i>P. reticulatum</i> L	57.8 $\pm$ 20.0	1.1 $\pm$ 0.1	107.8 $\pm$ 7.0	113.1 $\pm$ 12.9	98.0 $\pm$ 6.3	47.9 $\pm$ 4.9
<i>P. reticulatum</i> Tb	0.2 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	102.7 $\pm$ 7.3	133.7 $\pm$ 39.8	88.5 $\pm$ 1.4	9.2 $\pm$ 4.6
<i>S. italica</i> L	28.7 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.0	68.2 $\pm$ 0.2	125.9 $\pm$ 0.2	106.9 $\pm$ 9.6	79.6 $\pm$ 11.6
<i>S. occidentalis</i> L	99.5 $\pm$ 6.1	35.5 $\pm$ 8.1	124.7 $\pm$ 21.9	123.7 $\pm$ 23.6	79.0 $\pm$ 0.2	83.4 $\pm$ 0.4
<i>S. occidentalis</i> P	82.1 $\pm$ 0.2	86.0 $\pm$ 3.3	120.1 $\pm$ 18.2	109.0 $\pm$ 8.8	93.9 $\pm$ 1.8	79.2 $\pm$ 13.5
<i>S. occidentalis</i> S	60.3 $\pm$ 5.3	54.9 $\pm$ 0.1	115.9 $\pm$ 20.3	95.5 $\pm$ 0.0	101.7 $\pm$ 12.5	47.1 $\pm$ 5.5
<i>S. spinosa</i> L	47.8 $\pm$ 16.6	1.1 $\pm$ 1.5	106.4 $\pm$ 9.8	96.5 $\pm$ 0.0	68.1 $\pm$ 7.3	68.6 $\pm$ 1.8
<i>S. verticillata</i> L	0.7 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.4	116.1 $\pm$ 21.5	19.1 $\pm$ 13.9	85.3 $\pm$ 0.6	88.1 $\pm$ 0.5
<i>S. verticillata</i> S	3.2 $\pm$ 1.5	1.7 $\pm$ 1.2	102.7 $\pm$ 1.4	11.2 $\pm$ 8.5	84.9 $\pm$ 4.6	77.5 $\pm$ 4.9
<i>T. avicennioides</i> L	0.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	80.5 $\pm$ 15.0	4.9 $\pm$ 1.5	80.5 $\pm$ 1.7	76.3 $\pm$ 27.9
<i>T. avicennioides</i> R	0.3 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.0	70.4 $\pm$ 26.8	3.0 $\pm$ 0.8	81.6 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.1
<i>T. avicennioides</i> Rb	0.4 $\pm$ 0.3	0.1 $\pm$ 0.0	44.8 $\pm$ 13.3	3.4 $\pm$ 3.1	75.7 $\pm$ 0.6	91.3 $\pm$ 10.2
<i>T. leiocarpa</i> L	0.5 $\pm$ 0.5	0.0 $\pm$ 0.0	94.3 $\pm$ 2.1	8.0 $\pm$ 2.2	87.2 $\pm$ 1.5	86.6 $\pm$ 1.9
<i>V. nilotica</i> P	0.3 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0	39.8 $\pm$ 13.7	0.2 $\pm$ 0.1	97.2 $\pm$ 0.8	20.7 $\pm$ 5.7
<i>V. seyal</i> Tb	0.5 $\pm$ 0.7	0.2 $\pm$ 0.2	94.7 $\pm$ 3.9	71.2 $\pm$ 2.7	93.8 $\pm$ 2.8	43.2 $\pm$ 7.8

Plant parts: L: leaves; R: roots; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; Wp: whole plant; G: pods; C: calyces

The results highlighted the strong antitrypanosomal activity of all selected plants belonging to the Combretaceae family associated with low cytotoxicity. Among them, *Terminalia avicennioides* showed promising activities against *T. brucei brucei*: leaves ($IC_{50} = 11.53 \pm 3.25 \mu\text{g/mL}$), root bark ($IC_{50} = 16.67 \pm 0.61 \mu\text{g/mL}$), and roots ($IC_{50} = 6.26 \pm 0.18 \mu\text{g/mL}$) with moderate to low cytotoxicity. In contrast, *G. senegalensis* (leaves) and *C. glutinosum* (leaves) extracts showed antiparasitic activities against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 12.33 \pm 2.45 \mu\text{g/mL}$ and $17.29 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ respectively), but with lower selectivity values. Some antiparasitic activities of these species have already been documented. This is the case for the ethanolic extract of *Combretum glutinosum* leaves, active against *T. b. rhodesiense* ($IC_{50} = 26.5 \mu\text{g/mL}$) [54] and the dichloromethane extract of *Guiera senegalensis* leaves against *T. brucei* *in vitro* and *in vivo* in mice [20]. Antiplasmodial compounds were also isolated from *Guiera senegalensis*. Guieranone A showed the strongest antimalarial activity against *P. falciparum* W2 strain ($IC_{50} 1.29 \mu\text{g/mL}$) followed by tetrahydroharman, harman, and harmalan ($IC_{50} 8.56 \mu\text{g/mL}$, $3.29 \mu\text{g/mL}$, and $22.43 \mu\text{g/mL}$, respectively) [20,84]. Among species belonging to other botanical families, the crude extract of the pods of *V. nilotica* was the most active against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 3.58 \pm 1.47 \mu\text{g/mL}$) with a moderate cytotoxicity against WI-38 cells ($CC_{50} = 66.28 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$). *V. nilotica* is already known for its high content of condensed and hydrolyzable tannins and its antimicrobial properties including antitrypanosomal activity [17,22,152,162]. The crude trunk bark methanolic extract of *V. nilotica* was also previously tested against promastigote ($IC_{50} = 19.5 \mu\text{g/mL}$) and amastigote stages ($IC_{50} = 77.52 \mu\text{g/mL}$) of *L. donovani* [22]. The crude extracts of *B. aegyptiaca* (trunk bark) and *E. camaldulensis* (leaves) were found to be more active against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 13.37 \pm 4.36 \mu\text{g/mL}$ and $12.09 \pm 2.82 \mu\text{g/mL}$ respectively) compared to *L. mexicana mexicana* ($IC_{50} = 20.01 \pm 0.53 \mu\text{g/mL}$ and $62.64 \pm 6.73 \mu\text{g/mL}$ respectively). However, the trunk bark extract of *B. aegyptiaca* was highly toxic on WI-38 cells ($CC_{50} = 14.02 \pm 3.30 \mu\text{g/mL}$). For *E. camaldulensis* (leaves), its antitrypanosomal and antileishmanial activities have also been previously described [23,67].

Table 3. Antiparasitic activities (IC₅₀ in µg/mL) of the most active crude extracts against the two parasites, *Trypanosoma brucei brucei* (**Tbb**) and *Leishmania mexicana mexicana* (**Lmm**), and cytotoxic activity (CC₅₀ in µg/mL) on non-cancerous human lung fibroblasts WI-38. Data were expressed as mean ± SD (n = 3 in triplicates).

Botanical families	Methanolic crude extracts	WI-38 CC ₅₀ ± SD (µg/mL)	Tbb IC ₅₀ ±SD (µg/mL)	SI (Tbb)	Lmm IC ₅₀ ±SD (µg/mL)	SI (Lmm)
Combretaceae	<i>T. avicennioides</i> L	>100	11.53 ± 3.25	>8.6	-	-
	<i>T. avicennioides</i> Rb	>100	16.67 ± 0.61	>5.9	-	-
	<i>T. avicennioides</i> R	66.15 ± 0.75	6.26 ± 0.18	10.5	-	-
	<i>G. senegalensis</i> L	77.93 ± 3.12	12.33 ± 2.45	6.3	-	-
	<i>C. glutinosum</i> L	78.28 ± 6.87	17.29 ± 0.15	4.5	-	-
	<i>T. leiocarpa</i> L	>100	11.84 ± 3.77	>8.4	-	-
	<i>C. micranthum</i> R	>100	31.05 ± 7.73	>3.22	-	-
Rubiaceae	<i>S. verticillata</i> S	>100	34.25 ± 3.51	>2.91	-	-
	<i>S. verticillata</i> L	>100	25.66 ± 6.16	>3.89	-	-
Fabaceae	<i>V. nilotica</i> P	66.28 ± 0.08	3.58 ± 1.47	18.5	-	-
	<i>B. rufescens</i> L	>100	49.35 ± 3.41	>2.02	-	-
Zygophyllaceae	<i>B. aegyptiaca</i> Tb	14.02 ± 3.30	13.37 ± 4.36	1.04	20.01 ± 0.53	0.7
Myrtaceae	<i>E. camaldulensis</i> L	66.15 ± 1.71	12.09 ± 2.82	5.47	62.64 ± 6.73	1.05

Plant parts: L: leaves; R: roots; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; P: pod, **Tbb** = *Trypanosoma brucei brucei*; **Lmm** = *Leishmania mexicana mexicana*; **WI-38** = non-cancerous human lung fibroblasts; **IC₅₀ or CC₅₀ of positive controls (in µg/mL):** camptothecin (WI-38) 0.029 ± 0.001, suramin (Tbb) 0.055 ± 0.001, pentamidine (Lmm) 0.087 ± 0.008; **Selectivity indexes** were calculated by **SI=CC₅₀(WI-38)/IC₅₀(Tbb or Lmm)**; (-) IC₅₀ not could be determined

For *Terminalia avicennioides*, only the antitrypanosomal activities of the methanolic root extract have been previously reported with IC₅₀ = 12.5 µg/mL against *T. brucei brucei*. Potential bioactive compounds have been suggested to be punicalagin, ellagic acid, flavogallonic acid and terchebulin [25]. Ellagic acid and its derivatives, as well as ellagitannins were the major compounds detected in *T. avicennioides* roots. Ellagic acid and hydrolysable tannins displayed trypanocidal activity *in vitro* with MIC values ranging between 7.5 and 31.5 µg/ml (14–91 µM) [25]. These results were consistent with our study. However, the antitrypanosomal and antileishmanial activities of *T. avicennioides* leaves have not been described previously. The phytochemistry of this plant part has also not been explored before. Therefore, bioguided isolation of antiparasitic compounds from the crude methanolic extract *T. avicennioides* leaves was carried out in this study.

3.2 Antiparasitic activity of sub-extracts and isolated compounds of *T. avicennioides* leaves 367

From the crude methanolic extract of *T. avicennioides* leaves, liquid/liquid extraction was 368
performed in order to obtain four sub-extracts (cyclohexane, DCM, EtOAc and aqueous) 369
evaluated for their antiparasitic properties. 370

The EtOAc sub-extract of *T. avicennioides* leaves showed the highest antitrypanosomal 371
activity ($IC_{50} = 5.85 \pm 0.31 \mu\text{g/mL}$) but no antileishmanial activity (**Table 4**). The analysis of 372
the ethyl acetate sub-extract by UHPLC-UV-MS (Figures **1B**, S4 and Table S4) highlighted the 373
presence of phenolic compounds such as ellagitannins, gallic acid, ellagic acid and its 374
derivatives as the main compounds, as well as proanthocyanins and various flavonoids. These 375
compounds were already known for their antitrypanosomal properties and some had already 376
been identified in *Terminalia* species [4,25,163]. Ellagic acid (**1**), a reference standard, was 377
tested and showed a high anti-trypanosomal activity against *T. brucei brucei* with an IC_{50} of 378
 $3.35 \pm 1.27 \mu\text{g/mL}$ ($11.08 \mu\text{M}$) and with a selectivity index of 6.82, consistent with previous 379
data [164]. By contrast, ellagic acid did not show antiparasitic activity against *L. mexicana* 380
mexicana. Ellagic acid was also previously reported for its antibacterial, antiparasitic and 381
antimalarial activity *in vitro* and *in vivo* [165]. 382

On the other hand, the cyclohexane and DCM sub-extracts characterized by moderate 383
activities against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 16.26 \pm 0.77 \mu\text{g/mL}$ and $13.56 \pm 3.50 \mu\text{g/mL}$, 384
respectively) were also active against *L. mexicana mexicana* ($IC_{50} = 19.53 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$ and 385
 $20.74 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$, respectively). The chromatographic profiles of the cyclohexane and DCM 386
sub-extracts obtained by UHPLC-UV-MS (**Fig. 1C** and **1D**) exhibited a similar chemical 387
composition, but the DCM sub-extract showed higher levels of the major compounds visible 388
on the chromatogram. This may explain their very similar antiparasitic activities. The 389
antitrypanosomal and antileishmanial activities of the DCM sub-extract ($IC_{50} = 13.56 \pm 3.50$ 390
 $\mu\text{g/mL}$ and $20.74 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$, respectively) justified its fractionation by preparative HPLC 391
which led to the isolation of four ellagic acid derivatives (**2-5**), including three coruleoellagic 392
acids: 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (**2**) [166,167], 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*,*O*- 393
methylideneflavellagic acid (**3**) [168], hexamethylcoruleoellagic acid (**4**) [169] and 394

pentamethylflavellagic acid (5) [169,170] (**Fig. 2**). Their structures were identified by comparison of NMR and MS data with those reported in the literature. The apolar compounds **3-5** were isolated for the first time in this plant. These specialized metabolites are rather rare in the plant kingdom. Compound **5** was the major peak of the DCM sub-extract at 254 nm.

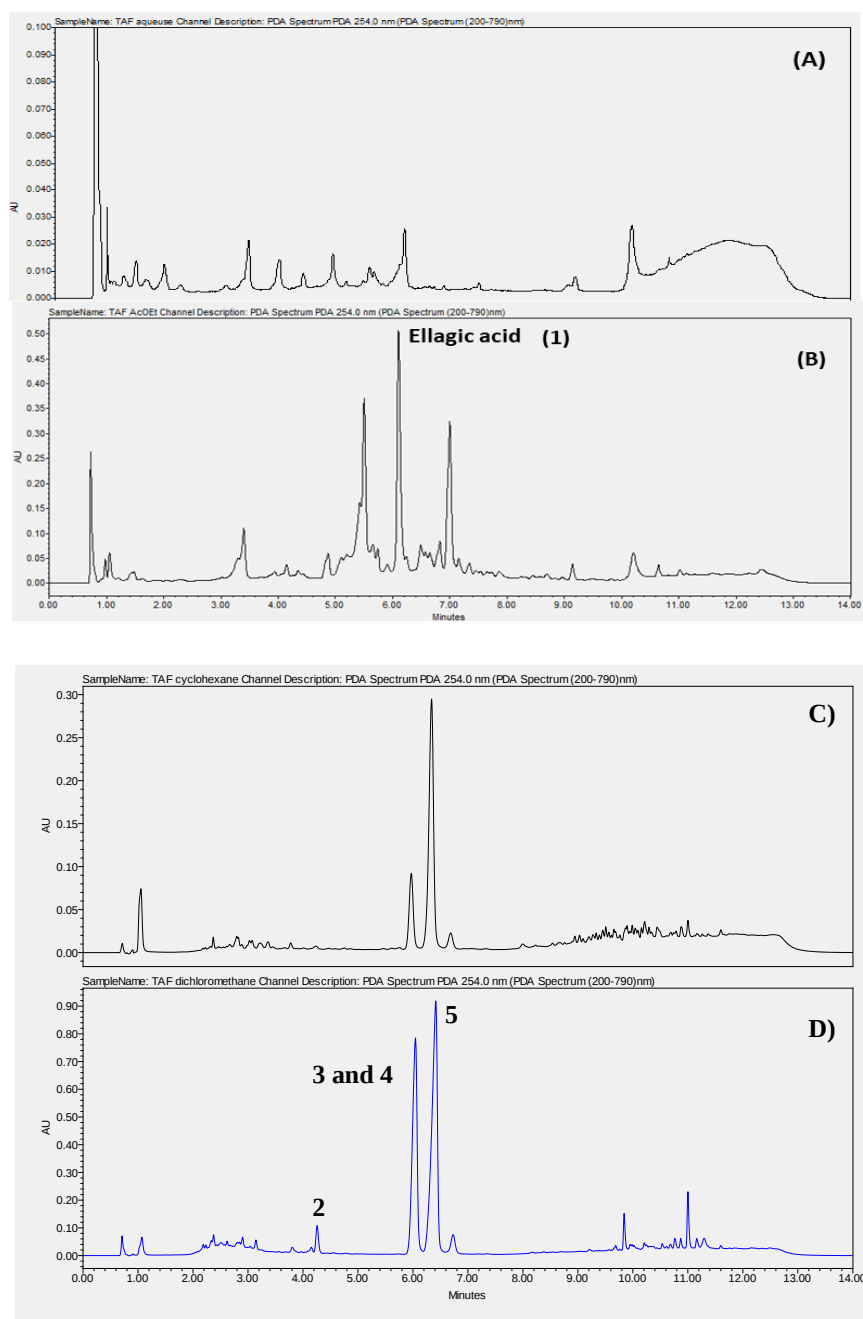


Figure 1. UV chromatograms obtained by UHPLC-UV-MS at $\lambda = 254$ nm of (A) Aqueous sub-extract, (B) EtOAc sub-extract, (C) Cyclohexane sub-extract and (D) Dichloromethane sub-extract of *T. avicennoides* leaves with purified compounds (**2-5**)

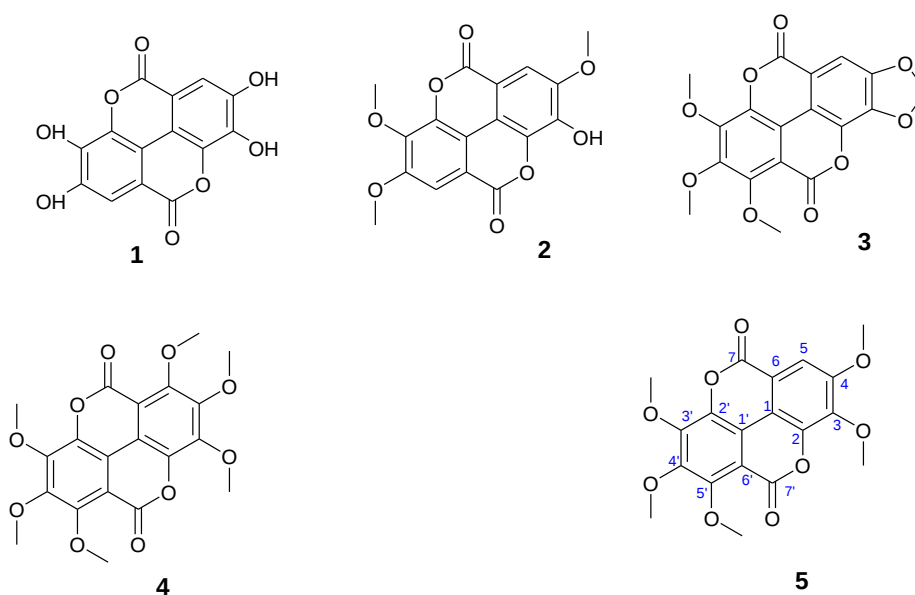


Figure 2. Structures of ellagic acid (**1**); 3,4,3'-tri-O-methylellagic acid (**2**), 3,4,5-O-trimethyl-3',4'-O,O-methylideneellagic acid (**3**), hexamethylcoruleoellagic acid (**4**) and pentamethylflavellagic acid (**5**)

Table 4. Antiparasitic activities (IC_{50} in $\mu\text{g/mL}$) of the crude extract, sub-extracts and isolated compounds against the two parasites, *Leishmania mexicana mexicana* (**Lmm**) and *Trypanosoma brucei brucei* (**Tbb**), and cytotoxic activity (CC_{50} in $\mu\text{g/mL}$) on non-cancerous human lung fibroblasts WI-38. Data were expressed as mean $\pm$ SD (n = 3 in triplicates).

Extracts/Sub-extracts/ Compounds	$IC_{50} \pm SD$ in $\mu\text{g/mL}$ (μM)		$CC_{50} \pm SD$ in $\mu\text{g/mL}$ (μM)	SI	
	Lmm	Tbb		(Lmm)	(Tbb)
MeOH	NA	11.53 ± 3.25	>100	-	>8.6
EtOAc	NA	5.85 ± 0.31	73.27 ± 1.15	-	12.5
Cyclohexane	19.53 ± 1.13	16.26 ± 0.77	58.27 ± 1.77	3.0	3.6
DCM	20.74 ± 0.05	13.56 ± 3.50	34.63 ± 13.31	1.6	2.5
1	NA	3.35 ± 1.27 (11.08)	22.81 ± 1.07 (75.53)	-	6.8
2	29.13 ± 4.33 (84.68)	15.39 ± 1.14 (44.73)	28.46 ± 5.00 (82.72)	0.9	1.8
3	54.21 ± 6.08 (145.72)	32.85 ± 5.72 (88.31)	10.92 ± 0.07 (29.35)	0.2	0.3
4	26.42 ± 2.77 (63.21)	20.77 ± 0.28 (49.68)	>50	>1.9	>2.4
5	56.71 ± 2.91 (146.15)	2.41 ± 0.04 (6.20)	19.71 ± 1.21 (50.80)	0.3	8.2
Pentamidine	0.08 ± 0.01 (0.24)				
Amphotericin B	0.09 ± 0.01 (0.10)				
Suramin		0.05 ± 0.01 (0.04)			
Camptothecin			0.03 ± 0.00 (0.07)		

NA: no activity at 100 $\mu\text{g/mL}$. **Selectivity indexes (SI)** were calculated by $SI = CC_{50}(\text{WI-38}) / IC_{50}(\text{Tbb or Lmm})$

Compounds **2-5** were tested *in vitro* against both parasitic strains and WI-38 cells (**Table 4**) and showed significant activities against *T. brucei brucei* with IC₅₀ ranging from 2.41 to 32.85 µg/mL. The compound **5** (IC₅₀ = 2.41 ± 0.04 µg/mL either 6.20 µM) was the most active against *T. brucei brucei* and had the best selectivity index compared to WI-38 cells (SI = 8.2). However, *L. mexicana mexicana* appeared to be more resistant to the isolated compounds with an IC₅₀ varying between 26.42 and 56.71 µg/mL. Hexamethylcoruleoellagic acid (**4**) was the most active against *L. mexicana mexicana* compared to other analogues of the series (IC₅₀ = 26.42 ± 2.77 µg/mL either 63.21 µM). The evaluation of the cytotoxicity on WI-38 cells showed that compounds **2, 3** and **5** were potentially toxic (10.92 ± 0.07 µg/mL < CC₅₀ < 28.46 ± 5.00 µg/mL). Only compound **4** was not toxic on WI-38 at 50 µg/mL. These activities were determined for the first time for the compounds **3-5** and provided evidence of the importance of the number of methoxy groups, their position in the structure and the type of substitution at the C-5 position [166]. Indeed, the presence of a methylenedioxy in position C-3/C-4 (compound **3**) or a methoxy group in C-5 (compound **4**) decreased the activity against *T. brucei brucei*, compared to compound **5**. However, an opposite phenomenon seemed to be observed on *L. mexicana mexicana*. A methoxy group at C-5 could slightly increase antileishmanial activities. These variations may be explained by the different mechanisms of defence of the parasites based on the modification of their metabolism or an increasing of the expression of transport proteins [171]. A methoxy group at C-5, such as in compound **4**, could attenuate the cytotoxicity.

Some of these ellagic acid derivatives have already been described for other biological activities. Compound **3** revealed cytotoxic activity against P-388 leukaemia cells [168] and was also reported as antibacterial agent [166], aldose reductase inhibitor (RLAR), antioxidant agent, T-cell proliferation regulator [169] and megakaryopoiesis inductor [167]. Compound **4**, belonging to coruleoellagic acid group, is relatively unusual in the plant kingdom [168], and previously revealed a moderate antibacterial against *Pseudomonas aeruginosa* with a MIC of 64 µg/mL [169].

3.3 Phytochemical composition of *T. avicennioides*

To compare the different chemical profiles of *T. avicennioides* leaf, root, and root bark extracts and to identify unpurified compounds, UHPLC-UV-MS or UHPLC-LTQ orbitrap XL MS/MS analyses were performed. The data of the mass spectra (m/z), absorbances (UV λ_{max}) and retention times of the detected compounds were compared with those obtained from other *Terminalia* species such as *T. catappa*, *T. brownii*, *T. chebula*, *T. laxiflora*, etc [146,140,172–181].

The analyses showed that the ethyl acetate sub-extracts of roots and root bark were mainly composed of ellagitannins, gallic acid (RT 0.98 min) and its derivatives, ellagic acid (RT 6.11 min) and its derivatives including ellagic acid xylopyranoside (RT 5.57 min) and ellagic acid xyloside (RT 5.85 min) (Figures S2-S3 and Tables S2-S3). Ellagic acid was the predominant compound in roots (peak area 30.35%) and root bark (peak area 32.36%) at 254 nm. By contrast, the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves, although containing numerous gallic acid and ellagic acid derivatives as well as ellagitannins, also appears to be rich in flavonoids, mainly flavone-*C*-glycosides (Figure S4 and Table S4). However, ellagic acid and derivatives, and ellagitannins remain the main compounds in the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves.

The analyses carried out on the cyclohexane and DCM sub-extracts of the leaves through UHPLC-UV-MS and UHPLC-LTQ orbitrap XL MS/MS show very similar chromatographic profiles with ellagic acid derivatives (2-5) as major compounds (Fig. 1C, 1D). In addition, other compounds such as orientin, vitexin, chlorophyll derivatives (Epoxypheophorbide a, pheophorbide a and their isomers), amides and alkaloids have been detected in the cyclohexane and DCM sub-extracts of the leaves (Table 5 and S5). Pheophorbide a, known as a photosensitizer that is used in photodynamic therapy, induces photodynamic inactivation of *Trypanosoma cruzi* [182].

This dereplicative approach also revealed the presence of the 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (RT 4.25 min) as major compound of the dichloromethane root and root bark sub-extracts (Figure S7).

These phytochemical studies carried out on *T. avicennioides* complemented the data on 469
Terminalia species known for their high content of ellagitannins, gallic acid and ellagic acid 470
derivatives as well as flavone-*C*-glycosides [179–181]. 471

Table 5. Identification of chemical constituents in cyclohexane and dichloromethane sub-extracts of *Terminalia avicennioides* leaves by combination of UHPLC-PDA-MS and UHPLC-HRMS/MS data in positive ionization mode. Several levels of confidence were assigned (levels 1-3): level 1 (unambiguously identified metabolite, purified compounds (3-5)), level 2 (putatively annotated metabolite matched with databases), and level 3 (unidentified metabolite but molecular formula assigned).

RT (min)	$\lambda_{\max}$	m/z	MS Major ion	MS/MS fragments [m/z]	Molecular formula	Δ ppm	Identification	Compound (sub)class	Confidence level	Database match information
3.63	263; 287 (sh); 346	449.1068	[M+H] ⁺	431.0970; 413.0872; 383.0759; 329.0659	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-2.4	Orientin	Flavone-C-glycosides	2	KEGG C10114
3.71	279	433.1120	[M+H] ⁺	415.1014; 367.0807	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	-2.2	Vitexin	Flavone-C-glycosides	2	KEGG C01460
3.87		453.3424	[M+H] ⁺	435.3322	C ₂₃ H ₄₈ O ₈	0.4			3	
4.27		340.2588	[M+H] ⁺	331.2539; 276.7275; 227.1750; 210.1486	C ₁₈ H ₃₃ N ₃ O ₃	-2			3	
4.27		679.5097	[M+H] ⁺	661.5002; 643.4899; 452.3586; 435.3323	C ₄₇ H ₆₆ O ₃	1.8			3	
4.27		163.1324	[M+H] ⁺	66.1679	C ₈ H ₁₈ O ₃	-3			3	
5.09		453.3424	[M+H] ⁺	389.8113	C ₂₃ H ₄₈ O ₈	0.4			3	
4.93	248; 329	227.1537	[M+H] ⁺	184.0990; 66.1679	C ₁₅ H ₁₈ N ₂	-2.6	6-Methylergoline	Ergoline alkaloids	2	KEGG C07540
7.78		348.2741	[M+H] ⁺	266.0148; 188.9899	C ₁₈ H ₃₇ NO ₅	-1.1			3	
8.30		181.1221	[M+H] ⁺	163.1114; 153.1270; 145.1009; 135.1165; 107.0852; 95.0852	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	-1.3	Dihydroactinidiolide	Benzofurans	2	PubChem CID 6432173
8.69		309.2060	[M+H] ⁺	291.1953	C ₁₈ H ₂₈ O ₄	-0.2	5-O-Methylembelin	Phenolic lipids/Carbon yl compounds	2	KEGG C10373
8.87		295.1903	[M+H] ⁺	277.1796	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	-0.4	Phytuberin	Sesquiterpenoids	2	KEGG C09709
9.02	248; 303 (sh); 368	373.0552	[M+H] ⁺	358.0316; 343.0444; 327.0134; 312.0263	C ₁₈ H ₁₂ O ₉	-0.6	3,4,5-O-Trimethyl-3',4'-O,O-methylidene flavellagic acid (3)	Hydrolyzable tannins	1	
9.04	248; 303 (sh); 368	419.0968	[M+H] ⁺	404.0732; 389.0498; 375.0708	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	-1.2	Hexamethylcoruleoellagic acid (4)	Hydrolyzable tannins	1	
9.10	247; 303 (sh); 370	389.0861	[M+H] ⁺	359.0399; 343.0449; 329.0656; 135.9100	C ₁₉ H ₁₆ O ₉	-1.6	Pentamethylflavellagic acid (5)	Hydrolyzable tannins	1	

9.20		694.4000	[M+H] ⁺	679.9996; 604.1742; 372.9855; 195.3826	C ₄₆ H ₅₁ N ₃ O ₃	-0.5			3	
9.26		288.2532	[M+H] ⁺	227.2002; 106.0859; 88.0753; 66.1679	C ₁₆ H ₃₃ NO ₃	-0.5			3	
9.43		282.2062	[M+H] ⁺	124.0390; 66.1679	C ₁₆ H ₂₇ NO ₃	-0.7			3	
9.47		288.2533	[M+H] ⁺	270.2426; 227.2003; 106.0860; 88.0754; 66.1679	C ₁₆ H ₃₃ NO ₃	-0.2			3	
9.57		557.2984	[M+H] ⁺	539.2882	C ₃₀ H ₃₆ N ₈ O ₃	0.1			3	
9.69		532.3473	[M+H] ⁺	497.3103; 423.2742; 405.2633; 387.2523; 353.2685	C ₂₇ H ₄₉ NO ₉	-1.4			3	
9.93		293.2111	[M+H] ⁺	275.2002	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	-0.2	(9S,13S,15Z)-12- Oxophyto-10,15- dienoate	Eicosanoids	2	KEGG C01226
10.05		304.2998	[M+H] ⁺	212.2370	C ₂₁ H ₃₇ N	-0.3			3	
10.22		295.2267	[M+H] ⁺	277.2160	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	-0.3	(9Z)-(13S)-12,13- Epoxyoctadeca-9,11- dienoic acid	Eicosanoids	2	KEGG C04594
10.29		414.2847	[M+H] ⁺	201.9759	C ₂₂ H ₃₉ NO ₆	-0.8			3	
10.33	235; 328; 369; 434	810.5569	[M+H] ⁺	793.5292	C ₄₁ H ₇₉ NO ₁₄	-0.6			3	
10.36	250; 274; 292	766.5303	[M+H] ⁺	749.5041; 705.4783; 335.2579; 291.2314	C ₃₉ H ₇₅ NO ₁₃	-1.1			3	
10.38		722.5043	[M+H] ⁺	705.4775; 661.4504; 579.3372; 353.2164; 335.2578; 291.2320	C ₃₇ H ₇₁ NO ₁₂	-0.9			3	
10.42		678.4779	[M+H] ⁺	661.4510; 617.4254; 573.3994; 535.3108; 335.2578; 309.1911; 291.2316	C ₃₅ H ₆₇ NO ₁₁	-1.2			3	
10.44		634.4516	[M+H] ⁺	617.4249; 573.3990; 529.3734; 491.2846; 335.2579; 291.2316	C ₃₃ H ₆₃ NO ₁₀	-1.4			3	
10.50	250; 298; 338	590.4254	[M+H] ⁺	573.3988; 529.3726; 485.3474; 447.2585; 335.2578; 291.2316	C ₃₁ H ₅₉ NO ₉	-1.5			3	
10.52	229; 261; 271; 315	546.3993	[M+H] ⁺	529.3727; 403.2325; 335.2579; 291.2316	C ₂₉ H ₅₅ NO ₈	-1.4			3	

10.55		502.3731	[M+H] ⁺	485.3464; 404.5136; 359.2061; 334.0398; 291.2323	C ₂₇ H ₅₁ NO ₇	-1.5			3	
10.58		458.3471	[M+H] ⁺	441.3206; 315.1797	C ₂₅ H ₄₇ NO ₆	-1.2			3	
11.11		609.2699	[M+H] ⁺	591.2590; 548.2731; 519.2379	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₆	-1.5	Epoxyphosphorbide a	Chlorins	2	KEGG C21192
10.87		332.3310	[M+H] ⁺	240.2682	C ₂₃ H ₄₁ N	-0.6			3	
10.91	252; 328; 345; 434	623.2491	[M+H] ⁺	605.2385; 573.2120; 545.2178	C ₃₅ H ₃₄ N ₄ O ₇	-1.5			3	
11.09		607.2578	[M+H] ⁺	579.2589; 561.2497; 547.2692; 519.2382; 487.2120	C ₃₅ H ₃₄ N ₄ O ₆	4.4			3	
11.31		326.3779	[M+H] ⁺	186.2213	C ₂₂ H ₄₇ N	-0.8			3	
11.73		593.2746	[M+H] ⁺	565.2805; 533.2543; 473.2336; 433.2389; 406.9892	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	-1.8	Pheophorbide a	Chlorins	2	KEGG C18021
12.01		593.2748	[M+H] ⁺	565.2805; 533.2542; 473.2333; 406.9903	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	-2.1	Pheophorbide a isomer I	Chlorins	2	
12.86		102.0337	[M+H] ⁺	90.5256; 61.0069	C ₇ H ₃ N	-1.5			3	

4. Conclusions

The antiparasitic activities of the crude methanolic extracts of 24 plant species was evaluated *in vitro* on two parasites, *Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania mexicana mexicana*. In addition, the cytotoxic activity of the crude extracts was evaluated on human non-cancerous lung fibroblasts WI-38. Crude extracts of *Terminalia avicennioides*, *Combretum glutinosum*, *Guiera senegalensis*, *Combretum micranthum*, *Terminalia leiocarpa*, *Vachellia nilotica*, *Spermacoce verticillata*, *Bauhinia rufescens*, *Eucalyptus camaldulensis*, and *Balanites aegyptiaca* showed the best antiparasitic activities.

This study also highlighted the *Terminalia avicennioides* leaf extracts for their good antitrypanosomal activity. The bioguided purification led to the isolation of four ellagic acid derivatives (2-5) including three coruleoellagic acids described for the first time in this species.

This study supports the potential of *Terminalia avicennioides* leaves as a remedy against trypanosomiasis. Indeed, ellagic derivatives 2-5 have been described as potential trypanocidal compounds, with low toxicity for the compound 4. Pentamethylflavellagic acid (5) showed the most promising antiparasitic activity against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 2.41 \pm 0.04$ $\mu\text{g/mL}$ or 6.20 μM). These compounds should be considered for further structure-activity relationship studies and optimization of the antiprotozoal activity.

This study also described *T. avicennioides* as a source of hydrolyzable tannins, gallic and ellagic acid derivatives as well as flavone-C-glycosides. The results confirmed the antiparasitic properties of some plants traditionally used in Senegal that could be support their use as an appropriate alternative for the management of trypanosomiasis and leishmaniasis.

Supporting Information: Additional data and figures including chromatografic profiles of the different sub-extracts of the different parts of *Terminalia avicennioides*.

Author Contributions: A.B.: conceptualization, methodology, investigation, formal analysis, resources, funding acquisition, writing—original draft and editing. V.R.: writing—review and editing. K.H.: methodology, formal analysis, writing—review and editing. J.S.: methodology, M.B.: methodology, resources. M-F.H.: methodology, resources. S.F.N.: visualization. T.H.:

visualization. J.Q-L.: methodology, resources, validation, data curation, writing—review and	505
editing. M.S. supervision, conceptualization, writing - review & editing, funding acquisition,	506
project administration. C.R. supervision, conceptualization, writing - review & editing, funding	507
acquisition, project administration.	508
 All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.	 509
 Funding: This research was funded by The Embassy of France in Senegal (SCAC Scholarship),	 510
the Ministry of Higher Education, Research, and Innovation of the Senegalese Government	511
(PhD Foreign Scholarship), the Haut-de-France Doctoral College (Mobility Scholarship to	512
Belgium) and the University of Lille (Moblilex Scholarship).	513
 Institutional Review Board Statement: Not applicable.	 514
 Informed Consent Statement: Not applicable.	 515
 Data Availability Statement: All data are available in the manuscript.	 516
 Acknowledgments: The authors acknowledge Prof. William Diatta of the Laboratory of	 517
Pharmacognosy and Botany of the Faculty of Pharmacy, Dr. Mamadou Sidybé and Dr. Abdoul	518
Aziz Camara to Dakar Herbarium at the Department of Vegetable Biology of the Faculty of	519
Science and Technology of the Cheikh Anta Diop University of DAKAR for their help in	520
identifying plants and preparing herbarium plates. The authors warmly thank the Traditional	521
Medicine Unit (CMT) in Senegal for their agreement, as well as the herbalists, traditional	522
healers and all households who participated and agreed to share their traditional knowledge	523
with the greatest generosity during the ethnobotanical survey. The authors are grateful to the	524
members of the various research teams who participated in this study. UHPLC-HR-MS analysis	525
were realized in the MASSMET platform of LDRI. We would like to thank Alexandre Rech	526
and Vincent Ultré for access to UFR3S NMR technical platform.	527

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Sample Availability: Samples of the compounds are available from the first author.

References

- [1] C.D. Mathers, M. Ezzati, A.D. Lopez, Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 1 (2007) e114. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000114>.
- [2] H. Tabel, G. Wei, M. Shi, T cells and immunopathogenesis of experimental African trypanosomiasis, *Immunol. Rev.* 225 (2008) 128–139. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00675.x>.
- [3] R. Brun, J. Blum, F. Chappuis, C. Burri, Human African trypanosomiasis, *Lancet Lond. Engl.* 375 (2010) 148–159. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60829-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60829-1).
- [4] J. Bero, V. Hannaert, G. Chataigné, M.-F. Hérent, J. Quetin-Leclercq, In vitro antitrypanosomal and antileishmanial activity of plants used in Benin in traditional medicine and bio-guided fractionation of the most active extract, *J. Ethnopharmacol.* 137 (2011) 998–1002. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.022>.
- [5] J.R. Franco, G. Cecchi, G. Priotto, M. Paone, A. Diarra, L. Grout, P.P. Simarro, W. Zhao, D. Argaw, Monitoring the elimination of human African trypanosomiasis at continental and country level: Update to 2018, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 14 (2020) e0008261. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008261>.
- [6] F. Chappuis, S. Sundar, A. Hailu, H. Ghalib, S. Rijal, R.W. Peeling, J. Alvar, M. Boelaert, Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?, *Nat. Rev. Microbiol.* 5 (2007) 873–882. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1748>.
- [7] S. Sundar, J. Chakravarty, Leishmaniasis: Challenges in the Control and Eradication, in: I.W. Fong (Ed.), *Chall. Infect. Dis.*, Springer, New York, NY, 2013: pp. 247–264. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4496-1_8.
- [8] T.B. Le, C. Beaufay, D.T. Nghiem, M.-P. Mingeot-Leclercq, J. Quetin-Leclercq, In Vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Vietnamese Plants, *Molecules* 22 (2017) 1071. <https://doi.org/10.3390/molecules22071071>.
- [9] D. Boakye, M. Wilson, M. Kweku, A Review of Leishmaniasis in West Africa, *Ghana Med. J.* 39 (2005) 94–97.
- [10] C.M. Jones, S.C. Welburn, Leishmaniasis Beyond East Africa, *Front. Vet. Sci.* 8 (2021). <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.618766> (accessed May 22, 2023).
- [11] J. Fotie, D.S. Bohle, M. Olivier, M. Adelaida Gomez, S. Nzimiro, Trypanocidal and antileishmanial dihydrochelerythrine derivatives from *Garcinia lucida*, *J. Nat. Prod.* 70 (2007) 1650–1653. <https://doi.org/10.1021/np0702281>.
- [12] D. Castillo, M. Sauvain, M. Rivaud, V. Jullian, In vitro and in vivo activity of benzo[c]phenanthridines against *Leishmania amazonensis*, *Planta Med.* 80 (2014) 902–906. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1382826>.
- [13] A. Alotaibi, G.U. Ebiloma, R. Williams, I.A. Alfayez, M.J. Natto, S. Alenezi, W. Siheri, M. AlQarni, J.O. Igoli, J. Fearnley, H.P. De Koning, D.G. Watson, Activity of Compounds from Temperate Propolis against

- Trypanosoma brucei and Leishmania mexicana, Molecules 26 (2021) 3912. 567
<https://doi.org/10.3390/molecules26133912>. 568
- [14] Kerharo & Adam, La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Editions 569
 VIGOT FRÈRES, 23, Rue de l'Ecole de Médecine, 75006 PARIS, 1974. 570
- [15] A. Le Grand, P.A. Wondergem, Les phytothérapies anti-infectieuses de la foretsavane, Senegal (afrique 571
 occidentale) I. Un inventaire, J. Ethnopharmacol. 21 (1987) 109–125. <https://doi.org/10.1016/0378-> 572
 8741(87)90122-X. 573
- [16] Pousset, Plantes médicinales d'Afrique: comment les reconnaître et les utiliser, SECUM Édisud, [S.l.] Aix- 574
 en-Provence, 2004. 575
- [17] A. Ba, V. Roumy, M. Al Ibrahim, I. Racziewicz, J. Samaillie, A. Hakem, S. Sahpaz, S. Belouzard, W. 576
 Diatta, M. Sidybé, C. Neut, K. Séron, M. Seck, C. Rivière, Antibacterial and anti-coronavirus investigation 577
 of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey, J. Ethnopharmacol. (2024) 578
 118070. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118070>. 579
- [18] J. Bero, H. Ganfon, M.-C. Jonville, M. Frédéric, F. Gbaguidi, P. DeMol, M. Moudachirou, J. Quetin- 580
 Leclercq, In vitro antiparasitic activity of plants used in Benin in traditional medicine to treat malaria, 581
 J. Ethnopharmacol. 122 (2009) 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.004>. 582
- [19] R.J. Gonzalez, J.B. Tarloff, Evaluation of hepatic subcellular fractions for Alamar blue and MTT reductase 583
 activity, Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA 15 (2001) 257–259. <https://doi.org/10.1016/s0887-> 584
 2333(01)00014-5. 585
- [20] A.I. Dirar, H.P. Devkota, Ethnopharmacological uses, phytochemistry and pharmacological activities of 586
 Guiera senegalensis J.F. Gmel. (Combretaceae), J. Ethnopharmacol. 267 (2021) 113433. 587
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113433>. 588
- [21] G.R. de Moraes Lima, I.R.P. de Sales, M.R.D. Caldas Filho, N.Z.T. de Jesus, H. de Sousa Falcão, J.M. 589
 Barbosa-Filho, A.G.S. Cabral, A.L. Souto, J.F. Tavares, L.M. Batista, Bioactivities of the Genus 590
 Combretum (Combretaceae): A Review, Molecules 17 (2012) 9142–9206. 591
<https://doi.org/10.3390/molecules17089142>. 592
- [22] R. Ali, S. Tabrez, F. Rahman, A.S. Alouffi, B.M. Alshehri, F.A. Alshammari, M.A. Alaidarous, S. 593
 Banawas, A.A.B. Dukhyil, A. Rub, Antileishmanial Evaluation of Bark Methanolic Extract of *Acacia* 594
nilotica: In Vitro and In Silico Studies, ACS Omega 6 (2021) 8548–8560. 595
<https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00366>. 596
- [23] S.J. Nosratabadi, I. Sharifi, F. Sharififar, M. Bamorovat, H. Daneshvar, M. Mirzaie, In vitro 597
 antileishmanial activity of methanolic and aqueous extracts of *Eucalyptus camaldulensis* against 598
Leishmania major, J. Parasit. Dis. 39 (2015) 18–21. <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0377-3>. 599
- [24] M. Ibrahim, A. Aliyu, A. Sallau, M. Bashir, I. Yunusa, T. Umar, Senna occidentalis leaf extract possesses 600
 antitrypanosomal activity and ameliorates the trypanosome-induced anemia and organ damage, 601
 Pharmacogn. Res. 2 (2010) 175. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.65513>. 602
- [25] M.N. Shuaibu, P.T.A. Wuyep, T. Yanagi, K. Hirayama, A. Ichinose, T. Tanaka, I. Kouno, Trypanocidal 603
 activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia* 604
avicennoides, Parasitol. Res. 102 (2008) 697–703. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0815-1>. 605
- [26] S. Hoet, C. Stévigny, M.-F. Hérent, J. Quetin-Leclercq, Antitrypanosomal Compounds from the Leaf 606
 Essential Oil of *Strychnos spinosa*, Planta Med. 72 (2006) 480–482. <https://doi.org/10.1055/s-2005-> 607
 916255. 608

- [27] W. Andrioli, R. Conti, V. Manfrim, J. Toledo, Â. Cruz, D. Nanayakkara, J. Araújo, M. Pupo, J. Bastos, Anti-leishmania activity of isochromenes from an unidentified endophytic fungus isolated from *Spermacoce verticillata* L., *Planta Med.* 76 (2010) s-0030-1264736. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1264736>.
- [28] L. Conserva, J. Ferreira, Borreria and *Spermacoce* species (Rubiaceae): A review of their ethnomedicinal properties, chemical constituents, and biological activities, *Pharmacogn. Rev.* 6 (2012) 46. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95866>.
- [29] E. Speroni, R. Cervellati, G. Innocenti, S. Costa, M.C. Guerra, S. Dall'Acqua, P. Govoni, Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile, *J. Ethnopharmacol.* 98 (2005) 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.007>.
- [30] D. Chothani, H. Vaghasiya, A review on *Balanites aegyptiaca* Del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activity, *Pharmacogn. Rev.* 5 (2011) 55. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79100>.
- [31] H. Rashad, F.M. Metwally, S.M. Ezzat, M.M. Salama, A. Hasheesh, A. Abdel Motaal, Randomized double-blinded pilot clinical study of the antidiabetic activity of *Balanites aegyptiaca* and UPLC-ESI-MS/MS identification of its metabolites, *Pharm. Biol.* 55 (2017) 1954–1961. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1354388>.
- [32] H.N. Murthy, G.G. Yadav, Y.H. Dewir, A. Ibrahim, Phytochemicals and Biological Activity of Desert Date (*Balanites aegyptiaca* (L.) Delile), *Plants* 10 (2020) 32. <https://doi.org/10.3390/plants10010032>.
- [33] M.P. Maillard, M.-C. Recio-Iglesias, M. Saadou, H. Stoeckli-Evans, K. Hostettmann, Novel Antifungal Tetracyclic Compounds from *Bauhinia rufescens* LAM., *Helv. Chim. Acta* 74 (1991) 791–799. <https://doi.org/10.1002/hlca.19910740413>.
- [34] A. Muhammad, H.M. Sirat, Potent microbial and tyrosinase inhibitors from stem bark of *Bauhinia rufescens* (Fabaceae), *Nat. Prod. Commun.* 8 (2013) 1435–1437.
- [35] A. Muhammad, H.M. Sirat, COX-2 inhibitors from stem bark of *Bauhinia rufescens* Lam. (Fabaceae), *EXCLI J.* 12 (2013) 824–830.
- [36] W. Osman, M.S. Mohammed, H.S. Khalid, A. Muddathir, S.W. Shantier, B. Osman, I. Abdoon, HPTLC Fingerprint Profile and Identification of Antidiabetic and Antioxidant Leads from *Bauhinia rufescens* L., *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.* 2020 (2020) 1–18. <https://doi.org/10.1155/2020/3201463>.
- [37] A. Kjær, A. Schuster, P. Delaveau, B. Koudogbo, Glucosinolates in *Boscia senegalensis*, *Phytochemistry* 12 (1973) 725–726. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84474-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84474-X).
- [38] A.M.A. Morgan, J.H. Kim, S.K. Kim, C.-H. Lim, Y.H. Kim, A New Flavonol Glycoside from the Leaves of *Boscia senegalensis*, *Bull. Korean Chem. Soc.* 35 (2014) 3447–3452. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2014.35.12.3447>.
- [39] A.M.A. Morgan, C.-H. Lim, Y.H. Kim, Lignans, cyclolignans and neolignans from the leaves of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. ex Poir., *Biochem. Syst. Ecol.* 59 (2015) 226–228. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.01.020>.
- [40] L.J. Rivera-Vega, S. Krosse, R.M. de Graaf, J. Garvi, R.D. Garvi-Bode, N.M. van Dam, Allelopathic effects of glucosinolate breakdown products in Hanza [*Boscia senegalensis* (Pers.) Lam.] processing waste water, *Front. Plant Sci.* 6 (2015) 532. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00532>.
- [41] H. Usman, Y.M. Musa, A. Ahmadu, M. Tijjani, Phytochemical And Antimicrobial Effects Of *Chrozophora senegalensis*, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 4 (2008) 488. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v4i4.31242>.

- [42] F. Benoit-Vical, P.N. Soh, M. Saléry, L. Harguem, C. Poupat, R. Nongonierma, Evaluation of Senegalese plants used in malaria treatment: Focus on *Chrozophora senegalensis*, *J. Ethnopharmacol.* 116 (2008) 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.033>.
- [43] M.-C. Garcia-Alvarez, I. Moussa, P. Njomnang Soh, R. Nongonierma, A. Abdoulaye, M.-L. Nicolau-Travers, A. Fabre, J. Wdzieczak-Bakala, A. Ahond, C. Poupat, K. Ikhiri, F. Benoit-Vical, Both plants *Sebastiania chamaelea* from Niger and *Chrozophora senegalensis* from Senegal used in African traditional medicine in malaria treatment share a same active principle, *J. Ethnopharmacol.* 149 (2013) 676–684. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.024>.
- [44] N. Jaradat, A. Khasati, B.A. Abu-Shanab, S. Al-lahham, A. Naser Zaid, M.N. Abualhasan, M. Qneibi, M. Hawash, Bactericidal, Fungicidal, Helminthicidal, Antioxidant, and Chemical Properties of *Chrozophora obliqua* Extract, *Phytothérapie* 18 (2020) 275–283. <https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0134>.
- [45] T.O. Issa, A.I. Mohamed Ahmed, Y.S. Mohamed, S. Yagi, A.M. Makhawi, T.O. Khider, Physiochemical, Insecticidal, and Antidiabetic Activities of *Senna occidentalis* Linn Root, *Biochem. Res. Int.* 2020 (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/8810744>.
- [46] B. Diallo, M. Vanhaelen, R. Vanhaelen-Fastré, T. Konoshima, M. Kozuka, H. Tokuda, Studies on Inhibitors of Skin-Tumor Promotion. Inhibitory Effects of Triterpenes from *Cochlospermum tinctorium* on Epstein-Barr Virus Activation, *J. Nat. Prod.* 52 (1989) 879–881. <https://doi.org/10.1021/np50064a039>.
- [47] B. Diallo, M. Vanhaelen, Apocarotenoids from *Cochlospermum tinctorium*, *Phytochemistry* 26 (1987) 1491–1492. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81841-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81841-5).
- [48] B. Diallo, R. Vanhaelen-Fastré, M. Vanhaelen, Triacylbenzenes and long-chain volatile ketones from *Cochlospermum tinctorium* rhizome, *Phytochemistry* 30 (1991) 4153–4156. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83485-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83485-4).
- [49] F. Benoit-Vical, A. Valentin, M. Mallié, J.-M. Bastide, J.-M. Bessière, In vitro Antimalarial Activity and Cytotoxicity of *Cochlospermum tinctorium* and *C. planchonii* Leaf Extracts and Essential Oils, *Planta Med.* 65 (1999) 378–381. <https://doi.org/10.1055/s-2006-960794>.
- [50] N.Z. Ballin, M. Traore, H. Tinto, A. Sittie, P. Mølgaard, C.E. Olsen, A. Kharazmi, S.B. Christensen, Antiplasmodial Compounds from *Cochlospermum tinctorium*, *J. Nat. Prod.* 65 (2002) 1325–1327. <https://doi.org/10.1021/np020008h>.
- [51] A. Lamien-Meda, M. Kiendrebeogo, M. Compaoré, R.N.T. Meda, M. Bacher, K. Koenig, T. Pacher, H.-P. Fuehrer, H. Noedl, M. Willcox, J. Novak, Quality assessment and antiplasmodial activity of West African *Cochlospermum* species, *Phytochemistry* 119 (2015) 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.09.006>.
- [52] Diatta, W. Diatta, A.D. Fall, S.I.M. Dieng, A.I. Mbaye, A. Sarr, M.B. Seye, Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants Used to Treat Human Diseases in the Tivaouane Department, Senegal, *Eur. J. Med. Plants* (2019) 1–13. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2019/v30i330178>.
- [53] S. Garba, M.M. Adeyemi, L.K. Musa, Anthelmintic Activities of Hexacos-9, 11-dienoic Acid and 3-hydroxyurs-12-en-28-oic Acid Isolated from *Spermacoce verticillata*, *Chem. Sci. Int. J.* (2019) 1–10. <https://doi.org/10.9734/CSJI/2019/v28i130131>.
- [54] A.B. Mahmoud, P. Mäser, M. Kaiser, M. Hamburger, S. Khalid, Mining Sudanese Medicinal Plants for Antiprotozoal Agents, *Front. Pharmacol.* 11 (2020) 865. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00865>.
- [55] J.L. Pousset, J.P. Rey, J. Levesque, P. Coursaget, F.X. Galen, Hepatitis B surface antigen (HBsAg) inactivation and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition in vitro by *Combretum glutinosum* perr. (Combretaceae) extract, *Phytother. Res.* 7 (1993) 101–102. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650070126>.

- [56] A. Jossang, J.-L. Pouset, B. Bodo, Combreglutinin, a Hydrolyzable Tannin from *Combretum glutinosum*, J. Nat. Prod. 57 (1994) 732–737. <https://doi.org/10.1021/np50108a008>. 695
696
- [57] M. Traore, S. Diane, M. Diallo, E. Balde, M. Balde, A. Camara, A. Diallo, A. Keita, P. Cos, L. Maes, L. Pieters, A. Balde, In Vitro Antiprotozoal and Cytotoxic Activity of Ethnopharmacologically Selected Guinean Plants, Planta Med. 80 (2014) 1340–1344. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1383047>. 697
698
699
- [58] Muhammad, N.Z. Shaban, F.H. Elrashidy, D.A. Ghareeb, Antioxidant, Anti-inflammatory, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of *Combretum glutinosum* and *Gardenia aqualla* Extracts in vitro, Free Radic. Antioxid. 9 (2020) 66–72. <https://doi.org/10.5530/fra.2019.2.12>. 700
701
702
- [59] P.M. Toklo, E. Yayi Ladekan, A. Linden, S. Hounzangbe-Adote, S.F. Kouam, J.D. Gbenou, Anthelmintic flavonoids and other compounds from *Combretum glutinosum* Perr. ex DC (Combretaceae) leaves, Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem. 77 (2021) 505–512. <https://doi.org/10.1107/S2053229621007841>. 703
704
705
- [60] C. Ancolio, N. Azas, V. Mahiou, E. Ollivier, C. Di Giorgio, A. Keita, P. Timon-David, G. Balansard, Antimalarial activity of extracts and alkaloids isolated from six plants used in traditional medicine in Mali and Sao Tome, Phytother. Res. PTR 16 (2002) 646–649. <https://doi.org/10.1002/ptr.1025>. 706
707
708
- [61] A.U. Ogan, The alkaloids in the leaves of *Combretum micranthum*. Studies on West African medicinal plants. VII, Planta Med. 21 (1972) 210–217. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1099545>. 709
710
- [62] E. Bassène, D. Olschwang, J.L. Pouset, [African medicinal plants. Alkaloids of *Combretum micranthum* G. Don (Kinkeliba)], Ann. Pharm. Fr. 44 (1986) 191–196. 711
712
- [63] G. Ferrea, A. Canessa, F. Sampietro, M. Cruciani, G. Romussi, D. Bassetti, In vitro activity of a *Combretum micranthum* extract against herpes simplex virus types 1 and 2, Antiviral Res. 21 (1993) 317–325. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(93\)90010-g](https://doi.org/10.1016/0166-3542(93)90010-g). 713
714
715
- [64] O.A. Olajide, J.M. Makinde, D.T. Okpako, Evaluation of the anti-inflammatory property of the extract of *Combretum micranthum* G. Don (Combretaceae), Inflammopharmacology 11 (2003) 293–298. <https://doi.org/10.1163/156856003322315631>. 716
717
718
- [65] A. Chika, S.O. Bello, Antihyperglycaemic activity of aqueous leaf extract of *Combretum micranthum* (Combretaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rats, J. Ethnopharmacol. 129 (2010) 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.008>. 719
720
721
- [66] S. Hu, J.E. Simon, M. Wang, Y. Wu, Y. Huang, Q. Wu, Kinkéliba (*Combretum micranthum*) Leaf Extract Alleviates Skin Inflammation: In Vitro and In Vivo Study, Mol. Basel Switz. 28 (2023) 1791. <https://doi.org/10.3390/molecules28041791>. 722
723
724
- [67] V. Aleksic Sabo, P. Knezevic, Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review, Ind. Crops Prod. 132 (2019) 413–429. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.051>. 725
726
727
- [68] S. Begum, Farhat, B.S. Siddiqui, Triterpenoids from the Leaves of *Eucalyptus camaldulensis* var. obtusa, J. Nat. Prod. 60 (1997) 20–23. <https://doi.org/10.1021/np960535z>. 728
729
- [69] E. Cadahía, E. Conde, B.F. de Simón, M.C. García-Vallejo, Tannin Composition of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. Part II. Bark, 51 (1997) 125–129. <https://doi.org/10.1515/hfsg.1997.51.2.125>. 730
731
732
- [70] G. Dogan, N. Kara, E. Bagci, S. Gur, Chemical composition and biological activities of leaf and fruit essential oils from *Eucalyptus camaldulensis*, Z. Für Naturforschung C 72 (2017) 483–489. <https://doi.org/10.1515/znc-2016-0033>. 733
734
735
- [71] P.T. Mpiana, V. Mudogo, D.S.T. Tshibangu, E.K. Kitwa, A.B. Kanangila, J.B.S. Lumbu, K.N. Ngbolua, E.K. Atibu, M.K. Kakule, Antisickling activity of anthocyanins from *Bombax pentadrum*, *Ficus capensis* 736
737

- and *Ziziphus mucronata*: photodegradation effect, *J. Ethnopharmacol.* 120 (2008) 413–418. 738
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.012>. 739
- [72] M. Ayele, E. Makonnen, A.G. Ayele, Y. Tolcha, Evaluation of the Diuretic Activity of the Aqueous and 740
 80% Methanol Extracts of *Ficus sur* Forssk (Moraceae) Leaves in Saline-loaded Rats, *J. Exp. Pharmacol.* 741
 12 (2020) 619–627. <https://doi.org/10.2147/JEP.S283571>. 742
- [73] O.K. Wakeel, A.I. Abe, O.B. Awosan, M.K. Olapade, T.J. Olatoyan-Layonu, O.A. Olowe, O.A. Adeyeba, 743
 Anti-Nociceptive and Anti-Inflammatory Effects of Stem Bark Extract of *Ficus Capensis* Thunb 744
 (Moraceae) by Bioactivity Fractionation, *Anti-Inflamm. Anti-Allergy Agents Med. Chem.* 20 (2021) 206– 745
 218. <https://doi.org/10.2174/1871523019666200825194616>. 746
- [74] E. Ngoh Misse Mouelle, M. Foundikou Nsangou, V.S. Michiren Mandou, J.D. Wansi, S.H. Akone, E. 747
 Ngeufa Happi, Chemical constituents from *Ficus sur* Forssk (Moraceae), *Z. Naturforschung C J. Biosci.* 748
 (2022). <https://doi.org/10.1515/znc-2022-0165>. 749
- [75] N.J. Nkosi, T. Shoko, V.E. Manhivi, R.M. Slabbert, Y. Sultanbawa, D. Sivakumar, Metabolomic and 750
 chemometric profiles of ten southern African indigenous fruits, *Food Chem.* 381 (2022) 132244. 751
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132244>. 752
- [76] E. Sieniawska, Ł. Świątek, K.I. Sinan, G. Zengin, A. Boguszevska, M. Polz-Dacewicz, N. Bibi Sadeer, 753
 O.K. Etienne, M.F. Mahomoodally, Phytochemical Insights into *Ficus sur* Extracts and Their Biological 754
 Activity, *Mol. Basel Switz.* 27 (2022) 1863. <https://doi.org/10.3390/molecules27061863>. 755
- [77] N.N. Uchegbu, T.O. Fasuan, N.L. Onuoha, Quantification of phytochemicals, and compounds' 756
 identification in functional tea from *Ficus capensis* and *Justicia secunda*, *J. Food Sci.* 88 (2023) 1004– 757
 1018. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16459>. 758
- [78] U.K. Sandabe, P.A. Onyeyili, G.A. Chibuzo, Phytochemical screening and effect of aqueous extract of 759
Ficus sycomorus L. (Moraceae) stem bark on muscular activity in laboratory animals, *J. Ethnopharmacol.* 760
 104 (2006) 283–285. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.066>. 761
- [79] Ahmadu, A. Agunu, J. Enhimidu, P. Magiatis, A. Skaltsounis, Antibacterial, anti-diarrheal activity of 762
Daniellia oliveri and *Ficus sycomorus* and their constituents, *Planta Med.* 73 (2007) s-2007-986953. 763
<https://doi.org/10.1055/s-2007-986953>. 764
- [80] A. Ahmadu, R. Grougnet, P. Magiatis, A. Skaltsounis, F. Tillequin, New peltogynoids from *Ficus* 765
sycomorus L., *Planta Med.* 73 (2007) s-2007-987165. <https://doi.org/10.1055/s-2007-987165>. 766
- [81] S.K. Al-matani, R.N.S. Al-Wahaibi, M.A. Hossain, In vitro evaluation of the total phenolic and flavonoid 767
 contents and the antimicrobial and cytotoxicity activities of crude fruit extracts with different polarities 768
 from *Ficus sycomorus*, *Pac. Sci. Rev. Nat. Sci. Eng.* 17 (2015) 103–108. 769
<https://doi.org/10.1016/j.psra.2016.02.002>. 770
- [82] A.M. Abdel-Aty, M.B. Hamed, W.H. Salama, M.M. Ali, A.S. Fahmy, S.A. Mohamed, *Ficus carica*, *Ficus* 771
sycomorus and *Euphorbia tirucalli* latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic 772
 properties, *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 20 (2019) 101199. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101199>. 773
- [83] S.M. El-Sayyad, M.A. Makboul, R. Wahman, S.F. Farag, A New Dihydrocoumarin from *Ficus sycomorus*, 774
Chem. Nat. Compd. 56 (2020) 1013–1015. <https://doi.org/10.1007/s10600-020-03216-7>. 775
- [84] J. Fiot, S. Sanon, N. Azas, V. Mahiou, O. Jansen, L. Angenot, G. Balansard, E. Ollivier, Phytochemical 776
 and pharmacological study of roots and leaves of *Guiera senegalensis* J.F. Gmel (Combretaceae), *J.* 777
Ethnopharmacol. 106 (2006) 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.030>. 778
- [85] N. Bouchet, J. Levesque, A. Blond, B. Bodo, J.-L. Pousset, 1,3-di-O-galloylquinic acid from *Guiera* 779
senegalensis, *Phytochemistry* 42 (1996) 189–190. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00925-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00925-6). 780

- [86] M.S. Abubakar, M.I. Sule, U.U. Pateh, E.M. Abdurahman, A.K. Haruna, B.M. Jahun, In vitro snake venom detoxifying action of the leaf extract of *Guiera senegalensis*, *J. Ethnopharmacol.* 69 (2000) 253–257. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00128-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00128-2).
- [87] N. Bouchet, J. Lévesque, J.-L. Poussset, HPLC isolation, identification and quantification of tannins from *Guiera senegalensis*, *Phytochem. Anal.* 11 (2000) 52–56. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(200001/02\)11:1<52::AID-PCA482>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(200001/02)11:1<52::AID-PCA482>3.0.CO;2-D).
- [88] O. Silva, E.T. Gomes, Guieranone A, a Naphthyl Butenone from the Leaves of *Guiera senegalensis* with Antifungal Activity, *J. Nat. Prod.* 66 (2003) 447–449. <https://doi.org/10.1021/np0204904>.
- [89] A.A. Biu, L.B. Buratai, P.N. Onyedim, I.U. Hambali, S.I. Ngulde, M. Zakariah, J.R. Lawal, Phytochemistry, toxicity and in vitro antitrypanosomal efficacy of crude aqueous extract of *Guiera senegalensis* stem bark, *Bangladesh J. Vet. Med.* 14 (2016) 93–97. <https://doi.org/10.3329/bjvm.v14i1.28831>.
- [90] P. Alam, M.K. Parvez, A.H. Arbab, M.S. Al-Dosari, Quantitative analysis of rutin, quercetin, naringenin, and gallic acid by validated RP- and NP-HPTLC methods for quality control of anti-HBV active extract of *Guiera senegalensis*, *Pharm. Biol.* 55 (2017) 1317–1323. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1300175>.
- [91] B.A. Bello, S.A. Khan, J.A. Khan, F.Q. Syed, Y. Anwar, S.B. Khan, Antiproliferation and antibacterial effect of biosynthesized AgNps from leaves extract of *Guiera senegalensis* and its catalytic reduction on some persistent organic pollutants, *J. Photochem. Photobiol. B* 175 (2017) 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.07.031>.
- [92] A.I. Dirar, A. Adhikari-Devkota, Md.M. Hassan, M. Wada, T. Watanabe, H.P. Devkota, Phenolic Compounds as Potent Free Radical Scavenging and Enzyme Inhibitory Components From the Leaves of *Guiera senegalensis*, *Nat. Prod. Commun.* 14 (2019) 1934578X1985736. <https://doi.org/10.1177/1934578X19857364>.
- [93] M.K. Parvez, M.S. Al-Dosari, A.H. Arbab, A.J. Al-Rehaily, M.A.S. Abdelwahid, Bioassay-guided isolation of anti-hepatitis B virus flavonoid myricetin-3-O-rhamnoside along with quercetin from *Guiera senegalensis* leaves, *Saudi Pharm. J.* 28 (2020) 550–559. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.03.006>.
- [94] B.H. Ali, N. Al Wabel, G. Blunden, Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review, *Phytother. Res. PTR* 19 (2005) 369–375. <https://doi.org/10.1002/ptr.1628>.
- [95] A.L. Hopkins, M.G. Lamm, J.L. Funk, C. Ritenbaugh, *Hibiscus sabdariffa* L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: a comprehensive review of animal and human studies, *Fitoterapia* 85 (2013) 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.01.003>.
- [96] I. Da-Costa-Rocha, B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel, M. Heinrich, *Hibiscus sabdariffa* L. - a phytochemical and pharmacological review, *Food Chem.* 165 (2014) 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>.
- [97] I. Ifie, L.J. Marshall, P. Ho, G. Williamson, *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) Extracts and Wine: Phytochemical Profile, Physicochemical Properties, and Carbohydrase Inhibition, *J. Agric. Food Chem.* 64 (2016) 4921–4931. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01246>.
- [98] G. Riaz, R. Chopra, A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L, *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* 102 (2018) 575–586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>.
- [99] I.Y. Sedillo-Torres, Á.O. Hernández-Rangel, Y. Gómez-Y-Gómez, D. Cortés-Avalos, B.E. García-Pérez, J.C. Villalobos-Rocha, C.H. Hernández-Rodríguez, L.G. Zepeda-Vallejo, P. Estrada-de Los Santos, M.E.

- Vargas-Díaz, J.A. Ibarra, Hibiscus Acid from *Hibiscus sabdariffa* L. Inhibits Flagellar Motility and Cell Invasion in *Salmonella enterica*, *Mol. Basel Switz.* 27 (2022) 655. <https://doi.org/10.3390/molecules27030655>.
- [100] L.R.V. Olmo, M.F. das G.F. da Silva, E. Rodrigues Fo., P.C. Vieira, J.B. Fernandes, A.L. Pinheiro, E.F. Vilela, Limonoids from leaves of *Khaya senegalensis*, *Phytochemistry* 44 (1997) 1157–1161. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00571-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00571-7).
- [101] S.A.M. Abdelgaleil, H. Okamura, T. Iwagawa, A. Sato, I. Miyahara, M. Doe, M. Nakatani, Khayanolides, rearranged phragmalin limonoid antifeedants from *Khaya senegalensis*, *Tetrahedron* 57 (2001) 119–126. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(00\)00994-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00994-7).
- [102] H. Zhang, J. Tan, D. VanDerveer, X. Wang, M.J. Wargovich, F. Chen, Khayanolides from African mahogany *Khaya senegalensis* (Meliaceae): A revision, *Phytochemistry* 70 (2009) 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.12.004>.
- [103] C.-M. Yuan, Y. Zhang, G.-H. Tang, S.-L. Li, Y.-T. Di, L. Hou, J.-Y. Cai, H.-M. Hua, H.-P. He, X.-J. Hao, Senegalensins A-C, Three Limonoids from *Khaya senegalensis*, *Chem. - Asian J.* 7 (2012) 2024–2027. <https://doi.org/10.1002/asia.201200320>.
- [104] C.-M. Yuan, Y. Zhang, G.-H. Tang, Y.-T. Di, M.-M. Cao, X.-Y. Wang, G.-Y. Zuo, S.-L. Li, H.-M. Hua, H.-P. He, X.-J. Hao, Khayseneganins A–H, Limonoids from *Khaya senegalensis*, *J. Nat. Prod.* 76 (2013) 327–333. <https://doi.org/10.1021/np3006919>.
- [105] M. de la Luz Cádiz-Gurrea, K.I. Sinan, G. Zengin, K. Bene, O.K. Etienne, F.J. Leyva-Jiménez, Á. Fernández-Ochoa, M. del Carmen Villegas-Aguilar, M.F. Mahomoodally, D. Lobine, C. Ferrante, A. Segura-Carretero, Bioactivity assays, chemical characterization, ADMET predictions and network analysis of *Khaya senegalensis* A. Juss (Meliaceae) extracts, *Food Res. Int.* 139 (2021) 109970. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109970>.
- [106] E.J. Shellard, K. Sarpong, Isolation of speciogynine from the leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.), O. Kuntze, *J. Pharm. Pharmacol.* 23 (1971) 559–560. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1971.tb08716.x>.
- [107] F. Traore, M. Gasquet, M. Laget, H. Guiraud, C. Di Giorgio, N. Azas, O. Doumbo, P. Timon-David, Toxicity and genotoxicity of antimalarial alkaloid rich extracts derived from *Mitragyna inermis* O. Kuntze and *Nauclea latifolia*, *Phytother. Res. PTR* 14 (2000) 608–611. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200012\)14:8<608::aid-ptr667>3.0.co;2-d](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200012)14:8<608::aid-ptr667>3.0.co;2-d).
- [108] Z.-H. Cheng, B.-Y. Yu, X.-W. Yang, 27-Nor-triterpenoid glycosides from *Mitragyna inermis*, *Phytochemistry* 61 (2002) 379–382. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00244-3).
- [109] J. Fiot, B. Baghdikian, L. Boyer, V. Mahiou, N. Azas, M. Gasquet, P. Timon-David, G. Balansard, E. Ollivier, HPLC quantification of uncarine D and the anti-plasmodial activity of alkaloids from leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze, *Phytochem. Anal.* 16 (2005) 30–33. <https://doi.org/10.1002/pca.806>.
- [110] E.J. Shellard, K. Sarpong, The alkaloids of the leaves of *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Kuntze, *J. Pharm. Pharmacol.* 21 (2011) 113S–117S. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1969.tb08359.x>.
- [111] O.J. Babajide, O.O. Babajide, A.O. Daramola, W.T. Mabusela, Flavonols and an oxychromonol from *Piliostigma reticulatum*, *Phytochemistry* 69 (2008) 2245–2250. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.05.003>.
- [112] A.O. Daniels, O.O. Owoyemi, O. Famurewa, J.O. Oluyeye, Characterization of Sesquiterpenes and Antibacterial Activities of Extracts from *Piliostigma reticulatum* (DL.) Hochst and *Cleistopholis patens*

- (Benth.) Engl & Diels against *Shigella dysenteriae* and *Streptococcus pyogenes*, *Microbiol. Res. J. Int.* 2019) 1–14. <https://doi.org/10.9734/mrji/2019/v27i530112>.
- [113] Daniel, emikotan T., F. K., I. D. A., Toxicology studies and antibacterial activities of the ethyl acetate extract of *Piliostigma reticulatum*, *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol.* 7 (2020) 24–35. <https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2020.705.004>.
- [114] O. Noufou, H. Anne-Emmanuelle, O.J. Claude W, S.W. Richard, T. André, L. Marius, N. Jean-Baptiste, K. Jean, D.-F. Marie-Genevieve, G.I. Pierre, Biological and phytochemical investigations of extracts from *Pterocarpus erinaceus* Poir (fabaceae) root barks, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. AJTCAM* 14 (2017) 187–195. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i1.21>.
- [115] N.K. Tittikpina, F. Nana, S. Fontanay, S. Philippot, K. Batawila, K. Akpagana, G. Kirsch, P. Chaimbault, C. Jacob, R.E. Duval, Antibacterial activity and cytotoxicity of *Pterocarpus erinaceus* Poir extracts, fractions and isolated compounds, *J. Ethnopharmacol.* 212 (2018) 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.020>.
- [116] P.D. Toukam, M.F. Tagatsing, L.R. Tchokouaha Yamthe, G. Baishya, N.C. Barua, A.T. Tchinda, J.T. Mbafor, Novel saponin and benzofuran isoflavonoid with in vitro anti-inflammatory and free radical scavenging activities from the stem bark of *Pterocarpus erinaceus* (Poir), *Phytochem. Lett.* 28 (2018) 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.09.006>.
- [117] N.K. Tittikpina, L.P. Sandjo, F. Nana, V. Vaillant, S. Fontanay, S. Philippot, Y.M. Diop, K. Batawila, K. Akpagana, G. Kirsch, R.E. Duval, C. Jacob, P. Chaimbault, Investigation of the antifungal activity of *Pterocarpus erinaceus* led to the identification of two new diarylpropanoids from its roots, *Phytochem. Lett.* 32 (2019) 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.05.013>.
- [118] D. Arbain, G.A. Saputri, G.S. Syahputra, Y. Widiyastuti, D. Susanti, M. Taher, Genus *Pterocarpus*: A review of ethnopharmacology, phytochemistry, biological activities, and clinical evidence, *J. Ethnopharmacol.* 278 (2021) 114316. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114316>.
- [119] N.H. El-Sayed, A.M.A. Dooh, S.A.M. El-Khrisy, T. J. Mabry, Flavonoids of *Cassia italica*, *Phytochemistry* 31 (1992) 2187. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80400-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80400-9).
- [120] M.H. Kazmi, A. Malik, S. Hameed, N. Akhtar, S. Noor Ali, An anthraquinone derivative from *Cassia italica*, *Phytochemistry* 36 (1994) 761–763. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89812-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89812-X).
- [121] S. Yagi, S.E. Tigani, M. Ali, I. Elkhidir, A.M.A. Mohammed, Chemical Constituents and Insecticidal Activity of *Senna italica* Mill. from the Sudan, *Int. Lett. Chem. Phys. Astron.* 14 (2013) 146–151. <https://doi.org/10.56431/p-9db7n5>.
- [122] G.A. Mohamed, New cytotoxic cycloartane triterpene from *Cassia italica* aerial parts, *Nat. Prod. Res.* 28 (2014) 976–983. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.902820>.
- [123] Z.S. Alsaedi, R.A. Ashy, A.Y. Shami, M.A. Majeed, A.M. Alswat, L. Baz, M.N. Baeshen, R.S. Jalal, Metagenomic study of the communities of bacterial endophytes in the desert plant *Senna Italica* and their role in abiotic stress resistance in the plant, *Braz. J. Biol. Rev. Brasleira Biol.* 82 (2022) e267584. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.267584>.
- [124] H.L. Kim, B.J. Camp, R.D. Grigsby, Isolation of N-methylmorpholine from the seeds of *Cassia occidentalis* (coffee senna), *J. Agric. Food Chem.* 19 (1971) 198–199. <https://doi.org/10.1021/jf60173a026>.
- [125] J.P. Yadav, V. Arya, S. Yadav, M. Panghal, S. Kumar, S. Dhankhar, *Cassia occidentalis* L.: A review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile, *Fitoterapia* 81 (2010) 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.09.008>.

- [126] M. Lombardo, S. Kiyota, E.T.M. Kato, M.B. Mathor, T.D.J.A. Pinto, T.M. Kaneko, Evaluation of *in vitro* biological properties of *Senna occidentalis* (L.) Link, Acta Sci. Biol. Sci. 37 (2015) 9. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v37i1.22525>. 909
910
911
- [127] K. Murugan, N. Aarthi, K. Kovendan, C. Panneerselvam, B. Chandramohan, P.M. Kumar, D. Amerasan, M. Paulpandi, R. Chandirasekar, D. Dinesh, U. Suresh, J. Subramaniam, A. Higuchi, A.A. Alarfaj, M. Nicoletti, H. Mehlhorn, G. Benelli, Mosquitocidal and antiplasmodial activity of *Senna occidentalis* (Cassiae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) from Maruthamalai hills against *Anopheles stephensi* and *Plasmodium falciparum*, Parasitol. Res. 114 (2015) 3657–3664. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4593-x>. 912
913
914
915
916
917
- [128] A. Lum Nde, C.I. Chukwuma, O.L. Erukainure, M.S. Chukwuma, M.G. Matsabisa, Ethnobotanical, phytochemical, toxicology and anti-diabetic potential of *Senna occidentalis* (L.) link; A review, J. Ethnopharmacol. 283 (2022) 114663. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114663>. 918
919
920
- [129] J.-L. Pousset, J. Kerharo, G. Maynard, X. Monseur, A. Cavé, R. Goutarel, La borrerine: Nouvel alcaloïde isolé du *Borreria verticillata*, Phytochemistry 12 (1973) 2308–2310. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(73\)85148-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(73)85148-9). 921
922
923
- [130] A.M. Baldé, L.A. Pieters, A. Gergely, V. Wray, M. Claeys, A.J. Vlietinck, Spermacoceine, a bis-indole alkaloid from *Borreria verticillata*, Phytochemistry 30 (1991) 997–1000. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)85294-A](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)85294-A). 924
925
926
- [131] V.F. Moreira, R.R. Oliveira, L. Mathias, R. Braz-Filho, I.J. Curcino Vieira, New Chemical Constituents from *Borreria verticillata* (Rubiaceae), Helv. Chim. Acta 93 (2010) 1751–1757. <https://doi.org/10.1002/hlca.200900457>. 927
928
929
- [132] J.C. Ferreira Júnior, R.P. Lyra Lemos, L.M. Conserva, Chemical constituents from *Spermacoce verticillata* (Rubiaceae), Biochem. Syst. Ecol. 44 (2012) 208–211. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.05.011>. 930
931
- [133] E.K. Adesogan, F.N. Morah, Stryspinolactone, an unusual monoterpene lactone from *Strychnos spinosa*, Phytochemistry 20 (1981) 2585–2586. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)83101-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)83101-9). 932
933
- [134] F.C. Ohiri, R. Verpoorte, A.B. Svendsen, 12-Hydroxy-11-methoxy-diabolone: A New Alkaloid from *Strychnos spinosa*, Planta Med. 50 (1984) 446–447. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969763>. 934
935
- [135] J.D. Msonthi, C. Galeffi, M. Nicoletti, I. Messana, G.B. Marini-Bettolo, Kingiside aglucone, a natural secoiridoid from unripe fruits of *strychnos spinosa*, Phytochemistry 24 (1985) 771–772. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84891-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84891-8). 936
937
938
- [136] A. Itoh, N. Oya, E. Kawaguchi, S. Nishio, Y. Tanaka, E. Kawachi, T. Akita, T. Nishi, T. Tanahashi, Secoiridoid Glucosides from *Strychnos s pinosa*, J. Nat. Prod. 68 (2005) 1434–1436. <https://doi.org/10.1021/np058062w>. 939
940
941
- [137] L. Nhukarume, Z. Chikwambi, M. Muchuweti, B. Chipurura, Phenolic content and antioxidant capacities of *parinari curatelifolia*, *Strychnos spinosa* and *Adansonia digitata*: phenolic content and antioxidant capacities, J. Food Biochem. 34 (2010) 207–221. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00325.x>. 942
943
944
- [138] A. Mann, K. Ibrahim, A.O. Oyewale, J.O. Amupitan, M.O. Fatope, J.I. Okogun, Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of *Terminalia avicennioides*, Am. J. Chem. 1 (2012) 52–55. <https://doi.org/10.5923/j.chemistry.20110102.11>. 945
946
947
- [139] A.A. Omonkhua, M.C. Cyril-Olutayo, O.M. Akanbi, O.A. Adebayo, Antimalarial, hematological, and antioxidant effects of methanolic extract of *Terminalia avicennioides* in *Plasmodium berghei*-infected mice, Parasitol. Res. 112 (2013) 3497–3503. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3530-0>. 948
949
950

- [140] I.E. Cock, The medicinal properties and phytochemistry of plants of the genus *Terminalia* (Combretaceae), *Inflammopharmacology* 23 (2015) 203–229. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0246-z>. 951
952
- [141] S.S. Adewumi, B.A. Akinpelu, D.A. Akinpelu, O.A. Aiyegoro, K.A. Alayande, M.O. Agunbiade, Studies on wound healing potentials of the leaf extract of *Terminalia avicennnioides* (Guill. & parr.) on wistar rats, *South Afr. J. Bot.* 133 (2020) 285–297. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.039>. 953
954
955
- [142] W.A. El-Kashak, S.M. Osman, A.H. Gaara, S.A. El-Toumy, T.K. Mohamed, I. Brouard, Phenolic metabolites, biological activities, and isolated compounds of *Terminalia muelleri* extract, *Pharm. Biol.* 55 (2017) 2277–2284. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1406531>. 956
957
958
- [143] A. Salau, M. Yakubu, A. Oladiji, Cytotoxic activity of aqueous extracts of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennnioides* root barks against Ehrlich Ascites Carcinoma cells, *Indian J. Pharmacol.* 45 (2013) 381. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.115023>. 959
960
961
- [144] A. Arbab, Review on *Anogeissus leiocarpus* a potent african traditional drug, *Int. J. Res. Pharm. Chem.* 2014 (2014) 496–500. 962
963
- [145] A. Salau, M. Yakubu, A. Oladiji, Hepatoprotective effects of aqueous root bark extracts of *Anogeissus leiocarpus*, *Terminalia avicennnioides*, and their mixture in diethylnitrosamine-treated rats, *Drug Dev. Ther.* 6 (2015) 93. <https://doi.org/10.4103/2394-6555.162454>. 964
965
966
- [146] E.Y.A. Salih, M. Kanninen, M. Sipii, O. Luukkanen, R. Hiltunen, H. Vuorela, R. Julkunen-Tiitto, P. Fyhrquist, Tannins, flavonoids and stilbenes in extracts of African savanna woodland trees *Terminalia brownii*, *Terminalia laxiflora* and *Anogeissus leiocarpus* showing promising antibacterial potential, *South Afr. J. Bot.* 108 (2017) 370–386. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.08.020>. 967
968
969
970
- [147] E.Y.A. Salih, R. Julkunen-Tiitto, O. Luukkanen, M. Sipii, M.K.M. Fahmi, P.J. Fyhrquist, Potential Anti-Tuberculosis Activity of the Extracts and Their Active Components of *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. and Perr. with Special Emphasis on Polyphenols, *Antibiotics* 9 (2020) 364. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070364>. 971
972
973
974
- [148] A.E. Motto, P. Lawson-Evi, B. Bakoma, K. Eklu-Gadegbeku, K. Aklikokou, Antihyperlipidemic and antioxidant properties of hydro-alcoholic extracts from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae), *Heliyon* 7 (2021) e06648. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06648>. 975
976
977
- [149] T. Akande, M. Khatib, S. Ola Salawu, A. Afolabi Akindahunsi, L. Di Cesare Mannelli, C. Ghelardini, D. Balli, L. Cecchi, N. Mulinacci, ¹H NMR and HPLC-DAD-MS for the characterization of ellagitannins and triterpenoids of less investigated *Anogeissus leiocarpus* DC (Combretaceae) stem bark, *Food Chem.* 375 (2022) 131813. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131813>. 978
979
980
981
- [150] A.E. Motto, P. Lawson-Evi, K. Eklu-Gadegbeku, Antidiabetic and antioxidant potential of total extract and supernatant fraction of the roots of *Anogeissus leiocarpus* in HFD-fed and Streptozocin -induced diabetic rats, *Biomed. Pharmacother.* 154 (2022) 113578. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113578>. 982
983
984
- [151] E. Tchetan, S. Ortiz, P.A. Olounladé, K. Hughes, P. Laurent, E.V.B. Azando, S.M. Hounzangbe-Adote, F.A. Gbaguidi, J. Quetin-Leclercq, Fractionation Coupled to Molecular Networking: Towards Identification of Anthelmintic Molecules in *Terminalia leiocarpa* (DC.) Baill, *Mol. Basel Switz.* 28 (2022) 76. <https://doi.org/10.3390/molecules28010076>. 985
986
987
988
- [152] M.B. Sadiq, P. Tharaphan, K. Chotivanich, J. Tarning, A.K. Anal, In vitro antioxidant and antimalarial activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del., *BMC Complement. Altern. Med.* 17 (2017) 372. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1878-x>. 989
990
991

[153]	S. Khalid, S. Yagi, P. Khristova, H. Duddeck, (+)-Catechin-5-galloyl Ester as a Novel Natural Polyphenol from the Bark of <i>Acacia nilotica</i> of Sudanese Origin ¹ , <i>Planta Med.</i> 55 (1989) 556–558. https://doi.org/10.1055/s-2006-962094 .	992 993 994
[154]	R. Chaubal, P.V. Pawar, G.D. Hebbalkar, V.B. Tungikar, V.G. Puranik, V.H. Deshpande, N.R. Deshpande, Larvicidal Activity of <i>Acacia nilotica</i> Extracts and Isolation of D-Pinitol - A Bioactive Carbohydrate, <i>Chem. Biodivers.</i> 2 (2005) 684–688. https://doi.org/10.1002/cbdv.200590044 .	995 996 997
[155]	I.M.S. Eldeen, F.R. Van Heerden, J. Van Staden, In vitro biological activities of niloticane, a new bioactive cassane diterpene from the bark of <i>Acacia nilotica</i> subsp. <i>kraussiana</i> , <i>J. Ethnopharmacol.</i> 128 (2010) 555–560. https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.01.057 .	998 999 1000
[156]	A.M. Muddathir, E.A.M. Mohieldin, T. Mitsunaga, In vitro activities of <i>Acacia nilotica</i> (L.) Delile bark fractions against Oral Bacteria, Glucosyltransferase and as antioxidant, <i>BMC Complement. Med. Ther.</i> 20 (2020) 360. https://doi.org/10.1186/s12906-020-03147-4 .	1001 1002 1003
[157]	S.-P. Nie, C. Wang, S.W. Cui, Q. Wang, M.-Y. Xie, G.O. Phillips, The core carbohydrate structure of <i>Acacia seyal</i> var. <i>seyal</i> (Gum arabic), <i>Food Hydrocoll.</i> 32 (2013) 221–227. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.027 .	1004 1005 1006
[158]	I.E.H. Elgailani, C.Y. Ishak, Determination of Tannins of Three Common <i>Acacia</i> Species of Sudan, <i>Adv. Chem.</i> 2014 (2014) 1–5. https://doi.org/10.1155/2014/192708 .	1007 1008
[159]	M. Kibar Ozturk, I. Zindancı, E. Zemheri, <i>Acacia seyal</i> and <i>Terminalia brownii</i> associated airborne contact dermatitis (Dukhan dermatitis), <i>Int. J. Dermatol.</i> 57 (2018) 1382–1386. https://doi.org/10.1111/ijd.14194 .	1009 1010
[160]	M.A. Ashour, W. Fatima, M. Imran, M.M. Ghoneim, S. Alshehri, F. Shakeel, A Review on the Main Phytoconstituents, Traditional Uses, Inventions, and Patent Literature of Gum Arabic Emphasizing <i>Acacia seyal</i> , <i>Mol. Basel Switz.</i> 27 (2022) 1171. https://doi.org/10.3390/molecules27041171 .	1011 1012 1013
[161]	A.K. Mengesha, E.M. Birru, M. Adugna, Anti-Diarrheal Activities of Hydromethanolic Crude Extract and Solvent Fractions of <i>Acacia seyal</i> (Fabaceae) Roots in Mice, <i>Clin. Pharmacol. Adv. Appl.</i> 14 (2022) 99–110. https://doi.org/10.2147/CPAA.S383896 .	1014 1015 1016
[162]	K. Kaur, H. Michael, S. Arora, P. Härkönen, S. Kumar, In vitro bioactivity-guided fractionation and characterization of polyphenolic inhibitory fractions from <i>Acacia nilotica</i> (L.) Willd. ex Del., <i>J. Ethnopharmacol.</i> 99 (2005) 353–360. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.040 .	1017 1018 1019
[163]	R. Muganga, J. Bero, J. Quetin-Leclercq, L. Angenot, M. Tits, A. Mouithys-Mickalad, T. Franck, M. Frédérick, In vitro Antileishmanial, Antitrypanosomal, and Anti-inflammatory-like Activity of <i>Terminalia mollis</i> Root Bark, <i>Planta Med.</i> 87 (2021) 724–731. https://doi.org/10.1055/a-1260-6382 .	1020 1021 1022
[164]	R. Aminu, M.A. Ibrahim, M.A. Rahman, R. Dash, I.A. Umar, Trypanosuppressive effects of ellagic acid and amelioration of the trypanosome-associated pathological features coupled with inhibitory effects on trypanosomal sialidase in vitro and in silico, <i>Phytomedicine Int. J. Phytother. Phytopharm.</i> 30 (2017) 67–73. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.04.013 .	1023 1024 1025 1026
[165]	A.M. Beshbishy, G.E.-S. Batiha, N. Yokoyama, I. Igarashi, Ellagic acid microspheres restrict the growth of <i>Babesia</i> and <i>Theileria</i> in vitro and <i>Babesia microti</i> in vivo, <i>Parasit. Vectors</i> 12 (2019) 269. https://doi.org/10.1186/s13071-019-3520-x .	1027 1028 1029
[166]	null Atta-Ur-Rahman, F.N. Ngounou, M.I. Choudhary, S. Malik, T. Makhmoor, M. Nur-E-Alam, S. Zareen, D. Lontsi, J.F. Ayafor, B.L. Sondengam, New antioxidant and antimicrobial ellagic acid derivatives from <i>Pteleopsis hylodendron</i> , <i>Planta Med.</i> 67 (2001) 335–339. https://doi.org/10.1055/s-2001-14306 .	1030 1031 1032 1033

- [167] X. Gao, J. Wu, W. Zou, Y. Dai, Two Ellagic Acids Isolated from Roots of *Sanguisorba officinalis* L. Promote Hematopoietic Progenitor Cell Proliferation and Megakaryocyte Differentiation, *Molecules* 19 (2014) 5448–5458. <https://doi.org/10.3390/molecules19045448>. 1034
1035
1036
- [168] Y.H. Choi, J.M. Pezzuto, A.D. Kinghorn, N.R. Farnsworth, Ellagic acid derivatives of *Agrostistachys hookeri*, *Planta Med.* 54 (1988) 511–513. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962532>. 1037
1038
- [169] W. Lakornwong, K. Kanokmedhakul, S. Kanokmedhakul, A new coruleoellagic acid derivative from stems of *Rhodamnia dumetorum*, *Nat. Prod. Res.* 32 (2018) 1653–1659. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1395430>. 1039
1040
1041
- [170] Y.A. Geevananda, P. Gunawardana, N.S. Kumar, M.U.S. Sultanbawa, Three hydroxy ellagic acid methyl ethers, chrysophanol and scopoletin from *Shorea worthingtonii* and *Vatica obscura*, *Phytochemistry* 18 (1979) 1017–1019. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)91468-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)91468-7). 1042
1043
1044
- [171] M.E. Lombardo, A. Batlle, Mode of Action on Trypanosoma and Leishmania spp., in: V.P. Sülsen, V.S. Martino (Eds.), *Sesquiterpene Lact. Adv. Their Chem. Biol. Asp.*, Springer International Publishing, Cham, 2018: pp. 223–240. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78274-4_10. 1045
1046
1047
- [172] D.Y. Lee, H.W. Kim, H. Yang, S.H. Sung, Hydrolyzable tannins from the fruits of *Terminalia chebula* Retz and their α -glucosidase inhibitory activities, *Phytochemistry* 137 (2017) 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.006>. 1048
1049
1050
- [173] A. Amalraj, S. Gopi, Medicinal properties of *Terminalia arjuna* (Roxb.) Wight & Arn.: A review, *J. Tradit. Complement. Med.* 7 (2017) 65–78. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.02.003>. 1051
1052
- [174] Y. Chandrasekhar, E.M. Ramya, K. Navya, G. Phani Kumar, K.R. Anilakumar, Antidepressant like effects of hydrolysable tannins of *Terminalia catappa* leaf extract via modulation of hippocampal plasticity and regulation of monoamine neurotransmitters subjected to chronic mild stress (CMS), *Biomed. Pharmacother.* 86 (2017) 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.031>. 1053
1054
1055
1056
- [175] A. Kesharwani, S.K. Polachira, R. Nair, A. Agarwal, N.N. Mishra, S.K. Gupta, Anti-HSV-2 activity of *Terminalia chebula* Retz extract and its constituents, chebulagic and chebulinic acids, *BMC Complement. Altern. Med.* 17 (2017) 110. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1620-8>. 1057
1058
1059
- [176] Salih, P. Fyhrquist, A. Abdalla, A. Abdelgadir, M. Kanninen, M. Sipi, O. Luukkanen, M. Fahmi, M. Elamin, H. Ali, LC-MS/MS Tandem Mass Spectrometry for Analysis of Phenolic Compounds and Pentacyclic Triterpenes in Antifungal Extracts of *Terminalia brownii* (Fresen), *Antibiotics* 6 (2017) 37. <https://doi.org/10.3390/antibiotics6040037>. 1060
1061
1062
1063
- [177] C. Anokwuru, M. Sigidi, M. Boukandou, P. Tshisikhawe, A. Traore, N. Potgieter, Antioxidant Activity and Spectroscopic Characteristics of Extractable and Non-Extractable Phenolics from *Terminalia sericea* Burch. ex DC., *Molecules* 23 (2018) 1303. <https://doi.org/10.3390/molecules23061303>. 1064
1065
1066
- [178] Salih, R. Julkunen-Tiitto, A.-M. Lampi, M. Kanninen, O. Luukkanen, M. Sipi, M. Lehtonen, H. Vuorela, P. Fyhrquist, *Terminalia laxiflora* and *Terminalia brownii* contain a broad spectrum of antimycobacterial compounds including ellagitannins, ellagic acid derivatives, triterpenes, fatty acids and fatty alcohols, *J. Ethnopharmacol.* 227 (2018) 82–96. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.030>. 1067
1068
1069
1070
- [179] X.-R. Zhang, J.S. Kaunda, H.-T. Zhu, D. Wang, C.-R. Yang, Y.-J. Zhang, The Genus *Terminalia* (Combretaceae): An Ethnopharmacological, Phytochemical and Pharmacological Review, *Nat. Prod. Bioprospecting* 9 (2019) 357–392. <https://doi.org/10.1007/s13659-019-00222-3>. 1071
1072
1073
- [180] G. Das, D.-Y. Kim, C. Fan, E.P. Gutiérrez-Grijalva, J.B. Heredia, V. Nissapatorn, W. Mitsuwan, M.L. Pereira, M. Nawaz, A. Siyadatpanah, R. Norouzi, B. Sawicka, H.-S. Shin, J.K. Patra, *Plants of the Genus* 1074
1075

Terminalia: An Insight on Its Biological Potentials, Pre-Clinical and Clinical Studies, Front. Pharmacol.	1076
11 (2020) 561248. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.561248 .	1077
[181] I.E. Cock, M. Cheesman, Chapter 44 - Plants of the genus Terminalia: Phytochemical and antioxidant	1078
profiles, proliferation, and cancer, in: V.R. Preedy, V.B. Patel (Eds.), Cancer Second Ed., Academic Press,	1079
San Diego, 2021: pp. 495–503. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00044-4 .	1080
[182] N. Miranda, A.P. Gerola, C.R. Novello, T. Ueda-Nakamura, S. de Oliveira Silva, B.P. Dias-Filho, N.	1081
Hioka, J.C.P. de Mello, C.V. Nakamura, Pheophorbide a, a compound isolated from the leaves of	1082
Arrabidaea chica, induces photodynamic inactivation of Trypanosoma cruzi, Photodiagnosis Photodyn.	1083
Ther. 19 (2017) 256–265. https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.05.004 .	1084
	1085

Chapitre 3

III. Étude des activités antiparasitaire, anti-coronavirus, antibactérienne, antifongique et cytotoxique de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et isolement de molécules bioactives.

Résumé détaillé

Dans cette étude, nous nous intéressons aux activités biologiques et à la phytochimie des écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler. Cette espèce a été récoltée à Dakar (Sénégal) en décembre 2021 en raison de sa tradition d'usages pour la prise en charge de pathologies infectieuses au Sénégal. Lors de l'enquête ethnobotanique, cette plante avait été citée 12 fois (9,4 %) pour son utilisation contre la grippe, la toux, le rhume, les otites et l'asthme (cf. chapitre 1). Elle a également été mentionnée par deux tradipraticiens de bonne réputation pour son utilisation contre la COVID-19. Ces derniers avaient insisté sur le fait que les écorces de racines de *Z. zanthoxyloides* pouvait avoir une action positive contre la COVID-19.

Z. zanthoxyloides est un petit arbre de six à sept mètres de haut, utilisé au Sénégal pour ses propriétés antimicrobiennes indéniables notamment en tant que parasiticide.

Dans la recherche de nouveaux agents antimicrobiens à partir de plantes utilisées en médecine traditionnelle sénégalaise, l'objectif de ce travail a consisté en l'évaluation, par un processus bioguidé, des activités antiparasitaire, antivirale, antibactérienne, antifongique et cytotoxique des extraits, des fractions issues des sous-extraits et des composés isolés par chromatographie préparative et identifiés par des techniques spectroscopiques.

Les tests antiparasitaires et de cytotoxicité ont été menés grâce à une collaboration avec le Pr Joëlle Quetin-Leclercq au *Louvain Drug Research Institute* (LDRI) au sein de l'Université Catholique de Louvain (Bruxelles, Belgique). Dans un premier temps, les activités antiparasitaires ont été évalués *in vitro* contre deux protozoaires, *Leishmania mexicana mexicana* et *Trypanosoma brucei brucei*. Parallèlement, l'activité cytotoxique a été évaluée sur des cellules normales de fibroblastes pulmonaires humains WI-38. De fortes activités antileishmaniale et antitrypanosomale ont été mises en évidence pour l'extrait brut méthanolique (ZZM) (CI_{50} = 0,61 et 2,15 µg/mL, respectivement), ainsi que pour ses sous-extraits DCM (CI_{50} = 0,07 et 0,22 µg/mL, respectivement) et cyclohexane (CI_{50} = 0,66 et 5,17 µg/mL, respectivement), accompagnés de bons index de sélectivité ($8,0 < IS < 252,4$). Le sous-extrait acétate d'éthyle était le moins actif sur les deux parasites.

Par ailleurs, l'extrait méthanolique ZZM a fortement inhibé l'infection virale par le coronavirus humain HCoV-229E dans des cellules Huh-7 exprimant la protéase transmembranaire à sérine 2, TMPRSS2 (Huh-7/TMPRSS2), avec une infection virale relative de $17,0 \pm 1,7 \%$ à $25 \mu\text{g/mL}$. De plus, les sous-extraits cyclohexane et dichlorométhane (DCM) ont montré une activité antivirale contre le coronavirus humain HCoV-229E avec une tolérance vis-à-vis des cellules Huh-7 (cyclohexane : $\text{CI}_{50} = 5,29 \mu\text{g/mL}$, $\text{CC}_{50} = 51,11 \mu\text{g/mL}$ et DCM : $\text{CI}_{50} = 4,87 \mu\text{g/mL}$, $\text{CC}_{50} = 23,91 \mu\text{g/mL}$), alors que les sous-extraits acétate d'éthyle et résiduel aqueux n'ont pas présenté d'activités anti-coronavirus contre HCoV-229E.

Enfin les activités antibactériennes et antifongiques de l'extrait brut méthanolique et des sous-extraits cyclohexane, DCM, acétate d'éthyle et résiduel aqueux, ainsi que les fractions issues du sous-extrait cyclohexane ont été évaluées *in vitro* sur un panel de 36 souches pathogènes de l'homme (bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif et levures : *Candida* sp.). Les nouvelles molécules citées dans ce travail ne sont pas encore évaluées sur ces souches car ce sont des expériences en milieu solide (Steers) qui demandent beaucoup plus de quantités de produits. Les résultats des tests d'activités antibactériennes et antifongiques sont présentés dans le **Tableau 9** de la section *Activités antibactériennes et antifongiques de Zanthoxylum zanthoxyloides*

En raison des activités antileishmaniale, antitrypanosomale et anti-coronavirus des sous-extraits cyclohexane et dichlorométhane, leur fractionnement par différentes techniques chromatographiques a permis l'isolement d'un nouvel alcaloïde benzo[c]phénanthridine racémique nommé zanthoxyloithrine (**1**) ainsi que de 13 composés connus : dihydrochélérythrine (**2**), *trans*-fagaramide (**3**), arnottianamide (**4**), pellitorine (**5**), gamma-sanshool (**6**), chélérythrine (**7**), evodiamide (**8**), decarine (**9**), 6-oxochélérythrine (**10**), scoparone (**11**), 4-méthoxy-1-méthylquinolin-2-one (**12**), skimmianine (**13**), et gamma-fagarine (**14**). Leurs structures ont été élucidées par la combinaison de différentes techniques spectroscopiques, notamment IR, UV, HR-ESI-MS, RMN (1D & 2D), la polarimétrie et le dichroïsme circulaire électronique (ECD). Une déréplication basée sur les analyses en HR-ESI-MS/MS des données par MZmine et une analyse de mise en réseau moléculaire par GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*) ont été également effectuées pour identifier d'autres métabolites spécialisés non purifiés dans les sous-extraits de cyclohexane et de DCM. Le nouvel alcaloïde (**1**) a montré de fortes activités antileishmaniale ($\text{CI}_{50} = 0,14 \mu\text{M}$, $\text{SI} = 52,0$) et antitrypanosomale ($\text{CI}_{50} = 0,36 \mu\text{M}$, $\text{SI} = 20,8$) avec une bonne sélectivité vis-à-vis des cellules WI-38. De plus, le composé **1** a montré une forte activité antivirale contre

HCoV-229E, que les cellules expriment TMPRSS2 ($CI_{50} = 6,70 \mu M$) ou non ($CI_{50} = 5,40 \mu M$), et sans toxicité significative sur les cellules Huh-7 (jusqu'à $100 \mu M$). Les autres alcaloïdes benzo[c]phénanthridine, la dihydrochélérythrine (**2**), la chélérythrine (**7**) et la 6-oxochélérythrine (**10**), ont également montré une activité antivirale en présence de TMPRSS2 (CI_{50} 12,95, 11,36 et $25,84 \mu M$, respectivement) ou non (CI_{50} 10,38, 19,43 et $19,08 \mu M$, respectivement). Les composés **2** et **7** ont montré les meilleures activités antileishmaniale et antitrypanosomale. Celles-ci sont déjà décrites dans la littérature et confirmées dans cette étude. La **Figure 35** présente un résumé graphique des travaux. Toutes les informations complémentaires sont présentées en **Annexe C**.

Ce chapitre présenté sous forme d'un article de recherche a été soumis dans *Journal of Natural Products* en mars 2024.

III.1. Activités antiparasitaires, anti-coronavirus et cytotoxique de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et isolement de molécules bioactives

Antileishmanial, Antitrypanosomal and Anti-coronavirus Activities of Benzophenanthridine Alkaloids and Other Specialized Metabolites Isolated From *Zanthoxylum zanthoxyloides*

Abda Ba, Vincent Roumy, Malak Al Ibrahim[†], Kristelle Hughes[†], Thierry Hennebelle, Jennifer Samaillie, Sevser Sahpaz, Mehdi A. Beniddir, Marie-France Hérent, Karin Séron, Joëlle Quetin Leclercq, Matar Seck, and Céline Rivière *

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Céline Rivière - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Laboratory of pharmacognosy, UFR3S Pharmacy, University of Lille, 3 rue du Professeur Laguesse, 59000 Lille; orcid.org/0000-0002-8618-5530; Phone. + 33 3 20 96 40 41; E-mail: celine.riviere@univ-lille.fr

Authors

Abda Ba - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France/Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal

Vincent Roumy - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

Malak Al Ibrahim - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France/ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR9017 – Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), F-59000 Lille, France

Kristelle Hughes - Pharmacognosy Research Group, Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain (UCLouvain), Avenue E. Mounier, 72, B B01.72.03-1200 Brussels, Belgium

Thierry Hennebelle - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

Jennifer Samaillie - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

Sevser Sahpaz - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

Mehdi A. Beniddir - Equipe Chimie des Substances Naturelles, BioCIS, CNRS, Université Paris-Saclay, 17 Avenue des Sciences, 91400, Orsay, France

Marie-France Herent - *Pharmacognosy Research Group, Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain (UCLouvain), Avenue E. Mounier, 72, B B01.72.03-1200 Brussels, Belgium*

Karin Séron - *Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR9017 – Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), F-59000 Lille, France*

Joëlle Quetin Leclercq - *Pharmacognosy Research Group, Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain (UCLouvain), Avenue E. Mounier, 72, B B01.72.03-1200 Brussels, Belgium*

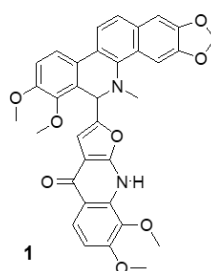
Matar Seck - *Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal*

[†] These authors contributed equally to this work.

Graphical Abstract



Zanthoxylum zanthoxyloides

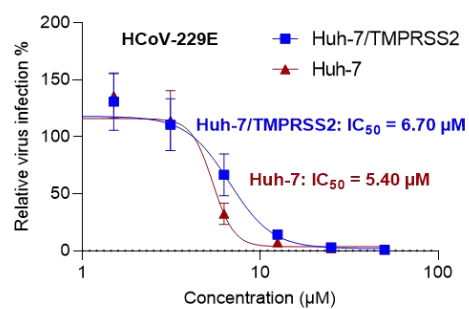


L. mexicana mexicana:

$IC_{50} = 0.14 \mu M$

T. brucei brucei:

$IC_{50} = 0.36 \mu M$



ABSTRACT: The phytochemical investigation of *Zanthoxylum zanthoxyloides* root bark methanolic crude extract led to the isolation, from cyclohexane and dichloromethane sub-extracts, of a new racemic benzophenanthridine alkaloid named zanthoxyloithrine (**1**), together with 13 known compounds. Their structures were elucidated by spectroscopic techniques including IR, UV, HR-MS, 1D and 2D NMR and electronic circular dichroism. In parallel, HR-ESI-MS/MS based dereplication and molecular networking analysis were performed to identify unpurified compounds in these apolar sub-extracts. Both sub-extracts showed antileishmanial and antitrypanosomal activities (cyclohexane: $IC_{50} = 0.66$ and $5.17 \mu\text{g/mL}$, respectively and dichloromethane: $IC_{50} = 0.07$ and $0.22 \mu\text{g/mL}$, respectively), with a good selectivity index (SI) towards WI-38 cells. Compound (**1**) also showed strong antileishmanial ($IC_{50} = 0.14 \mu\text{M}$, SI = 52.0) and antitrypanosomal ($IC_{50} = 0.36 \mu\text{M}$, SI = 20.8) activities. Moreover, cyclohexane and dichloromethane sub-extracts exhibited a dose-dependent inhibition of human coronavirus HCoV-229E infection in hepatoma Huh-7 cells expressing or not the cellular protease TMPRSS2, (IC_{50} values of $5.29 \mu\text{g/mL}$ and $4.87 \mu\text{g/mL}$, respectively). Zanthoxyloithrine (**1**) demonstrated a high antiviral activity against HCoV-229E with IC_{50} value of $6.70 \mu\text{M}$ in presence of TMPRSS2 and without significant toxicity on Huh-7 cells. Other benzo[c]phenanthridine alkaloids also showed anti-coronavirus and antiparasitic activities.

The genus *Zanthoxylum* L. (Rutaceae), consisting of trees and shrubs, is represented by about 250 species distributed throughout the world in tropical and temperate regions.¹ In Africa, this genus is represented by 35 species mainly distributed in West African countries.² *Zanthoxylum* species are widely used in traditional medicine as decoction or infusion either alone or in combination with other plants in the treatment of many infectious diseases, caused by parasites (malaria, trypanosomiasis, leishmaniasis, etc.), bacteria, fungus, certain viruses, but also in the management of sickle cell anemia or some cancers.³⁻⁵

In Senegal, the species *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler, a small tree of six to seven meters tall, is widely used in traditional medicine for its antiparasitic properties.^{6,7} However, the antileishmanial and antitrypanosomal activities of this species are not well investigated. Leishmaniasis, an infectious zoonotic disease distributed worldwide with 1.3 million people infected per year, is caused by approximately twenty species of protozoa belonging to the genus *Leishmania* including *L. donovani*, *L. infantum*, *L. braziliensis*, *L. mexicana*, *L. major*, transmitted by a bite from a female sand fly vector, and manifested by visceral or cutaneous symptoms.⁸⁻¹¹ Human African trypanosomiasis (HAT) or Chagas disease, endemic in Africa and South America, respectively, which affects between 300,000 and 500,000 people per year, is caused by protozoa of the genus *Trypanosoma* including *T. brucei brucei*, *T. cruzi*, *T. brucei gambiense* or *T. brucei rhodesiense* after the bite of an infested tsetse fly (genus *Glossina*) and can in some cases attack the central nervous system.^{12,13} Without effective treatments, both diseases are usually fatal.^{14,15} Currently, the existing drugs for these two diseases, depending on the stage of infection, are pentamidine, eflornithine, nifurtimox, feximidazole, suramin, amphotericin B or melarsoprol. Unfortunately, the numerous adverse effects linked to their toxicity, the complexity of their administration (intramuscular or intravenous for most of them) and their high costs strongly limit their effectiveness.^{8,10,13}

At the start of the COVID-19 pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), many countries encouraged the use of natural products for the management of symptoms of the infection.^{16,17} This was the case in Senegal where some traditional practitioners recommended that patients infected with the coronavirus take an infusion or decoction of *Zanthoxylum zanthoxyloides* root bark. Studies carried out in other countries have recognized the use of plants from the Rutaceae family, in particular *Zanthoxylum zanthoxyloides* in the management of COVID-19 by local populations without scientific verification.^{18,19} This was also the case in China, where traditional medicinal plants were recommended by the National Health Commission as a therapeutic option against COVID-19 at the beginning of the pandemic.^{17,18} HCoV-229-E is a virus primarily responsible for respiratory infections, including the common cold in humans, and can serve as a model for highly pathogenic coronaviruses such as SARS-CoV-2. From a phytochemical perspective, previous studies reported that *Z. zanthoxyloides* is a source of benzophenanthridine and quinoline alkaloids that have antibacterial,²⁰ antiparasitic,²¹ anti-inflammatory,²² antiviral,²³ and anti-tumoral^{24,25} properties. In this context, we have investigated the chemical composition of the root bark of *Z. zanthoxyloides* and have evaluated the antiparasitic and anti-coronavirus activities of this plant. This paper describes the isolation and structural elucidation of one new racemic benzophenanthridine alkaloid as well as thirteen known compounds. All these compounds were evaluated for their antiparasitic activities against *Leishmania mexicana mexicana* and *Trypanosoma brucei brucei* and their anti-coronavirus activity against the human coronavirus HCoV-229E. The cytotoxicity of the purified compounds was also evaluated on normal human pulmonary fibroblast WI-38 cells and on hepatoma Huh-7 cells.

RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary Antiparasitic and Antiviral Assays. *Z. zanthoxyloides* root bark powder was first extracted by maceration in MeOH. Then, the crude methanolic extract (ZMZ), solubilized in water, was fractionated by successive liquid-liquid extractions with cyclohexane, dichloromethane, and ethyl acetate to obtain four sub-extracts: cyclohexane (ZZC), DCM (ZZD), EtOAc (ZZE) and aqueous (ZZA). The crude methanolic extract and the sub-extracts were evaluated in dose-response experiments for their antiparasitic activities against *Leishmania mexicana mexicana* (Lmm) and *Trypanosoma brucei brucei* (Tbb), as well as for their cytotoxic activity on normal WI-38 cells (Table 2). ZMZ showed a strong antileishmanial activity against Lmm ($IC_{50} = 0.61 \mu\text{g/mL}$, $SI = 67$) and an antitrypanosomal activity against Tbb ($IC_{50} = 2.15 \mu\text{g/mL}$, $SI = 19.3$), with no cytotoxicity observed against WI-38 cells. ZZD demonstrated excellent antileishmanial activity against Lmm ($IC_{50} = 0.07 \mu\text{g/mL}$, $SI = 252.4$) and particularly good antitrypanosomal activity against Tbb ($IC_{50} = 0.22 \mu\text{g/mL}$, $SI = 81.5$) associated with good selectivity indexes. The antileishmanial activity of ZZD was slightly but significantly better than that of pentamidine ($IC_{50} = 0.08 \mu\text{g/mL}$, $0.23 \mu\text{M}$) and amphotericin B ($IC_{50} = 0.09 \mu\text{g/mL}$, $0.09 \mu\text{M}$), the positive controls used for Lmm. The sub-extract ZZD exhibited more potent antiparasitic activities than those of ZZC on Lmm ($IC_{50} = 0.66 \mu\text{g/mL}$, $SI = 62.8$) and on Tbb ($IC_{50} = 5.17 \mu\text{g/mL}$, $SI = 8.0$). ZZE and ZZA, although active against parasitic strains, were overall less active than ZZD and ZZC. The cytotoxic and antiviral activities of the crude extract and sub-extracts were further evaluated respectively on Huh-7 cells and against the human coronavirus HCoV-229E-Luc possessing a luciferase reporter gene for the quantification of infection (Figures 1a and 1b). Huh-7 hepatoma cell line, as well as Huh-7 cells transduced with a lentivirus encoding TMPRSS2 (Huh-7/TMPRSS2), a cellular protease that allows fusion of the virus to the host cell surface, have been used for HCoV-229E-Luc infection assays. In the absence of this TMPRSS2 protease, responsible for cleavage of the spike protein, the virus only uses the endosomal pathway for entry. The cytotoxicity was

determined at two concentrations (25 and 100 $\mu\text{g/mL}$) (Figure 1a), and the antiviral activity at 25 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 1b). ZZD and ZZC showed the best activities against the human coronavirus HCoV-229E in Huh-7 and Huh-7/TMPRSS2 cells (Figure 1b) but also a significant decrease of cell viability at 100 $\mu\text{g/mL}$ for both ZZD and ZZC, and at 25 $\mu\text{g/mL}$ for ZZD. To determine if the observed antiviral activity was not due to cytotoxicity, dose-response experiments were performed (Figures 1 c-f). The concentrations decreasing the viability by 50% (CC_{50}), as well as the concentrations inhibiting 50% of the infection (IC_{50}) were determined for the two active sub-extracts. The sub-extracts ZZD (Huh-7/TMPRSS2: $\text{IC}_{50} = 4.87 \mu\text{g/mL}$, Huh-7: $\text{IC}_{50} = 4.36 \mu\text{g/mL}$) and ZZC (Huh-7/TMPRSS2: $\text{IC}_{50} = 5.29 \mu\text{g/mL}$, Huh-7: $\text{IC}_{50} = 6.24 \mu\text{g/mL}$) showed similar antiviral activities against the human coronavirus HCoV-229E in Huh-7 cells expressing or not the protease TMPRSS2 (Figures 1e and 1f). However, ZZC ($\text{CC}_{50} = 51.11 \mu\text{g/mL}$) was less cytotoxic than ZZD ($\text{CC}_{50} = 23.91 \mu\text{g/mL}$) on Huh-7 cells (Figures 1c and 1d). These results demonstrated that the antiviral activity of ZZD and ZZC was not due to cytotoxicity because the active concentrations were much lower than the cytotoxic concentrations. The different antiparasitic and antiviral activities, associated with the non-toxicity of ZZC and ZZD, at active concentrations, led to the choice of these sub-extracts for the phytochemical study. UPLC-HR-ESI-MS/MS analysis was also carried out to perform putative identification of other compounds by HR-MS and MS/MS molecular networking dereplication.

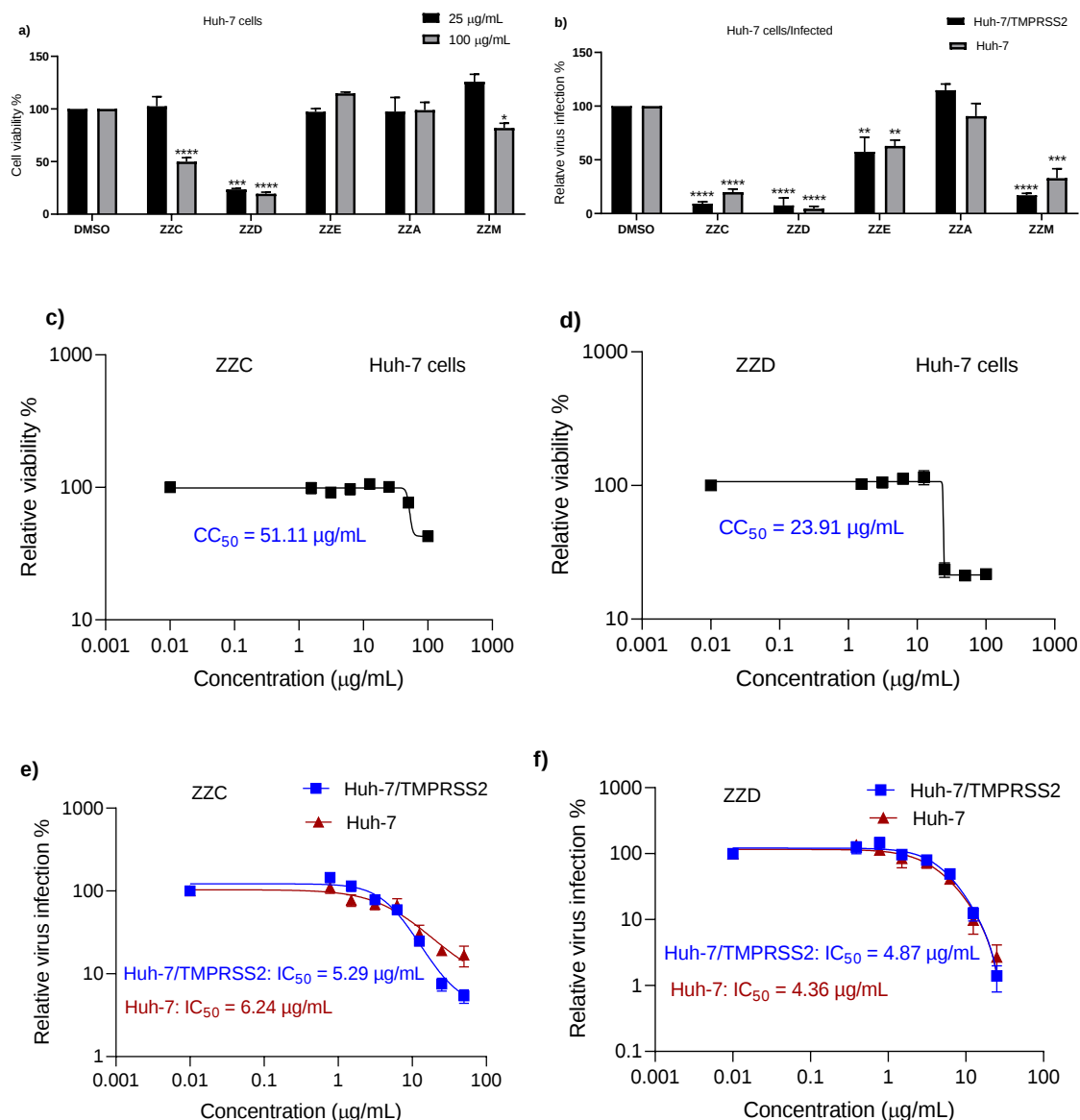
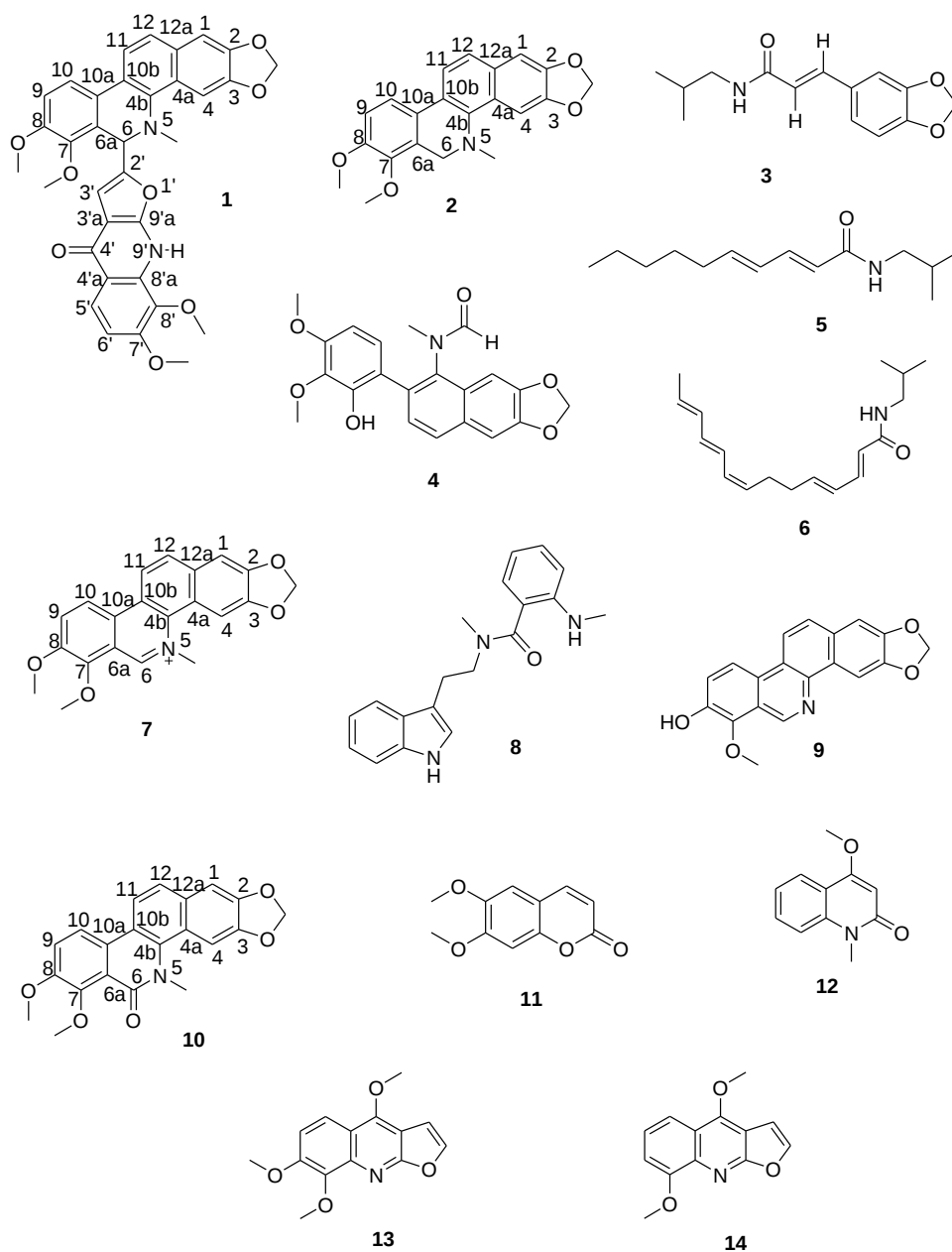


Figure 1 Effects of the crude extract (ZZM) and the sub-extracts (ZZC, ZZD, ZZE and ZZA) on (a) the Huh-7 cell proliferation by using the MTS assay at 25 µg/mL and 100 µg/mL, and (b) their antiviral activity at 25 µg/mL on HCoV-229E-Luc in Huh-7 and Huh-7/TMPRSS2 cells. Toxicity and antiviral evaluation in dose-response of ZZC ((c) and (e)) and ZZD ((d) and (f)). Data were analyzed by the One-way ANOVA and are expressed as mean $\pm$ SEM from three independent experiments, performed in triplicates. **** $P < 0.0001$, *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ (significantly different from DMSO control).

Structural Elucidation. Fractionation of the antiparasitic and antiviral active sub-extracts of *Z. zanthoxyloides* root bark (ZZC and ZZD) was performed by preparative chromatographic techniques and led to the isolation of 14 compounds, including a new racemic

benzophenanthridine alkaloid named zanthoxyloithrine (**1**) and 13 previously known compounds. The structures of these compounds were established based on different spectroscopic data (HR-ESI-MS/MS, UV, 1D and 2D NMR) and by comparison with those described in the literature (Table 1 and Supporting information). The known compounds were identified as dihydrochelerythrine (**2**),²⁰ *trans*-fagaramide (**3**),²⁶ arnottianamide (**4**),²⁷ pellitorine (**5**),^{28,29} gamma-sanshool (**6**),³⁰ chelerythrine (**7**),²⁰ evodiamide (**8**),^{31,32} decarine (**9**),³³ 6-oxochelerythrine (**10**),²⁰ scoparone (**11**),^{10,34} 4-methoxy-1-methylquinolin-2-one (**12**),³⁵ skimmianine (**13**),^{33,36} and gamma-fagarine (**14**).³⁵

Chart 1



Compound **1** was obtained as a brown powder (m.p: 215-216 °C). The HR-ESI-MS in positive mode at m/z 593.1907 $[M+H]^+$ (calcd for 593.1895) supported its molecular formula as $C_{34}H_{28}N_2O_8$, indicating 22 degrees of unsaturation. The IR spectrum showed absorptions corresponding to an N-H band ($\nu_{\max} = 3400\text{ cm}^{-1}$), several $-CH_3$ bands ($\nu_{\max} = 3000, 2944, 2893, 2838$ and 2810 cm^{-1}), a C=O band ($\nu_{\max} = 1634\text{ cm}^{-1}$), aromatic ring bands ($\nu_{\max} = 1573, 1522, 1492, 1460$ and 1415 cm^{-1}) and stretches of N- CH_3 ($\nu_{\max} = 1361\text{ cm}^{-1}$) and C-O-C ($\nu_{\max} = 1265,$

1238, 1072 and 1039 cm^{-1}). The ^{13}C NMR spectrum showed 34 carbon signals that are assigned thanks to the HSQC-Dept and HMBC experiments as five methyls, including four methoxy groups (δ_{C} 61.2, 61.0, 56.1, 55.8), one methylene (δ_{C} 101.0), ten methines including one carbon sp^3 (δ_{C} 55.3), eighteen quaternary carbons with one carbonyl (δ_{C} 173.6), eight oxygenated sp^2 carbons (δ_{C} 154.7, 153.1, 152.1, 150.2, 148.1, 147.5, 146.4 and 134.7) and nine single sp^2 carbons. ^1H NMR spectrum obtained in CDCl_3 (**Table 1**) combined with ^1H - ^1H -COSY spectrum showed an N-H proton signal (δ_{H} 9.06), four methoxy signals (δ_{H} 3.99, 3.97, 3.95 and 3.91), one *N*-methyl (δ_{H} 2.80), nine signals in the aromatic region including three singlets (δ_{H} 7.76, 7.07 and 6.25) and three pairs of doublets [δ_{H} 8.02-6.90 ($J = 9.1$ Hz), 7.61-7.08 ($J = 8.6$ Hz) and 7.69-7.43 ($J = 8.6$ Hz)] corresponding to AB systems of three 1,2,3,4-tetrasubstituted benzene rings. The ^1H NMR spectrum also underlined the presence of a signal at δ_{H} 6.06 ppm (2H) corresponding to a $-\text{CH}_2-$ belonging to a methylenedioxy group, as well as a signal at $\delta_{\text{H}} = 5.83$ ppm integrating 1H corresponding to a methine adjacent to a nitrogen according to the HSQC-Dept experiment. The proton at $\delta_{\text{H}} = 5.83$ was carried by a sp^3 hybridized carbon (δ_{C} 55.3) linked to the benzene ring, which suggested the absence of a double bond $\text{C}=\text{N}$ and therefore confirmed the presence of a side chain attached to this carbon. Comparison of these spectroscopic data with those of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids^{13,20,37,38} attested that **1** was structurally similar to dihydrochelerythrine (**1**) whose difference would therefore be the presence of a side chain in the C-6 position, suggesting that **1** was a dihydrochelerythrine derivative. The attachment of the side chain to C-6 was confirmed by the HMBC experiment which showed the correlations between the H-6 proton (δ_{H} 5.83) and the carbon C-6a (δ_{C} 124.5 ppm), 5-*N*- CH_3 (δ_{C} 42.2), C-4b (δ_{C} 139.6), C-7 (δ_{C} 146.4), C-2' (δ_{C} 150.2) and C-3' (δ_{C} 104.9) (Figure 2). The HSQC and HMBC correlations underlined that the aromatic protons (δ_{H} 6.90 and 8.02), the furan methine (δ_{H} 6.26), the methoxy groups (δ_{H} 3.97 and 3.95) and the proton of the *N*-H group (δ_{H} 9.06) as well as the carbonyl group ($\text{C}=\text{O}$) (δ_{C} 173.6) were localized on

the C-6 substituted unit of the dihydrochelerythrine. The mass spectrum obtained by HR-ESI-MS in positive mode showed a fragment at m/z 348,1224 $[M-244]^{+}$ corresponding to an ion resulting from the loss of the $-C_{13}H_{10}NO_4$ group (contributing to 9 unsaturations) at position C-6. The NMR data obtained for this part of the molecule **1** are similar to those of skimmianine (**13**) and gamma-fagarine (**14**) also isolated in this study from the plant, as well as those found in the literature for iso-skimmianine and iso-gamma-fagarine with the presence of an N-H instead of an *N*-methyl.^{39–41} The spectroscopic data were consistent with a 4,9-dihydro-7,8-dimethoxy-4-oxofuro[2,3-*b*]quinolin-2-yl moiety at position C-6. The lack of optical activity and of any Cotton effect established the racemic status of **1**. The new compound **1** was thus characterized as 2-[1,2-dimethoxy-12-methyl-13*H*-[1,3]benzodioxolo[5,6-*c*]phenanthridine-13-yl]-7,8-dimethoxyfuro[2,3-*b*]quinolin-4(9*H*)-one and named zanthoxyloithrine.

Table 1. ^1H (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) Assignments for Compound **1** in CDCl_3 (δ in ppm)

Position	δ_{C} , type	δ_{H} , mult. (J in Hz)	HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)
1	104.4, CH	7.07, s	3, 4, 12a
2	147.5, C		
3	148.1, C		
4	100.6, CH	7.76, s	1, 2, 4b, 12a
4a	126.8, C		
4b	139.6, C		
5-NMe	42.2, CH_3	2.80, s	4b, 6
6	55.3, CH	5.83, d (1.4)	2', 3', 4b, 6a, 7
6a	124.5, C		
7	146.4, C		
8	152.1, C		
9	112.3, CH	7.08, d (8.6)	
10	119.1, CH	7.61, d (8.6)	
10a	125.5, C		
10b	123.3, C		
11	119.8, CH	7.69, d (8.6)	
12	124.0, CH	7.43, d (8.6)	
12a	131.0, C		
2'	150.2, C		
3'	104.9, CH	6.26, d (1.4)	2', 3'a, 4', 6, 9'a
3'a	106.2, C		
4'	173.6, C=O		
4'a	118.8, C		
5'	122.2, CH	8.02, d (9.1)	
6'	107.9, CH	6.90, d (9.1)	
7'	153.1, C		
8'	134.7, C		
8'a	131.1, C		
9'-NH		9.06, s	3'a, 4'a, 8'
9'a	154.7, C		
2-O- CH_2 -O-3	101.0, CH_2	6.06, dd (10.3, 1.2)	2, 3
7-OMe	61.2, CH_3	3.91, s	7
8-OMe	55.8, CH_3	3.99, s	8
7'-OMe	56.1, CH_3	3.95, s	7'
8'-OMe	61.0, CH_3	3.97, s	8'

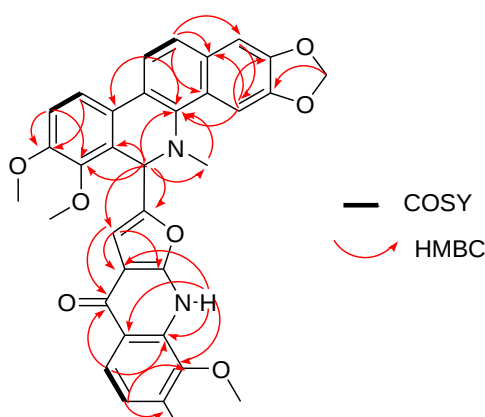


Figure 2. Correlations observed in COSY and HMBC for compound **1**

HR-ESI-MS/MS Based Dereplication and Molecular Networking Analysis. ZZC and ZZD were also analyzed by UHPLC-UV-MS and HR-ESI-MS/MS (**Figure S1-S6**) to putatively identify non-isolated compounds. The MS/MS data of the two sub-extracts, first processed with MZmine, were exported to Global Natural Product Social (GNPS) to create a feature-based molecular network (**Figure 3**). Dereplication of the ZZC and ZZD sub-extracts was performed by comparing MS/MS fragmentations to those present in the GNPS⁴² library and PubChem⁴³ and KEGG⁴⁴ databases. During this annotation process, several levels of confidence were assigned (levels 1-4)⁴⁵. A putative identification was performed based on the analysis of the molecular network (**Figure 3**) and MS/MS fragmentations (**Table S1**, Supporting Information). These approaches showed that these sub-extracts consisted mainly of unsaturated and polyunsaturated amides (cluster A), as well as benzo[c]phenanthridine (cluster B), indolopyridoquinazolinone, isoquinoline and quinoline alkaloids. Only one coumarin, scoparone, was identified and purified in this study. The profiling process revealed that DCM sub-extract was highly enriched in benzo[c]phenanthridine and quinoline alkaloids while cyclohexane contained mainly amides. HR-ESI-MS/MS data made it possible to putatively identify (level 2), by using PubChem and KEGG databases, other alkaloids, such as edulitine (Rt 4.51 min, m/z 206.0807, $C_{11}H_{11}NO_3$), glaucine (Rt 4.56 min, m/z 356.1850, $C_{21}H_{25}NO_4$),

ochotensine (Rt 5.24 min, m/z 352.1538, $C_{21}H_{21}NO_4$), evodiamine (Rt 7.82 min, m/z 304.1443, $C_{19}H_{17}N_3O$), and rutaecarpine (Rt 8.19 min, m/z 288.1129, $C_{18}H_{13}N_3O$) not previously described in the species *Z. zanthoxyloides*. Evodiamide (Rt 7.54 min, m/z 308.1756, $C_{19}H_{21}N_3O$), and decarine (Rt 7.91 min, m/z 320.0914, $C_{19}H_{13}NO_4$) purified in our study were also described for the first time in this plant. On the other hand, new polyunsaturated amides including hazaleamide (Rt 10.58, m/z 276.2319, $C_{18}H_{29}NO$) have been potentially identified in *Z. zanthoxyloides*. Among the 31 alkaloids detected, 12 were benzo[c]phenanthridines. Numerous chelerythrine derivatives (cluster B), including chelerythrine, 6-oxochelerythrine, norchelerythrine and dihydrochelerythrine, were identified (level 1) in the two sub-extracts. The MS spectra of the chelerythrine compounds produced very characteristic daughter ions at m/z 348, 334/333, 332, 321/320, 319/318, 304 and 290.^{46,47} Quinoline and its derivatives were considered as a preferred structure in drug research due to their broad spectrum of bio-response, mainly antibacterial,²⁰ antiparasitic,²¹ anti-COVID-19,²³ anti-inflammatory.²² Therefore, given the high content of these compounds in DCM sub-extract, this could explain the good antiparasitic and anti-coronavirus activities described in this study.

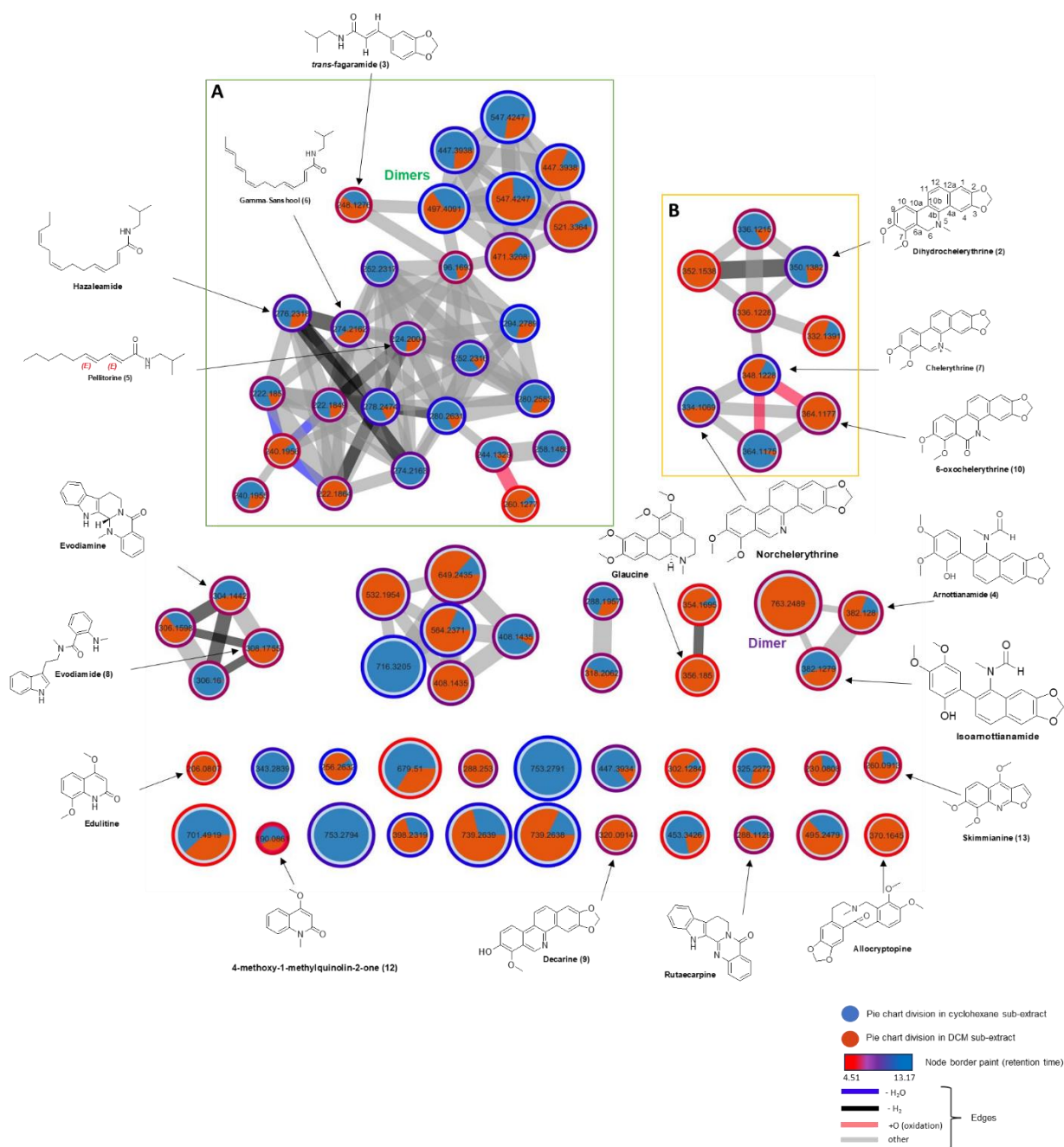


Figure 3. Molecular network of cyclohexane (ZZC) and DCM (ZZD) sub-extracts of *Z. zanthoxyloides*. A: Amides and B: Benzophenanthridines alkaloids clusters. Pie chart division of nodes are proportional to corresponding peak area in the sub-extract. The size of the nodes is proportional to the *m/z* of the compounds. The size of the edges is proportional to the cosine score.

Antileishmanial, Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities. The antiparasitic activity of compounds isolated from *Z. zanthoxyloides* root bark was evaluated against *Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania mexicana mexicana*. Parasite viability was monitored by

resazurin (AlamarBlueTM) and IC₅₀ values were determined (Table 2). In parallel, cytotoxicity of the isolated compounds were performed on non-cancerous pulmonary fibroblast cell line WI-38 by MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay and the CC₅₀ values were determined⁴⁸ (Table 2). All compounds tested exhibited antileishmanial activity against *L. mexicana mexicana* in a dose-dependent manner with IC₅₀ values ranging from 0.03 to 92.87 μ M. IC₅₀ values obtained against *T. brucei brucei* varied between 0.18 and 68.19 μ M. Only arnottianamide (**4**), 6-oxochelerythrine (**10**) and gamma-fagarine (**14**) did not show antitrypanosomal activity at the tested concentrations. No compound was found to be toxic on WI-38 cells at 50% inhibitory concentrations of parasite growth (IC₅₀). Dihydrochelerythrine (**2**) showed the best activities against both *L. mexicana mexicana* (IC₅₀ = 0.03 μ M, SI = 168.7) and *T. brucei brucei* (IC₅₀ = 0.18 μ M, SI = 32.0). Chelerythrine (**7**) also showed good antiparasitic activity against *L. mexicana mexicana* (IC₅₀ = 0.06 μ M, SI = 271.7) and *T. brucei brucei* (IC₅₀ = 0.49 μ M, SI = 35.3) with the best selectivity indexes. The new alkaloid (**1**) was also highly active against *L. mexicana mexicana* (IC₅₀ = 0.14 μ M, SI = 52.0) and *T. brucei brucei* (IC₅₀ = 0.36 μ M, SI = 20.8) with a cytotoxic concentration on WI-38 cells 52 and 20 times higher than the IC₅₀ on both parasites, respectively (Table 1). Compounds **2** and **7** showed better antiparasitic activity against *L. mexicana mexicana* than the positive controls pentamidine (IC₅₀ = 0.23 μ M) and amphotericin B (IC₅₀ = 0.09 μ M). The antileishmanial activity of compound **1** was also greater than that of pentamidine. In contrast, suramin (IC₅₀ = 0.04 μ M) was more active than our compounds against *T. brucei brucei*. The only isolated coumarin, scoparone (**11**), was also very active against *L. mexicana mexicana* (IC₅₀ = 2,56 μ M, SI = 37.2) and *T. brucei brucei* (IC₅₀ = 9,54 μ M, SI = 10.0). Chelerythrine and dihydrochelerythrine, two benzo[c]phenanthridine alkaloids, are known to have a wide range of pharmacological activities, including antibacterial, antitumor, and antiparasitic ones.⁴⁹ Antileishmanial and antitrypanosomal activities of benzophenanthridine alkaloids including

dihydrochelerythrine (**2**) and derivatives,^{13,50} as well as the antileishmanial activity of chelerythrine (**7**)⁸ against different species of *Leishmania* sp., have been previously described in the same range. Additionally, another study showed good activity of dihydrochelerythrine against *L. donovani* and *T. brucei brucei*. The compound was 44 times more selective on *T. brucei brucei* parasites than on the Vero cell line used.¹³ The study of structure-activity relationship carried out on dihydrochelerythrine (**2**), chelerythrine (**7**), decarine (**9**), 6-oxochelerythrine (**10**) and zanthoxyloithrine (**1**) showed that the presence of a carbonyl group on C-6 (i.e., oxidation of C-6; **10**) or C-6 substitution (**1**) has significantly ($p < 0.05$) reduced antileishmanial activity. It also appeared that the unsaturation between C-6 and N-5 was necessary to maintain this high activity. The substitution of the nitrogen atom by a methyl on the B ring as well as the presence of methoxy groups at C-7 and C-8 seem favorable to an increase in activity (**9**). On the other hand, in the case of **1**, the presence of the large group - [4,9-dihydro-7,8-dimethoxy-4-oxofuro[2,3-b]quinolin-2-yl]- in position C-6 strongly attenuated the activity compared to dihydrochelerythrine and conferred slightly higher activity than chelerythrine against *T. brucei brucei* ($p < 0.05$). These observations were consistent with studies on the structure-activity relationship of benzo[c]phenanthridines previously described against *Leishmania* sp. and *Trypanosoma* sp.^{13,50} However, the mechanisms of action of dihydrochelerythrine and its derivatives on *L. mexicana mexicana* and *T. brucei brucei* have not yet been elucidated. A previous study suggested that the primary antibacterial mechanism of chelerythrine may be attributed to the destruction of channels in bacterial membranes, causing protein leakage outside the cell, as well as inhibition of protein biosynthesis.⁵¹ Given the strong leishmanicidal and trypanocidal activities of these benzophenanthridine alkaloids, it would be relevant to study their mechanism of action on these parasitic strains.

Table 2. Antileishmanial, Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities of the Crude Extract ZZM and Its sub-Extracts (ZZC, ZZD, ZZE, and ZZA) as well as Isolated Pure Compounds (1-14)

Extract/sub-extracts/ Compounds	Parasitic strains		WI-38 cells	Selectivity Index (CC ₅₀ / IC ₅₀)	
	IC ₅₀ ± SD (µg/mL or µM) ^a		CC ₅₀ ± SD (µg/mL or µM) ^a		
	<i>L. mexicana mexicana</i>	<i>T. brucei brucei</i>	WI-38	SI (Lmm)	SI (Tbb)
ZZM	0.61 ± 0.03	2.15 ± 0.20	41.42 ± 14.12	67.0	19.3
ZZE	1.37 ± 0.46	5.69 ± 0.39	>100	>72.8	>17.6
ZZA	0.17 ± 0.04	7.37 ± 0.50	53.07 ± 8.97	299.9	7.2
ZZC	0.66 ± 0.08	5.17 ± 2.03	41.44 ± 8.39	62.8	8.0
ZZD	0.07 ± 0.00	0.22 ± 0.01	18.22 ± 3.58	252.4	81.5
1	0.14 ± 0.03	0.36 ± 0.06	7.49 ± 0.24	52.0	20.8
2	0.03 ± 0.01	0.18 ± 0.02	5.81 ± 0.26	168.7	32.0
3	31.24 ± 4.08	68.19 ± 3.15	208.56 ± 23.96	6.7	3.1
4	34.77 ± 0.23	n.d	53.40 ± 0.30	1.5	-
5	92.87 ± 26.01	59.12 ± 11.18	147.29 ± 53.37	1.6	2.5
6	7.92 ± 0.40	18.21 ± 1.13	49.35 ± 10.93	6.2	2.7
7	0.06 ± 0.00	0.49 ± 0.05	17.40 ± 0.91	271.7	35.3
8	8.73 ± 3.49	36.35 ± 3.77	67.68 ± 5.72	7.8	1.9
9	5.90 ± 0.35	14.13 ± 1.57	13.62 ± 4.77	2.3	1.0
10	15.39 ± 0.95	n.d	22.98 ± 3.06	1.5	-
11	2.56 ± 0.16	9.54 ± 0.21	95.42 ± 1.79	37.2	10.0
12	56.14 ± 5.85	60.04 ± 52.33	63.67 ± 31.86	1.1	1.1
13	48.61 ± 8.45	56.41 ± 4.62	77.52 ± 7.59	1.6	1.4
14	48.12 ± 0.68	n.d	93.74 ± 3.32	1.9	-
Pentamidine	0.23 ± 0.03				
Amphotericin B	0.09 ± 0.01				
Suramin		0.04 ± 0.01			
Camptothecin			0.07 ± 0.01		

^a: IC₅₀ or CC₅₀ in µg/mL for extracts, and in µM for pure compounds

n.d: not determined (viability always above 50%)

Crude methanolic extract (ZZM) and sub-extracts: cyclohexane (ZZC), DCM (ZZD), EtOAc (ZZE) and aqueous (ZZA) of *Z. zanthoxyloides*

Selectivity indexes were specified. Parasitic strains and WI-38 cells were treated with increasing concentrations (in DMSO) for 72 h. Alamar Blue™ (on parasites) and MTT (on cells) assays were performed. Pentamidine, amphotericin B, suramin and camptothecin were used as positive controls. Data are expressed as mean ± SEM from three independent experiments performed in triplicates (*P* < 0.001 for all results).

Antiviral Activity. The anti-coronavirus activity of the isolated compounds was evaluated on a recombinant HCoV-229E-Luc human coronavirus as described before. Each compound was added during the infection phase. The antiviral activities of the active compounds were shown in Figure 5. The cytotoxic activity of the compounds was previously assessed on Huh-7 cells using the MTS assay and CC_{50} values were determined when possible (Figure 4). Only dihydrochelerythrine (**2**), *trans*-fagaramide (**3**), chelerythrine (**7**), 6-oxochelerythrine (**10**) and zanthoxyloithrine (**1**) showed antiviral activity against HCoV-229E. The best activity was observed for the new alkaloid (**1**) which strongly inhibited infection of cells by the virus, whether or not they express protease TMPRSS2 with IC_{50} values of 6.70 μ M (Huh-7/TMPRSS2) and 5.40 μ M (Huh-7) (Figure 5a). The other benzo[c]phenanthridine alkaloids, dihydrochelerythrine (**2**), chelerythrine (**7**) and 6-oxochelerythrine (**10**), also showed antiviral activity in the presence of the protease TMPRSS2 (IC_{50} 12.95, 11.36 and 25.84 μ M, respectively) or not (IC_{50} 10.38, 19.43 and 19.08 μ M, respectively) (Figure 5b, 5d and 5e). However, dihydrochelerythrine (**2**) and chelerythrine (**7**) exhibited mild toxicity to hepatoma Huh-7 cells with CC_{50} of 40.89 and 47.92 μ M, respectively (Figure 4a and 4b). By contrast, the compounds **1**, **3**, and **10** appeared non-toxic up to 100 μ M. On the other hand, without toxicity on Huh-7 cells, *trans*-fagaramide (**3**) moderately inhibited viral infection but we were not able to determine its IC_{50} because it was higher than the maximum concentration tested. This is the first time that the anti-coronavirus activity of these compounds has been evaluated. The fact that these different compounds inhibited the viral infection caused by HCoV-229E, in Huh-7 cells expressing or not the TPMRSS2 protease is interesting because it suggests that they may inhibit infection after entry of the virus by any of the pathways (fusion at the cell surface and endosomal fusion) used by the virus to enter and infect cells. The structure-activity relationship study of dihydrochelerythrine (**2**), *trans*-fagaramide (**3**), chelerythrine (**7**), 6-oxochelerythrine (**9**) and zanthoxyloithrine (**1**) against viral infection, underlined some differences compared to

that carried out against the two parasites tested. The presence of the 4,9-dihydro-7,8-dimethoxy-4-oxofuro[2,3-b]quinolin-2-yl group at the C-6 (**1**) position strongly increased the antiviral activity by about a factor of two compared to dihydrochelerythrine (**2**), without toxicity on Huh-7 cells. The compound **1** was also found to be more active than compound **7**, although there was no iminium group in the molecule. Considering the presence of the benzodioxol group in all compounds inhibiting viral infection, this structural pattern appears to have a positive impact on antiviral activity.⁵² In the case of respiratory viral infection, the activation of protein kinase C (PKC) plays a key role in the nuclear transport of viral ribonucleoproteins in infected cells and their subsequent development at the cell membrane.^{53,54} Several studies have already shown that chelerythrine causes blockade of the NF- κ B pathway, and eliminates the effects of the serum hepatitis B core antigen (HBcAg) on p-I κ B, p-P65, p-PKC, and Bcl-2 levels.^{54,55} Another study showed that dihydrochelerythrine exhibited a potent activity against HBsAg and HBeAg secretions of the Hep G 2.2.15 cell line with $IC_{50} < 0.05 \mu M$, $SI > 3.5$.⁵⁶ Sanguinarine, another benzophenanthridine alkaloid, has also been shown to attenuate the proliferation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) by targeting the internalization, replication and release stages of the viral life cycle. Also, a sanguinarine-chelerythrine combination enhanced antiviral activity.⁵⁷ Chelerythrine chloride was identified as an inhibitor of Zika virus (ZIKV) infection in five cell lines ($0.25 < IC_{50} < 0.61 \mu M$, $11.4 < SI < 93.9$) by targeting the viral NS4B protein.⁵⁸ The good anti-coronavirus activities of these chelerythrine analogues, dihydrochelerythrine (**2**), chelerythrine (**7**), 6-oxochelerythrine (**10**) and zanthoxyloithrine (**1**) could be explained by their ability to regulate critical signaling pathways involved in HCoV-229E infection. The very promising antiviral activity of the compound **1**, and its non-toxicity on hepatoma Huh-7 cells, make this compound an excellent candidate in the management of human coronavirus infections.

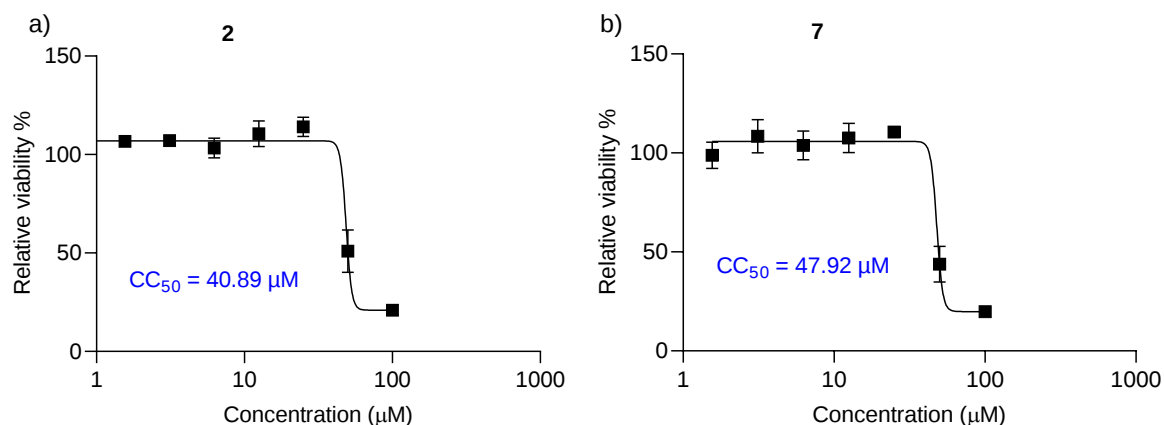
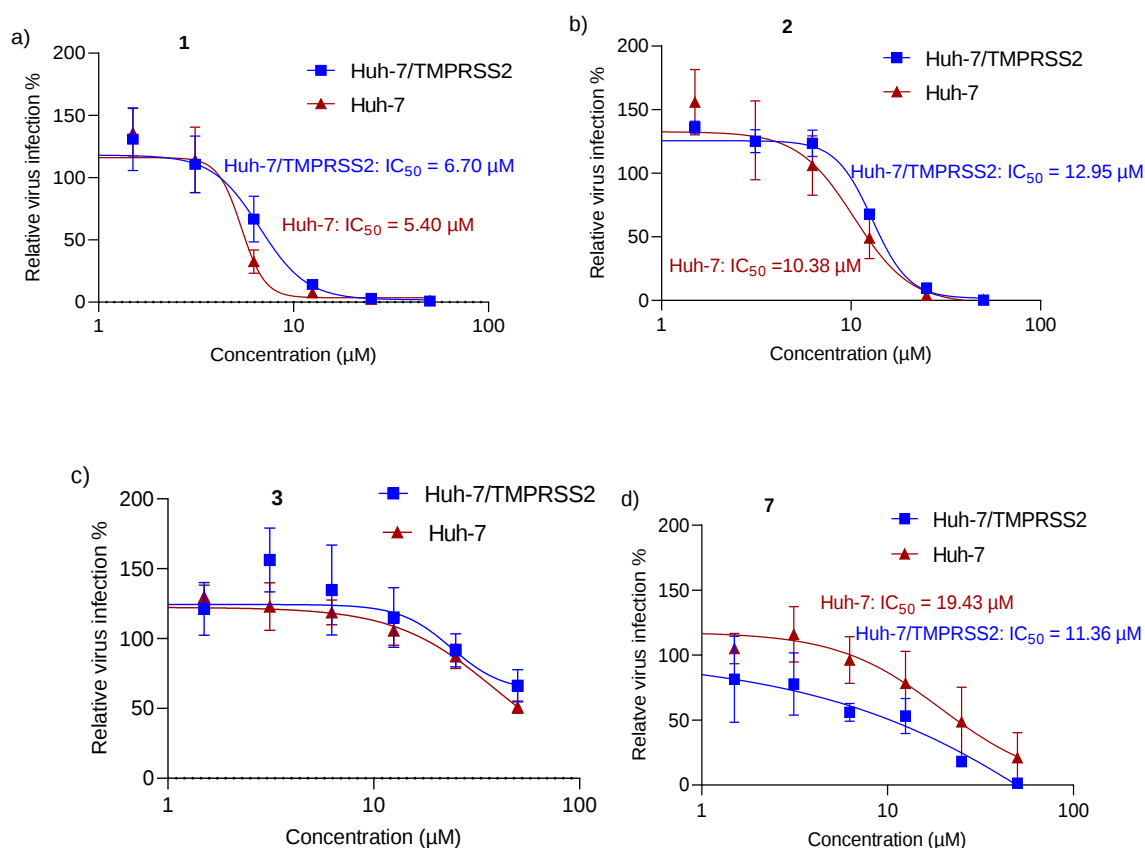


Figure 4. Cytotoxicity of compounds 2 and 7 on Huh-7 cells. For each sample, toxicity activity was determined with increasing concentrations. Huh-7 cells were incubated with each sample at the indicated concentrations for 24 h. The MTS assay was performed to monitor cell viability. Data are expressed relative to the control DMSO ($P < 0.001$). Results are expressed as mean $\pm$ SEM from three independent experiments, performed in triplicates.



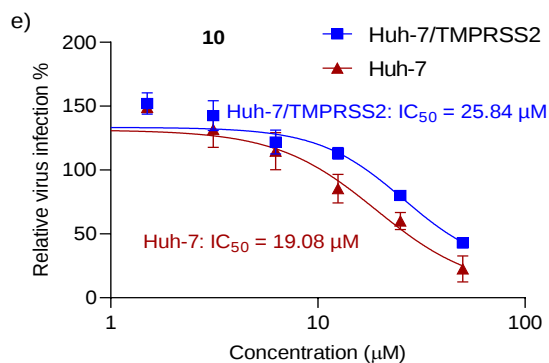


Figure 5. Antiviral activity of compounds **1**, **2**, **3**, **7**, and **10** against HCoV-229E. For each compound, antiviral activity was determined with increasing concentrations. Huh-7 and Huh-7/TMPRSS2 cells seeded in 96-well plate were inoculated with HCoV-229E-Luc in the presence of the compound at the indicated concentrations. Cells were lysed after 7 h post inoculation, and luciferase activity was quantified. Data are expressed relative to the control DMSO ($P < 0.0001$, for all results). Results are expressed as mean $\pm$ SEM from three independent experiments, performed in triplicates.

EXPERIMENTAL SECTION

General Experimental Procedures. Melting points were determined by using an electrothermal IA9100 digital melting point apparatus (Thermo Scientific). The optical rotations were measured in CH_2Cl_2 at 25 °C on a Polaar 32 polarimeter. ECD spectra were measured at 25 °C on a JASCO J-810 spectropolarimeter. An ALPHA-P FT/IR-480 spectrometer (BRUKER Optics) was used to measure the IR spectra. The 1D (^1H and ^{13}C) and 2D (COSY, HSQC-DEPT, HMBC) NMR spectra were recorded in deuterated chloroform (CDCl_3) (99.96% D, D029T, EurisoTop[®], France) or in dimethylsulfoxide (99.96% D, D034T, EurisoTop[®], France) on a 500 MHz Bruker[®] spectrometer (NEO AVANCE console), operating at 500 MHz for proton (^1H) and 125.77 MHz for carbon-13 (^{13}C). Measurements were made with a 5 mm TXI probe at 25 °C. The data were processed with Bruker TopSpin software (4.1.4). UHPLC-UV-HR-ESI-MS were performed on a Accela UHPLC system from Fisher Scientific (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) associated to a photodiode array (PDA) detector, an autosampler, a tray compartment cooler (set to 20 °C), a quaternary pump

and a Thermo Fisher Scientific LTQ orbitrap XL mass spectrometer with ESI source. The UHPLC system was piloted by ChromQuest software, whereas the mass spectrometry system was piloted by Xcalibur software. UHPLC-UV-MS analyses were carried out on a Waters ACQUITY equipment (Waters[®] Acquity UPLC[®] H-Class, Guyancourt, France) consisting of two independent pumps, an automatic injector, a controller, a diode array UV detector (PDA) and a quadrupole (QDA) mass spectrometer with ESI as ionization source. The preparative HPLC was performed on a Shimadzu chain equipped with two LC-20AP pumps, a 500 μ L injection loop, a Shimadzu[®] SPD-M20A diode array UV detector and a CBM-20A control system. The column was an Interchim C18-HQ column (5 μ m, 250 mm x 21.2 mm, Interchim[™], France) preceded by a pre-column C18-HQ (7.5 mm x 21.2 mm). Mobile phase was composed of two solvents (A) ultrapure water + 0.1% formic acid and (B) acetonitrile. The centrifugal partition chromatography (CPC) was performed using a 250 ml rotor (SCPC-250 L) provided by ARMEN Instrument[®], Saint-Avé, France). This CPC chain was equipped with the same pumps, the same UV detector, and the same control system as the preparative HPLC chain. The system was controlled by LC Solution software and an automatic collector (Gilson[®], France) made it possible to recover the different fractions. Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed on precoated silica gel 60 F254 (AluGRAM[®] XtraSil G/UV254, Germany) and the spots were visualized at two wavelengths (254 and 365 nm) before being sprayed with a solution of sulfuric anisaldehyde and heating at 120°C for 10 min or with Dragendorff's reagent. The elution system used consisted of a mixture Cyclohexane:EtOAc with different conditions (9:1; 8:2; 7:3; 4:6 and 3:7). Silica gel 60 (63–200 μ m, Macherey–Nagel, Germany) was used for preparative column chromatography. Extraction solvents (methanol, cyclohexane, dichloromethane, and ethyl acetate), acetonitrile and formic acid for UHPLC-UV-MS analysis were purchased from Carlo Erba Reagents[®] (Val de Reuil, France).

Ultrapure water was obtained after filtration on a system Millipore Integral 5 Milli-Q (MerckTM, Germany).

Plant Material. The plant material, consisting of *Z. zanthoxyloides* root bark, was harvested in December 2021 in Niayes, in the Keur Massar department (Dakar region) in Senegal, and identified by Dr William Diatta, botanist at the Pharmacognosy Laboratory of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Dentistry of the Cheikh Anta Diop University in Dakar. A voucher specimen was deposited in the Dakar Herbarium (Department of Plant Biology of the Faculty of Science and Technology of Cheikh Anta Diop University) and in the laboratory of Pharmacognosy of the University of Lille under the N° BA25.

Extraction and Isolation. The root bark powder of *Z. zanthoxyloides* (300 g) was subjected to a solid-liquid (S/L) extraction with methanol (6 L, 5 x 24 h) using an orbital agitator (GFL 3015, Germany). The methanolic extract (ZZM, 32 g, 10.7% w/w) was solubilized in distilled water (500 mL) to be fractionated by liquid-liquid extraction (v/v) with organic solvents of increasing polarity (cyclohexane, dichloromethane, and ethyl acetate). The aqueous residual partition was frozen and then freeze-dried using a freeze dryer (Telstar CryodosTM, Spain). The organic partitions were dried using a rotary evaporator between 30-35°C (HeidolphTM, Schwabach, Germany). The dried cyclohexane (ZZC, 7.60 g, 23.75% w/w), dichloromethane (ZZD, 2.75 g, 8.6% w/w), ethyl acetate (ZZE, 1.16 g, 3.6% w/w) and aqueous (ZZA, 19.06 g, 59.6% w/w) sub-extracts were obtained. The isolation of pure compounds was achieved by different chromatographic procedures. ZZC (340 mg) was fractionated by chromatography on an open silica gel column (column 1.6 x 14 cm; normal phase 63-200 µm; 12 g) using a binary gradient of cyclohexane-EtOAc (90:10 to 0:100, v/v) as elution system. The pure compounds **2** (11.7 mg, Dragendorff positive) and **3** (11.5 mg), as well as twelve fractions (FC1-FC12) were obtained based on their TLC behaviour and UHPLC-UV-MS chromatographic profile. From the fraction FC3 (23.9 mg), the compound **2** (5.2 mg,) and the compound **4** (1.7 mg) were

obtained by preparative HPLC using an Interchim C18-HQ column (5 μ m, 250 mm x 21.2 mm, InterchimTM, France) as stationary phase. The mobile phase was made up of (A) H₂O + 0.1% formic acid and (B) ACN. The gradient used was: [0-5 min (10-40% B).5-40 min (40-100% B) followed by 40-50 min (100% B), with a flow rate of 15 mL/min. The FC8 fraction (75.7 mg) was fractionated by silica gel open column chromatography (column 1 x 11 cm); normal phase 63-200 μ m; 4.5 g) to give the compounds **5** (32.9 mg) and **6** (3.6 mg). In parallel, ZZD (2 g) was fractionated by CPC with the Arizona M system (heptane/EtOAc/MeOH/H₂O 5/6/5/6 v/v/v/v)⁵⁹ using the ascending mode to give eight fractions [FD1 (28 mg), FD2 (277.5 mg), FD3 (137.1 mg), FD4 (147.9 mg), FD5 (368.1 mg), FD6 (72.3 mg), FD7 (34.5 mg) and FD8 (96.3 mg)]. Compounds of some fractions of interest from the DCM sub-extract were purified by preparative HPLC. The fraction FD4 (67 mg) was fractionated by preparative HPLC with the following gradient with B being acetonitrile [0-5 min (10-20% B), 5-30 min (20-60% B), 30-40 min (60-100% B), 40-50 min (100% B)] and a flow rate of 15 mL/min to yield compounds **7** (7.66 mg), **8** (2.69 mg) and **9** (3.68 mg). The compounds **7** (4.6 mg), **3** (229.17 mg), **4** (2.64 mg), **8** (3.8 mg), **10** (7.58 mg), **1** (17.64 mg) and **2** (2.34 mg) were purified from the fraction FD5 (368.1 mg) by preparative HPLC with the following gradient with B being acetonitrile [0-5 min (10-30% B), 5-20 min (30-50% B), 20-40 min (50-100% B), 40-50 min (100% B)] and a flow rate of 15 mL/min. The compound **1** was covered by the compound **5** in the chromatograms (UV and TIC) of the DCM sub-extract (**Figure S4-S6**) and their separation was made possible by CPC. Fractionation of the fraction FD8 (41 mg) was performed by preparative HPLC with the following gradient with acetonitrile as solvent B[0-5 min (10-30% B), 5-25 min (30-40% B), 25-35 min (40-100% B), 35-45 min (100% B)] at a flow rate of 15 mL/min and led to the isolation of the compounds **7** (3.24 mg), **11** (1.53 mg), **12** (3.11 mg), **13** (4.21 mg), **14** (3.14 mg) and **2** (1.5 mg). The different chromatograms are shown in Figures S1-S20, Supporting Information.

Zanthoxyloithrine (1): brown powder; m.p: 215-216°C; $[\alpha]_D^{25} 0$ (c 0.01, CH₂Cl₂); UHPLC-UV: $\lambda_{\max}$ (AU) 231 (0.69), 260 (0.88), 282 (0.62), 325 (0.31) nm; IR $\nu_{\max}$ 3400, 3000, 2944, 2893, 2838, 2810, 1634, 1573, 1522, 1492, 1460, 1415, 1361, 1265, 1238, 1072, 1039 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR data, see Table 1; ESIMS: m/z (rel. int.) 593.1907 [M+H]⁺ (100), 563 (12), 521 (6), 360 (3), 349 (7), 348 (28), 325 (12), 304 (1), 291(8); HRESIMS m/z [M+H]⁺ calcd for C₃₄H₂₈N₂O₈, 593.1895; found 593.1907.

Experimental Conditions of Fractionation by Centrifugal Partition Chromatography (CPC). The fractionation of ZZD was carried out on a CPC-250 Armen instrument[®] system (250 mL CPC column). The Arizona M system (heptane/EtOAc/MeOH/H₂O 5/6/5/6 v/v/v/v) was chosen for the fractionation of the dichloromethane sub-extract (DCM). The two phases are previously prepared in a separating funnel in sufficient quantity and then separated. The lower phase being chosen as the stationary phase, the elution took place in ascending mode with an isocratic elution. The sample was solubilized in a volume of 8 mL of a stationary phase/mobile phase mixture (4: 4, v/v) and then filtered on a PTFE membrane (0.45 μ m). The stationary and mobile phases were pumped by Shimadzu[®] LC-20AP pumps. The device was equipped with a 250 mL rotor. The cells composing the rotor were, initially, filled with the stationary phase at 30 mL/min and 500 rpm. The mobile phase was then added at 8 mL/min and 1600 rpm, until the stationary started eluting. Once the system reached equilibrium, the sample (8 mL) was injected. The elution lasted 60 minutes. It was followed by extrusion (recovery of the stationary phase) during 15 minutes at 30 mL/min and 1600 rpm for the recovery of products that had not yet been eluted. Rinsing was carried out at 500 rpm and 30 mL/min with a MeOH/H₂O mixture (5: 5, v/v). At the end of the chain is a Shimadzu[®] SPD-M20A diode array detector. A controller CBM-20A was used to link the chain to the computer. Finally, a volume of 8 mL/tube was collected for each fraction during elution and 15 mL/tube during extrusion using a Gilson[®] FC204 automatic collector. The fractions were evaporated using a Speedvac

system (miVAC QUATTRO concentrator, Genevac, England) and then analyzed in TLC, as well as by UHPLC-PDAMS between 200 and 790 nm. Fractions with the same chromatographic profile were grouped together.

UHPLC-UV-MS Analyses. Extraction and purification process was followed by UHPLC-UV-MS analysis. The stationary phase was an Interchim Uptisphere C18-AQ column (2.1 x 100 mm, 2.6 μm) connected to a 0.2 μm in-line filter. The mobile phase was composed of two solvents: (A) ultrapure water + 0.1% formic acid and (B) Acetonitrile + 0.1% formic acid. Different methods were adopted depending on the sample for UHPLC-UV-MS analyses. The method adapted for the analysis of MeOH extract and EtOAc and aqueous sub-extracts was executed following the elution program: 10% (B) (0-0.5 min), 10%-25% (B) (0.5-8.5 min), 25-100% (B) (8.5-9 min), 100% (B) (9-11 min), before returning to equilibrium for 3 min. The method adapted for the analysis of cyclohexane and DCM sub-extracts, their fractions and isolated compounds followed a gradient mode with solvent B: 10-40% ((0-1.5 min), 40-100 % (1.5-11.5 min), 100-10% (11.5-14 min). Flow rate and column temperature were set at 0.3 mL.min⁻¹ and 30 °C respectively. The extracts were prepared at 1 mg.mL⁻¹ in analytical grade methanol and filtered through a PTFE 0.4 μm membrane before injection. The pure compounds and DCM fractions were prepared in acetonitrile. The injection volume was 2 μL (or 4 μL in some cases). Parameters for mass spectrometry analysis were as follows: negative and positive ionization mode, nitrogen as carrier gas, cone voltage at 15 V, capillary voltage at 0.8 kV, ionization energy at 15 eV, probe temperature at 600°C, MS-Scan mode from 100 to 950 Da.

HRMS/MS Conditions for Dereplication and Molecular Networking. HRMS/MS analyses were performed using the same column, the same solvents and the same methods described previously for UHPLC-UV-MS. The mass spectrometer was a LTQ Orbitrap XL operated with an electrospray ionization source in positive mode. HRMS spectra were acquired in full-scan mode with a mass range of 50-1000 m/z . All experimental data were acquired using daily

external calibration prior to data acquisition. Appropriate tuning of the electrospray ion source was done, and the following electrospray inlet conditions were applied: flow rate 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ with a split of 50/50 before reaching mass detector; with spray voltage, 5 kV; sheath gas (N_2) flow rate, 20 a.u.; auxiliary gas (N_2) flow rate, 20 a.u.; discharge current of 5 μA ; capillary temperature of 250 $^\circ\text{C}$; capillary voltage of 21 V and tube lens voltage of 75 V. The data-dependent MS/MS events were performed on the most intense ion detected in full scan MS with a collision energy of 35 eV. Data acquisition and processing were performed with Xcalibur software.

MZmine 3 Data Preprocessing and GNPS Platform Analysis. The raw mass data acquired by UPLC-LTQ Orbitrap XL was converted to .mzML file format using the MSConvert software.⁶⁰ All files were imported to the open-source software package MZmine 3 (v3.3.0) for data processing.⁶¹ Mass detection was realized with a noise level set to 1.0E4 for MS^1 and 0 for MS^2 . The ADAP Chromatogram builder was achieved using a minimum group size of scan of five, a group intensity threshold of 1.0E4, a minimum highest intensity of 1.0E4, and an m/z tolerance of 0.01 (or 10 ppm). The smoothing parameters were set to 5. The ADAP wavelet was used for chromatogram deconvolution with the following settings: S/N threshold of 10, minimum feature height of 1.0E4, coefficient/area threshold of 10, peak duration range of 0.01-0.7 min, RT wavelet range of 0.01-0.10 min. The m/z and RT range for MS/MS scan pairing were set to 0.2 Da and 0.2 min, respectively. Isotopes were detected using the isotope peak grouper with a m/z tolerance of 10 ppm, a RT tolerance of 0.03 min (absolute), the maximum charge set at 1, and the representative isotope used was the most intense. Then, the aligned list peak was gap-filled with RT range of 0.7 min and m/z tolerance of 10 ppm. The resulting list was filtered using the peak list rows filter option to remove all the duplicates and all the features without MS^2 spectrum associated. Then, the processed output MS/MS data (.mgf) and (.csv) were exported by MZmine 3.3.0 and uploaded to the GNPS (Global Natural Product Social

Molecular Networking, <https://gnps.ucsd.edu>) online platform to generate Feature Based Molecular Networks (FBMN). The precursor ion mass tolerance and the fragment ion tolerance were set as 0.03 Da. A molecular network was then created where edges were filtered to have a cosine score above 0.3 and more than 3 matched peaks. Further, edges between two nodes were kept in the network if and only if each of the nodes appeared in each other's respective top 10 most similar nodes. All matches kept between network spectra and library spectra were required to have a score of 0.7 and at least 6 matched peaks. The DEREPLICATOR was used to annotate MS/MS spectra. Peak area data from the .csv file obtained from MZmine was added to the network. Node size was set proportionally to the total area of each peak detected in both cyclohexane and DCM sub-extracts. Edge widths were set corresponding to the cosine score. Finally, for a more advanced retreatment of the network, the molecular network created in GNPS was also exported to Cytoscape v3.10.1. The GNPS analyses results could be viewed at <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=e7fa20167f3d4d0b877003e534b6e173>.

The prediction of molecular formulas of ions in positive mode is performed with MZmine with isotope m/z tolerance 5 ppm and a minimum score of 0.7. Additional putative identification of unmatched peaks was carried out comparing available MS/MS fragmentation patterns with the literature and using the databases integrated into the MZmine software (KEGG and PubChem).

Antitrypanosomal and Antileishmanial Assays. The antiparasitic activity of the various extracts and isolated compounds was evaluated *in vitro* against *Trypanosoma brucei brucei* (strain 427) and against promastigotes of *Leishmania mexicana mexicana* (MHOM/BZ/84/BEL46) according to the protocol described by Bero et al.¹² with some modifications. All extracts and compounds to be tested were solubilized in DMSO (Sigma-Aldrich, Germany) to obtain a stock solution of 20 mg/mL (or 2 mg/mL for some pure compounds).

The *T. brucei brucei* cells were grown in HMI9 medium (Sigma-Aldrich, Bornem, Belgium) containing 10% heat-inactivated foetal bovine serum (FBS) (Sigma-Aldrich, Bornem, Belgium), 150 mM L-cysteine and 20 mM beta-mercaptoethanol and incubated at 37 °C in a humid atmosphere with 5% CO₂. The cells of *L. mexicana mexicana* were grown in HOMEM medium (Sigma-Aldrich, Bornem, Belgium) with the addition of 15% heat-inactivated FBS and 5 mg/mL hemin and incubated at 28 °C in an atmosphere moistened with 5% CO₂. Suramin and pentamidine (or amphotericin B) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) were used as positive controls for antitrypanosomal and antileishmanial activities, respectively. In 96-well plates, parasites at a final concentration of 5×10⁴ cells/mL were added to samples prepared at eight-fold dilutions between 100-0.046 µg/mL (or eight-fold dilutions between 10-0.0046 µg/mL for positive controls), final concentrations. After 72 hours of incubation, the wells were treated with 10 µL of a revealing solution; AlamarBlue® (BIO-RAD, UK) (diluted in 1:1 PBS solution, v/v). After four hours of incubation, the fluorescence (excitation at 530 nm and emission at 590 nm) was measured with a spectrophotometer (SpectraMax M2e, Molecular Devices, UK). The tests were performed in triplicate and repeated three times. The results were expressed in IC₅₀ (concentration of a product that can inhibit 50% of the growth of parasites).

Antiviral and Cytotoxic Assays. Stock solutions of extracts and compounds were prepared in DMSO (Sigma-Aldrich, USA) respectively at 25 mg/mL and 100 mM. Human hepatoma cell line Huh-7 and the stable Huh-7 transduced with a lentivirus encoding for TMPRSS2 (Huh-7/TMPRSS2), a cellular protease that allows fusion of the virus at the host cell surface, were grown in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) with glutaMAX-I (from Life Technologies) and 10% foetal bovine serum (FBS) (from Eurobio) in an incubator at 37 °C with 5% CO₂. Huh-7 cells, as well as Huh-7/TMPRSS2, were used for all HCoV-229E-Luc infection assays. The viral recombinant HCoV-229E-Luc was used. The cell toxicity assay was performed as follows: 6×10⁴ Huh-7 cells were seeded in 96-well plates and incubated for 16 h

at 37 °C in a 5% CO₂ incubator. The cells were then treated with increasing concentrations of each extract or compound and incubated for 24 h. Then, an MTS-[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2*H*-tetrazolium]-based viability assay (Cell Titer 96 Aqueous nonradioactive cell proliferation assay, Promega, Madison, WI, USA) was performed. The absorbance of formazan at 490 nm was measured using a plate reader (ELX 808 Bio-Tek Instruments Inc., Charlotte, VT, USA). For antiviral assays, Huh-7 and Huh-7/TMPRSS2 cells were inoculated with HCoV-229E-Luc at a MOI of 0.5 in a final volume of 50 µL for 1 h at 37 °C in the presence of each extract or compound at increasing concentrations. The virus was removed and replaced with culture medium containing the different extract or compounds for 6 h at 37 °C. Cells were lysed in 20 µL of Renilla Lysis Buffer (Promega, Madison, USA), and luciferase activity was quantified in a Tristar LB 941 luminometer (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Germany) using the Renilla Luciferase Assay System (Promega, Madison, WI, USA). All measures were performed in triplicate, and each experiment was repeated three times.

Cytotoxicity Assay Against WI-38 cells. The cytotoxic activity of the different extracts was evaluated according to the protocol described by Bero *et al.*⁶² on human cells, non-cancerous lung fibroblasts WI-38 (ATCC CCL-75, from LGC standards, Molsheim, France), using the tetrazolium salt colorimetric method MTT-[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2*H*-tetrazolium]-based on cleavage of the reagent by mitochondrial dehydrogenase in viable cells.⁴⁸ The cells were seeded in 96-well microplate wells in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) (Gibco™, UK) containing 4 mM L-glutamine, 1 mM sodium pyruvate and enriched with 10% heat-inactivated FBS (Life Technologies Europe B.V, Bleiswijk, The Netherlands) and some antibiotics (penicillin/streptomycin mixture 100 IU/mL, Sigma-Aldrich, Germany). All extracts and compounds to be tested were solubilized in DMSO to have a stock solution of 20 mg/mL (or 2

mg/mL for some compounds). Camptothecin (2 mg/mL) (Sigma-Aldrich, Germany) was used as a positive control. From the stock solutions, a series of dilutions was prepared in DMEM culture medium.

After 24 hours of incubation at 37 °C in an atmosphere humidified with 5% CO₂, 20 µL of each dilution of extract, compound, or positive control, were added to wells containing 180 µL of cells seeded the day before (5000 cells/well) to obtain a range of eight-fold dilutions between 100-0.046 µg/mL (or 10-0.0046 µg/mL). A 0.2% DMSO control in the culture medium (negative control) was performed. After 72 hours of incubation at 37 °C in an atmosphere moistened with 5% CO₂, the culture medium of each well was completely emptied and replaced by 100 µL of MTT (ThermoFisher Scientific®, Illkirch, France) and the plates were incubated for 50 minutes. The MTT solution has been emptied and 100 µL of DMSO were added to each well. The absorbance measurement was made directly using a spectrophotometer (SpectraMax M2e, Molecular Devices, UK) at wavelengths 570 and 620 nm. The tests were performed in triplicate and repeated three times. The CC₅₀ of each extract or compound was determined using Microsoft Excel and GraphPad Prism software (v8.4.2).

Statistical Analysis. Data were analyzed and processed using GraphPad Prism 8.4.2 and by comparing each treated group and untreated group (DMSO control). Data were analyzed by one-way ANOVA and were expressed as mean ± SEM from three independent experiments, performed in triplicates.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

UHPLC or HPLC chromatograms of cyclohexane and DCM sub-extracts, as well as fractions (FD1-FD8); Total ion chromatograms of cyclohexane and DCM sub-extracts obtained by HR-

ESI-MS; UV, IR, and 1D (^1H , ^{13}C), 2D-NMR (COSY, HSQC-DEPT and HMBC) spectra, MS spectra; Cytotoxicity evaluation of compounds **1**, **2**, **3**, **7**, **10**, **11**, **12**, and **13** on Huh-7 cells.; MS/MS fragmentation analysis and putative identification of chemical constituents in cyclohexane and dichloromethane sub-extracts by using the MS² data obtained by HR-ESI-MS/MS (**PDF**).

Notes

The authors declare no competing financial interest.

This article was taken in part from the Ph.D. thesis of Abda Ba.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the French Government through the Embassy of France in Senegal (SCAC Scholarship), the Senegalese Government through the Ministry of Higher Education, Research and Innovation (PhD Foreign Scholarship), as well as the Haut-de-France Doctoral College (Mobility Scholarship to Belgium) and the University of Lille (Moblilex Scholarship) for the various funding granted. The authors are grateful to the members of the various research teams implicated in this study. UHPLC-HR-MS analysis were realized in the MASSMET platform of LDRI. We would like to thank Prof Nathalie Azaroual for the access to the UFR3S NMR technical platform located at the Faculty of Pharmacy of Lille, as well as Alexandre Rech and Vincent Ultré for their help in optimizing some parameters for NMR analyses (1D & 2D). We also thank Prof Pascal Marchand at Nantes University for the access to their electrothermal digital melting point apparatus.

REFERENCES

- (1) Appelhans, M. S.; Reichelt, N.; Groppo, M.; Paetzold, C.; Wen, J. Phylogeny and Biogeography of the Pantropical Genus *Zanthoxylum* and Its Closest Relatives in the

- Proto-Rutaceae Group (Rutaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **2018**, 126, 31–44. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.04.013>.
- (2) B. Zepernick; F. K. Timler. *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick & Timler Comb. Nova (Rutaceae). *Willdenowia* **1981**, 11 (2), 361–362.
 - (3) Okagu, I.; Ndefo, J.; Aham, E.; Udenigwe, C. C. *Zanthoxylum* Species: A Comprehensive Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacological and Nutraceutical Applications. *Molecules* **2021**, 26, 4023. <https://doi.org/10.3390/molecules26134023>.
 - (4) Misra, L. N.; Wouatsa, N. A. V.; Kumar, S.; Venkatesh Kumar, R.; Tchoumboungang, F. Antibacterial, Cytotoxic Activities and Chemical Composition of Fruits of Two Cameroonian *Zanthoxylum* Species. *J. Ethnopharmacol.* **2013**, 148 (1), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.069>.
 - (5) Guetchueng, S. T.; Nahar, L.; Ritchie, K. J.; Ismail, F. M. D.; Evans, A. R.; Sarker, S. D. Zanthoamides G-I: Three New Alkamides from *Zanthoxylum Zanthoxyloides*. *Phytochem. Lett.* **2018**, 26, 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.05.031>.
 - (6) Kerharo. L'aromathérapie et la gemmothérapie dans la pharmacopée sénégalaise traditionnelle. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* **1971**, 18 (4), 109–141. <https://doi.org/10.3406/jatba.1971.6847>.
 - (7) Pousset. *Plantes médicinales d'Afrique: comment les reconnaître et les utiliser*; Je choisis le naturel !; SECUM Édisud: [S.l.] Aix-en-Provence, 2004.
 - (8) Castillo, D.; Sauvain, M.; Rivaud, M.; Jullian, V. In Vitro and in Vivo Activity of Benzo[c]Phenanthridines against *Leishmania Amazonensis*. *Planta Med.* **2014**, 80 (11), 902–906. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1382826>.
 - (9) Dofuor, A. K.; Djameh, G. I.; Ayertey, F.; Bolah, P.; Amoa-Bosompem, M.; Kyeremeh, K.; Okine, L. K.; Gwira, T. M.; Ohashi, M. Antitrypanosomal Effects of *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick & Timler Extracts on African Trypanosomes. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* **2019**, 2019, 1730452. <https://doi.org/10.1155/2019/1730452>.
 - (10) Vila-Nova, N. S.; de Moraes, S. M.; Falcão, M. J. C.; Alcantara, T. T. N.; Ferreira, P. A. T.; Cavalcanti, E. S. B.; Vieira, I. G. P.; Campello, C. C.; Wilson, M. Different Susceptibilities of *Leishmania* Spp. Promastigotes to the *Annona Muricata* Acetogenins Annonacinone and Corossolone, and the *Platymiscium Floribundum* Coumarin Scoparone. *Exp. Parasitol.* **2013**, 133 (3), 334–338. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.11.025>.
 - (11) Rinaldi, F.; Giachè, S.; Spinicci, M.; Corsi, P.; Ambu, S.; Gianfaldoni, G.; Rigacci, L.; Arena, U.; Bartoloni, A.; Zammarchi, L. Focal Spleen Lesions in Visceral Leishmaniasis, a Neglected Manifestation of a Neglected Disease: Report of Three Cases and Systematic Review of Literature. *Infection* **2019**, 47 (4), 507–518. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01279-5>.
 - (12) Bero, J.; Hannaert, V.; Chataigné, G.; Hérent, M.-F.; Quetin-Leclercq, J. In Vitro Antitrypanosomal and Antileishmanial Activity of Plants Used in Benin in Traditional

- Medicine and Bio-Guided Fractionation of the Most Active Extract. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, 137 (2), 998–1002. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.022>.
- (13) Fotie, J.; Bohle, D. S.; Olivier, M.; Adelaida Gomez, M.; Nzimiro, S. Trypanocidal and Antileishmanial Dihydrochelerythrine Derivatives from *Garcinia Lucida*. *J. Nat. Prod.* **2007**, 70 (10), 1650–1653. <https://doi.org/10.1021/np0702281>.
 - (14) Alotaibi, A.; Ebiloma, G. U.; Williams, R.; Alfayez, I. A.; Natto, M. J.; Alenezi, S.; Siheri, W.; AlQarni, M.; Igoli, J. O.; Fearnley, J.; De Koning, H. P.; Watson, D. G. Activity of Compounds from Temperate Propolis against *Trypanosoma Brucei* and *Leishmania Mexicana*. *Molecules* **2021**, 26 (13), 3912. <https://doi.org/10.3390/molecules26133912>.
 - (15) Chappuis, F.; Sundar, S.; Hailu, A.; Ghalib, H.; Rijal, S.; Peeling, R. W.; Alvar, J.; Boelaert, M. Visceral Leishmaniasis: What Are the Needs for Diagnosis, Treatment and Control? *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, 5 (11), 873–882. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1748>.
 - (16) Chakraborty, S.; Mallick, D.; Goswami, M.; Guengerich, F. P.; Chakrabarty, A.; Chowdhury, G. The Natural Products Withaferin A and Withanone from the Medicinal Herb *Withania Somnifera* Are Covalent Inhibitors of the SARS-CoV-2 Main Protease. *J. Nat. Prod.* **2022**, 85 (10), 2340–2350. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00521>.
 - (17) Wasilewicz, A.; Bojkova, D.; Beniddir, M. A.; Cinatl, J.; Rabenau, H. F.; Grienke, U.; Rollinger, J. M.; Kirchweyer, B. Molecular Networking Unveils Anti-SARS-CoV-2 Constituents from Traditionally Used Remedies. *J. Ethnopharmacol.* **2024**, 319, 117206. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117206>.
 - (18) Bafandeh, S.; Khodadadi, E.; Ganbarov, K.; Asgharzadeh, M.; Köse, Ş.; Samadi Kafil, H. Natural Products as a Potential Source of Promising Therapeutics for COVID-19 and Viral Diseases. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* **2023**, 2023, 5525165. <https://doi.org/10.1155/2023/5525165>.
 - (19) Houeze, E. A.; Wang, Y.; Zhou, Q.; Zhang, H.; Wang, X. Comparison Study of Beninese and Chinese Herbal Medicines in Treating COVID-19. *J. Ethnopharmacol.* **2023**, 308, 116172. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116172>.
 - (20) Miao, F.; Yang, X.-J.; Zhou, L.; Hu, H.-J.; Zheng, F.; Ding, X.-D.; Sun, D.-M.; Zhou, C.-D.; Sun, W. Structural Modification of Sanguinarine and Chelerythrine and Their Antibacterial Activity. *Nat. Prod. Res.* **2011**, 25 (9), 863–875. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.482055>.
 - (21) Hu, Y.-Q.; Gao, C.; Zhang, S.; Xu, L.; Xu, Z.; Feng, L.-S.; Wu, X.; Zhao, F. Quinoline Hybrids and Their Antiplasmodial and Antimalarial Activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 139, 22–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.061>.
 - (22) Danielewski, M.; Zielińska, S.; Matuszewska, A.; Słupski, W.; Włodarczyk, M.; Jęskowiak, I.; Wiatrak, B.; Kowalski, K.; Jezierska-Domaradzka, A.; Ziółkowski, P.; Szela, A.; Nowak, B. Sanguinarine-Chelerythrine Fraction of *Coptis Chinensis* Exerts Anti-Inflammatory Activity in Carrageenan Paw Oedema Test in Rats and Reveals Reduced Gastrotoxicity. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2022**, 2022, 1504929. <https://doi.org/10.1155/2022/1504929>.

- (23) Latarissa, I. R.; Barliana, M. I.; Meiliana, A.; Lestari, K. Potential of Quinine Sulfate for COVID-19 Treatment and Its Safety Profile: Review. *Clin. Pharmacol. Adv. Appl.* **2021**, *13*, 225–234. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S331660>.
- (24) Couillerot, E.; Caron, C.; Comoe, L.; Audran, J.-C.; Molinatti, P.; Zeches, M.; Le Men-Olivier, L.; Jardillier, J.-C.; Chenieux, J.-C. Benzophenanthridine and Furoquinoline Accumulation in Cell Suspension Cultures of *Fagara Zanthoxyloides*. *Phytochemistry* **1994**, *37* (2), 425–428. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)85072-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)85072-0).
- (25) Yang, T.; Xu, R.; Su, Q.; Wang, H.; Liu, F.; Dai, B.; Wang, B.; Zhang, Y. Chelerythrine Hydrochloride Inhibits Proliferation and Induces Mitochondrial Apoptosis in Cervical Cancer Cells via PI3K/BAD Signaling Pathway. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* **2020**, *68*, 104965. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104965>.
- (26) Dofuor, A. K.; Kwain, S.; Osei, E.; Mawuli Tetevi, G.; Okine, L. K.; Ohashi, M.; Gwira, T. M.; Kyeremeh, K. N-(Isobutyl)-3,4-Methylenedioxy Cinnamoyl Amide. *Molbank* **2019**, *2019* (3), M1070. <https://doi.org/10.3390/M1070>.
- (27) Ishii, H.; Ishikawa, T.; Lu, S.-T.; Chen, I.-S. Arnottianamide and Isoarnottianamide : The Structural Establishment Due to Chemical Conversion from the Known Benzo[C]Phenanthridine Alkaloids by the Novel Baeyer-Villiger like Oxidation of an Immonium Group. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17* (15), 1203–1206. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)78018-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)78018-X).
- (28) Adesina, S. K.; Reisch, J. Arnottianamide and Other Constituents of *Zanthoxylum Gillettii* Root. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51* (3), 601–602. <https://doi.org/10.1021/np50057a031>.
- (29) Queiroz, E.; Hay, A.-E.; Chaaib, F.; van Diemen, D.; Diallo, D.; Hostettmann, K. New and Bioactive Aromatic Compounds from *Zanthoxylum Zanthoxyloides*. *Planta Med.* **2006**, *72* (08), 746–750. <https://doi.org/10.1055/s-2006-941504>.
- (30) Xia, X.; Toy, P. H. Synthesis of γ -Sanshool and Hydroxy- γ -Sanshool. *Synlett* **2014**, *25* (19), 2787–2790. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1379215>.
- (31) Shoji, N.; Umeyama, A.; Iuchi, A.; Saito, N.; Takemoto, T.; Nomoto, K.; Ohizumi, Y. Isolation of a New Alkaloid from *Evodia Rutaecarpa*. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51* (4), 791–792. <https://doi.org/10.1021/np50058a026>.
- (32) Yang, S.; Tian, M.; Yuan, L.; Deng, H.; Wang, L.; Li, A.; Hou, Z.; Li, Y.; Zhang, Y. Analysis of *E. Rutaecarpa* Alkaloids Constituents In Vitro and In Vivo by UPLC-Q-TOF-MS Combined with Diagnostic Fragment. *J. Anal. Methods Chem.* **2016**, *2016*, e4218967. <https://doi.org/10.1155/2016/4218967>.
- (33) Zeng, Q.; Wang, Z.-J.; Chen, S.; Wang, H.; Xie, T.-Z.; Xu, X.-J.; Xiang, M.-L.; Chen, Y.-C.; Luo, X.-D. Phytochemical and Anti-MRSA Constituents of *Zanthoxylum Nitidum*. *Biomed. Pharmacother.* **2022**, *148*, 112758. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112758>.
- (34) Ma, C. H.; Ke, W.; Sun, Z. L.; Peng, J. Y.; Li, Z. X.; Zhou, X.; Fan, G. R.; Huang, C. G. Large-Scale Isolation and Purification of Scoparone from *Herba Artemisiae Scopariae* by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Chromatographia* **2006**, *64* (1), 83–87. <https://doi.org/10.1365/s10337-006-0789-7>.

- (35) Min, Y. D.; Kwon, H. C.; Yang, M. C.; Lee, K. H.; Choi, S. U.; Lee, K. R. Isolation of Limonoids and Alkaloids from *Phellodendron Amurense* and Their Multidrug Resistance (MDR) Reversal Activity. *Arch. Pharm. Res.* **2007**, *30* (1), 58–63. <https://doi.org/10.1007/BF02977779>.
- (36) Chakravarty, A. K.; Sarkar, T.; Masuda, K.; Shiojima, K. Carbazole Alkaloids from Roots of *Glycosmis Arborea*. *Phytochemistry* **1999**, *50* (7), 1263–1266. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00666-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00666-9).
- (37) Oechslein, S. M.; König, G. M.; Oechslein-Merkel, K.; Wright, A. D.; Kinghorn, A. D.; Sticher, O.; Miyagawa, M. An Nmr Study of Four Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54* (2), 519–524. <https://doi.org/10.1021/np50074a026>.
- (38) Wei, Q.; Cui, D.; Liu, X.; Chai, Y.; Zhao, N.; Wang, J.; Zhao, M. In Vitro Antifungal Activity and Possible Mechanisms of Action of Chelerythrine. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2020**, *164*, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.01.007>.
- (39) Mbaze, L. M.; Lado, J. A.; Wansi, J. D.; Shiao, T. C.; Chiozem, D. D.; Mesaik, M. A.; Choudhary, M. I.; Lacaille-Dubois, M.-A.; Wandji, J.; Roy, R.; Sewald, N. Oxidative Burst Inhibitory and Cytotoxic Amides and Lignans from the Stem Bark of *Fagara Heitzii* (Rutaceae). *Phytochemistry* **2009**, *70* (11), 1442–1447. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.08.007>.
- (40) Nayar, M. N. S.; Sutar, C. V.; Bhan, M. K. Alkaloids of the Stem Bark of *Hesperethusa Crenulata*. *Phytochemistry* **1971**, *10* (11), 2843–2844. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97306-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97306-0).
- (41) Yang, Z.; Zhang, D.; Ren, J.; Yang, M. Skimmianine, a Furoquinoline Alkaloid from *Zanthoxylum Nitidum* as a Potential Acetylcholinesterase Inhibitor. *Med. Chem. Res.* **2012**, *21* (6), 722–725. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9581-9>.
- (42) Wang, M.; Carver, J. J.; Phelan, V. V.; Sanchez, L. M.; Garg, N.; Peng, Y.; Nguyen, D. D.; Watrous, J.; Kaponov, C. A.; Luzzatto-Knaan, T.; Porto, C.; Bouslimani, A.; Melnik, A. V.; Meehan, M. J.; Liu, W.-T.; Crusemann, M.; Boudreau, P. D.; Esquenazi, E.; Sandoval-Calderón, M.; Kersten, R. D.; Pace, L. A.; Quinn, R. A.; Duncan, K. R.; Hsu, C.-C.; Floros, D. J.; Gavilan, R. G.; Kleigrew, K.; Northen, T.; Dutton, R. J.; Parrot, D.; Carlson, E. E.; Aigle, B.; Michelsen, C. F.; Jelsbak, L.; Sohlenkamp, C.; Pevzner, P.; Edlund, A.; McLean, J.; Piel, J.; Murphy, B. T.; Gerwick, L.; Liaw, C.-C.; Yang, Y.-L.; Humpf, H.-U.; Maansson, M.; Keyzers, R. A.; Sims, A. C.; Johnson, A. R.; Sidebottom, A. M.; Sedio, B. E.; Klitgaard, A.; Larson, C. B.; Boya P, C. A.; Torres-Mendoza, D.; Gonzalez, D. J.; Silva, D. B.; Marques, L. M.; Demarque, D. P.; Pociute, E.; O'Neill, E. C.; Briand, E.; Helfrich, E. J. N.; Granatosky, E. A.; Glukhov, E.; Ryffel, F.; Houson, H.; Mohimani, H.; Kharbush, J. J.; Zeng, Y.; Vorholt, J. A.; Kurita, K. L.; Charusanti, P.; McPhail, K. L.; Nielsen, K. F.; Vuong, L.; Elfeki, M.; Traxler, M. F.; Engene, N.; Koyama, N.; Vining, O. B.; Baric, R.; Silva, R. R.; Mascuch, S. J.; Tomasi, S.; Jenkins, S.; Macherla, V.; Hoffman, T.; Agarwal, V.; Williams, P. G.; Dai, J.; Neupane, R.; Gurr, J.; Rodríguez, A. M. C.; Lamsa, A.; Zhang, C.; Dorrestein, K.; Duggan, B. M.; Almaliti, J.; Allard, P.-M.; Phapale, P.; Nothias, L.-F.; Alexandrov, T.; Litaudon, M.; Wolfender, J.-L.; Kyle, J. E.; Metz, T. O.; Peryea, T.; Nguyen, D.-T.; VanLeer, D.; Shinn, P.; Jadhav, A.; Müller, R.; Waters, K. M.; Shi, W.; Liu, X.; Zhang, L.; Knight, R.; Jensen, P. R.; Palsson, B. Ø.; Pogliano, K.; Linington, R. G.; Gutiérrez, M.; Lopes, N. P.; Gerwick, W.

- H.; Moore, B. S.; Dorrestein, P. C.; Bandeira, N. Sharing and Community Curation of Mass Spectrometry Data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nat. Biotechnol.* **2016**, *34* (8), 828–837. <https://doi.org/10.1038/nbt.3597>.
- (43) Kim, S.; Chen, J.; Cheng, T.; Gindulyte, A.; He, J.; He, S.; Li, Q.; Shoemaker, B. A.; Thiessen, P. A.; Yu, B.; Zaslavsky, L.; Zhang, J.; Bolton, E. E. PubChem 2023 Update. *Nucleic Acids Res.* **2023**, *51* (D1), D1373–D1380. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>.
- (44) Kanehisa, M.; Furumichi, M.; Sato, Y.; Kawashima, M.; Ishiguro-Watanabe, M. KEGG for Taxonomy-Based Analysis of Pathways and Genomes. *Nucleic Acids Res.* **2023**, *51* (D1), D587–D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>.
- (45) Kodra, D.; Pousinis, P.; Vorkas, P. A.; Kademoglou, K.; Liapikos, T.; Pechlivanis, A.; Virgiliou, C.; Wilson, I. D.; Gika, H.; Theodoridis, G. Is Current Practice Adhering to Guidelines Proposed for Metabolite Identification in LC-MS Untargeted Metabolomics? A Meta-Analysis of the Literature. *J. Proteome Res.* **2022**, *21* (3), 590–598. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.1c00841>.
- (46) Klejdus, B.; Lojková, L.; Kosina, P.; Ulrichová, J.; Šimánek, V.; Kubáň, V. Liquid Chromatographic/Electrospray Mass Spectrometric Determination (LC/ESI-MS) of Chelerythrine and Dihydrochelerythrine in near-Critical CO₂ Extracts from Real and Spiked Plasma Samples. *Talanta* **2007**, *72* (4), 1348–1356. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.01.055>.
- (47) Lin, Q.; Ma, C.; Guan, H.; Chen, L.; Xie, Q.; Cheng, X.; Wang, C. Metabolites Identification and Reversible Interconversion of Chelerythrine and Dihydrochelerythrine in Vitro/in Vivo in Rats Using Ultra-Performance Liquid Chromatography Combined with Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2020**, *189*, 113462. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113462>.
- (48) Gonzalez, R. J.; Tarloff, J. B. Evaluation of Hepatic Subcellular Fractions for Alamar Blue and MTT Reductase Activity. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* **2001**, *15* (3), 257–259. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(01\)00014-5](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(01)00014-5).
- (49) Malhotra, R.; Rarhi, C.; Diveshkumar, K. V.; Barik, R.; D’cunha, R.; Dhar, P.; Kundu, M.; Chattopadhyay, S.; Roy, S.; Basu, S.; Pradeepkumar, P. I.; Hajra, S. Dihydrochelerythrine and Its Derivatives: Synthesis and Their Application as Potential G-Quadruplex DNA Stabilizing Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24* (13), 2887–2896. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.04.059>.
- (50) Fuchino, H.; Kawano, M.; Mori-Yasumoto, K.; Sekita, S.; Satake, M.; Ishikawa, T.; Kiuchi, F.; Kawahara, N. In Vitro Leishmanicidal Activity of Benzophenanthridine Alkaloids from *Bocconia Pearcei* and Related Compounds. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2010**, *58* (8), 1047–1050. <https://doi.org/10.1248/cpb.58.1047>.
- (51) He, N.; Wang, P.; Wang, P.; Ma, C.; Kang, W. Antibacterial Mechanism of Chelerythrine Isolated from Root of *Toddalia Asiatica* (Linn) Lam. *BMC Complement. Altern. Med.* **2018**, *18* (1), 261. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2317-3>.
- (52) Papi, F.; Ferraroni, M.; Rigo, R.; Da Ros, S.; Bazzicalupi, C.; Sissi, C.; Gratterer, P. Role of the Benzodioxole Group in the Interactions between the Natural Alkaloids Chelerythrine and Coptisine and the Human Telomeric G-Quadruplex DNA. A

- Multiapproach Investigation. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80* (12), 3128–3135. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00350>.
- (53) Peng, L.; Wen, L.; Shi, Q.; Gao, F.; Huang, B.; Wang, C. Chelerythrine Ameliorates Pulmonary Fibrosis via Activating the Nrf2/ARE Signaling Pathway. *Cell Biochem. Biophys.* **2021**, *79* (2), 337–347. <https://doi.org/10.1007/s12013-021-00967-0>.
- (54) Valipour, M.; Zarghi, A.; Ebrahimzadeh, M. A.; Irannejad, H. Therapeutic Potential of Chelerythrine as a Multi-Purpose Adjuvant for the Treatment of COVID-19. *Cell Cycle Georget. Tex* **2021**, *20* (22), 2321–2336. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1982509>.
- (55) Liu, L.; Huang, Y.; Zhang, K.; Song, S.; Li, S.; Li, Y.; Lan, Y. Hepatitis B Core Antigen Regulates Dendritic Cell Proliferation and Apoptosis through Regulation of PKC/NF- κ B Signaling Pathway. *Mol. Med. Rep.* **2018**, *18* (6), 5726–5732. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9604>.
- (56) Wu, Y.-R.; Ma, Y.-B.; Zhao, Y.-X.; Yao, S.-Y.; Zhou, J.; Zhou, Y.; Chen, J.-J. Two New Quaternary Alkaloids and Anti-Hepatitis B Virus Active Constituents from *Corydalis Saxicola*. *Planta Med.* **2007**, *73* (08), 787–791. <https://doi.org/10.1055/s-2007-981549>.
- (57) Ke, Q.; Duan, K.; Cheng, Y.; Xu, S.; Xiao, S.; Fang, L. Sanguinarine Exhibits Antiviral Activity against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus via Multisite Inhibition Mechanisms. *Viruses* **2023**, *15* (3), 688. <https://doi.org/10.3390/v15030688>.
- (58) Loe, M. W. C.; Lee, R. C. H.; Chin, W.-X.; Min, N.; Teo, Z. Y.; Ho, S. X.; Yi, B.; Chu, J. H. Chelerythrine Chloride Inhibits Zika Virus Infection by Targeting the Viral NS4B Protein. *Antiviral Res.* **2023**, *219*, 105732. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023.105732>.
- (59) Berthod, A.; Hassoun, M.; Ruiz-Angel, M. J. Alkane Effect in the Arizona Liquid Systems Used in Countercurrent Chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *383* (2), 327–340. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-0016-7>.
- (60) Chambers, M. C.; Maclean, B.; Burke, R.; Amodei, D.; Ruderman, D. L.; Neumann, S.; Gatto, L.; Fischer, B.; Pratt, B.; Egertson, J.; Hoff, K.; Kessner, D.; Tasman, N.; Shulman, N.; Frewen, B.; Baker, T. A.; Brusniak, M.-Y.; Paulse, C.; Creasy, D.; Flashner, L.; Kani, K.; Moulding, C.; Seymour, S. L.; Nuwaysir, L. M.; Lefebvre, B.; Kuhlmann, F.; Roark, J.; Rainer, P.; Detlev, S.; Hemenway, T.; Huhmer, A.; Langridge, J.; Connolly, B.; Chadick, T.; Holly, K.; Eckels, J.; Deutsch, E. W.; Moritz, R. L.; Katz, J. E.; Agus, D. B.; MacCoss, M.; Tabb, D. L.; Mallick, P. A Cross-Platform Toolkit for Mass Spectrometry and Proteomics. *Nat. Biotechnol.* **2012**, *30* (10), 918–920. <https://doi.org/10.1038/nbt.2377>.
- (61) Pluskal, T.; Castillo, S.; Villar-Briones, A.; Orešič, M. MZmine 2: Modular Framework for Processing, Visualizing, and Analyzing Mass Spectrometry-Based Molecular Profile Data. *BMC Bioinformatics* **2010**, *11* (1), 395. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-395>.
- (62) Bero, J.; Ganfon, H.; Jonville, M.-C.; Frédérick, M.; Gbaguidi, F.; DeMol, P.; Moudachirou, M.; Quetin-Leclercq, J. In Vitro Antiplasmodial Activity of Plants Used in Benin in Traditional Medicine to Treat Malaria. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *122* (3), 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.02.004>.

III.2. Activités antibactériennes et antifongiques de *Zanthoxylum zanthoxyloides*

Les activités antibactérienne et antifongique de l'extrait brut méthanolique, des sous-extraits cyclohexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et résiduel aqueux, ainsi que les fractions issues du sous-extrait cyclohexane des écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* ont été évaluées *in vitro* sur un panel de 36 souches pathogènes de l'homme incluant des bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif et des levures. Les concentrations testées sont : 600 ; 300 ; 150 ; 75 ; 37,5 et 18,75 µg/mL. Les CMI obtenues sont présentées dans le **Tableau 9**. L'extrait brut méthanolique présentait une activité antibactérienne sur toutes les souches à Gram-positif et antifongique sur les deux souches de *Candida albicans* (CMI = 300 µg/mL). Deux souches à Gram-négatif, *Stenotrophomonas maltophilia* 21170 et *Burkholderia cepacia* 13003 ont montré une sensibilité à l'extrait brut avec des CMI respectives de 600 et 300 µg/mL. Cette activité antimicrobienne et antifongique ciblée de l'extrait brut méthanolique nous a encouragé à fractionner ce dernier par des solvants organiques de polarité croissante (cyclohexane-dichlorométhane-acétate d'éthyle) afin d'obtenir différents sous-extraits enrichis en composés et de les tester sur le même panel de souches pathogènes de l'homme. Le sous-extrait dichlorométhane (DCM) était particulièrement plus actif que les autres sous-extraits testés jusqu'à 18,75 µg/mL sur pratiquement toutes les souches à Gram-positif et sur les 2 souches de *Candida albicans*. Les sous-extraits cyclohexane et aqueux ne présentaient aucune activité antibactérienne aux concentrations testées. Cependant, en évaluant l'activité antimicrobienne des différentes fractions obtenues à partir du sous-extrait cyclohexane, nous avons constaté que la fraction **FC3** s'était montrée active aux concentrations testées. Les activités antibactériennes et antifongiques de la fraction **FC3** étaient pratiquement identiques à celles du sous-extrait DCM. La chélérythrine et la dihydrochélérythrine, deux alcaloïdes typiques de la benzophénanthridine étaient les composés largement majoritaires dans la fraction **FC3**. De même la chélérythrine est le composé largement majoritaire dans le sous-extrait DCM. Les bonnes activités notées pourraient être liées à ces deux composés qui sont connus pour avoir un large éventail d'activités pharmacologiques, telles que antibactériennes, antitumorales et antiparasitaires [252].

À ce jour, les activités antibactériennes et antifongiques de la chélérythrine et de la dihydrochélérythrine sont bien rapportées. Une importante étude portant sur les relations structure-activité entre l'activité antimicrobienne et les alcaloïdes de type benzophénanthridine des écorces de tiges de *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) a montré que la chélérythrine, ici l'alcaloïde le plus actif, et la dihydrochélérythrine, présentaient de très bonnes activités

antimicrobiennes avec des CMI (en $\mu\text{g/mL}$) basses respectivement sur les souches de *Staphylococcus epidermidis* (1,5; 6,25), *Staphylococcus aureus* (1,5; 12,5) *Streptococcus pyogenes* (1,5; 12,5), *Bacillus subtilis* (1,5; 25), *Klebsiella pneumoniae* (1,5; 12,5), *Escherichia coli* (1,5; 25), *Candida albicans* (6,25; > 100), *Sacharomyces cerevisiae* (6,25; >100) et *Cryptococcus neoformans* (6,25; > 100) [229]. La comparaison de nos travaux sur les écorces de racines de *Zanthoxylum zanthoxyloides* avec d'autres réalisés sur d'autres espèces proches, montre que les bonnes activités antimicrobiennes généralement relevées pour le genre *Zanthoxylum* sont pour la plupart dues aux alcaloïdes de type benzophénanthridine [229].

Tableau 9 : Activité antimicrobienne (CMI en µg/mL) de l'extrait brut méthanolique, des sous-extraits et fractions d'écorces de racines de *Z. zanthoxyloides* sur 36 souches pathogènes à l'homme

Souches	CMI (en µg/mL)					
	MeOH	Cyclohexane	DCM	AcOEt	Aqueux	Fraction FC3
Gram-positif						
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	75	-	37,5	600	-	37,5
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	300	-	37,5	-	-	75
<i>Enterococcus faecalis</i> C159-6	300	-	37,5	600	-	37,5
<i>Enterococcus</i> sp. 8153	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	600	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus warneri</i> T12A12	600	-	75	-	-	75
<i>Staphylococcus warneri</i> T26A1	600	-	37,5	-	-	37,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T19A1	300	-	37,5	600	-	37,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T21A5	300	-	37,5	600	-	37,5
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> T47A6	300	-	18,75	600	-	37,5
<i>Streptococcus agalactiae</i> T38.2	300	-	37,5	-	-	75
<i>Streptococcus agalactiae</i> T53C9	300	-	37,5	600	-	75
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	300	-	37,5	-	-	37,5
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	300	-	18,75	-	-	37,5
Gram-négatif						
<i>Citrobacter freundii</i> 11041	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	-	-	-	-	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	600	-	150	-	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i> 13003	300	-	75	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> T20A1	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> 8138	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> 11060	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> T28-3	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583	600	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp. 11033	-	-	-	-	-	-
Levures						
<i>Candida albicans</i> 10286	300	-	37,5	600	-	37,5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	300	-	37,5	600	-	37,5

Conclusion et perspectives

Les pathologies infectieuses constituent une menace sérieuse pour la santé publique mondiale. Malgré d'importants efforts, de nouvelles thérapies efficaces sont absolument nécessaires pour lutter contre les nombreuses infections. Cette recherche de nouvelles substances antimicrobiennes peut s'appuyer sur la biodiversité végétale. En effet, la flore sénégalaise est particulièrement riche en plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des pathologies infectieuses. Dans ce contexte, ce travail pluridisciplinaire alliant l'ethnobotanique, la chimie des substances naturelles, la chimie analytique, la microbiologie et la pharmacologie, visait d'une part à contribuer au soutien et à la promotion de la médecine traditionnelle et d'autre part, à la découverte de composés antibactériens, antiviraux et antiparasitaires naturels.

Ainsi, une enquête ethnobotanique a été menée au Sénégal auprès de 127 informateurs, dont des herboristes, des guérisseurs traditionnels et des ménages, ce qui a permis d'identifier 41 espèces végétales appartenant à 19 familles botaniques utilisées dans la prise en charge des pathologies infectieuses notamment celles de la sphère ORL. Sur la base du nombre de citations, les activités antibactériennes et antifongiques de 33 extraits bruts méthanoliques de 24 espèces a été évaluée *in vitro* sur un panel de 36 souches pathogènes de l'homme. L'activité antivirale des extraits bruts a également été déterminée *in vitro* contre les coronavirus humains HCoV-229E et SARS-CoV-2. D'autre part, le potentiel antiparasitaire des extraits bruts a été évalué *in vitro* contre les protozoaires *Trypanosoma brucei brucei* et *Leishmania mexicana mexicana*. Parallèlement, la cytotoxicité des extraits a été également vérifiée sur des lignées cellulaires Huh-7, Vero-81 et WI-38. Une autre plante issue de la pharmacopée sénégalaise, *Zanthoxylum zanthoxyloides*, connue pour ses propriétés antimicrobiennes a été étudiée pour les mêmes activités.

Les extraits bruts de plantes telles que *Terminalia avicennioides*, *Combretum glutinosum*, *Guiera senegalensis*, *Combretum micranthum*, *Terminalia leiocarpa*, *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa*, *Vachellia seyal*, *Spermacoce verticillata*, *Bauhinia rufescens*, *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Eucalyptus camaldulensis* ont montré les meilleures activités antibactériennes et antiparasitaires. De plus, les sous-extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle de *T. avicennioides*, *C. glutinosum*, *G. senegalensis*, *V. nilotica* subsp. *tomentosa*, *Z. zanthoxyloides* et *E. camaldulensis*, ont montré de bonnes activités antibactériennes contre les espèces *Staphylococcus* et *Streptococcus*, *Pseudomonas* ainsi que contre *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* avec de faibles CMI (37,5-75 µg/mL).

Les extraits de plantes les plus actifs à 25 et 50 µg/mL contre les coronavirus humains HCoV-229E et SARS-CoV-2 étaient : *F. sycomorus* (écorces de tronc), *M. inermis* (feuilles), *P. erinaceus* (écorces de tronc), *Z. zanthoxyloides* (écorces de racines) et *S. verticillata* (feuilles). Cette étude a également mis en évidence le potentiel antitrypanosomal des extraits de feuilles de *T. avicennioides*. Ainsi, la purification bioguidée du sous-extrait DCM des feuilles de *T. avicennioides* a conduit à l'isolement de quatre dérivés de l'acide ellagique dont trois nouveaux acides coruleoellagiques. L'acide pentaméthylflavellagique a montré l'activité la plus prometteuse contre *T. brucei brucei* ($CI_{50} = 2,41 \pm 0,04$ µg/mL ou 6,20 µM). En outre, les fortes activités antiparasitaires et anti-coronavirus (HCoV-229E) de *Z. zanthoxyloides*, notamment des sous-extraits cyclohexane et DCM ont conduit à l'isolement de 14 composés (alcaloïdes, amides, coumarine) dont un nouvel alcaloïde benzophénanthridine nommé 6-[4,9-dihydro-7,8-diméthoxy-4-oxofuro[2,3-b]quinoléine-2-yl]dihydrochélérythrine. Ce nouvel alcaloïde a montré de fortes activités antileishmaniale ($CI_{50} = 0,14$ µM, SI = 52) et antitrypanosomale ($CI_{50} = 0,36$ µM, SI = 20) avec une bonne sélectivité par rapport aux cellules WI-38 mais également une bonne activité antivirale contre le HCoV-229E, que les cellules Huh-7 expriment la protéase TMPRSS2 ($CI_{50} = 6,70$ µM) ou non ($CI_{50} = 5,40$ µM), et sans toxicité significative sur Huh-7 à 100 µM. Les autres alcaloïdes benzo[c]phénanthridines tels que la dihydrochélérythrine, la chélérythrine et la 6-oxychélérythrine, ont également montré de remarquables activités antivirales contre HCoV-229E en présence de la protéase TMPRSS2 (CI_{50} 12,95, 11,36 et 25,84 µM, respectivement) ou non (CI_{50} 10,38, 19,43 et 19,08 µM, respectivement).

En somme, ces travaux ont permis de confirmer les propriétés anti-infectieuses de certaines plantes utilisées dans la médecine traditionnelle au Sénégal. Dans cette optique de valorisation, le développement de produits phytopharmaceutiques ou de médicaments traditionnels améliorés (MTA) standardisés dérivés de plantes facilement disponibles pour les populations concernées pourraient être élaborés et introduits dans le traitement local contre la trypanosomiase africaine ou encore la leishmaniose cutanée/viscérale et d'autres infections bactériennes et virales. Cependant, il reste de nombreuses étapes pour ce développement.

En perspectives, étant donné le potentiel antitrypanosomal et antileishmanial intéressant des molécules isolées, d'autres tests devraient être réalisés sur d'autres espèces de *Trypanosoma* (*T. brucei gambiense* et *T. brucei rhodesiense*) et de *Leishmania* (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. braziliensis*, et *L. major*) plus pathogènes. De plus, des études ciblées sur les souches bactériennes les plus problématiques aujourd'hui telles que *Staphylococcus aureus*,

Streptococcus spp., *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* et *Pseudomonas* spp. devraient être réalisées pour les sous-extraits DCM et acétate d'éthyle actifs de *G. senegalensis*, *C. glutinosum*, *T. avicennnioides* et *Z. zanthoxyloides* afin de déterminer les molécules bioactives. Par ailleurs, les dérivés de la chélérythrine isolés de *Z. zanthoxyloides* ayant été caractérisés par une activité antivirale prometteuse contre HCoV-229E, il serait pertinent de les évaluer contre le SARS-CoV-2 afin de vérifier leur potentiel anti-COVID-19. Et enfin, d'autres recherches sur les profils pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des composés bioactifs naturels notamment le nouvel alcaloïde nommé zanthoxyloithrine, la chélérythrine et la dihydrochélérythrine aideront à mieux comprendre leurs activités et fourniront des bases pour améliorer leur efficacité ou développer par pharmacomodulation des dérivés plus efficaces contre ces différents microorganismes pathogènes.

Références bibliographiques

1. WHO *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2021*; World Health Organization: Geneva, 2021; ISBN 978-92-4-002733-6.
2. WHO The Top 10 Causes of Death Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed on 25 December 2023).
3. Cavallo, J.-D.; Fabre, R.; Jehl, F.; Rapp, C.; Garrabé, E. Bêtalactamines. *EMC - Mal. Infect.* **2004**, *1*, 129–202, doi:10.1016/j.emcmi.2004.03.003.
4. Dhingra, S.; Rahman, N.A.A.; Peile, E.; Rahman, M.; Sartelli, M.; Hassali, M.A.; Islam, T.; Islam, S.; Haque, M. Microbial Resistance Movements: An Overview of Global Public Health Threats Posed by Antimicrobial Resistance, and How Best to Counter. *Front. Public Health* **2020**, *8*.
5. WHO Prioritization of Pathogens to Guide Discovery, Research and Development of New Antibiotics for Drug-Resistant Bacterial Infections, Including Tuberculosis Available online: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-EMP-IAU-2017.12> (accessed on 24 December 2023).
6. Kali, A. Antibiotics and Bioactive Natural Products in Treatment of Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*: A Brief Review. *Pharmacogn. Rev.* **2015**, *9*, 29, doi:10.4103/0973-7847.156329.
7. Monserrat-Martinez, A.; Gambin, Y.; Sierceki, E. Thinking Outside the Bug: Molecular Targets and Strategies to Overcome Antibiotic Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 1255, doi:10.3390/ijms20061255.
8. Bajaj, A.; Mishra, B.; Loomba, P.S.; Thakur, A.; Sharma, A.; Rathod, P.G.; Das, M.; Bhasin, A. Tigecycline Susceptibility of Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter* Spp. Isolates from Respiratory Tract: A Tertiary Care Centre Study. *J. Krishna Inst. Med. Sci. JKIMSU* **2020**, *9*, 1–7.
9. Liu, Y.-C.; Kuo, R.-L.; Shih, S.-R. COVID-19: The First Documented Coronavirus Pandemic in History. *Biomed. J.* **2020**, *43*, 328–333, doi:10.1016/j.bj.2020.04.007.
10. WHO WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard Available online: <https://covid19.who.int> (accessed on 31 December 2023).
11. Hotez, P.J.; Aksoy, S.; Brindley, P.J.; Kamhawi, S. World Neglected Tropical Diseases Day. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2020**, *14*, e0007999, doi:10.1371/journal.pntd.0007999.
12. WHO Global Report on Neglected Tropical Diseases 2023 Available online: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/global-report-on-neglected-tropical-diseases-2023> (accessed on 26 December 2023).
13. Weld, E.D.; Waite, C.; Barnes, K.; Garcia Bournissen, F. Twice Neglected? Neglected Diseases in Neglected Populations. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2022**, *88*, 367–373, doi:10.1111/bcp.15148.
14. Cullia, G.; Tamborini, L.; Conti, P.; De Micheli, C.; Pinto, A. Folate in *Trypanosoma Brucei*: Achievements and Opportunities. *ChemMedChem* **2018**, *13*, 2150–2158, doi:10.1002/cmdc.201800500.
15. Kerharo & Adam *La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques*; Editions VIGOT FRÈRES.; 23, Rue de l'Ecole de Médecine, 75006 PARIS, 1974; ISBN 2-7114-0646-6.
16. Le Grand, A.; Wondergem, P.A. Les phytothérapies anti-infectieuses de la forêt savane, Senegal (afrique occidentale) I. Un inventaire. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, *21*, 109–125, doi:10.1016/0378-8741(87)90122-X.
17. Le Grand, A.; Wondergem, P.A.; Verpoorte, R.; Pousset, J.L. Anti-Infectious Phytotherapies of the Tree-Savannah of Senegal (West-Africa) II. Antimicrobial Activity

- of 33 Species. *J. Ethnopharmacol.* **1988**, 22, 25–31, doi:10.1016/0378-8741(88)90227-9.
18. Le Grand, A. Les phytotherapies anti-infectieuses de la foret-savane, senegal (afrique occidentale) III: Un resume des substances phytochimiques et l'activite anti-microbienne de 43 species. *J. Ethnopharmacol.* **1989**, 25, 315–338, doi:10.1016/0378-8741(89)90037-8.
 19. EUCAST Eucast: Resistance Mechanisms Available online: https://www.eucast.org/resistance_mechanisms (accessed on 26 December 2023).
 20. Spellberg, B.; Guidos, R.; Gilbert, D.; Bradley, J.; Boucher, H.W.; Scheld, W.M.; Bartlett, J.G.; Edwards, J.; the Infectious Diseases Society of America The Epidemic of Antibiotic-Resistant Infections: A Call to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* **2008**, 46, 155–164, doi:10.1086/524891.
 21. Aminov, R. History of Antimicrobial Drug Discovery: Major Classes and Health Impact. *Biochem. Pharmacol.* **2017**, 133, 4–19, doi:10.1016/j.bcp.2016.10.001.
 22. Antimicrobial Resistance Collaborators Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *Lancet Lond. Engl.* **2022**, 399, 629–655, doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
 23. Alfred, S.; Annabelle, L. Intérêt d'un Indicateur Synthétique Pour Décrire La Santé En France – Académie Nationale de Médecine | Une Institution Dans Son Temps 2009.
 24. Naha, A.; Kumar Miryala, S.; Debroy, R.; Ramaiah, S.; Anbarasu, A. Elucidating the Multi-Drug Resistance Mechanism of Enterococcus Faecalis V583: A Gene Interaction Network Analysis. *Gene* **2020**, 748, 144704, doi:10.1016/j.gene.2020.144704.
 25. Rice, L.B. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *J. Infect. Dis.* **2008**, 197, 1079–1081, doi:10.1086/533452.
 26. Wong, D.; Nielsen, T.B.; Bonomo, R.A.; Pantapalangkoor, P.; Luna, B.; Spellberg, B. Clinical and Pathophysiological Overview of Acinetobacter Infections: A Century of Challenges. *Clin. Microbiol. Rev.* **2017**, 30, 409–447, doi:10.1128/CMR.00058-16.
 27. Anitha, P.; Anbarasu, A.; Ramaiah, S. Computational Gene Network Study on Antibiotic Resistance Genes of Acinetobacter Baumannii. *Comput. Biol. Med.* **2014**, 48, 17–27, doi:10.1016/j.combiomed.2014.02.009.
 28. Hamidian, M.; Nigro, S.J. Emergence, Molecular Mechanisms and Global Spread of Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii. *Microb. Genomics* **2019**, 5, e000306, doi:10.1099/mgen.0.000306.
 29. Miryala, S.K.; Anbarasu, A.; Ramaiah, S. Systems Biology Studies in Pseudomonas Aeruginosa PA01 to Understand Their Role in Biofilm Formation and Multidrug Efflux Pumps. *Microb. Pathog.* **2019**, 136, 103668, doi:10.1016/j.micpath.2019.103668.
 30. Pristov, K.E.; Ghannoum, M.A. Resistance of Candida to Azoles and Echinocandins Worldwide. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2019**, 25, 792–798, doi:10.1016/j.cmi.2019.03.028.
 31. Lu, H.; Shrivastava, M.; Whiteway, M.; Jiang, Y. Candida Albicans Targets That Potentially Synergize with Fluconazole. *Crit. Rev. Microbiol.* **2021**, 47, 323–337, doi:10.1080/1040841X.2021.1884641.
 32. WHO WHO Fungal Priority Pathogens List to Guide Research, Development and Public Health Action; World Health Organization, 2022; ISBN 978-92-4-006024-1.
 33. Sparks, I.L.; Derbyshire, K.M.; Jacobs, W.R.; Morita, Y.S. Mycobacterium Smegmatis: The Vanguard of Mycobacterial Research. *J. Bacteriol.* **2023**, 205, e0033722, doi:10.1128/jb.00337-22.
 34. Hahn, W.O.; Werth, B.J.; Butler-Wu, S.M.; Rakita, R.M. Multidrug-Resistant Corynebacterium Striatum Associated with Increased Use of Parenteral Antimicrobial

- Drugs - Volume 22, Number 11—November 2016 - Emerging Infectious Diseases Journal - CDC. **2016**, doi:10.3201/eid2211.160141.
35. Mitchell, K.F.; McElvania, E.; Wallace, M.A.; Droske, L.E.; Robertson, A.E.; Westblade, L.F.; Burnham, C.A. Evaluating the Rapid Emergence of Daptomycin Resistance in *Corynebacterium*: A Multicenter Study. *J. Clin. Microbiol.* **2021**, *59*, e02052-20, doi:10.1128/JCM.02052-20.
 36. Doud, C.W.; Zurek, L. Enterococcus Faecalis OG1RF:pMV158 Survives and Proliferates in the House Fly Digestive Tract. *J. Med. Entomol.* **2012**, *49*, 150–155, doi:10.1603/me11167.
 37. Cheung, G.Y.C.; Bae, J.S.; Otto, M. Pathogenicity and Virulence of Staphylococcus Aureus. *Virulence* **2021**, *12*, 547–569, doi:10.1080/21505594.2021.1878688.
 38. Kamath, U.; Singer, C.; Isenberg, H.D. Clinical Significance of Staphylococcus Warneri Bacteremia. *J. Clin. Microbiol.* **1992**, *30*, 261–264, doi:10.1128/jcm.30.2.261-264.1992.
 39. Alawad, M.J.; Ali, G.A.; Goravey, W. Underrecognized Pathogen; Staphylococcus Warneri-associated Native Mitral Valve Endocarditis in an Immunocompetent Host: A Case Report and Literature Review. *Clin. Case Rep.* **2022**, *10*, e05591, doi:10.1002/ccr3.5591.
 40. Vuong, C.; Otto, M. Staphylococcus Epidermidis Infections. *Microbes Infect.* **2002**, *4*, 481–489, doi:10.1016/s1286-4579(02)01563-0.
 41. Trülsch, K.; Rinder, H.; Trček, J.; Bader, L.; Wilhelm, U.; Heesemann, J. “Staphylococcus Pettenkoferi,” a Novel Staphylococcal Species Isolated from Clinical Specimens. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2002**, *43*, 175–182, doi:10.1016/S0732-8893(02)00399-1.
 42. Kierzkowska, M.; Markowska, K.; Majewska, A. Knowledge, Attitude and Practice Regarding Staphylococcus Pettenkoferi. *Infect. Dis. Rep.* **2022**, *14*, 112–120, doi:10.3390/idr14010015.
 43. Maniatis, A.N.; Palermos, J.; Kantzanou, M.; Maniatis, N.A.; Christodoulou, C.; Legakis, N.J. Streptococcus Agalactiae: A Vaginal Pathogen? *J. Med. Microbiol.* **1996**, *44*, 199–202, doi:10.1099/00222615-44-3-199.
 44. Raabe, V.N.; Shane, A.L. Group B Streptococcus (Streptococcus Agalactiae). *Microbiol. Spectr.* **2019**, *7*, doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0007-2018.
 45. Tiruvayipati, S.; Tang, W.Y.; Barkham, T.M.S.; Chen, S.L. GBS-SBG - GBS Serotyping by Genome Sequencing. *Microb. Genomics* **2021**, *7*, 000688, doi:10.1099/mgen.0.000688.
 46. Kanwal, S.; Vaitla, P. Streptococcus Pyogenes. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2023.
 47. Lalaoui, R.; Djukovic, A.; Bakour, S.; Hadjadj, L.; Sanz, J.; Salavert, M.; López-Hontangas, J.L.; Sanz, M.A.; Ubeda, C.; Rolain, J.-M. Genomic Characterization of Citrobacter Freundii Strains Coproducing OXA-48 and VIM-1 Carbapenemase Enzymes Isolated in Leukemic Patient in Spain. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* **2019**, *8*, 167, doi:10.1186/s13756-019-0630-3.
 48. Liu, L.; Song, L.; Deng, R.; Lan, R.; Jin, W.; Tran Van Nhieu, G.; Cao, H.; Liu, Q.; Xiao, Y.; Li, X.; et al. Citrobacter Freundii Activation of NLRP3 Inflammasome via the Type VI Secretion System. *J. Infect. Dis.* **2021**, *223*, 2174–2185, doi:10.1093/infdis/jiaa692.
 49. Sánchez, M.B. Antibiotic Resistance in the Opportunistic Pathogen Stenotrophomonas Maltophilia. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 658, doi:10.3389/fmicb.2015.00658.
 50. Lord, R.; Jones, A.M.; Horsley, A. Antibiotic Treatment for Burkholderia Cepacia Complex in People with Cystic Fibrosis Experiencing a Pulmonary Exacerbation. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2020**, *4*, CD009529, doi:10.1002/14651858.CD009529.pub4.

51. Pereira, R.S.; Dias, V.C.; Ferreira-Machado, A.B.; Resende, J.A.; Bastos, A.N.; Andrade Bastos, L.Q.; Andrade Bastos, V.Q.; Bastos, R.V.; Da Silva, V.L.; Diniz, C.G. Physiological and Molecular Characteristics of Carbapenem Resistance in *Klebsiella Pneumoniae* and *Enterobacter Aerogenes*. *J. Infect. Dev. Ctries.* **2016**, *10*, 592–599, doi:10.3855/jidc.6821.
52. Davin-Regli, A.; Lavigne, J.-P.; Pagès, J.-M. *Enterobacter* Spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **2019**, *32*, e00002-19, doi:10.1128/CMR.00002-19.
53. Jang, J.; Hur, H.-G.; Sadowsky, M.J.; Byappanahalli, M.N.; Yan, T.; Ishii, S. Environmental *Escherichia Coli*: Ecology and Public Health Implications-a Review. *J. Appl. Microbiol.* **2017**, *123*, 570–581, doi:10.1111/jam.13468.
54. Wang, G.; Zhao, G.; Chao, X.; Xie, L.; Wang, H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella Pneumoniae*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 6278, doi:10.3390/ijerph17176278.
55. Schaffer, J.N.; Pearson, M.M. *Proteus Mirabilis* and Urinary Tract Infections. *Microbiol. Spectr.* **2015**, *3*, doi:10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013.
56. Mielko, K.A.; Jabłoński, S.J.; Milczewska, J.; Sands, D.; Łukaszewicz, M.; Młynarz, P. Metabolomic Studies of *Pseudomonas Aeruginosa*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2019**, *35*, 178, doi:10.1007/s11274-019-2739-1.
57. Threlfall, E.J. Antimicrobial Drug Resistance in *Salmonella*: Problems and Perspectives in Food- and Water-Borne Infections. *FEMS Microbiol. Rev.* **2002**, *26*, 141–148, doi:10.1111/j.1574-6976.2002.tb00606.x.
58. Poulain, D. *Candida Albicans*, Plasticity and Pathogenesis. *Crit. Rev. Microbiol.* **2015**, *41*, 208–217, doi:10.3109/1040841X.2013.813904.
59. Cattoir, V. *Mechanisms of Antibiotic Resistance*; University of Oklahoma Health Sciences Center, 2016;
60. Anitha, P.; Anbarasu, A.; Ramaiah, S. Gene Network Analysis Reveals the Association of Important Functional Partners Involved in Antibiotic Resistance: A Report on an Important Pathogenic Bacterium *Staphylococcus Aureus*. *Gene* **2016**, *575*, 253–263, doi:10.1016/j.gene.2015.08.068.
61. Miryala, S.K.; Anbarasu, A.; Ramaiah, S. Role of SHV-11, a Class A β -Lactamase, Gene in Multidrug Resistance Among *Klebsiella Pneumoniae* Strains and Understanding Its Mechanism by Gene Network Analysis. *Microb. Drug Resist.* **2020**, *26*, 900–908, doi:10.1089/mdr.2019.0430.
62. Anitha, P.; Bag, S.; Anbarasu, A.; Ramaiah, S. Gene and Protein Network Analysis of AmpC β Lactamase. *Cell Biochem. Biophys.* **2015**, *71*, 1553–1567, doi:10.1007/s12013-014-0379-5.
63. Sommer, L.M.; Johansen, H.K.; Molin, S. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas Aeruginosa* and Adaptation to Complex Dynamic Environments. *Microb. Genomics* **2020**, *6*, e000370, doi:10.1099/mgen.0.000370.
64. Giulieri, S.G.; Tong, S.Y.C.; Williamson, D.A. Using Genomics to Understand Meticillin- and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Infections. *Microb. Genomics* **2020**, *6*, e000324, doi:10.1099/mgen.0.000324.
65. Fergestad, M.E.; Stamsås, G.A.; Morales Angeles, D.; Salehian, Z.; Wasteson, Y.; Kjos, M. Penicillin-Binding Protein PBP2a Provides Variable Levels of Protection toward Different β -Lactams in *Staphylococcus Aureus* RN4220. *MicrobiologyOpen* **2020**, *9*, e1057, doi:10.1002/mbo3.1057.
66. Shalaby, M.-A.W.; Dokla, E.M.E.; Serya, R.A.T.; Abouzid, K.A.M. Penicillin Binding Protein 2a: An Overview and a Medicinal Chemistry Perspective. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *199*, 112312, doi:10.1016/j.ejmech.2020.112312.

67. Richardot, C.; Plésiat, P.; Fournier, D.; Monlezun, L.; Broutin, I.; Llanes, C. Carbapenem Resistance in Cystic Fibrosis Strains of *Pseudomonas Aeruginosa* as a Result of Amino Acid Substitutions in Porin OprD. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2015**, *45*, 529–532, doi:10.1016/j.ijantimicag.2014.12.029.
68. Sandle, D.T. Antibiotic Classification 2013.
69. WHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2022 Available online: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240062702> (accessed on 10 April 2023).
70. Santé Publique France L'essentiel sur tous les antibiotiques de A à Z - Antibio'Malin Available online: <https://www.sante.fr/les-antibiotiques-0> (accessed on 26 December 2023).
71. Cui, J.; Li, F.; Shi, Z.-L. Origin and Evolution of Pathogenic Coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17*, 181–192, doi:10.1038/s41579-018-0118-9.
72. Paim, F.C.; Bowman, A.S.; Miller, L.; Feehan, B.J.; Marthaler, D.; Saif, L.J.; Vlasova, A.N. Epidemiology of Deltacoronaviruses (δ -CoV) and Gammacoronaviruses (γ -CoV) in Wild Birds in the United States. *Viruses* **2019**, *11*, 897, doi:10.3390/v11100897.
73. Gorbalenya, A.E.; Baker, S.C.; Baric, R.S.; de Groot, R.J.; Drosten, C.; Gulyaeva, A.A.; Haagmans, B.L.; Lauber, C.; Leontovich, A.M.; Neuman, B.W.; et al. The Species Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus: Classifying 2019-nCoV and Naming It SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*, 536–544, doi:10.1038/s41564-020-0695-z.
74. Huang, Y.; Yang, C.; Xu, X.; Xu, W.; Liu, S. Structural and Functional Properties of SARS-CoV-2 Spike Protein: Potential Antivirus Drug Development for COVID-19. *Acta Pharmacol. Sin.* **2020**, *41*, 1141–1149, doi:10.1038/s41401-020-0485-4.
75. Yang, H.; Rao, Z. Structural Biology of SARS-CoV-2 and Implications for Therapeutic Development. *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *19*, 685–700, doi:10.1038/s41579-021-00630-8.
76. Tang, G.; Liu, Z.; Chen, D. Human Coronaviruses: Origin, Host and Receptor. *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.* **2022**, *155*, 105246, doi:10.1016/j.jcv.2022.105246.
77. Chan, J.F.W.; Lau, S.K.P.; To, K.K.W.; Cheng, V.C.C.; Woo, P.C.Y.; Yuen, K.-Y. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: Another Zoonotic Betacoronavirus Causing SARS-Like Disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **2015**, *28*, 465–522, doi:10.1128/cmr.00102-14.
78. Hu, B.; Guo, H.; Zhou, P.; Shi, Z.-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *19*, 141–154, doi:10.1038/s41579-020-00459-7.
79. Vlasova, A.N.; Diaz, A.; Damtie, D.; Xiu, L.; Toh, T.-H.; Lee, J.S.-Y.; Saif, L.J.; Gray, G.C. Novel Canine Coronavirus Isolated from a Hospitalized Patient With Pneumonia in East Malaysia. *Clin. Infect. Dis.* **2022**, *74*, 446–454, doi:10.1093/cid/ciab456.
80. Abdurrahman, L.; Fang, X.; Zhang, Y. Molecular Insights of SARS-CoV-2 Infection and Molecular Treatments. *Curr. Mol. Med.* **2022**, *22*, 621–639, doi:10.2174/1566524021666211013121831.
81. Wu, W.; Cheng, Y.; Zhou, H.; Sun, C.; Zhang, S. The SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein: Its Role in the Viral Life Cycle, Structure and Functions, and Use as a Potential Target in the Development of Vaccines and Diagnostics. *Virol. J.* **2023**, *20*, 6, doi:10.1186/s12985-023-01968-6.
82. Hoffmann, M.; Kleine-Weber, H.; Schroeder, S.; Krüger, N.; Herrler, T.; Erichsen, S.; Schiergens, T.S.; Herrler, G.; Wu, N.-H.; Nitsche, A.; et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* **2020**, *181*, 271–280.e8, doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.

83. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses The Species Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus: Classifying 2019-nCoV and Naming It SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*, 536–544, doi:10.1038/s41564-020-0695-z.
84. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard Available online: <https://covid19.who.int> (accessed on 22 May 2023).
85. Trougakos, I.P.; Stamatiopoulos, K.; Terpos, E.; Tsitsilonis, O.E.; Aivalioti, E.; Paraskevis, D.; Kastiris, E.; Pavlakis, G.N.; Dimopoulos, M.A. Insights to SARS-CoV-2 Life Cycle, Pathophysiology, and Rationalized Treatments That Target COVID-19 Clinical Complications. *J. Biomed. Sci.* **2021**, *28*, 9, doi:10.1186/s12929-020-00703-5.
86. Yuan, Y.; Jiao, B.; Qu, L.; Yang, D.; Liu, R. The Development of COVID-19 Treatment. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1125246, doi:10.3389/fimmu.2023.1125246.
87. El-Anwar, M.W.; Elzayat, S.; Fouad, Y.A. ENT Manifestation in COVID-19 Patients. *Auris. Nasus. Larynx* **2020**, *47*, 559–564, doi:10.1016/j.anl.2020.06.003.
88. Li, J.; Huang, D.Q.; Zou, B.; Yang, H.; Hui, W.Z.; Rui, F.; Yee, N.T.S.; Liu, C.; Nerurkar, S.N.; Kai, J.C.Y.; et al. Epidemiology of COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis of Clinical Characteristics, Risk Factors, and Outcomes. *J. Med. Virol.* **2021**, *93*, 1449–1458, doi:10.1002/jmv.26424.
89. Ballering, A.V.; van Zon, S.K.R.; Olde Hartman, T.C.; Rosmalen, J.G.M.; Lifelines Corona Research Initiative Persistence of Somatic Symptoms after COVID-19 in the Netherlands: An Observational Cohort Study. *Lancet Lond. Engl.* **2022**, *400*, 452–461, doi:10.1016/S0140-6736(22)01214-4.
90. Ceban, F.; Ling, S.; Lui, L.M.W.; Lee, Y.; Gill, H.; Teopiz, K.M.; Rodrigues, N.B.; Subramaniapillai, M.; Di Vincenzo, J.D.; Cao, B.; et al. Fatigue and Cognitive Impairment in Post-COVID-19 Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Brain. Behav. Immun.* **2022**, *101*, 93–135, doi:10.1016/j.bbi.2021.12.020.
91. Shanthanna, H.; Nelson, A.M.; Kissoon, N.; Narouze, S. The COVID-19 Pandemic and Its Consequences for Chronic Pain: A Narrative Review. *Anaesthesia* **2022**, *77*, 1039–1050, doi:10.1111/anae.15801.
92. Zarei, M.; Bose, D.; Nouri-Vaskeh, M.; Tajiknia, V.; Zand, R.; Ghasemi, M. Long-Term Side Effects and Lingering Symptoms Post COVID-19 Recovery. *Rev. Med. Virol.* **2022**, *32*, e2289, doi:10.1002/rmv.2289.
93. Chen, Z.; Tian, F. Efficacy and Safety of Azvudine in Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Heliyon* **2023**, *9*, e20153, doi:10.1016/j.heliyon.2023.e20153.
94. Ma, Y.; Deng, J.; Liu, Q.; Du, M.; Liu, M.; Liu, J. Long-Term Consequences of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2023**, *20*, 1613, doi:10.3390/ijerph20021613.
95. Nalbandian, A.; Desai, A.D.; Wan, E.Y. Post-COVID-19 Condition. *Annu. Rev. Med.* **2023**, *74*, 55–64, doi:10.1146/annurev-med-043021-030635.
96. Panahi, Y.; Gorabi, A.M.; Talaei, S.; Beiraghdar, F.; Akbarzadeh, A.; Tarhriz, V.; Mellatyar, H. An Overview on the Treatments and Prevention against COVID-19. *Virol. J.* **2023**, *20*, 23, doi:10.1186/s12985-023-01973-9.
97. Takao, M.; Ohira, M. Neurological Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 Infection. *Psychiatry Clin. Neurosci.* **2023**, *77*, 72–83, doi:10.1111/pcn.13481.
98. Guziejko, K.; Tałaaj, J.; Czupryna, P.; Moniuszko-Malinowska, A. Long COVID. *Przegl. Epidemiol.* **2022**, *76*, 287–295, doi:10.32394/pe.76.27.
99. Hillary, V.E.; Ceasar, S.A. An Update on COVID-19: SARS-CoV-2 Variants, Antiviral Drugs, and Vaccines. *Heliyon* **2023**, *9*, e13952, doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13952.

100. Guo, L.; Lin, S.; Chen, Z.; Cao, Y.; He, B.; Lu, G. Targetable Elements in SARS-CoV-2 S2 Subunit for the Design of Pan-Coronavirus Fusion Inhibitors and Vaccines. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8*, 197, doi:10.1038/s41392-023-01472-x.
101. Lan, Q.; Wang, L.; Jiao, F.; Lu, L.; Xia, S.; Jiang, S. Pan-Coronavirus Fusion Inhibitors to Combat COVID-19 and Other Emerging Coronavirus Infectious Diseases. *J. Med. Virol.* **2023**, *95*, e28143, doi:10.1002/jmv.28143.
102. Gupta, N.; Augustine, S.; Narayan, T.; O’Riordan, A.; Das, A.; Kumar, D.; Luong, J.H.T.; Malhotra, B.D. Point-of-Care PCR Assays for COVID-19 Detection. *Biosensors* **2021**, *11*, 141, doi:10.3390/bios11050141.
103. Yüce, M.; Filiztekin, E.; Özkaya, K.G. COVID-19 Diagnosis -A Review of Current Methods. *Biosens. Bioelectron.* **2021**, *172*, 112752, doi:10.1016/j.bios.2020.112752.
104. Majumder, J.; Minko, T. Recent Developments on Therapeutic and Diagnostic Approaches for COVID-19. *AAPS J.* **2021**, *23*, 14, doi:10.1208/s12248-020-00532-2.
105. Rai, P.; Kumar, B.K.; Deekshit, V.K.; Karunasagar, I.; Karunasagar, I. Detection Technologies and Recent Developments in the Diagnosis of COVID-19 Infection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2021**, *105*, 441–455, doi:10.1007/s00253-020-11061-5.
106. Maniruzzaman, M.; Islam, M.M.; Ali, M.H.; Mukerjee, N.; Maitra, S.; Kamal, M.A.; Ghosh, A.; Castrosanto, M.A.; Alexiou, A.; Ashraf, G.M.; et al. COVID-19 Diagnostic Methods in Developing Countries. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2022**, *29*, 51384–51397, doi:10.1007/s11356-022-21041-z.
107. Ochani, R.; Asad, A.; Yasmin, F.; Shaikh, S.; Khalid, H.; Batra, S.; Sohail, M.R.; Mahmood, S.F.; Ochani, R.; Hussam Arshad, M.; et al. COVID-19 Pandemic: From Origins to Outcomes. A Comprehensive Review of Viral Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnostic Evaluation, and Management. *Infez. Med.* **2021**, *29*, 20–36.
108. WHO Therapeutics and COVID-19: Living Guideline, 10 November 2023 Available online: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2023.2> (accessed on 5 January 2024).
109. Zhou, Z.; Zhu, Y.; Chu, M. Role of COVID-19 Vaccines in SARS-CoV-2 Variants. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 898192, doi:10.3389/fimmu.2022.898192.
110. Hammond, J.; Leister-Tebbe, H.; Gardner, A.; Abreu, P.; Bao, W.; Wisemandle, W.; Baniecki, M.; Hendrick, V.M.; Damle, B.; Simón-Campos, A.; et al. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **2022**, *386*, 1397–1408, doi:10.1056/NEJMoa2118542.
111. Osborne, V.; Davies, M.; Lane, S.; Evans, A.; Denyer, J.; Dhanda, S.; Roy, D.; Shakir, S. Lopinavir-Ritonavir in the Treatment of COVID-19: A Dynamic Systematic Benefit-Risk Assessment. *Drug Saf.* **2020**, *43*, 809–821, doi:10.1007/s40264-020-00966-9.
112. Wang, C.; Cao, R.; Zhang, L.; Yang, X.; Liu, J.; Xu, M.; Shi, Z.; Hu, Z.; Zhong, W.; Xiao, G. Remdesivir and Chloroquine Effectively Inhibit the Recently Emerged Novel Coronavirus (2019-nCoV) in Vitro. *Cell Res.* **2020**, *30*, 269–271, doi:10.1038/s41422-020-0282-0.
113. Ghasemnejad-Berenji, M.; Pashapour, S. Favipiravir and COVID-19: A Simplified Summary. *Drug Res.* **2021**, *71*, 166–170, doi:10.1055/a-1296-7935.
114. Manabe, T.; Kambayashi, D.; Akatsu, H.; Kudo, K. Favipiravir for the Treatment of Patients with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Infect. Dis.* **2021**, *21*, 489, doi:10.1186/s12879-021-06164-x.
115. Zou, R.; Peng, L.; Shu, D.; Zhao, L.; Lan, J.; Tan, G.; Peng, J.; Yang, X.; Liu, M.; Zhang, C.; et al. Antiviral Efficacy and Safety of Molnupiravir Against Omicron Variant Infection: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Front. Pharmacol.* **2022**, *13*, 939573, doi:10.3389/fphar.2022.939573.

116. Echeverría-Esnal, D.; Martín-Ontiyuelo, C.; Navarrete-Rouco, M.E.; De-Antonio Cuscó, M.; Ferrández, O.; Horcajada, J.P.; Grau, S. Azithromycin in the Treatment of COVID-19: A Review. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2021**, *19*, 147–163, doi:10.1080/14787210.2020.1813024.
117. Axfors, C.; Schmitt, A.M.; Janiaud, P. Mortality Outcomes with Hydroxychloroquine and Chloroquine in COVID-19 from an International Collaborative Meta-Analysis of Randomized Trials. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2349, doi:10.1038/s41467-021-22446-z.
118. Chitsike, L.; Duerksen-Hughes, P. Keep out! SARS-CoV-2 Entry Inhibitors: Their Role and Utility as COVID-19 Therapeutics. *Viol. J.* **2021**, *18*, 154, doi:10.1186/s12985-021-01624-x.
119. Taylor, P.C.; Adams, A.C.; Hufford, M.M.; de la Torre, I.; Winthrop, K.; Gottlieb, R.L. Neutralizing Monoclonal Antibodies for Treatment of COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* **2021**, *21*, 382–393, doi:10.1038/s41577-021-00542-x.
120. Gatti, M.; Turrini, E.; Raschi, E.; Sestili, P.; Fimognari, C. Janus Kinase Inhibitors and Coronavirus Disease (COVID)-19: Rationale, Clinical Evidence and Safety Issues. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 738, doi:10.3390/ph14080738.
121. Limen, R.Y.; Sedono, R.; Sugiarto, A.; Hariyanto, T.I. Janus Kinase (JAK)-Inhibitors and Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2021**, *1–10*, doi:10.1080/14787210.2021.1982695.
122. Patel, V.K.; Shirbhate, E.; Patel, P.; Veerasamy, R.; Sharma, P.C.; Rajak, H. Corticosteroids for Treatment of COVID-19: Effect, Evidence, Expectation and Extent. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.* **2021**, *10*, 78, doi:10.1186/s43088-021-00165-0.
123. Thakur, M.; Datusalia, A.K.; Kumar, A. Use of Steroids in COVID-19 Patients: A Meta-Analysis. *Eur. J. Pharmacol.* **2022**, *914*, 174579, doi:10.1016/j.ejphar.2021.174579.
124. Rudan, I.; Adeboye, D.; Sheikh, A. COVID-19: Vaccines, Efficacy and Effects on Variants. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2022**, *28*, 180–191, doi:10.1097/MCP.0000000000000868.
125. WHO COVID-19 vaccines COVID-19 Vaccines | WHO COVID-19 Dashboard Available online: <https://data.who.int/dashboards/covid19/vaccines> (accessed on 5 January 2024).
126. Zeng, B.; Gao, L.; Zhou, Q.; Yu, K.; Sun, F. Effectiveness of COVID-19 Vaccines against SARS-CoV-2 Variants of Concern: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Med.* **2022**, *20*, 200, doi:10.1186/s12916-022-02397-y.
127. Akinbolade, S.; Coughlan, D.; Fairbairn, R.; McConkey, G.; Powell, H.; Ogunbayo, D.; Craig, D. Combination Therapies for COVID-19: An Overview of the Clinical Trials Landscape. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2022**, *88*, 1590–1597, doi:10.1111/bcp.15089.
128. Lim, X.Y.; Teh, B.P.; Tan, T.Y.C. Medicinal Plants in COVID-19: Potential and Limitations. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 611408, doi:10.3389/fphar.2021.611408.
129. Das, K. Herbal Plants as Immunity Modulators against COVID-19: A Primary Preventive Measure during Home Quarantine. *J. Herb. Med.* **2022**, *32*, 100501, doi:10.1016/j.hermed.2021.100501.
130. Bafandeh, S.; Khodadadi, E.; Ganbarov, K.; Asgharzadeh, M.; Köse, Ş.; Samadi Kafil, H. Natural Products as a Potential Source of Promising Therapeutics for COVID-19 and Viral Diseases. *Evid.-Based Complement. Altern. Med. ECAM* **2023**, *2023*, 5525165, doi:10.1155/2023/5525165.
131. Peerzada, M.N.; Gaur, A.; Azam, A. Advances in Drug Discovery against Neglected Tropical Diseases: Human African and American Trypanosomiasis. *Curr. Med. Chem.* **2021**, *28*, 7544–7582, doi:10.2174/0929867328666210504111442.

132. Holmes, P. First WHO Meeting of Stakeholders on Elimination of Gambiense Human African Trypanosomiasis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2014**, *8*, e3244, doi:10.1371/journal.pntd.0003244.
133. Franco, J.R.; Cecchi, G.; Priotto, G.; Paone, M.; Diarra, A.; Grout, L.; Simarro, P.P.; Zhao, W.; Argaw, D. Monitoring the Elimination of Human African Trypanosomiasis at Continental and Country Level: Update to 2018. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2020**, *14*, e0008261, doi:10.1371/journal.pntd.0008261.
134. Büscher, P.; Cecchi, G.; Jamonneau, V.; Priotto, G. Human African Trypanosomiasis. *Lancet Lond. Engl.* **2017**, *390*, 2397–2409, doi:10.1016/S0140-6736(17)31510-6.
135. Hochberg, N.S.; Montgomery, S.P. Chagas Disease. *Ann. Intern. Med.* **2023**, *176*, ITC17–ITC32, doi:10.7326/AITC202302210.
136. Kumeso, V.K.B.; Kalonji, W.M.; Rembry, S.; Mordt, O.V.; Tete, D.N.; Prêtre, A.; Delhomme, S.; Kyhi, M.I.W.; Camara, M.; Catusse, J.; et al. Efficacy and Safety of Acoziborole in Patients with Human African Trypanosomiasis Caused by *Trypanosoma Brucei* Gambiense: A Multicentre, Open-Label, Single-Arm, Phase 2/3 Trial. *Lancet Infect. Dis.* **2023**, *23*, 463–470, doi:10.1016/S1473-3099(22)00660-0.
137. Pays, E.; Radwanska, M.; Magez, S. The Pathogenesis of African Trypanosomiasis. *Annu. Rev. Pathol.* **2023**, *18*, 19–45, doi:10.1146/annurev-pathmechdis-031621-025153.
138. CDC - DPDx - Trypanosomiasis, African Available online: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisafrican/index.html> (accessed on 7 January 2024).
139. Kennedy, P.G.E.; Rodgers, J. Clinical and Neuropathogenetic Aspects of Human African Trypanosomiasis. *Front. Immunol.* **2019**, *10*, 39, doi:10.3389/fimmu.2019.00039.
140. Pays, E.; Nolan, D.P. Genetic and Immunological Basis of Human African Trypanosomiasis. *Curr. Opin. Immunol.* **2021**, *72*, 13–20, doi:10.1016/j.coi.2021.02.007.
141. Rodgers, J.; Steiner, I.; Kennedy, P.G.E. Generation of Neuroinflammation in Human African Trypanosomiasis. *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflammation* **2019**, *6*, e610, doi:10.1212/NXI.0000000000000610.
142. Tabel, H.; Wei, G.; Shi, M. T Cells and Immunopathogenesis of Experimental African Trypanosomiasis. *Immunol. Rev.* **2008**, *225*, 128–139, doi:10.1111/j.1600-065X.2008.00675.x.
143. Ozioko, K.U.; Okoye, C.I.; Obiezue, R.N.; Idika, I.K.; Awudu, R.A.; Ezewudo, B.I.; Ezea, C.O. Accelerating towards Human African Trypanosomiasis Elimination: Issues and Opportunities. *J. Vector Borne Dis.* **2020**, *57*, 105–113, doi:10.4103/0972-9062.310860.
144. Masocha, W.; Kristensson, K. Human African Trypanosomiasis: How Do the Parasites Enter and Cause Dysfunctions of the Nervous System in Murine Models? *Brain Res. Bull.* **2019**, *145*, 18–29, doi:10.1016/j.brainresbull.2018.05.022.
145. Kennedy, P.G. The Evolving Spectrum of Human African Trypanosomiasis. *QJM Mon. J. Assoc. Physicians* **2023**, head273, doi:10.1093/qjmed/head273.
146. Maxfield, L.; Bermudez, R. Trypanosomiasis. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2023.
147. Haston, J.C.; Camacho-Gonzalez, A.F. 275 - *Trypanosoma* Species (Trypanosomiasis). In *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Sixth Edition)*; Long, S.S., Ed.; Elsevier: Philadelphia, 2023; pp. 1402-1409.e3 ISBN 978-0-323-75608-2.
148. Kennedy, P.G.E. Update on Human African Trypanosomiasis (Sleeping Sickness). *J. Neurol.* **2019**, *266*, 2334–2337, doi:10.1007/s00415-019-09425-7.
149. Kourbeli, V.; Chontzopoulou, E.; Moschovou, K.; Pavlos, D.; Mavromoustakos, T.; Papanastasiou, I.P. An Overview on Target-Based Drug Design against Kinetoplastid

- Protozoan Infections: Human African Trypanosomiasis, Chagas Disease and Leishmaniasis. *Mol. Basel Switz.* **2021**, *26*, 4629, doi:10.3390/molecules26154629.
150. Bottieau, E.; Clerinx, J. Human African Trypanosomiasis: Progress and Stagnation. *Infect. Dis. Clin. North Am.* **2019**, *33*, 61–77, doi:10.1016/j.idc.2018.10.003.
 151. Aksoy, S.; Buscher, P.; Lehane, M.; Solano, P.; Van Den Abbeele, J. Human African Trypanosomiasis Control: Achievements and Challenges. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*, e0005454, doi:10.1371/journal.pntd.0005454.
 152. Priotto, G.; Kaspasian, S.; Mutombo, W.; Ngouama, D.; Ghorashian, S.; Arnold, U.; Ghabri, S.; Baudin, E.; Buard, V.; Kazadi-Kyanza, S.; et al. Nifurtimox-Eflornithine Combination Therapy for Second-Stage African Trypanosoma Brucei Gambiense Trypanosomiasis: A Multicentre, Randomised, Phase III, Non-Inferiority Trial. *The Lancet* **2009**, *374*, 56–64, doi:10.1016/S0140-6736(09)61117-X.
 153. Fairlamb, A.H. Fexinidazole for the Treatment of Human African Trypanosomiasis. *Drugs Today Barc. Spain* **1998** **2019**, *55*, 705–712, doi:10.1358/dot.2019.55.11.3068795.
 154. Mesu, V.K.B.K.; Kalonji, W.M.; Bardonneau, C.; Mordt, O.V.; Tete, D.N.; Blesson, S.; Simon, F.; Delhomme, S.; Bernhard, S.; Mbembo, H.M.; et al. Oral Fexinidazole for Stage 1 or Early Stage 2 African Trypanosoma Brucei Gambiense Trypanosomiasis: A Prospective, Multicentre, Open-Label, Cohort Study. *Lancet Glob. Health* **2021**, *9*, e999–e1008, doi:10.1016/S2214-109X(21)00208-4.
 155. Thomas, J.A.; Baker, N.; Hutchinson, S.; Dominicus, C.; Trenaman, A.; Glover, L.; Alsford, S.; Horn, D. Insights into Antitrypanosomal Drug Mode-of-Action from Cytology-Based Profiling. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2018**, *12*, e0006980, doi:10.1371/journal.pntd.0006980.
 156. WHO Leishmaniasis control programme Leishmaniasis_cl_2022. Available online: https://www.who.int/images/default-source/maps/leishmaniasis_cl_2022.png?sfvrsn=c86f628a_3 (accessed on 9 January 2024).
 157. David, C.V.; Craft, N. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. *Dermatol. Ther.* **2009**, *22*, 491–502, doi:10.1111/j.1529-8019.2009.01272.x.
 158. Jafarzadeh, A.; Nair, A.; Jafarzadeh, S.; Nemati, M.; Sharifi, I.; Saha, B. Immunological Role of Keratinocytes in Leishmaniasis. *Parasite Immunol.* **2021**, *43*, e12870, doi:10.1111/pim.12870.
 159. Safavi, M.; Eshaghi, H.; Hajihassani, Z. Visceral Leishmaniasis: Kala-Azar. *Diagn. Cytopathol.* **2021**, *49*, 446–448, doi:10.1002/dc.24671.
 160. Baneth, G.; Solano-Gallego, L. Leishmaniasis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* **2022**, *52*, 1359–1375, doi:10.1016/j.cvsm.2022.06.012.
 161. CDC - Leishmaniasis Available online: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html> (accessed on 10 January 2024).
 162. Alsaad, R.K.A.; Kawan, M.H. An Epidemiological Study of Cutaneous Leishmaniasis in Human and Dogs. *Ann. Parasitol.* **2021**, *67*, 417–433, doi:10.17420/ap6703.355.
 163. Kumari, D.; Perveen, S.; Sharma, R.; Singh, K. Advancement in Leishmaniasis Diagnosis and Therapeutics: An Update. *Eur. J. Pharmacol.* **2021**, *910*, 174436, doi:10.1016/j.ejphar.2021.174436.
 164. de Vries, H.J.C.; Schallig, H.D. Cutaneous Leishmaniasis: A 2022 Updated Narrative Review into Diagnosis and Management Developments. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2022**, *23*, 823–840, doi:10.1007/s40257-022-00726-8.
 165. Diadie, S.; Diatta, B.A.; Ndiaye, M.; Seck, N.B.; Diallo, S.; Niang, S.O.; Dieng, M.T. La Leishmaniose Cutanée Au Sénégal : Une Série de 38 Cas à l'hôpital Aristide Le Dantec, de Dakar. *Médecine Santé Trop.* **2018**, *28*, 106–108, doi:10.1684/mst.2017.0722.

166. Chappuis, F.; Sundar, S.; Hailu, A.; Ghalib, H.; Rijal, S.; Peeling, R.W.; Alvar, J.; Boelaert, M. Visceral Leishmaniasis: What Are the Needs for Diagnosis, Treatment and Control? *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, *5*, 873–882, doi:10.1038/nrmicro1748.
167. Gallo-Francisco, P.H.; Brocchi, M.; Giorgio, S. Leishmania and Its Relationships with Bacteria. *Future Microbiol.* **2022**, *17*, 199–218, doi:10.2217/fmb-2021-0133.
168. Mann, S.; Frasca, K.; Scherrer, S.; Henao-Martínez, A.F.; Newman, S.; Ramanan, P.; Suarez, J.A. A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Curr. Trop. Med. Rep.* **2021**, *8*, 121–132, doi:10.1007/s40475-021-00232-7.
169. Mathison, B.A.; Bradley, B.T. Review of the Clinical Presentation, Pathology, Diagnosis, and Treatment of Leishmaniasis. *Lab. Med.* **2023**, *54*, 363–371, doi:10.1093/labmed/lmac134.
170. Akbari, M.; Oryan, A.; Hatam, G. Immunotherapy in Treatment of Leishmaniasis. *Immunol. Lett.* **2021**, *233*, 80–86, doi:10.1016/j.imlet.2021.03.011.
171. Jancar, N.; Sousa Gonçalves, F.; Duro, J.; Pinto, I.; Oliveira, T.; Aguiar, P. Kala-Azar: A Case Report. *Cureus* **2023**, *15*, e34864, doi:10.7759/cureus.34864.
172. Aronson, N.; Herwaldt, B.L.; Libman, M.; Pearson, R.; Lopez-Velez, R.; Weina, P.; Carvalho, E.M.; Ephros, M.; Jeronimo, S.; Magill, A. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH). *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *63*, e202–e264, doi:10.1093/cid/ciw670.
173. ANSD Enquête Harmonisée Sur Les Conditions de Vie Des Ménages (EHCVM) - 2018/2019 Available online: http://www.ansd.sn/index.php?option=com_rapports&view=rapports&Itemid=411# (accessed on 17 September 2021).
174. ANSD Rapport des Enquêtes Démographiques et de Santé (EDS) Available online: <https://www.ansd.sn/Indicateur/rapport-des-enquetes-demographiques-et-de-sante-eds> (accessed on 24 December 2023).
175. Sagna, P.; Ndiaye, O.; Diop, C.; Diongue Niang, A.; Sambou, P. Les Variations Récentes Du Climat Constatées Au Sénégal Sont-Elles En Phase Avec Les Descriptions Données Par Les Scénarios Du GIEC ? Are Recent Climate Variations Observed in Senegal in Conformity with the Descriptions given by the IPCC Scenarios? ARTICLES-Recherches. *Pollut. Atmospherique* **2015**, *227*.
176. ANSD Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD) du Sénégal | «Un centre d'excellence dans un Système statistique national fort» Available online: <https://www.ansd.sn/> (accessed on 9 April 2023).
177. Diallo, A. Changement climatique et migrations humaines au Sénégal : une approche en termes de vulnérabilité du système socio-écologique. phdthesis, Université Grenoble Alpes ; Université Cheikh Anta Diop (Dakar), 2018.
178. U.N Rapport Sur l'état de l'environnement Au Sénégal Available online: <http://www.unep.org/resources/annual-report/rapport-sur-letat-de-lenvironnement-au-senegal> (accessed on 29 January 2024).
179. FAO Rapport Sur Les Ressources En Sols Du Monde Available online: <https://www.fao.org/3/Y3948F/y3948f07.htm> (accessed on 29 January 2024).
180. Robequain, C. La Végétation Du Sénégal. *Ann. Géographie* **1942**, *51*, 293–297.
181. Paterne, M.; Mathieu, G. La Flore Ptéridologique de Quelques Endroits Humides de la Région de Kédougou (Sénégal). *Eur. Sci. J. ESJ* **2017**, *13*, 127–127, doi:10.19044/esj.2017.v13n12p127.
182. Ciss, G. Aires protégées et tourisme au Sénégal. *Espac. Trop.* **2003**, *18*, 609–618.
183. Géographie, climat et parc nationaux au Sénégal et à Saint-Louis du Sénégal. *Bou El Mogdad*.

184. Hane, F. Production des statistiques sanitaires au Sénégal : entre enjeux politiques et jeux d'acteurs. *Santé Publique* **2017**, 29, 879, doi:10.3917/spub.176.0879.
185. Ndiaye, M.; Diop, B.K.; Sow, M.-L. Différences dans la prise en charge de l'asthme associé à la polyposse nasosinusienne : cas de deux patients travaillant dans les secteurs privé et informel sénégalais. *Rev. Fr. Allergol.* **2009**, 49, 175–179, doi:10.1016/j.reval.2009.01.015.
186. Zurn, P.; Codjia, L.; Sall, F.L.; Braichet, J.-M. How to Recruit and Retain Health Workers in Underserved Areas: The Senegalese Experience. *Bull. World Health Organ.* **2010**, 88, 386–389, doi:10.2471/BLT.09.070730.
187. ANSD Note de Conjoncture Socio-Économique Du Sénégal (Enquête L2S) Available online: http://www.ansd.sn/index.php?option=com_ansd&view=titrepublication&id=34&Itemid=299 (accessed on 12 September 2021).
188. Hane, F. Production des statistiques sanitaires au Sénégal : entre enjeux politiques et jeux d'acteurs. *Santé Publique* **2017**, 29, 879, doi:10.3917/spub.176.0879.
189. Dièye, A.M.; Sarr, A.; Diop, S.N.; Ndiaye, M.; Sy, G.Y.; Diarra, M.; Rajraji/Gaffary, I.; Ndiaye/Sy, A.; Faye, B. Medicinal Plants and the Treatment of Diabetes in Senegal: Survey with Patients. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2008**, 22, 211–216, doi:10.1111/j.1472-8206.2007.00563.x.
190. Okaiyeto, K.; Oguntibeju, O.O. African Herbal Medicines: Adverse Effects and Cytotoxic Potentials with Different Therapeutic Applications. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* **2021**, 18, 5988, doi:10.3390/ijerph18115988.
191. Dieye, A.M.; Tidjani, M.A.; Diouf, A.; Bassene, E.; Faye, B. [Senegalese pharmacopoeia: study of acute toxicity and antitussive activity of *Calotropis procera* AIT (Asclepiadaceae)]. *Dakar Med.* **1993**, 38, 69–72.
192. Pousset *Plantes médicinales d'Afrique: comment les reconnaître et les utiliser*; Je choisis le naturel !; SECUM Édisud: [S.I.] Aix-en-Provence, 2004; ISBN 978-2-7449-0432-5.
193. Ly, M.L. MÉDECINE TRADITIONNELLE AU SÉNÉGAL: QUELLES PERSPECTIVES ? Available online: <https://blogs.mediapart.fr/mohamed-lamine-ly/blog/270917/medecine-traditionnelle-au-senegal-quelles-perspectives> (accessed on 17 September 2021).
194. OMS La loi sur la réglementation de la médecine traditionnelle au Sénégal sera soumise à l'Assemblée nationale d'ici la fin de l'année 2016. Available online: <https://www.afro.who.int/fr/news/la-loi-sur-la-reglementation-de-la-medecine-traditionnelle-au-senegal-sera-soumise-lassemblee> (accessed on 29 January 2024).
195. Hermitte, M.-A. La convention sur la diversité biologique. *Annu. Fr. Droit Int.* **1992**, 38, 844–870, doi:10.3406/afdi.1992.3098.
196. Moulin, G.; Monnet, O.; Jacquier, A.; Vidal, V.; Façon, F.; Paris, J.; Aycard-Ayari, L.; Varoquaux, A.; Bartoli, J.M. Urgences cervico-faciales : infections de la sphere ORL. *J. Radiol.* **2005**, 86, 1326, doi:10.1016/S0221-0363(05)75443-3.
197. Mardassi, A.; Mathlouthi, N.; Mezri, S.; Ben Mhamed, R.; Akkari, K.; Benzarti, S. Les manifestations ORL du reflux gastro-oesophagien chez l'adulte. *Ann. Fr. Oto-Rhino-Laryngol. Pathol. Cervico-Faciale* **2014**, 131, A108, doi:10.1016/j.aforl.2014.07.215.
198. Ndao, M.; Thiam, K.; Mbaye, F.B.R.; Sarr, M.F.; Sagne, J.M.A.N.; Dia, S.; Ka, W.; Mbow, A.; Kane, Y.D.; Badiane, N.O.T. Prévalence de certaines manifestations respiratoires dans la région de Dakar : corrélation avec le niveau de particule en suspension fine inférieur à 10 µm (PM10). *Rev. Mal. Respir.* **2018**, 35, A231, doi:10.1016/j.rmr.2017.10.536.

199. Tall, H.; Bah, F.Y.; Nasser, T.; Sambou, A.; Diallo, B.K. Ear, Nose and Throat Disorders in Pediatric Patients at a Rural Hospital in Senegal. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **2017**, *96*, 1–3, doi:10.1016/j.ijporl.2017.02.019.
200. Obakiro, S.B.; Kiprop, A.; Kowino, I.; Kigundu, E.; Odero, M.P.; Omara, T.; Bunalema, L. Ethnobotany, Ethnopharmacology, and Phytochemistry of Traditional Medicinal Plants Used in the Management of Symptoms of Tuberculosis in East Africa: A Systematic Review. *Trop. Med. Health* **2020**, *48*, 68, doi:10.1186/s41182-020-00256-1.
201. Le Grand, A. Les phytothérapies anti-infectieuses de la forêt-savane, senegal (afrique occidentale) III: Un resume des substances phytochimiques et l'activite anti-microbienne de 43 species. *J. Ethnopharmacol.* **1989**, *25*, 315–338, doi:10.1016/0378-8741(89)90037-8.
202. Maynard, G.; Poussot, J.L.; Mboup, S.; Denis, F. [Antibacterial effect of borreverine, an alkaloid isolated from *Borreria verticillata* (Rubiaceae)]. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* **1980**, *174*, 925–928.
203. Diop, E.A.; Queiroz, E.F.; Kicka, S.; Rudaz, S.; Diop, T.; Soldati, T.; Wolfender, J.-L. Survey on Medicinal Plants Traditionally Used in Senegal for the Treatment of Tuberculosis (TB) and Assessment of Their Antimycobacterial Activity. *J. Ethnopharmacol.* **2018**, *216*, 71–78, doi:10.1016/j.jep.2017.12.037.
204. Benoit-Vical, F.; Valentin, A.; Mallié, M.; Bastide, J.-M.; Bessière, J.-M. In Vitro Antimalarial Activity and Cytotoxicity of *Cochlospermum tinctorium* and *C. Planchonii* Leaf Extracts and Essential Oils. *Planta Med.* **1999**, *65*, 378–381, doi:10.1055/s-2006-960794.
205. Benoit-Vical, F.; Soh, P.N.; Saléry, M.; Harguem, L.; Poupat, C.; Nongonierma, R. Evaluation of Senegalese Plants Used in Malaria Treatment: Focus on *Chrozophora senegalensis*. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *116*, 43–48, doi:10.1016/j.jep.2007.10.033.
206. Diatta; Diatta, W.; Fall, A.D.; Dieng, S.I.M.; Mbaye, A.I.; Sarr, A.; Seye, M.B. Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants Used to Treat Human Diseases in the Tivaouane Department, Senegal. *Eur. J. Med. Plants* **2019**, 1–13, doi:10.9734/ejmp/2019/v30i330178.
207. *Zanthoxylum L.* | Plants of the World Online | Kew Science Available online: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:329404-2> (accessed on 13 April 2024).
208. B. Zepernick; F. K. Timler *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick & Timler Comb. Nova (Rutaceae). *Willdenowia* **1981**, *11*, 361–362.
209. Appelhans, M.S.; Reichelt, N.; Groppo, M.; Paetzold, C.; Wen, J. Phylogeny and Biogeography of the Pantropical Genus *Zanthoxylum* and Its Closest Relatives in the Proto-Rutaceae Group (Rutaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **2018**, *126*, 31–44, doi:10.1016/j.ympev.2018.04.013.
210. Okagu, I.; Ndefo, J.; Aham, E.; Udenigwe, C.C. *Zanthoxylum* Species: A Comprehensive Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacological and Nutraceutical Applications. *Molecules* **2021**, *26*, 4023, doi:10.3390/molecules26134023.
211. Guendéhou, F.; Djossa, B.; Kénou, C.; Assogbadjo, C. a. E. Review of Studies On *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.): Availability and Ethnomedical, Phytochemical, Pharmacological Uses. **2018**.
212. Misra, L.N.; Wouatsa, N.A.V.; Kumar, S.; Venkatesh Kumar, R.; Tchoumboungang, F. Antibacterial, Cytotoxic Activities and Chemical Composition of Fruits of Two Cameroonian *Zanthoxylum* Species. *J. Ethnopharmacol.* **2013**, *148*, 74–80, doi:10.1016/j.jep.2013.03.069.

213. Guetchueng, S.T.; Nahar, L.; Ritchie, K.J.; Ismail, F.M.D.; Evans, A.R.; Sarker, S.D. Zanthoamides G-I: Three New Alkamides from *Zanthoxylum Zanthoxyloides*. *Phytochem. Lett.* **2018**, *26*, 125–129, doi:10.1016/j.phytol.2018.05.031.
214. Kerharo; Adam Plantes médicinales et toxiques des Peul et des Toucouleur du Sénégal. *J. Agric. Trop. Bot. Appliquée* **1964**, *11*, 384–444, doi:10.3406/jatba.1964.2785.
215. Kerharo L'aromathérapie et la gemmothérapie dans la pharmacopée sénégalaise traditionnelle. *J. Agric. Tradit. Bot. Appliquée* **1971**, *18*, 109–141, doi:10.3406/jatba.1971.6847.
216. *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timler | Plants of the World Online | Kew Science Available online: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:909846-1> (accessed on 13 April 2024).
217. Kerharo [Senegalese pharmacopoeia: catalog of medicinal and toxic plants of Wolof and Serer, augmented by the mention of common and vernacular names, of properties and uses, generally recognized in traditional medicine]. *Ann. Pharm. Fr.* **1967**, *25*, 385–438.
218. Ouattara, B.; Angenot, L.; Guissou, P.; Fondu, P.; Dubois, J.; Frédérick, M.; Jansen, O.; van Heugen, J.-C.; Wauters, J.-N.; Tits, M. LC/MS/NMR Analysis of Isomeric Divanilloylquinic Acids from the Root Bark of *Fagara Zanthoxyloides* Lam. *Phytochemistry* **2004**, *65*, 1145–1151, doi:10.1016/j.phytochem.2004.02.025.
219. Queiroz, E.; Hay, A.-E.; Chaaib, F.; van Diemen, D.; Diallo, D.; Hostettmann, K. New and Bioactive Aromatic Compounds from *Zanthoxylum Zanthoxyloides*. *Planta Med.* **2006**, *72*, 746–750, doi:10.1055/s-2006-941504.
220. Tine, Y.; Diop, A.; Diatta, W.; Desjobert, J.-M.; Boye, C.S.B.; Costa, J.; Wélé, A.; Paolini, J. Chemical Diversity and Antimicrobial Activity of Volatile Compounds from *Zanthoxylum Zanthoxyloides* Lam. According to Compound Classes, Plant Organs and Senegalese Sample Locations. *Chem. Biodivers.* **2017**, *14*, e1600125, doi:10.1002/cbdv.201600125.
221. Ouedraogo, L.; Fuchs, D.; Schaefer, H.; Kiendrebeogo, M. Morphological and Molecular Characterization of *Zanthoxylum Zanthoxyloides* (Rutaceae) from Burkina Faso. *Plants* **2019**, doi:10.3390/plants8090353.
222. Kyei-Barffour, I.; Kwarkoh, R.K.B.; Arthur, O.D.; Akwetey, S.A.; Acheampong, D.O.; Aboagye, B.; Brah, A.S.; Amponsah, I.K.; Adokoh, C.K. Alkaloidal Extract from *Zanthoxylum Zanthoxyloides* Stimulates Insulin Secretion in Normoglycemic and Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Heliyon* **2021**, *7*, e07452, doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07452.
223. Messmer, W.M.; Tin-wa, M.; Fong, H.H.S.; Bevelle, C.; Farnsworth, N.R.; Abraham, D.J.; Trojánek, J. Fagaronine, a New Tumor Inhibitor Isolated from *Fagara Zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). *J. Pharm. Sci.* **1972**, *61*, 1858–1859, doi:10.1002/jps.2600611145.
224. Dofuor, A.K.; Ayertey, F.; Bolah, P.; Djameh, G.I.; Kyeremeh, K.; Ohashi, M.; Okine, L.K.; Gwira, T.M. Isolation and Antitrypanosomal Characterization of Furoquinoline and Oxylipin from *Zanthoxylum Zanthoxyloides*. *Biomolecules* **2020**, *10*, E1670, doi:10.3390/biom10121670.
225. PubChem PubChem: LOTUS - the Natural Products Occurrence Database: *Zanthoxylum Zanthoxyloides* Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed on 18 March 2024).
226. Benages, I.A.; de Juarez, M.E.A.; Albonico, S.M.; Urzua, A.; Cassels, B.K. Alkaloids from *Fagara Mayu* Bark. *Phytochemistry* **1974**, *13*, 2891–2892, doi:10.1016/0031-9422(74)80274-8.

227. Barret, Y.; Sauvaire, Y. Fagaronine, a Novel Antileukaemic Alkaloid. *Phytother. Res.* **1992**, *6*, 59–63, doi:10.1002/ptr.2650060202.
228. Couillerot, E.; Caron, C.; Comoe, L.; Audran, J.-C.; Molinatti, P.; Zeches, M.; Le Men-Olivier, L.; Jardillier, J.-C.; Chenieux, J.-C. Benzophenanthridine and Furoquinoline Accumulation in Cell Suspension Cultures of *Fagara Zanthoxyloides*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 425–428, doi:10.1016/0031-9422(94)85072-0.
229. Tavares, L. de C.; Zanon, G.; Weber, A.D.; Neto, A.T.; Mostardeiro, C.P.; Da Cruz, I.B.M.; Oliveira, R.M.; Ilha, V.; Dalcol, I.I.; Morel, A.F. Structure-Activity Relationship of Benzophenanthridine Alkaloids from *Zanthoxylum Rhoifolium* Having Antimicrobial Activity. *PloS One* **2014**, *9*, e97000, doi:10.1371/journal.pone.0097000.
230. Ouattara, B.; Jansen, O.; Angenot, L.; Guissou, I.P.; Frédérich, M.; Fondu, P.; Tits, M. Antisickling Properties of Divanilloylquinic Acids Isolated from *Fagara Zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae). *Phytomedicine* **2009**, *16*, 125–129, doi:10.1016/j.phymed.2008.10.013.
231. Chruma, J.J.; Cullen, D.J.; Bowman, L.; Toy, P.H. Polyunsaturated Fatty Acid Amides from the *Zanthoxylum* Genus – from Culinary Curiosities to Probes for Chemical Biology. *Nat. Prod. Rep.* **2018**, *35*, 54–74, doi:10.1039/c7np00044h.
232. Dofuor, A.K.; Kwain, S.; Osei, E.; Mawuli Tetevi, G.; Okine, L.K.; Ohashi, M.; Gwira, T.M.; Kyeremeh, K. N-(Isobutyl)-3,4-Methylenedioxy Cinnamoyl Amide. *Molbank* **2019**, *2019*, M1070, doi:10.3390/M1070.
233. Moura, N.F. de; Morel, A.F.; Dessoy, E.C.; Zanatta, N.; Bürger, M.M.; Ahlert, N.; Porto, G.P.; Baldisserotto, B. Alkaloids, Amides and Antispasmodic Activity of *Zanthoxylum hyemale*. *Planta Med.* **2002**, *68*, 534–538, doi:10.1055/s-2002-32550.
234. Tine, Y.; DIALLO, A.; NDOYE, I.; Yang, Y.; RENUCCI, F.; Sylla Gueye, R.; Balde, M.; Diedhiou, A.; Fall, D.; Seck, M.; et al. The Flavonoid Compounds from *Zanthoxylum Leprieurii* Guill. et Perr (Rutaceae) Extracts and Their Antioxidant Activity against ABTS•+. *J. Drug Deliv. Ther.* **2020**, *10*, 120–124, doi:10.22270/jddt.v10i2-s.4010.
235. Fu, Y.-H.; Guo, J.-M.; Xie, Y.-T.; Hua, J.; Dai, Y.-Y.; Zhang, W.; Lin, T.-C.; Liu, Y.-P. Structural Characterization, Antiproliferative and Anti-Inflammatory Activities of Alkaloids from the Roots of *Zanthoxylum Austrosinense*. *Bioorganic Chem.* **2020**, *102*, 104101, doi:10.1016/j.bioorg.2020.104101.
236. Ogunbolude, Y.; Ibrahim, M.; Elekofehinti, O.O.; Adeniran, A.; Abolaji, A.O.; Rocha, J.B.T.; Kamdem, J.P. Effects of *Tapinanthus Globiferus* and *Zanthoxylum Zanthoxyloides* Extracts on Human Leukocytes in Vitro. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* **2014**, *3*, 167–172, doi:10.5455/jice.20140826110059.
237. *Terminalia* L. | Plants of the World Online | Kew Science Available online: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:7215-1> (accessed on 13 April 2024).
238. Friis, I.; Demissew, S. *Terminalia* (Combretaceae) in Northern Tropical Africa: Priority and Typification of *T. Schimperiana* and *T. Glaucescens*; Typification of Other Synonyms of *T. Schimperiana* and of *T. Avicennioides*. *TAXON* **2020**, *69*, 372–380, doi:10.1002/tax.12181.
239. *Terminalia Avicennioides* Guill. & Perr. | Plants of the World Online | Kew Science Available online: <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:170970-1> (accessed on 13 April 2024).
240. *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr. (Flore mondiale) Available online: [https://identify.plantnet.org/fr/k-world-flora/species/Terminalia avicennioides Guill. & Perr./data](https://identify.plantnet.org/fr/k-world-flora/species/Terminalia%20avicennioides%20Guill.%20&%20Perr./data) (accessed on 13 April 2024).

241. West African Plants - A Photo Guide - Terminalia Avicennioides Guill. & Perr. Available online: http://www.westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page_id=14&id=1560 (accessed on 13 April 2024).
242. Adewumi, S.S.; Akinpelu, B.A.; Akinpelu, D.A.; Aiyegoro, O.A.; Alayande, K.A.; Agunbiade, M.O. Studies on Wound Healing Potentials of the Leaf Extract of Terminalia Avicennioides (Guill. & Perr.) on Wistar Rats. *South Afr. J. Bot.* **2020**, *133*, 285–297, doi:10.1016/j.sajb.2020.07.039.
243. Mann, A.; Ibrahim, K.; O. Oyewale, A.; O. Amupitan, J.; O. Fatope, M.; I. Okogun, J. Isolation and Elucidation of Three Triterpenoids and Its **Antimycobacterial Activity** of Terminalia Avicennioides. *Am. J. Org. Chem.* **2012**, *2*, 14–20, doi:10.5923/j.ajoc.20120202.03.
244. Mann, A.; Ibrahim, K.; Oyewale, A.O.; Amupitan, J.O.; Fatope, M.O.; Okogun, J.I. Antimycobacterial Friedelane-Terpenoid from the Root Bark of Terminalia Avicennioides. *Am. J. Chem.* **2012**, *1*, 52–55, doi:10.5923/j.chemistry.20110102.11.
245. Shuaibu, M.N.; Wuyep, P.T.A.; Yanagi, T.; Hirayama, K.; Ichinose, A.; Tanaka, T.; Kouno, I. Trypanocidal Activity of Extracts and Compounds from the Stem Bark of Anogeissus Leiocarpus and Terminalia Avicennioides. *Parasitol. Res.* **2008**, *102*, 697–703, doi:10.1007/s00436-007-0815-1.
246. Omonkhua, A.A.; Cyril-Olutayo, M.C.; Akanbi, O.M.; Adebayo, O.A. Antimalarial, Hematological, and Antioxidant Effects of Methanolic Extract of Terminalia Avicennioides in Plasmodium Berghei-Infected Mice. *Parasitol. Res.* **2013**, *112*, 3497–3503, doi:10.1007/s00436-013-3530-0.
247. Salau, A.; Yakubu, M.; Oladiji, A. Hepatoprotective Effects of Aqueous Root Bark Extracts of Anogeissus Leiocarpus, Terminalia Avicennioides, and Their Mixture in Diethylnitrosamine-Treated Rats. *Drug Dev. Ther.* **2015**, *6*, 93, doi:10.4103/2394-6555.162454.
248. Akanbi, O.M. In Vivo Study of Antiplasmodial Activity of Terminalia Avicennioides and Its Effect on Lipid Profile and Oxidative Stress in Mice Infected with Plasmodium Berghei. *Microbiol. Res. J. Int.* **2013**, 501–512, doi:10.9734/BMRJ/2013/3680.
249. Ugochukwu, A.E.; John, D.E.; Amin, A.F.; Chidi, E.; Nwobodo, N.N.; Ogbonna, O.R.; Peter, O.I.; Nnamdi, E.I. Bacteriostatic and Bactericidal Effects of Ethyl Acetate Root Bark Extract of Terminalia Avicennioides on Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. *Afr. J. Biochem. Res.* **2018**, *12*, 45–54, doi:10.5897/AJBR2017.0981.
250. Salau, A.; Yakubu, M.; Oladiji, A. Cytotoxic Activity of Aqueous Extracts of Anogeissus Leiocarpus and Terminalia Avicennioides Root Barks against Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. *Indian J. Pharmacol.* **2013**, *45*, 381, doi:10.4103/0253-7613.115023.
251. Okpoko, C.; Ezenyi, I.; Adzu, B.; Salawu, O. Evaluation of Two Medicinal Plants Used for Arthritis in Northern Nigeria with Focus on Terminalia Avicennioides Guill. & Perr. and Its Mechanism of Action. *Sci. Afr.* **2020**, *8*, e00357, doi:10.1016/j.sciaf.2020.e00357.
252. Malhotra, R.; Rarhi, C.; Diveshkumar, K.V.; Barik, R.; D’cunha, R.; Dhar, P.; Kundu, M.; Chattopadhyay, S.; Roy, S.; Basu, S.; et al. Dihydrochelerythrine and Its Derivatives: Synthesis and Their Application as Potential G-Quadruplex DNA Stabilizing Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 2887–2896, doi:10.1016/j.bmc.2016.04.059.

ANNEXES

Annexe A

Antibacterial and anti-coronavirus investigation of selected Senegalese plant species according to an ethnobotanical survey

Contient :

Fiche d'enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales de la sphère ORL au Sénégal

Table S1 : Activité antimicrobienne (CMI en mg/mL) des extraits bruts méthanoliques des différents échantillons de plantes

Table S2 : Activité antimicrobienne (CMI en mg/mL) des sous-extraits des espèces végétales les plus actives

Figure S1. Relation entre les familles botaniques et les maladies citées par les informateurs (toux, grippe, rhume, sinusite, angine, asthme et otite).

Fiche d'enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales de la sphère ORL au Sénégal

DATE ET LIEU :

N° :

PERSONNE ENQUETEE :

Age : ... Sexe : M ☐ F ☐ Ancienneté (ans) : ☐
Niveau d'étude : 1- Primaire ☐ 2- Secondaire ☐ 3- Universitaire ☐
4- École coranique ☐ 5- Aucun ☐ 6- Autre ☐

Activité socio-professionnelle :

Si TRADIPRATICIEN : nombre de malade par mois : < 100 ☐ ; 100-200 ☐ ; >200 ☐

Comment avez-vous connu les plantes ?

Par apprentissage ☐ Par ambition ☐ Par révélation ☐
Par expérience acquise après un traitement reçu ☐ Autre ☐

NOMS VERNACULAIRES DE LA PLANTE :

Peul : wolof : diola : sérère :
Français :

Classification Latine :

Famille :

DESCRIPTION :

Taille : arbre ☐ arbuste ☐ herbacé ☐ liane ☐ autre ☐

Partie utilisée : Feuilles ☐ Fruits ☐ Racines ☐ Écorce de tronc ☐ Écorce de racine ☐
Tiges ☐ Huile ☐ Plante entière ☐ Autre ☐

Dans quel état : Sèche ☐ Fraiche ☐

Organoleptique :

COLLECTE :

Moment de la journée ... De l'année En fleur
Région : ... Forêt ou zone : Autre :

INDICATION :

PREPARATION :

Écrasée fraîche à la main ☐ Broyée sèche au mortier ☐ Crue ☐ Cuite ☐
Macéré ☐ Infusion ☐ Décoction ☐ Quantité/litre :

ADMINISTRATION :

Voie orale ☐ Application externe ☐ Ablution ☐

Posologie : Horaire : Concentration de l'extrait :

Age : Sexe : Durée du traitement :

TOXICITE :

Existe-t-il des précautions à prendre lors du traitement ? (Interdictions/Recommandations)

☐ Oui. **Attention à**
☐ Non ☐ Ne sait pas

Table S1: Antimicrobial activity (MIC in mg/mL) of the methanolic crude extracts of the different plant samples: *Piliostigma reticulatum* (PR), *Combretum glutinosum* (CG), *Guiera senegalensis* (GS), *Spermacoce verticillata* (SV), *Bauhinia rufescens* (BR), *Vachellia nilotica* subsp. *tomentosa* (VN), *Balanites aegytiaca* (BA), *Mitragyna inermis* (MI), *Ficus sycomorus* (FS), *Khaya senegalensis* (KS), *Chrozophora senegalensis* (CS), *Strychnos spinosa* (Sspinosa), *Senna occidentalis* (SO), *Terminalia avicennioides* (TA), *Eucalyptus camaldulensis* (EC), *Terminalia leiocarpa* (TL), *Hibiscus sabdariffa* (HS), *Combretum micranthum* (CM), *Senna italica* (SI), *Vachellia seyal* (VS), *Ficus sur* (FSu), *Cochlospermum tinctorium* (CT), *Boscia senegalensis* (BS), *Pterocarpus erinaceus* (PE) and some antibiotics (Gentamicin (GEN), Vancomycin (VAN), Amoxicillin (AMX) and antifungal agents (Amphotericin B (AMB), Fluconazole (FLC), Sertaconazole (SER), MIC (in µg/mL)).

Plant parts: L: Leaf; R: Root; Rb: Root Bark; Tb: Trunk Bark; S: Stem; P: Pod; C: Calyces. Nd = Not determined (the strain did not grow); (-) = not active at 0.6 mg/mL; (n = 2 or n = 3)

MIC in mg/mL																				
Strains	PRL	PRTb	CGL	GSL	SVL	SVS	BRL	BRG	BRTb	VNP	BATb	MIL	FSL	FSTb	KSTb	CS	Sspinosa	SOL	SOS	SOG
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.3	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.6	0.6	0.3	0.075	-	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.6	-	-	-
Gram-positive																				
<i>Enterococcus faecalis</i> C159-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i> sp. 8153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	-	0.6	0.6	0.6	-	0.6	-	-	0.6	0.15	-	-	-	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	0.6	0.6	0.6	-	0.6	-	-	0.6	0.15	-	0.6	-	-	0.6	0.6	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	-	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	-	-	0.6	0.15	-	-	-	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	-	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	0.6	0.15	-	0.6	-	-	-	0.6	-	-	-	-
<i>Staphylococcus warneri</i> T12A12	-	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	0.15	-	-	-	-	0.6	0.6	0.3	-	-	-
<i>Staphylococcus warneri</i> T26A1	-	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.15	-	0.6	-	0.6	0.3	0.6	0.6	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T19A1	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.6	0.6	0.15	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T21A5	0.6	0.6	0.3	0.3	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.15	-	-	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> T47A6	0.6	0.3	0.3	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.3	0.075	-	0.6	0.6	0.6	0.3	0.3	0.6	-	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i> T38.2	-	-	0.3	0.3	0.6	-	-	-	0.6	0.15	-	-	-	-	-	0.6	0.6	-	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i> T53C9	-	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.6	0.3	0.15	0.15	0.075	0.15	0.15	0.6	0.3	0.3	-	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.075	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	-	0.3	0.15	0.6	0.3	0.6	0.6	-	0.6	0.3	-	0.6	-	0.6	0.6	-	0.075	-	-	-
Gram-negative																				
<i>Citrobacter freundii</i> 11041	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	-	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.15	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	-	0.6	0.3	0.3	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.15	-	0.6	-	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i> 10.33	-	-	0.3	-	0.6	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> T20A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> 8138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> 11060	-	-	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.15	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> T28-3	-	-	0.3	0.3	0.6	0.6	-	-	-	0.15	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	-	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	0.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.15	0.3	0.15	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.075	-	0.3	0.6	0.6	0.3	0.3	0.6	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.6	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.6	0.3	0.3	0.15	-	0.3	-	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-
<i>Salmonella</i> sp. 11033	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yeasts																				
<i>Candida albicans</i> 10286	0.3	0.3	0.3	0.15	0.6	0.6	0.3	0.6	-	0.075	-	0.3	-	-	-	0.3	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	0.6	0.3	0.6	-	0.6	0.6	-	0.15	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-

Table S1 (continued)

Strains	MIC in mg/mL													Antibiotic MICs (µg/mL)		
	TAL	TAR	TARb	ECL	TLL	CMR	VSTb	FSuR	CTR	PETb	HSC	SIL	BSL	GEN	VAN	AMX
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	-	-	0.15	0.3	0.3	0.15	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.03	1	0.25
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.3	0.3	0.15	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.03	1	0.25
Gram-positive																
<i>Enterococcus faecalis</i> C159-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0.5	64
<i>Enterococcus</i> sp. 8153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4	2
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	-	-	0.075	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.5	2	4
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.3	0.6	-	-	-	-	-	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.3	0.6	0.3	-	0.6	0.6	0.3	-	-	-	-	-	-	0.25	2	0.125
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	0.3	0.3	0.3	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.5	2	16
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	0.3	0.6	0.3	0.075	0.6	0.15	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.5	2	1
<i>Staphylococcus warneri</i> T12A12	0.3	0.6	0.3	0.15	0.3	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.06	2	0.25
<i>Staphylococcus warneri</i> T26A1	0.3	0.3	0.3	-	-	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.06	2	0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T19A1	0.3	0.3	0.3	0.15	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	32	2	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T21A5	0.3	0.3	0.3	0.15	0.6	0.3	0.15	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.06	2	16
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> T47A6	0.3	0.3	0.15	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.06	2	0.25
<i>Streptococcus agalactiae</i> T38.2	0.3	0.3	0.3	0.6	-	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-	2	0.5	0.06
<i>Streptococcus agalactiae</i> T53C9	-	-	-	0.075	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	1	0.5	0.03
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.075	-	0.6	0.075	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.125	0.25	0.03
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	0.3	-	-	0.075	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.125	0.25	0.03
Gram-negative																
<i>Citrobacter freundii</i> 11041	-	-	-	0.6	-	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	0.25	> 64	2
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	0.3	0.6	0.3	-	-	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.25	16	0.5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.3	0.3	0.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	16	2
<i>Burkholderia cepacia</i> 10.33	0.6	0.6	0.6	0.075	0.6	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.25	16	0.25
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	0.6	0.3	0.3	0.15	0.6	0.6	-	-	-	-	0.5	> 64	> 64
<i>Escherichia coli</i> T20A1	-	-	-	-	-	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	0.25	> 64	> 64
<i>Escherichia coli</i> 8138	-	-	-	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	0.5	> 64	> 64
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	0.075	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.5	> 64	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	0.3	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-	-	0.25	> 64	> 64
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	0.075	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	8	> 64	> 64
<i>Proteus mirabilis</i> 11060	0.3	0.6	0.3	0.075	0.6	0.6	-	-	-	-	-	-	-	0.5	> 64	2
<i>Proteus mirabilis</i> T28-3	0.3	0.6	0.3	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	0.5	> 64	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	0.3	0.6	0.3	0.15	0.6	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	1	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.15	0.15	0.15	0.3	0.3	0.15	0.3	0.6	0.6	0.6	-	-	-	2	> 64	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.15	0.3	0.15	0.3	0.3	0.15	0.6	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.03	> 64	> 64
<i>Salmonella</i> sp. 11033	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	0.25	> 64	2
Yeasts														AMB	FLC	SER
<i>Candida albicans</i> 10286	-	0.15	0.15	0.15	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	4	32	> 64
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.6	0.15	0.3	0.075	0.6	0.3	0.15	0.6	0.6	0.6	-	-	-	0.5	8	64

Table S2: Antimicrobial activity (MIC in mg/mL) of the sub-extracts of the most active plant species (n = 2 or n = 3); Nd = Not determined (the strain did not grow); (-) = not active at 0.6 mg/mL.

Strains	MIC in mg/mL																			
	<i>Terminalia avicennioides</i> (leaves)					<i>Terminalia avicennioides</i> (roots)					<i>Terminalia avicennioides</i> (root bark)					<i>Combretum glutinosum</i> (leaves)				
	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous
<i>Mycobacterium smegmatis</i> 5003	-	0.6	0.6	0.15	0.6	-	-	-	0.15	0.6	-	-	-	0.15	0.3	-	-	0.3	0.15	0.15
<i>Corynebacterium striatum</i> T40A3	0.3	-	0.075	0.3	-	0.3	-	-	0.6	0.6	0.15	-	-	-	0.6	0.15	0.3	0.15	0.3	0.3
Gram-positive																				
<i>Enterococcus faecalis</i> C159-6	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.6	-
<i>Enterococcus</i> sp. 8153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 8146	-	-	-	0.3	0.6	-	-	-	0.6	0.6	-	-	-	0.6	0.6	0.6	-	0.6	0.3	0.6
<i>Staphylococcus aureus</i> 8241	0.6	-	0.6	0.15	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.15	0.6	0.6	-	0.6	0.15	0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.6	0.6	0.3	-	-	0.6	0.6	0.6	-	0.6	0.3	0.6
<i>Staphylococcus aureus</i> T28-1	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6	-	0.6	0.15	0.3
<i>Staphylococcus aureus</i> T17-4	0.3	0.6	-	0.15	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6	0.3	-	0.6	0.15	0.3
<i>Staphylococcus warneri</i> T12A12	0.3	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	0.3	0.3	0.15	0.3
<i>Staphylococcus warneri</i> T26A1	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	0.6	0.15	0.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T19A1	0.3	-	0.6	0.15	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6	0.3	-	-	0.15	0.3	0.3	-	0.6	0.15	0.15
<i>Staphylococcus epidermidis</i> T21A5	0.3	-	0.6	0.15	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.3	0.3	-	0.6	0.15	0.15
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> T47A6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.15	-	-	0.3	0.6	0.3	-	0.6	0.15	0.3
<i>Streptococcus agalactiae</i> T38.2	0.3	-	0.075	0.3	0.6	0.3	-	-	0.6	-	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.15	0.3
<i>Streptococcus agalactiae</i> T53C9	-	0.6	0.075	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.6	0.6	0.15	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16138	0.075	0.0375	0.0375	0.15	-	-	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	0.6	0.15	0.0375	0.0375	0.15	-
<i>Streptococcus pyogenes</i> 16135	0.3	0.15	0.0375	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.15	0.0375	0.0375	0.15	-
Gram negative																				
<i>Citrobacter freundii</i> 11041	-	-	-	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.6	-	0.3	0.6	0.3	-
<i>Acinetobacter baumannii</i> 9010	0.3	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 21170	0.3	0.6	0.6	0.15	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6	0.15	-	-	0.15	0.3	0.3	-	0.3	0.15	0.15
<i>Burkholderia cepacia</i> 10.33	0.6	0.6	-	0.3	-	0.6	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.15	0.6	0.3	0.0375	0.0375	0.15	0.6
<i>Enterobacter aerogenes</i> 9004	-	-	-	0.6	-	-	-	-	0.6	0.6	-	-	-	-	0.6	-	-	-	0.6	0.6
<i>Escherichia coli</i> T20A1	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> 8138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 11016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 10270	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> 11060	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	0.6	0.15	0.3
<i>Proteus mirabilis</i> T28-3	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.3	-	0.6	0.15	0.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8131	0.3	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	0.6	0.6	0.3	-	-	0.6	0.6	0.3	-	-	0.15	0.6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 20.07583	0.15	-	-	0.3	-	0.15	-	-	0.3	0.6	0.15	-	-	0.3	0.6	0.15	-	-	0.15	0.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 8129	0.15	-	-	0.15	0.6	0.3	-	-	0.3	0.6	0.15	-	-	0.3	0.6	0.3	-	-	0.15	0.3
<i>Salmonella</i> sp. 11033	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yeasts																				
<i>Candida albicans</i> 10286	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0.15	Nd	Nd	Nd	Nd	0.15	Nd	Nd	Nd	Nd	0.3	Nd	Nd	Nd	Nd
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0.6	-	0.6	0.15	0.6	0.15	-	-	0.15	0.6	0.3	-	-	0.15	0.3	0.6	-	0.6	0.15	0.15

Table S2 (continued)

MIC in mg/mL																
Strains	Guiera senegalensis (leaves)					Vachellia nilotica subsp. tomentosa (pods)						Eucalyptus camaldulensis (leaves)				
	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous	VNP* (Free of tannins)	MeOH	Cyclohexane	DCM	EtOAc	Aqueous
Mycobacterium smegmatis 5003	-	0.6	0.3	0.0375	0.15	0.6	0.3	0.15	0.075	0.3	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Corynebacterium striatum T40A3	0.3	-	0.3	0.3	0.6	0.075	0.6	0.3	0.3	0.6	0.3	0.075	0.0375	0.075	0.6	-
Gram-positive																
Enterococcus faecalis C159-6	-	-	-	0.6	-	0.6	0.3	-	0.3	-	0.6	0.15	0.0375	0.3	0.6	-
Enterococcus sp. 8153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	-	-
Staphylococcus aureus 8146	0.6	-	0.3	0.3	0.6	0.6	0.6	0.6	0.15	0.6	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-
Staphylococcus aureus 8241	0.6	0.6	0.3	0.075	0.15	0.15	0.3	0.3	0.075	0.3	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-
Staphylococcus aureus ATCC 6538	0.6	-	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.6	0.15	0.6	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-
Staphylococcus aureus T28-1	0.3	-	0.3	0.075	0.3	0.15	0.6	0.3	0.15	0.3	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-
Staphylococcus aureus T17-4	0.6	-	0.3	0.075	0.3	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.15	0.0375	0.3	0.3	-
Staphylococcus warneri T12A12	0.3	-	0.3	0.075	0.3	0.15	0.6	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.3	0.6
Staphylococcus warneri T26A1	0.3	-	0.3	0.075	0.3	0.15	0.6	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.15	-	0.3	0.6
Staphylococcus epidermidis T19A1	0.3	0.6	0.15	0.0375	0.15	0.15	0.3	0.3	0.075	0.3	0.15	0.075	0.0375	0.15	0.15	0.3
Staphylococcus epidermidis T21A5	0.3	0.6	0.3	0.0375	0.15	0.15	0.3	0.3	0.15	0.3	0.15	0.0375	0.0375	0.0375	0.15	0.3
Staphylococcus pettenkoferi T47A6	0.6	-	0.3	0.075	0.3	0.075	0.6	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.15	0.6
Streptococcus agalactiae T38.2	0.3	-	0.3	0.3	0.3	0.15	0.6	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.15	-	0.3	-
Streptococcus agalactiae T53C9	-	-	0.3	0.3	-	0.6	0.6	-	0.3	0.6	0.3	0.3	0.15	0.075	0.6	-
Streptococcus pyogenes 16138	0.15	0.6	0.0375	0.3	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.6	0.3	0.075	0.0375	0.0375	0.3	-
Streptococcus pyogenes 16135	0.6	0.6	0.0375	0.3	-	0.3	0.6	0.3	0.3	0.6	0.3	0.075	0.0375	0.0375	0.3	-
Gram negative																
Citrobacter freundii 11041	0.6	-	-	0.3	0.6	0.6	0.6	-	0.3	0.6	0.3	-	-	-	0.3	-
Acinetobacter baumannii 9010	0.6	0.6	0.3	0.15	0.3	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.6	-	-	0.15	0.6
Stenotrophomonas maltophilia 21170	0.3	0.6	0.3	0.075	0.15	0.15	0.3	0.15	0.15	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.15	0.15
Burkholderia cepacia 10,33	-	0.6	0.3	0.15	0.6	0.3	0.6	0.6	0.3	0.6	0.6	0.075	0.0375	0.15	0.6	-
Enterobacter aerogenes 9004	-	-	-	0.3	0.6	0.6	0.6	-	0.3	0.6	0.3	-	-	-	0.6	-
Escherichia coli T20A1	-	-	-	0.3	-	0.6	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-
Escherichia coli 8138	-	-	-	0.6	-	0.6	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	0.6	-	0.6	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae 11016	-	-	-	0.6	-	-	-	-	0.6	-	0.6	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae 10270	-	-	-	0.3	-	0.6	-	-	0.6	0.6	0.6	-	-	-	-	-
Proteus mirabilis 11060	0.6	-	0.6	0.075	0.3	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.6	-	-	0.3	0.6
Proteus mirabilis T28-3	0.3	-	0.6	0.075	0.3	0.15	0.3	0.6	0.15	0.3	0.3	0.6	-	-	0.3	-
Pseudomonas aeruginosa 8131	0.6	-	-	0.3	0.6	0.15	-	0.6	0.3	0.6	0.3	-	-	-	0.3	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 20.07583	0.3	-	-	0.3	0.3	0.075	0.3	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.6	-	0.15	0.15
Pseudomonas aeruginosa 8129	0.3	-	0.6	0.075	0.3	0.15	0.3	0.3	0.15	0.3	0.15	0.6	0.6	-	0.15	0.3
Salmonella sp. 11033	-	-	-	0.3	-	0.6	-	-	0.3	0.6	0.6	-	-	-	0.6	-
Yeast																
Candida albicans 10286	0.15	Nd	Nd	Nd	Nd	0.075	Nd	Nd	Nd	Nd	0.3	0.15	0.0375	0.15	0.15	-
Candida albicans ATCC 10231	0.3	-	0.3	0.0375	0.15	0.15	0.3	0.15	0.075	0.3	0.15	0.075	0.0375	0.15	0.15	-

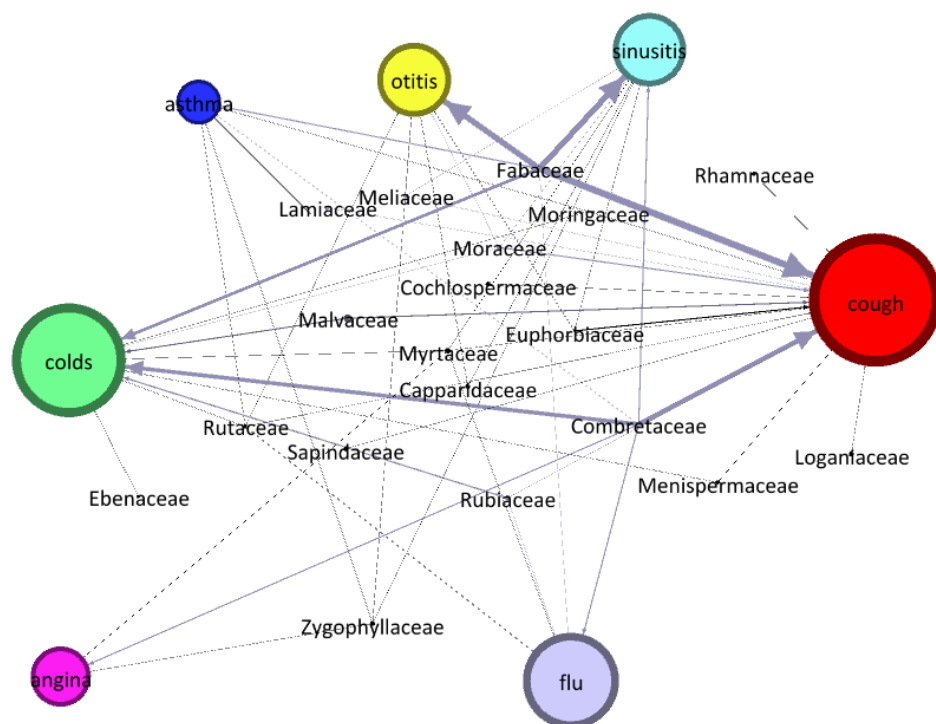


Figure S1. Relationship between botanical families and the diseases cited by informants (cough, flu, cold, sinusitis, angina, asthma, and otitis). Seven colors are assigned to each disease. The size of circles and lines are proportional to the fidelity level. Made with Gephi version 0.10.1 202301172018.

Annexe B

Supporting information

Antiparasitic Activities of Plants From the Traditional Senegalese Pharmacopoeia and Isolation of Antitrypanosomal and Antileishmanial Compounds From *Terminalia avicennioides*

Content:

Table S1. The different harvested plants presented in descending order of citation in the ethnobotanical survey.

Figure S1. Chromatographic profiles of ethyl acetate sub-extracts of (A) root, (B) roots bark, and (C) leaves of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S2. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S2. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots.

Figure S3. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots bark at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S3. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots bark.

Figure S4. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S4. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves.

Figure S5. Chromatographic profiles of the dichloromethane and cyclohexane sub-extracts of (A, B) leaves, (C, D) root and (E, F) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S6. Chromatographic profiles of the cyclohexane sub-extracts of (A) leaves, (B) root and (C) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S7. Chromatographic profiles of the dichloromethane sub-extracts of (A) leaves, (B) root and (C) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S8. Chromatographic profiles of the (A) cyclohexane and (B) dichloromethane sub-extracts of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S9. Chromatographic profile of dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S5. UHPLC-UV-MS data of the dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves.

Figure S10. The base peak intensity (BPI) chromatogram of the cyclohexane sub-extract of *T. avicennioides* leaves in positive ion mode obtained by HR-EIS-MS/MS

Figure S11. The base peak intensity (BPI) chromatogram of the dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves in positive ion mode obtained by HR-EIS-MS/MS

Figure S10. Chromatographic profiles of the (A) dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves, and isolated compounds (B) 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (2), (C) hexamethylcoruleoellagic acid (4), (D) 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*,*O*-methylidene flavellagic acid (3), and (E) pentamethylflavellagic acid (5) at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Figure S11. UV spectrum of 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (2)

Figure S12. UV spectrum of 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*,*O*-methylidene flavellagic acid (3)

Figure S13. UV spectrum of hexamethylcoruleoellagic acid (4)

Figure S14. UV spectrum of pentamethylflavellagic acid (5)

Table S1. The different harvested plants presented in descending order of citation in the ethnobotanical survey.

Scientific name	Botanical family	Harvest ed parts	Voucher specimen number	Environment	Collection date	GPS coordinates/ or location
<i>Guiera senegalensis</i> J.F.Gmel.	Combretaceae	L	BA04	savannah	02/23/2021	16°03'29.6''N 14°04'23.6''W
<i>Combretum glutinosum</i> Perr. Ex DC.	Combretaceae	L	BA05	savannah	02/23/2021	16°03'58.6''N 14°04'52.6''W
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.	Myrtaceae	L	BA14	forest	12/10/2021	14°43'34''N 17°26'02''W
<i>Vachellia nilotica</i> subsp. tomentosa (Benth.) Kyal. & Boatwr (syn. <i>Acacia nilotica</i> var tomentosa (L.) Delile)	Fabaceae	P	BA07	steppe	02/24/2021	16°10'34.1''N 13°58'04.9''W
<i>Senna occidentalis</i> (L.) Link (syn. <i>Cassia occidentalis</i> L.)	Fabaceae	F, S, P	BA09	savannah	02/26/2021	14°41.622'N 17°26.6436' W
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst. (syn. <i>Bauhinia reticulata</i> DC.)	Fabaceae	L, Tb	BA03	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6''N 13°57'59.2''W
<i>Terminalia leiocarpa</i> Baill. (syn. <i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. & Perr.)	Combretaceae	L	BA12	forest	12/22/2021	14°10'52''N 15°55'02''W
<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Delile	Zygophyllaceae	Tb	BA27	steppe	02/25/2021	16°11'50.6''N 13°57'34.2''W
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Malvaceae	C	BA22	hibiscus field	12/01/2021	16°10'50.1''N 13°57'59.2''W
<i>Combretum micranthum</i> G. Don	Combretaceae	R	BA13	savannah	12/17/2021	16°03'31.6''N 14°04'52.6''W
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	Combretaceae	L, R, Rb	BA11	forest	June 2020, March 2021, and December 2021	12° 34' 47''N 16°17' 2''W
<i>Senna italica</i> Mill.	Fabaceae	L	BA15	forest	12/22/2021	14°10'49''N 15°55'22''W
<i>Vachellia seyal</i> (Delile) P.J.H.Hurter (syn. <i>Acacia seyal</i> Delile)	Fabaceae	Tb	BA16	steppe	12/16/2021	16°10'12.3''N 13°58'33.9''W
<i>Khaya senegalensis</i> (Desv.) A.Juss.	Meliaceae	Tb	BA23	in the arteries of the city of Dakar	03/20/2021	14°41'.62''N 17°26'64'' W
<i>Ficus sur</i> Forssk. (syn. <i>Ficus capensis</i> Thunb.)	Moraceae	R	BA24	forest	12/22/2021	14°10'50''N 15°55'25''W
<i>Ficus sycomorus</i> L.	Moraceae	L, Tb	BA10	on the banks of the Doué river/clay soil	02/27/2021	16°12'6.3''N 14°1'36.6''W
<i>Bauhinia rufescens</i> Lam.	Fabaceae	L, Tb, P	BA02	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'52.6''N 13°57'57.5''W
<i>Chrozophora senegalensis</i> (Lam.) Spreng.	Euphorbiaceae	Wp	BA01	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6''N 13°57'59.2''W
<i>Cochlospermum tinctorium</i> Perrier ex A. Rich.	Cochlospermaceae	R	BA19	forest	12/25/2021	14°10'58''N 15°55'09''W
<i>Boscia integrifolia</i> J.St.-Hil. (syn. <i>Boscia senegalensis</i> Hochst. ex Walp.)	Capparaceae	L	BA18	savannah	12/18/2021	16°11'49.5''N 13°57'30.3''W
<i>Mitragyna inermis</i> (Willd.) Kuntze	Rubiaceae	L	BA06	savannah/ at the edge of a pond	02/23/2021	16°04'19.6''N 14°06'34.8''W
<i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir.	Fabaceae	Tb	BA17	savannah	12/22/2021	14°10'18''N 15°35'23''W
<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	Loganiaceae	L	BA20	savannah	03/20/2021	14°10'18''N 15°35'23''W
<i>Spermacoce verticillata</i> L. (syn. <i>Borreria verticillata</i>)	Rubiaceae	L, S	BA26	on the banks of the Doué river/clay soil	02/22/2021	16°10'51.6''N 13°57'59.2''W

L: leaf; R: root; Rb: root bark; Tb: trunk bark; S: stem; Wp: whole plant; P: pod; C: calyces

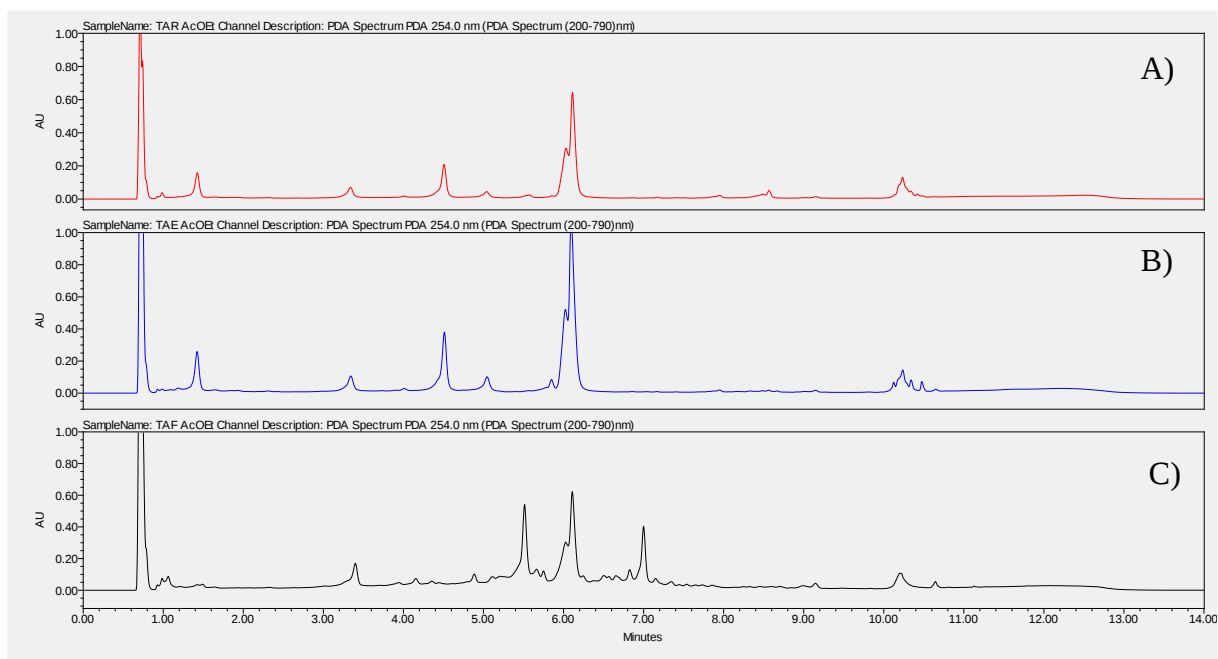


Figure S1. Chromatographic profiles of ethyl acetate sub-extracts of (A) root, (B) roots bark, and (C) leaves of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

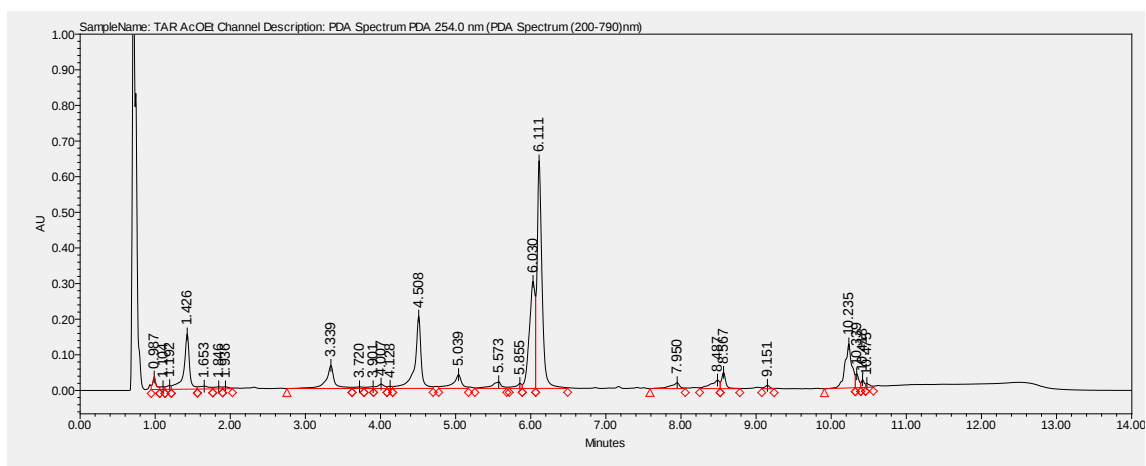


Figure S2. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S2. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots.

	Retention Time(min)	Chemical constituents	Molecular Formula	Peak area (%)	Absorbance $\lambda_{\max}$ (nm)	M-H] ⁻ (m/z)	[M+H] ⁺ (m/z)
1	0.98	Gallic acid	C ₇ H ₆ O ₅	1.16	271	169.04	171.05
2	1.10	Ellagitannin		0.31	255		449.21
3	1.19	Ellagitannin		0.48	255	469.25	
4	1.42	Ellagic acid derivative		8.32	254; 303 (sh), 373	469.19	471.09
5	1.65	Corilagin derivative		0.81	253	633.29	
6	1.84	Ellagitannin		0.41	255	483.32	
7	1.93	Ellagitannin		0.31	254; 381	540.88	
8	3.33	Ellagitannin		5.17	255; 380	541.38	
9	3.72	Ellagitannin		0.38	273; 372	635.26	
10	3.90	Ellagitannin		0.32	257; 380	635.13	
11	4.00	Ellagic acid derivative		0.85	255; 303 (sh); 363	469.18	471.08
12	4.12	Ellagitannin		0.27	259; 370	635.16	
13	4.50	Ellagitannin		12.25	255; 303 (sh); 379	541.32	
14	5.03	Ellagitannin		3.25	254; 303 (sh); 380	601.15	603.06
15	5.57	Ellagic acid xylopyranoside	C ₁₉ H ₁₄ O ₁₂	1.80	254; 303 (sh); 362	433.22	435.08
16	5.85	Methyl ellagic acid xyloside	C ₂₀ H ₁₆ O ₁₂	0.81	254; 303 (sh); 363	447.20	
17	6.03	Ellagic acid derivative		16.56	254; 303 (sh) 363		
18	6.11	Ellagic acid	C ₁₄ H ₆ O ₈	30.35	253; 303 (sh); 367	301.12	303.02
19	7.95	Ellagic acid derivative		1.40	263; 398	451.17	453.04
20	8.48	Ellagic acid derivative		2.01	253; 303 (sh); 361	585.28	
21	8.56	Ellagic acid derivative		1.82	254; 303 (sh); 360	585.19	
22	9.15	Acetylated ellagic acid derivative		0.45	247; 303 (sh); 368	551.41	
23	10.23	Ellagitannin		8.20	266; 368	711.68	
24	10.33	Ellagitannin		1.23	255; 366	807.67	
25	10.41	Ellagitannin		0.64	273	655.62	
26	10.47	Ellagitannin		0.43	270; 373	549.51	

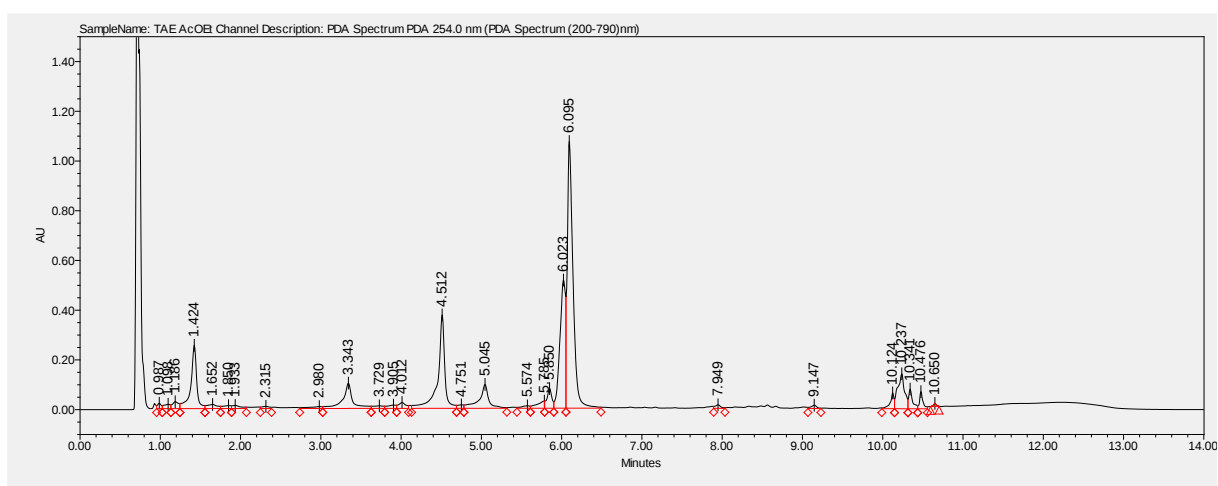


Figure S3. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots bark at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S3. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* roots bark.

	Retention Time (min)	Chemical constituents	Molecular formula	Peak area (%)	Absorbance $\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M+H] ⁺ (m/z)
1	0.98	Gallic acid	C ₇ H ₆ O ₅	0.42	268	169.08	171.04
2	1.09	Ellagitannin		0.60	257; 373	469.16	
3	1.18	Ellagitannin		0.92	257; 373	469.18	
4	1.42	Ellagitannin		7.83	254; 373	469.20	471.09
5	1.65	Corilagin derivative		0.91	256	633.37	
6	1.85	Ellagitannin		0.53	257	305.26	
7	1.93	Ellagitannin		0.59	256	541.51	
8	2.31	Corilagin derivative		0.36	257	633.32	
9	2.98	Ellagitannin		0.55	259	635.35	
10	3.34	Ellagitannin		5.26	255; 380	541.26	
11	3.72	Ellagitannin		0.58	266	635.21	
12	3.90	Ellagitannin		0.61	263; 368	457.27	
13	4.01	Ellagitannin		0.89	256; 366	469.21	
14	4.51	Ellagitannin		13.56	255; 379	541.34	
15	4.75	Ellagitannin		0.44	255; 379	601.14	
16	5.04	Ellagitannin		4.85	254; 379	601.19	603.03
17	5.57	Methyl ellagic acid xyloside isomer		0.43	254; 303 (sh), 363	447.30	
18	5.78	Methyl ellagic acid xyloside isomer		1.11	254; 303 (sh), 362	447.25	
19	5.85	Methyl ellagic acid xyloside		2.00	253; 303 (sh), 363	447.28	
20	6.02	Ellagic acid derivative		15.08	254; 303 (sh); 363		
21	6.09	Ellagic acid	C ₁₄ H ₆ O ₈	32.36	253; 303 (sh); 367	301.12	303.02
22	7.94	Ellagic acid derivative		0.41	263; 397	451.12	452.99
23	9.14	Ellagic acid derivative		0.41	241; 368		344.99
24	10.12	Ellagic acid derivative		1.24	256; 361	817.70	
25	10.23	Ellagic acid derivative		5.10	260; 368	817.66	
26	10.34	Ellagic acid derivative		1.59	262; 366	627.34	
27	10.47	Ellagic acid derivative		1.22	264; 373	343.18	
28	10.65	Ellagic acid derivative		0.19	248; 369		326.96

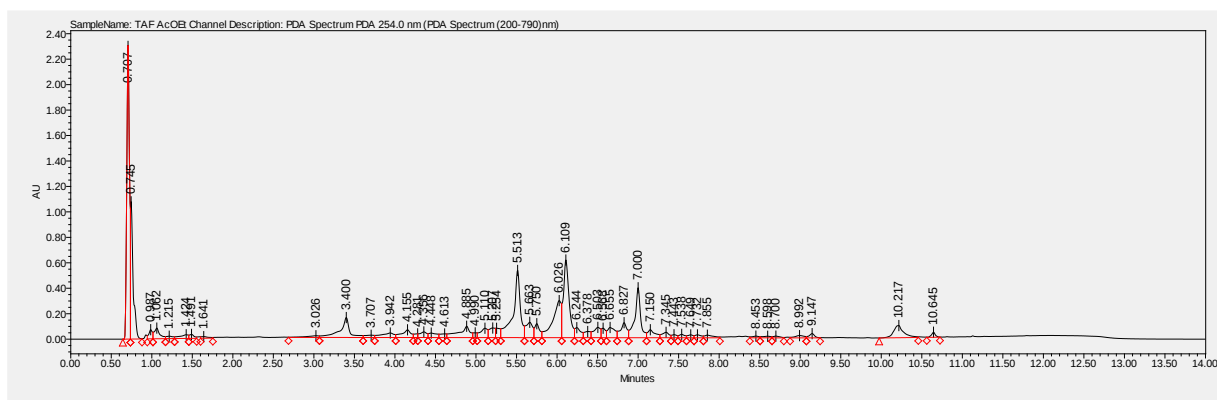


Figure S4. Chromatographic profile of ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S4. UHPLC-UV-MS data of the ethyl acetate sub-extract of *T. avicennioides* leaves.

	Retention Time (min)	Chemical constituents	Molecular formula	Peak area (%)	Absorbance $\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M+H] ⁺ (m/z)
1	0.70	Ellagitannin		17.25	280	633.28	
2	0.74	Ellagitannin		7.72	275	633.31	
3	0.98	Gallic acid	C ₇ H ₆ O ₅	0.69	272	169.11	171.04
4	1.06	Ellagitannin		1.30	266		449.21
5	1.21	Ellagitannin		0.36	266	635.22	
6	1.42	Ellagitannin		0.70	259		449.25
7	1.49	3,4-dihydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₄	0.41	260; 290	153.14	155.05
8	1.64	Ellagitannin		0.26	268	483.30	
9	3.02	Ellagitannin		0.51	275	635.35	
10	3.40	Ellagitannin		4.13	268	633.28	
11	3.70	Ellagitannin		0.46	275	635.36	
12	3.94	Ellagitannin		1.25	273	635.30	
13	4.15	Ellagitannin		1.52	275	635.38	
14	4.28	flavone-C-glycoside		0.30	275; 356	785.22	
15	4.35	flavone-C-glycoside		0.88	275; 348	936.01	
16	4.44	flavone-C-glycoside		0.80	275; 350	401.29	
17	4.61	flavone-C-glycoside		0.52	274; 348	447.30	449.17
18	4.88	flavone-C-glycoside		2.76	269; 349	447.29	449.18
19	4.99	flavone-C-glycoside		0.40	273; 346	447.28	449.20
20	5.11	flavone-C-glycoside		1.47	271; 348	447.31	449.19
21	5.20	Ellagitannin		1.26	276	477.26	
22	5.25	Ellagitannin		0.88	276	477.30	
23	5.51	Ellagitannin		10.44	275	477.46	
24	5.66	Ellagitannin		2.28	278		433.18
25	5.75	Ellagitannin		1.49	275		433.20
26	6.02	Ellagic acid derivative		6.84	254; 303 (sh); 356		433.19
27	6.11	Ellagic acid	C ₁₄ H ₆ O ₈	9.58	253; 303 (sh); 367	301.11	303.12
28	6.24	flavone-C-glycoside		1.27	272; 351	467.43	
29	6.37	flavone-C-glycoside		0.86	274; 352	599.38	601.18
30	6.50	flavone-C-glycoside		1.55	269; 351	599.30	
31	6.56	flavone-C-glycoside		0.86	275; 352	599.28	601.19
32	6.65	Ellagitannin		1.68	278		819.15
33	6.82	Ellagitannin		2.08	276		787.20
34	7.00	Ellagitannin		6.12	279		787.19
35	7.15	Ellagitannin		1.30	279		585.18
36	7.34	2''-galloylvitexin	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₄	0.84	269; 338	583.33	585.18
37	7.44	flavone-C-glycoside		0.35	271; 351	623.38	
38	7.53	flavone-C-glycoside		0.42	276; 351	468.39	
39	7.64	flavone-C-glycoside		0.35	278; 344	447.40	
40	7.73	flavone-C-glycoside		0.41	279; 344		449.18
41	7.85	flavone-C-glycoside		0.52	276; 344	447.38	449.17
42	8.45	Ellagitannin		0.25	282	435.34	
43	8.59	flavone-C-glycoside		0.30	275; 344		737.30
44	8.70	flavone-C-glycoside		0.25	273; 341		737.18
45	8.99	Ellagic acid derivative		0.46	247; 303 (sh); 367		345.00
46	9.14	Ellagic acid derivative		0.50	247; 303 (sh); 367		345.06
47	10.21	Procyanidin		2.72	275		579.10
48	10.64	Ellagic acid derivative		0.43	246; 303 (sh); 369		389.21

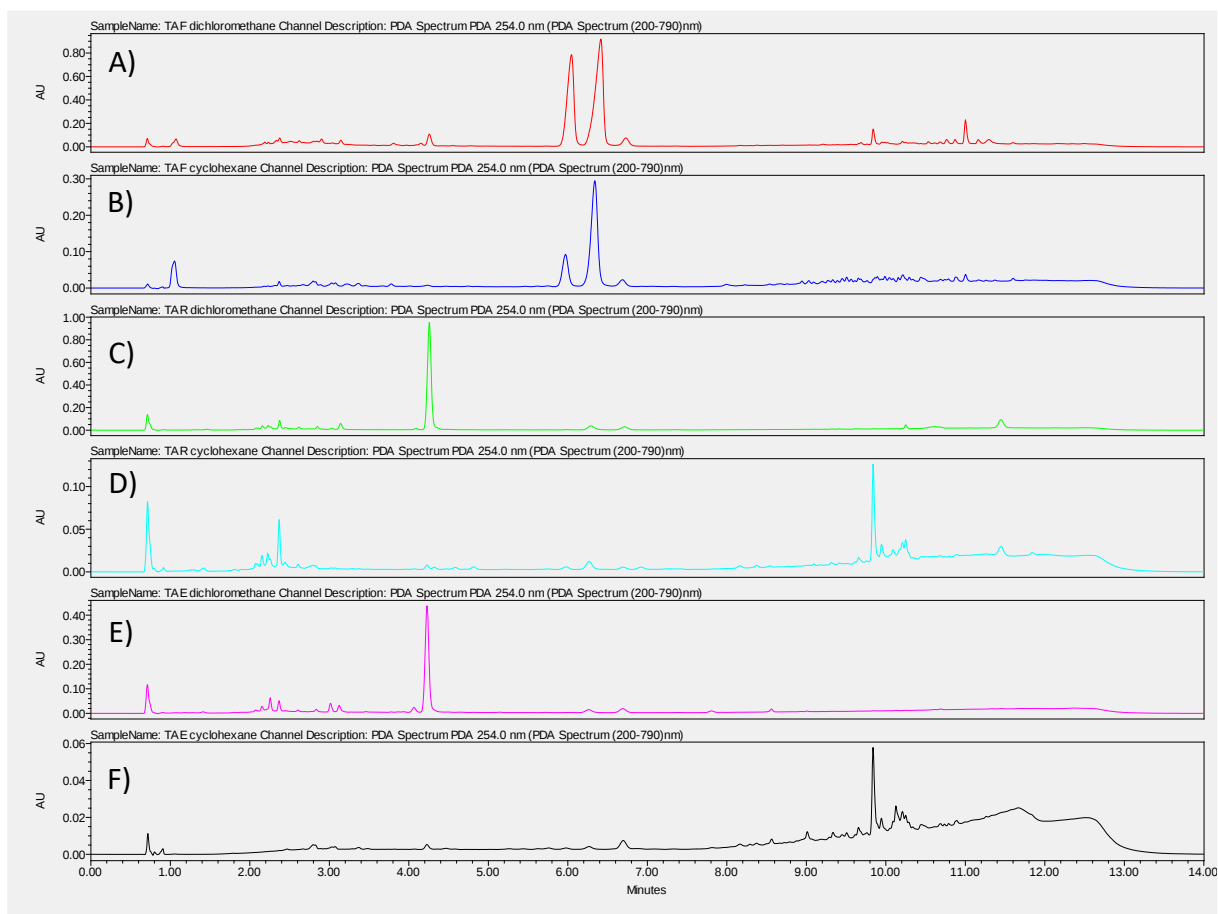


Figure S5. Chromatographic profiles of the dichloromethane and cyclohexane sub-extracts of (A, B) leaves, (C, D) root and (E, F) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

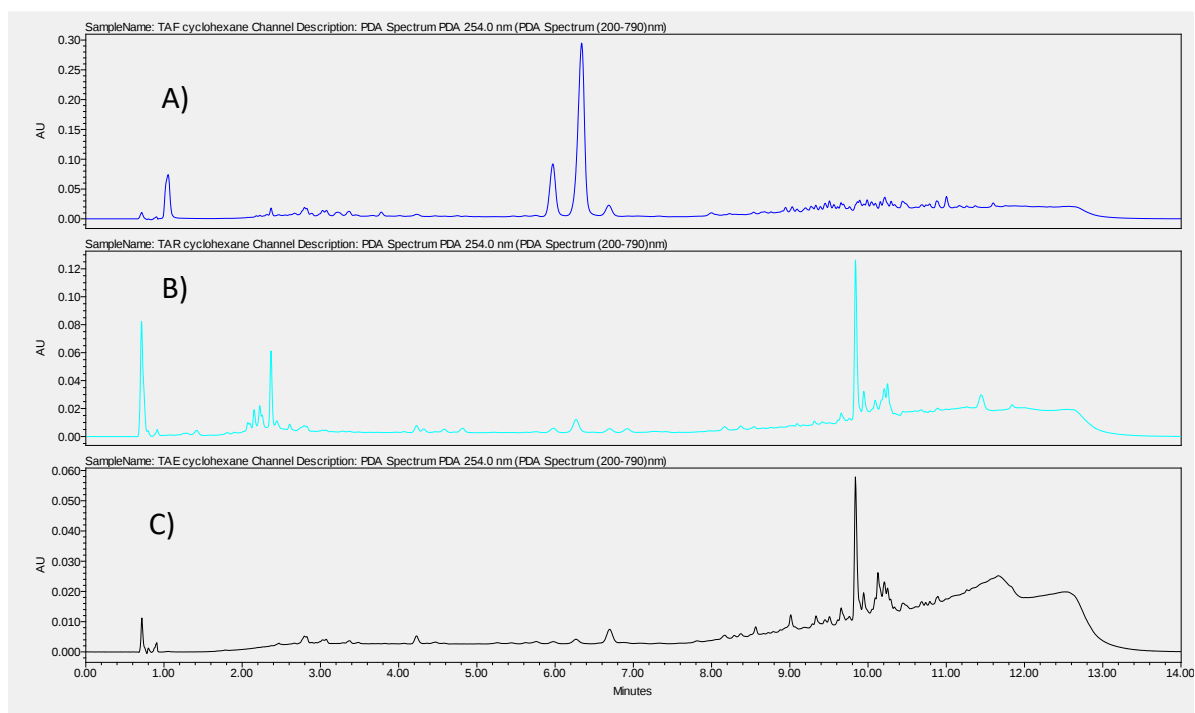


Figure S6. Chromatographic profiles of the cyclohexane sub-extracts of (A) leaves, (B) root and (C) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

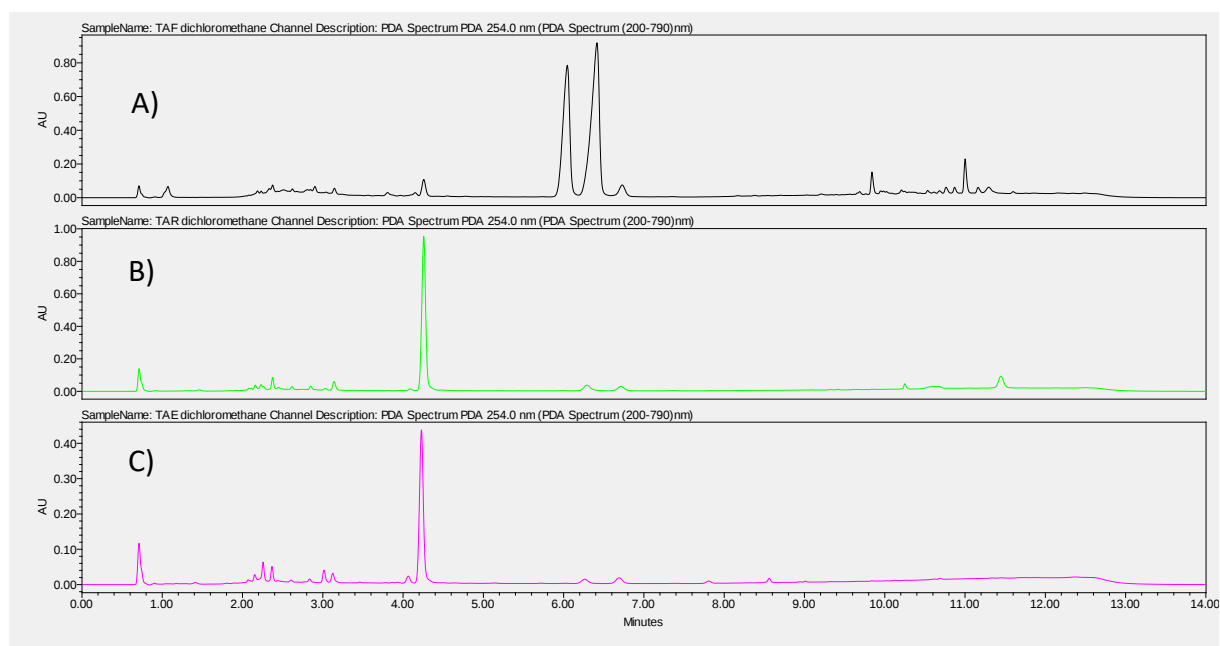


Figure S7. Chromatographic profiles of the dichloromethane sub-extracts of (A) leaves, (B) root and (C) roots bark of *T. avicennioides* at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

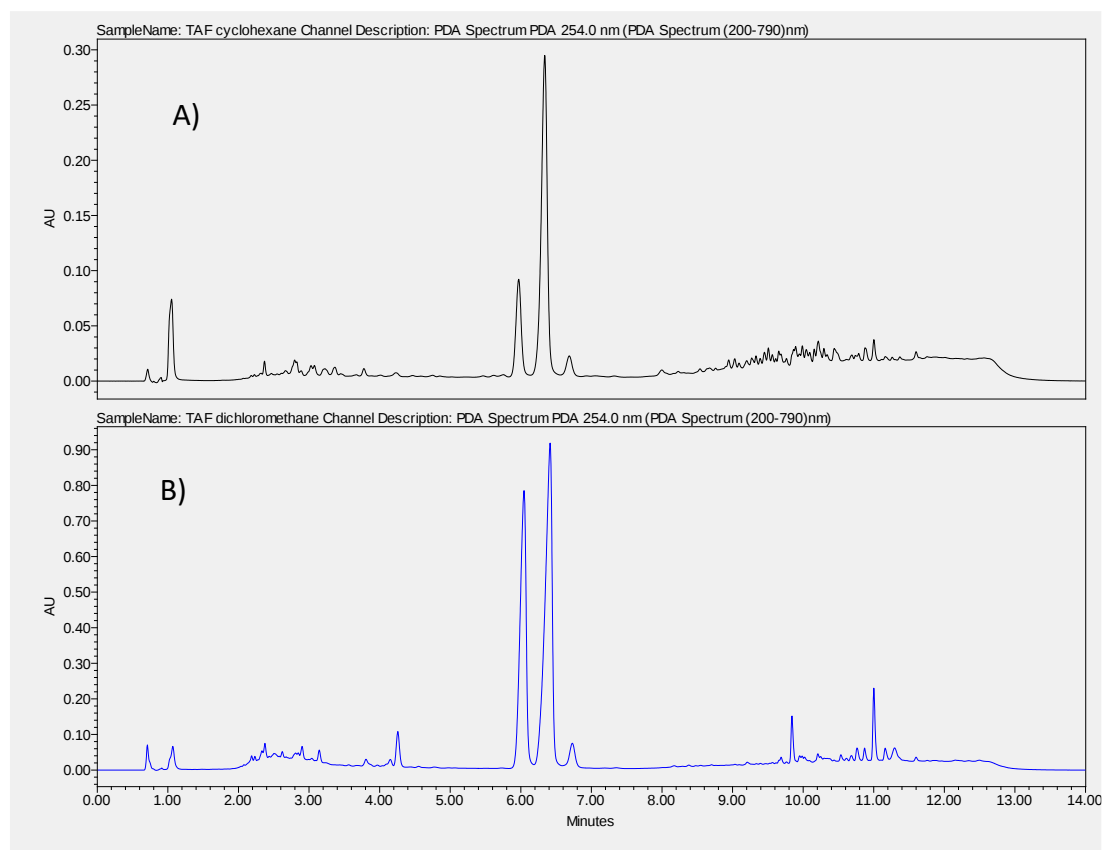


Figure S8. Chromatographic profiles of the (A) cyclohexane and (B) dichloromethane sub-extracts of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

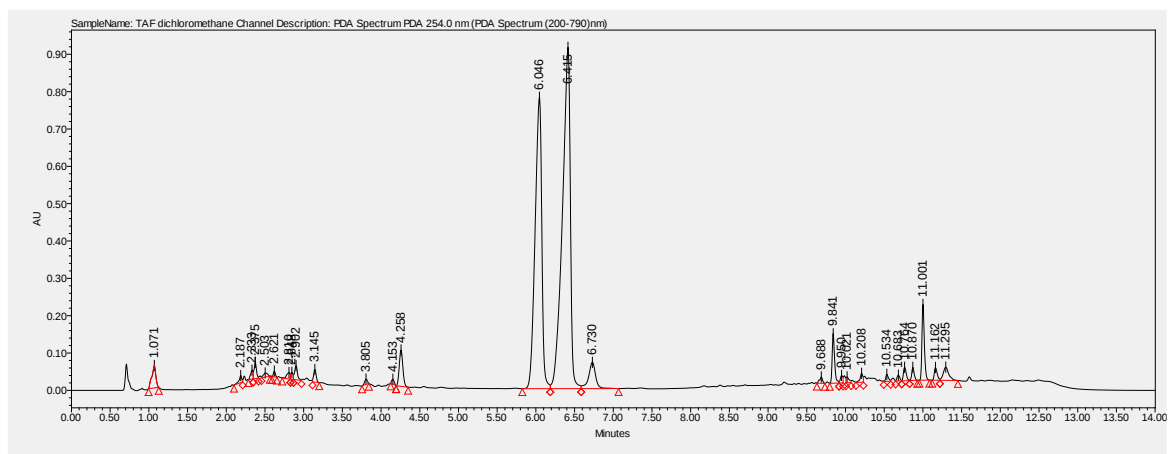


Figure S9. Chromatographic profile of dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

Table S5. UHPLC-UV-MS data of the dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves.

	Retenti on Time (min)	Chemical constituents	Molecular formula	Peak area (%)	Absorbance $\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	[M+H] ⁺ (m/z)
1	1.07	Unknown		1.50	265		166.08
2	2.18	flavonoid		0.32	263; 287 (sh); 346	447.31	449.18
3	2.33	Unknown		0.35	279		433.16
4	2.37	Ellagic acid		0.65	255; 303 (sh), 368	301.02	
5	2.50	Unknown		0.29	319	193.13	
6	2.62	Unknown		0.19	285; 368		197.11
7	2.81	Unknown		0.36	248; 329	169.20	
8	2.84	Unknown		0.27	246; 335	281.27	
9	2.90	Unknown		0.69	242; 268	289.28	
10	3.14	Ellagic acid derivative		0.54	246; 303 (sh); 374	327.30	
11	3.80	Unknown		0.24	230; 275 (sh); 361 (sh); 376	327.13	
12	4.15	Ellagic acid derivative		0.20	246; 303 (sh); 372	373.21	375.08
13	4.25	3,4,3'-tri- <i>O</i> -methylellagic acid (2)	C ₁₇ H ₁₂ O ₈	2.20	247; 303 (sh); 373	343.18	345.05
14	6.04	3,4,5- <i>O</i> -trimethyl-3',4'- <i>O</i> , <i>O</i> - methylidene flavellagic acid (3) and hexamethylcoruleoellagi c acid (4)	C ₁₈ H ₁₂ O ₉ C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	33.00	248; 303 (sh); 368		373.05 419.19
15	6.41	pentamethylflavellagic acid (5)	C ₁₉ H ₁₆ O ₉	45.99	247; 303 (sh); 370		389.14
16	6.73	Ellagic acid derivative		3.13	248; 303 (sh); 372		359.08
17	9.68	Unknown		0.32	237; 269		277.23
18	9.84	Unknown		2.02	250; 274; 292		766.62
19	9.95	Unknown		0.30	250; 298; 338		590.48
20	10.02	Unknown		0.29	229; 261; 271; 315		546.44
21	10.20	Unknown		0.42	253; 286; 296; 330		644.57
22	10.53	Chlorophyll		0.31	235; 328; 369; 434; 652		810.63
23	10.68	Chlorophyll		0.27	268; 279; 328; 366; 434; 657		942.74
24	10.76	Chlorophyll		0.64	233; 278; 401; 664		942.74
25	10.87	Chlorophyll		0.54	229; 278; 408; 664		810.62
26	11.00	Chlorophyll		3.09	229; 273; 324; 409; 664		733.70
27	11.16	Chlorophyll		0.62	229; 325; 409; 664		
28	11.29	Unknown		1.24	261; 268		779.35

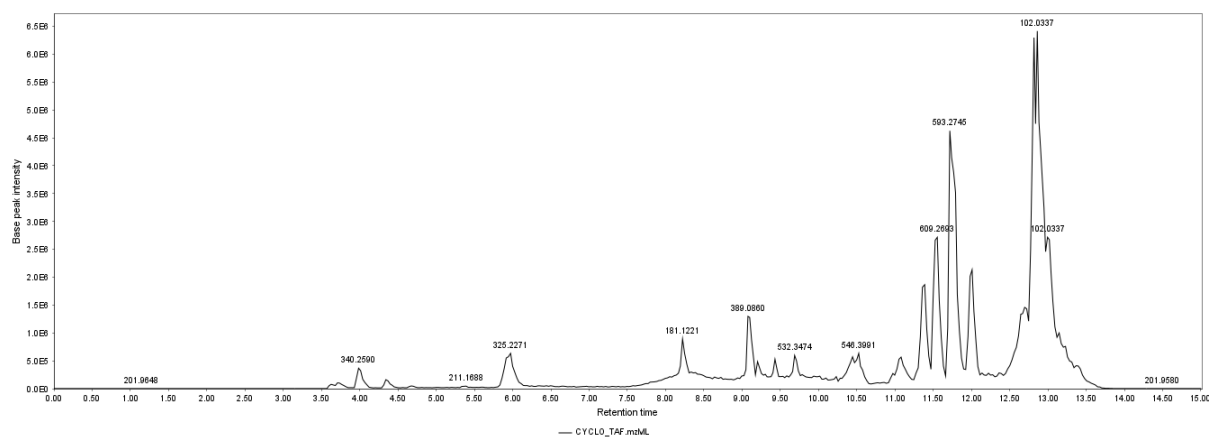


Figure S10. The base peak intensity (BPI) chromatogram of the cyclohexane sub-extract of *T. avicennioides* leaves in positive ion mode obtained by HR-EIS-MS/MS

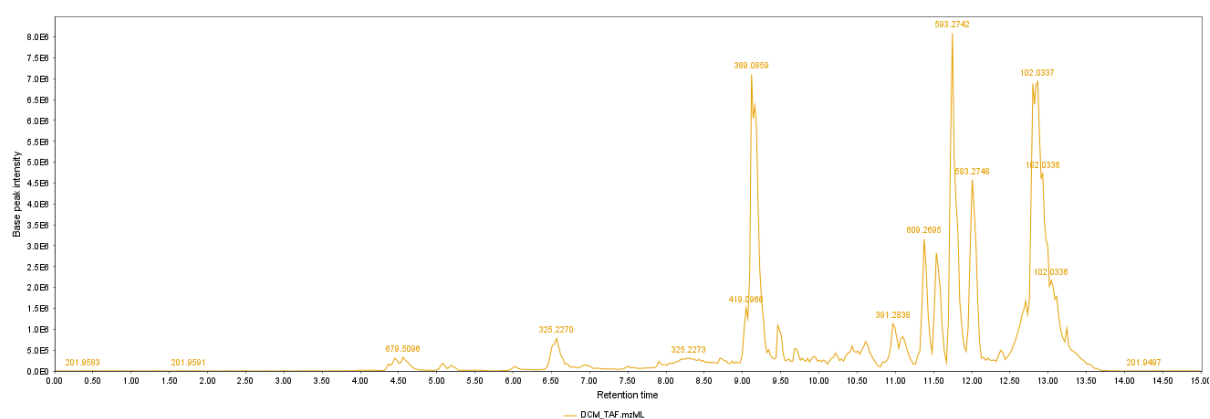


Figure S11. The base peak intensity (BPI) chromatogram of the dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves in positive ion mode obtained by HR-EIS-MS/MS

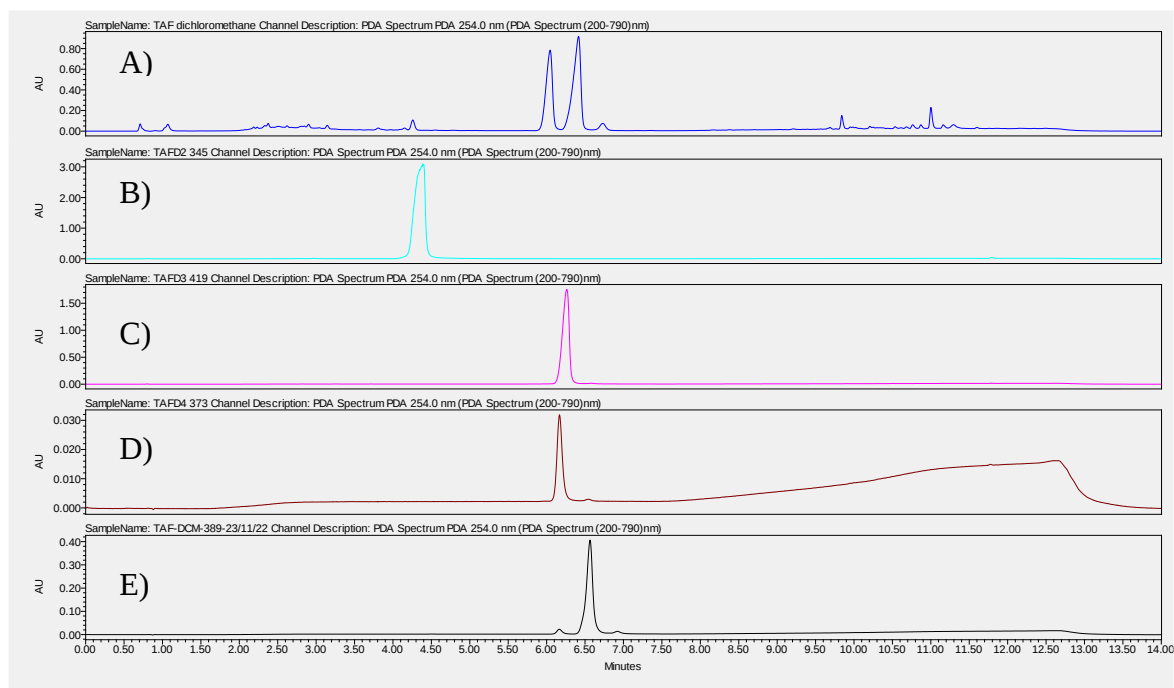


Figure 10. Chromatographic profiles of the (A) dichloromethane sub-extract of *T. avicennioides* leaves, and isolated compounds (B) 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (2), (C) hexamethylcoruleoellagic acid (4), (D) 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*,*O*-methylidene flavellagic acid (3), and (E) pentamethyl flavellagic acid (5) at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS

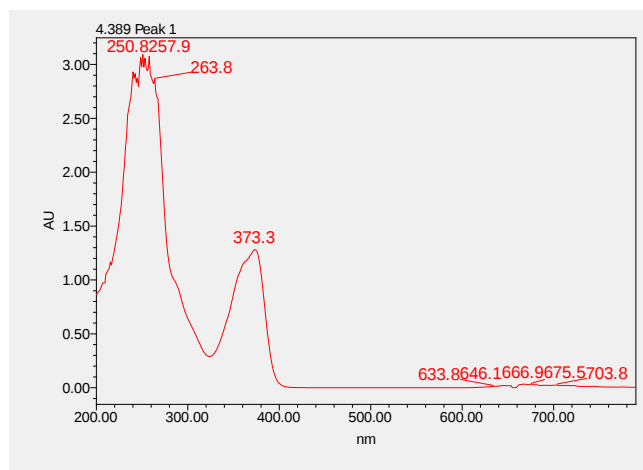


Figure S11. UV spectrum of 3,4,3'-tri-*O*-methylellagic acid (2)

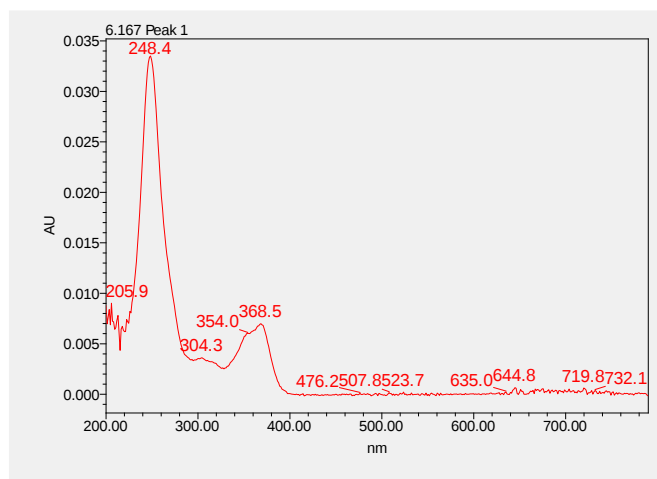


Figure S12. UV spectrum of 3,4,5-*O*-trimethyl-3',4'-*O*-methyleneflavellagic acid (**3**)

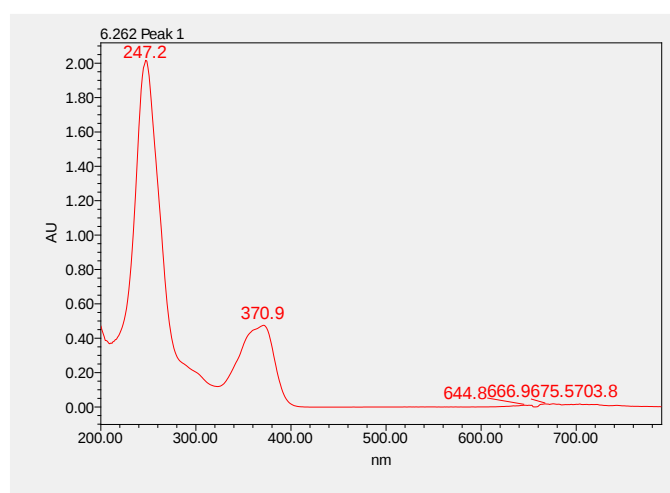


Figure S13. UV spectrum of hexamethylcoruleoellagic acid (**4**)

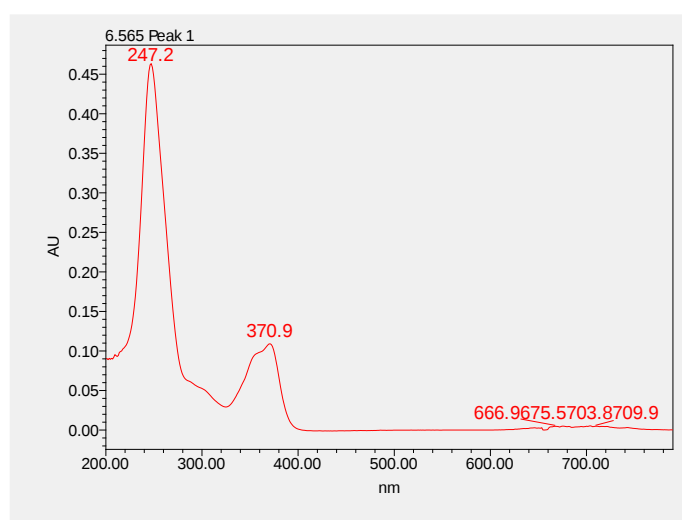


Figure S14. UV spectrum of pentamethylflavellagic acid (**5**)

Annexe C

Supporting Information

Antileishmanial, Antitrypanosomal and Anti-coronavirus Activities of Benzophenanthridine Alkaloids and Other Specialized Metabolites Isolated From *Zanthoxylum zanthoxyloides*

Abda Ba,^{1,2} Vincent Roumy,¹ Malak Al Ibrahim,^{1,3,†} Kristelle Hughes,^{4,†} Thierry Hennebelle,¹ Jennifer Samaillie,¹ Sevser Sahpaz,¹ Mehdi A. Beniddir,⁵ Marie-France Hérent,⁴ Karin Séron,³ Joëlle Quetin Leclercq,⁴ Matar Seck,² and Céline Rivière^{1,*}

¹ Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Univ. Lille, Junia, INRAE, Univ. Liège, UPJV, Univ. Artois, ULCO, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

² Laboratoire de Chimie Organique et Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005, Dakar-Fann, Sénégal

³ Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR9017 – Center for Infection and Immunity of Lille (CIIL), F-59000 Lille, France

⁴ Pharmacognosy Research Group, Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain (UCLouvain), Avenue E. Mounier, 72, B B01.72.03-1200 Brussels, Belgium

⁵ Equipe Chimie des Substances Naturelles, BioCIS, CNRS, Université Paris-Saclay, 17 Avenue des Sciences, 91400, Orsay, France

† These authors contributed equally to this work.

Corresponding Author

Céline Rivière - Joint Research Unit 1158 BioEcoAgro, Laboratory of pharmacognosy, UFR3S Pharmacy, University of Lille, 3 rue du Professeur Laguesse, 59000 Lille; orcid.org/0000-0002-8618-5530; Phone. + 33 3 20 96 40 41; E-mail: celine.riviere@univ-lille.fr

Contents

Figure S1. Chromatographic profile of the cyclohexane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	276
Figure S2. Chromatographic profile of cyclohexane sub-extract at 254 nm (top) and Total Ion Chromatograms in negative (middle) and positive (bottom) mode obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	277
Figure S3. Base peak chromatogram of the cyclohexane sub-extract in positive ion mode obtained by UPLC-HRMS/MS analysis.....	277
Figure S4. Chromatographic profile of the dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	277
Figure S5. Chromatographic profile of dichloromethane sub-extract at 254 nm (top) and Total Ion Chromatograms in negative (middle) and positive (bottom) mode obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	278
Figure S6. Base peak chromatogram of the dichloromethane sub-extract in positive ion mode obtained by UHPLC-HRMS/MS	278
Figure S7. Chromatographic profile of the FD1 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	279
Figure S8. Chromatographic profile of the FD2 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	279
Figure S9. Chromatographic profile of the FD3 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	279
Figure S10. Chromatographic profile of the FD4 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	280
Figure S11. Chromatographic profile of the FD5 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	280
Figure S12. Chromatographic profile of the FD6 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	281
Figure S13. Chromatographic profile of the FD7 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	281
Figure S14. Chromatographic profile of the FD8 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	282
Figure S15. Chromatographic profile of the FD4 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis	282
Figure S16. Chromatographic profile of the FD5 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis	283
Figure S17. Chromatographic profile of the FD8 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis	283
Figure S18. Chromatographic profile of the cyclohexane sub-extract with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	284
Figure S19. Chromatographic profile of the FD5 fraction with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	284

Figure S20. Chromatographic profile of the dichloromethane sub-extract with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	285
Zanthoxyloithrine (1)	285
Figure S21. Chromatographic profile of the FD5 fraction with the compound 1 at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis.....	286
Figure S22. MS spectrum of compound 1 in positive mode obtained by UHPLC-UV-MS.....	287
Figure S23. MS spectrum of compound 1 in negative mode obtained by UHPLC-UV-MS.....	287
Figure S24. HR-ESI-MS spectrum of the new compound 1	288
Figure S25. UV spectrum of the new compound 1	288
Figure S26. IR spectrum of the new compound 1	289
Figure S27. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of the new compound 1	289
Figure S28. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of the new compound 1	290
Figure S29. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of the new compound 1	290
Figure S30. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of the new compound 1	291
Figure S31. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of the new compound 1	291
Dihydrochelerythrine (2)	291
Figure S32. HR-ESI-MS spectrum of compound 2	292
Figure S33. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 2	292
Figure S34. UV spectrum of compound 2	293
Figure S35. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 2	293
Figure S36. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 2	294
Figure S37. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 2	294
Figure S38. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 2	295
Figure S39. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 2	295
Trans-fagaramide (3)	296
Figure S40. HR-ESI-MS spectrum of compound 3	296
Figure S41. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 3	297
Figure S42. UV spectrum of compound 3	297
Figure S43. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 3	297
Figure S44. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 3	298
Figure S45. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 3	298
Figure S46. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 3	299
Figure S47. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 3	299
Arnottianamide (4)	299
Figure S48. HR-ESI-MS spectrum of compound 4	300
Figure S49. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 4	300
Figure S50. UV spectrum of compound 4	301
Figure S51. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 4	301
Figure S52. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 4	301
Figure S53. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 4	302

Figure S54. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 4	302
Figure S55. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 4	303
Pellitorine (5)	303
Figure S56. HR-ESI-MS spectrum of compound 5	304
Figure S57. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 5	304
Figure S58. UV spectrum of compound 5	304
Figure S59. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 5	305
Figure S60. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 5	305
Figure S61. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 5	306
Figure S62. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 5	306
Figure S63. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 5	307
Gamma-sanshool (6)	307
Figure S64. HR-ESI-MS spectrum of compound 6	308
Figure S65. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 6	308
Figure S66. UV spectrum of compound 6	308
Figure S67. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 6	309
Chelerythrine (7)	309
Figure S68. HR-ESI-MS spectrum of compound 7	309
Figure S69. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 7	310
Figure S70. UV spectrum of compound 7	310
Evodiamide (8):	311
Figure S71. HR-ESI-MS spectrum of compound 8	311
Figure S72. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 8	312
Figure S73. The UV spectrum of compound 8	312
Figure S74. ¹ H-NMR (500 MHz, DMSO-d ₆) spectrum of compound 8	312
Figure S75. ¹³ C-NMR (125 MHz, DMSO-d ₆) spectrum of compound 8	313
Figure S76. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, DMSO-d ₆) spectrum of compound 8	313
Figure S77. HSQC-DEPT (500 MHz, DMSO-d ₆) spectrum of compound 8	314
Figure S78. HMBC (500 MHz, DMSO-d ₆) spectrum of compound 8	314
Decarine (9)	315
Figure S79. HR-ESI-MS spectrum of compound 9	315
Figure S80. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 9	315
Figure S81. UV spectrum of compound 9	316
6-Oxochelethrythrine (10)	316
Figure S82. HR-ESI-MS spectrum of compound 10	317
Figure S83. HR-ESI-MS spectrum of compound 10	317
Figure S84. UV spectrum of compound 10	318
Figure S85. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 10	318
Figure S86. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 10	319
Figure S87. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 10	319

Figure S88. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 10	320
Figure S89. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 10	320
Scoparone (11)	321
Figure S90. HR-ESI-MS spectrum of compound 11	321
Figure S91. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 11	322
Figure S92. UV spectrum of compound 11	322
Figure S93. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 11	323
Figure S94. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 11	323
Figure S95. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 11	324
Figure S96. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 11	324
Figure S97. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 11	325
4-methoxy-1-methylquinolin-2-one (12)	325
Figure S98. HR-ESI-MS spectrum of compound 12	326
Figure S99. UV spectrum of compound 12	326
Figure S100. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 12	327
Figure S101. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 12	327
Figure S102. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 12	327
Figure S103. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 12	328
Figure S104. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 12	328
Skimmianine (13)	329
Figure S105. HR-ESI-MS spectrum of compound 13	329
Figure S106. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 13	330
Figure S107. UV spectrum of compound 13	330
Figure S108. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 13	331
Figure S109. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 13	331
Figure S110. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 13	332
Figure S111. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 13	332
Figure S112. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 13	333
Gamma-fagarine (14)	333
Figure S113. HR-ESI-MS spectrum of compound 14	334
Figure S114. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 14	334
Figure S115. UV spectrum of compound 14	335
Figure S116. ¹ H-NMR (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 14	335
Figure S117. ¹³ C-NMR (125 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 14	336
Figure S118. ¹ H- ¹ H COSY (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 14	336
Figure S119. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 14	337
Figure S120. HMBC (500 MHz, CDCl ₃) spectrum of compound 14	337
Figure S121. Cytotoxicity evaluation of compounds 1 , 2 , 3 , 7 , 10 , 11 , 12 , and 13 on Huh-7 cells.	338

Table S1. Identification of chemical constituents in cyclohexane and dichloromethane sub-extracts by comparison of the MS² data (Positive mode, HR-ESI-MS/MS) and matched with KEGG and PubChem databases by using Mzmine 3 (v3.3.0) software. 339

Table S2. Assessment of antiparasitic, cytotoxic and anti-coronavirus (HCoV-229E) activities of extracts and pure compounds of *Z. zanthoxyloides*.343

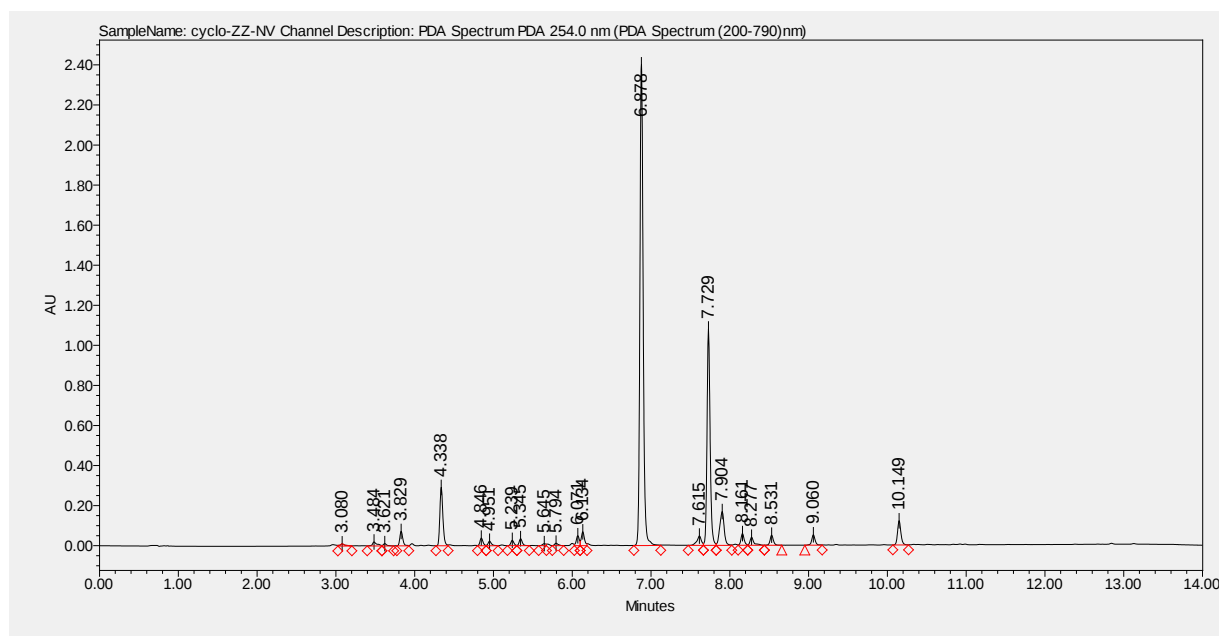


Figure S1. Chromatographic profile of the cyclohexane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

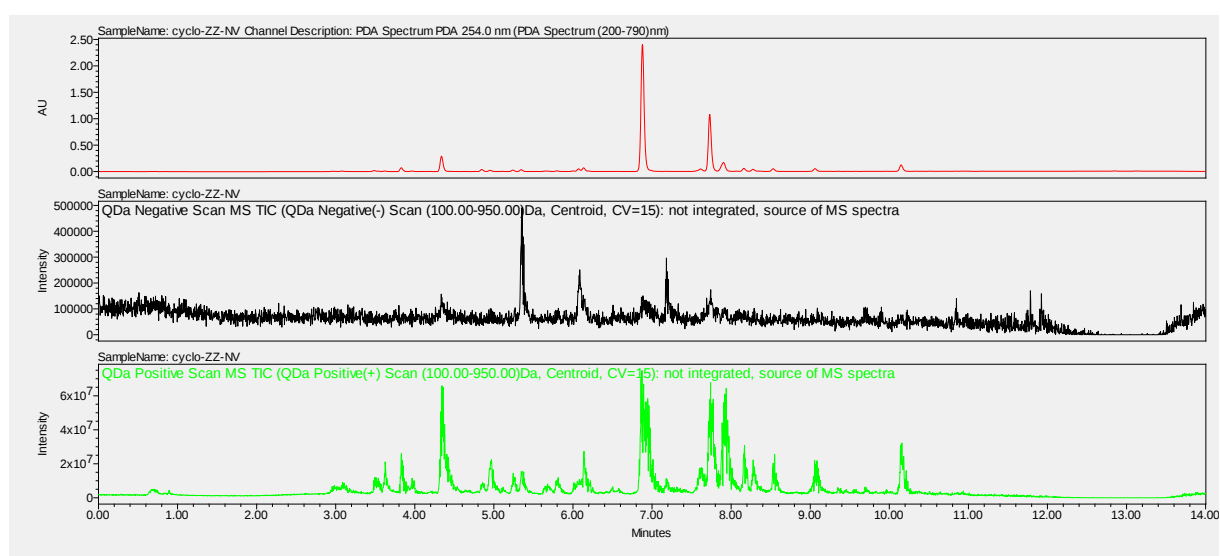


Figure S2. Chromatographic profile of cyclohexane sub-extract at 254 nm (top) and Total Ion Chromatograms in negative (middle) and positive (bottom) mode obtained by UHPLC-UV-MS analysis

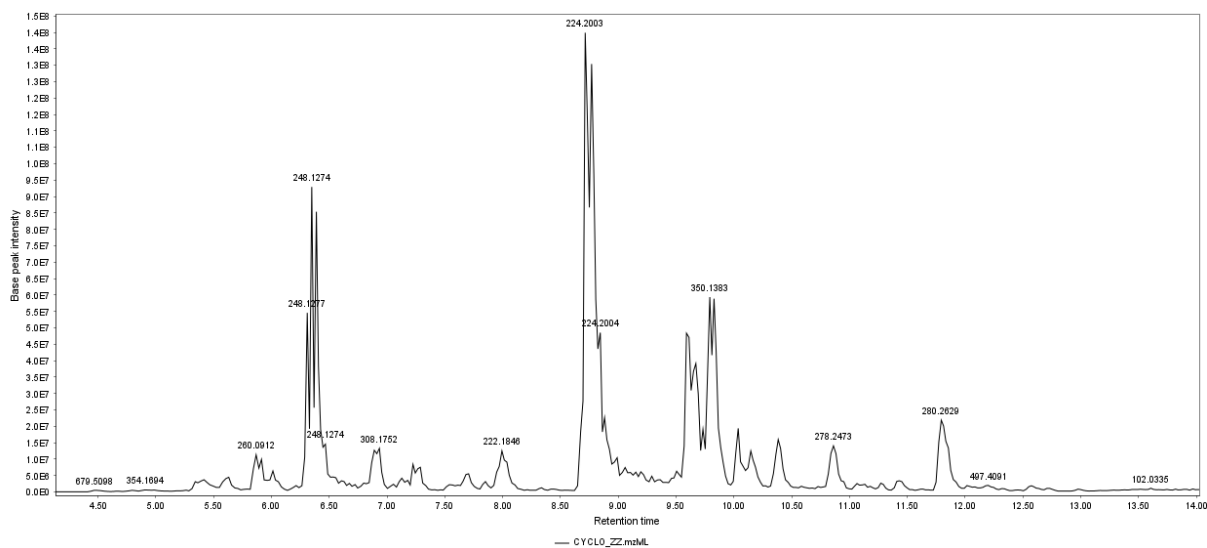


Figure S3. Base peak chromatogram of the cyclohexane sub-extract in positive ion mode obtained by UPLC-HRMS/MS analysis

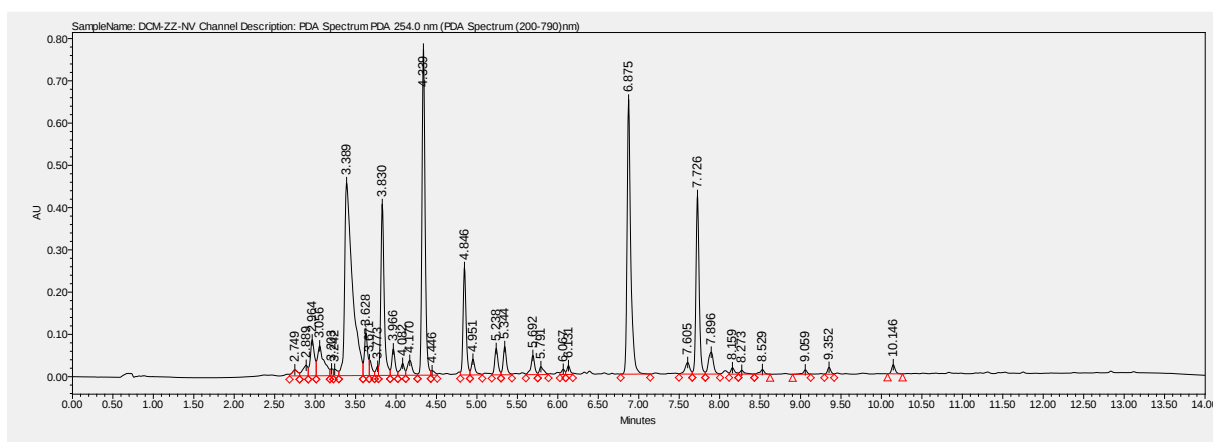


Figure S4. Chromatographic profile of the dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

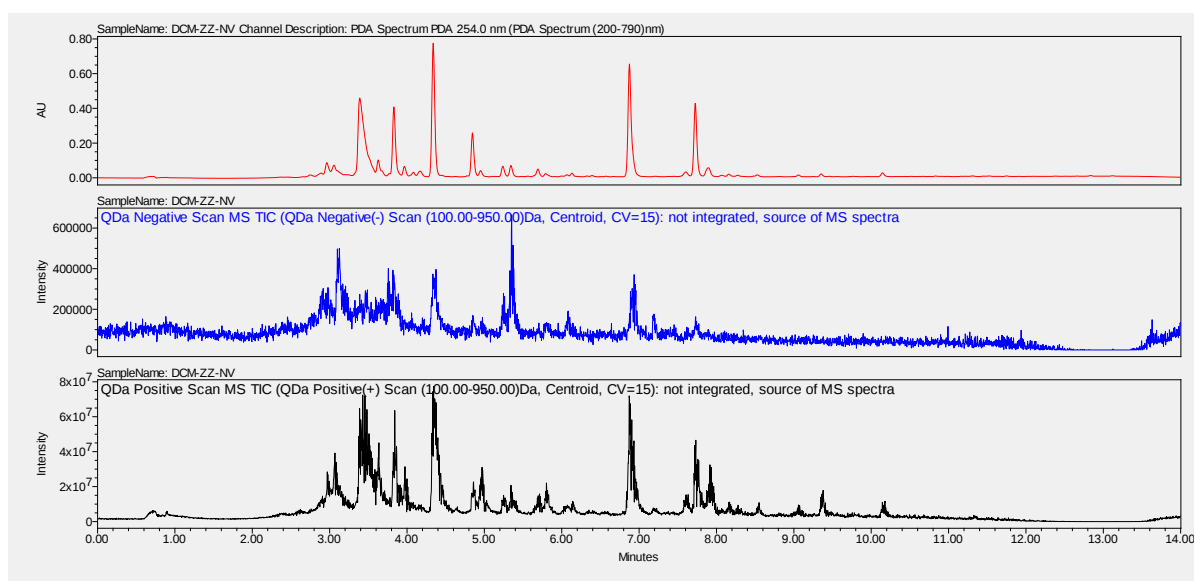


Figure S5. Chromatographic profile of dichloromethane sub-extract at 254 nm (top) and Total Ion Chromatograms in negative (middle) and positive (bottom) mode obtained by UHPLC-UV-MS analysis

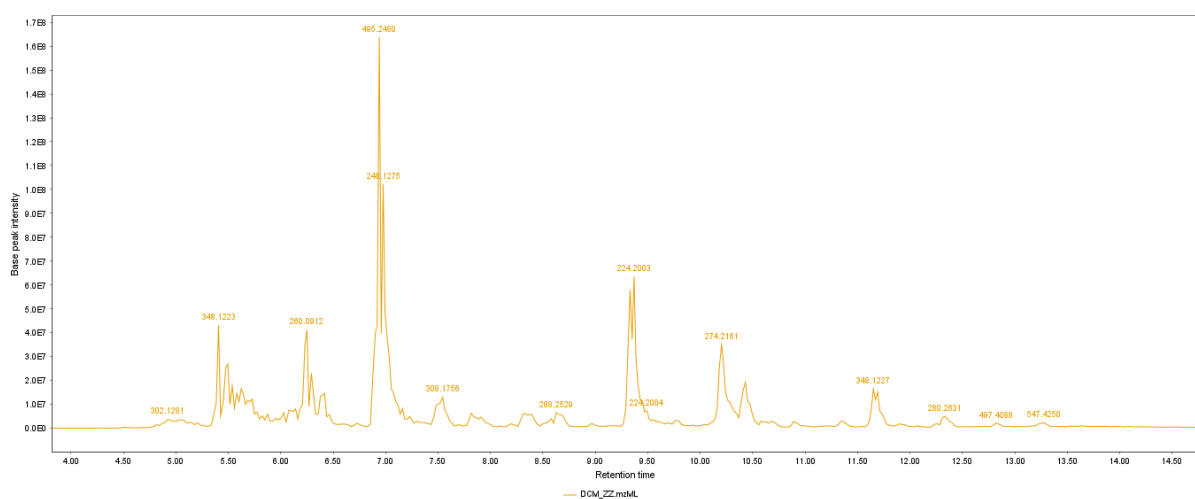


Figure S6. Base peak chromatogram of the dichloromethane sub-extract in positive ion mode obtained by UHPLC-HRMS/MS

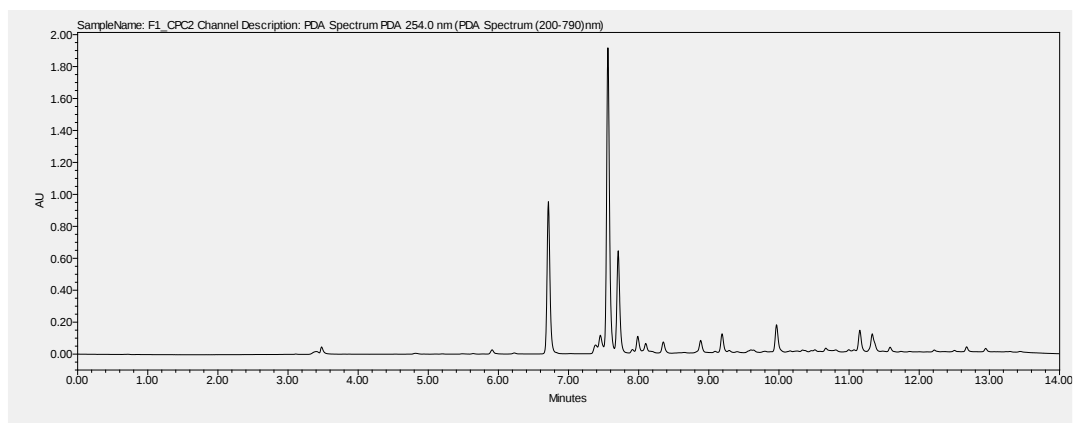


Figure S7. Chromatographic profile of the FD1 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

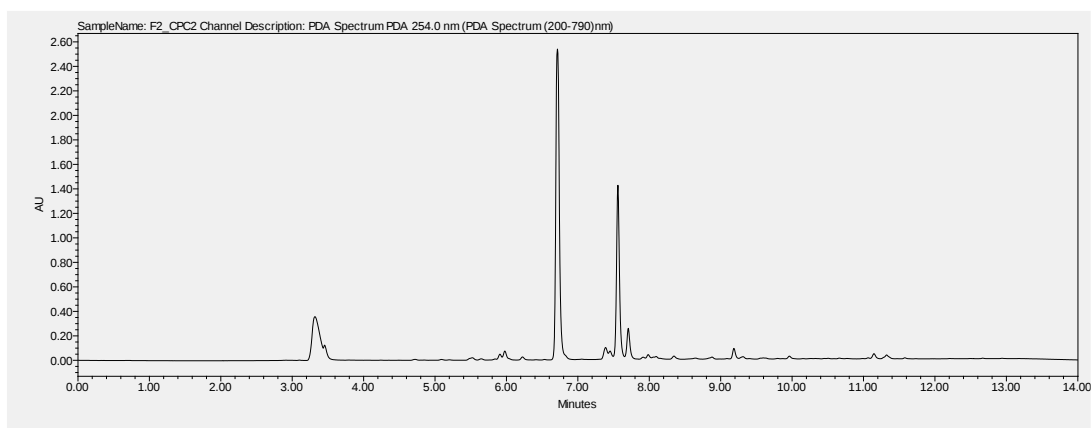


Figure S8. Chromatographic profile of the FD2 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

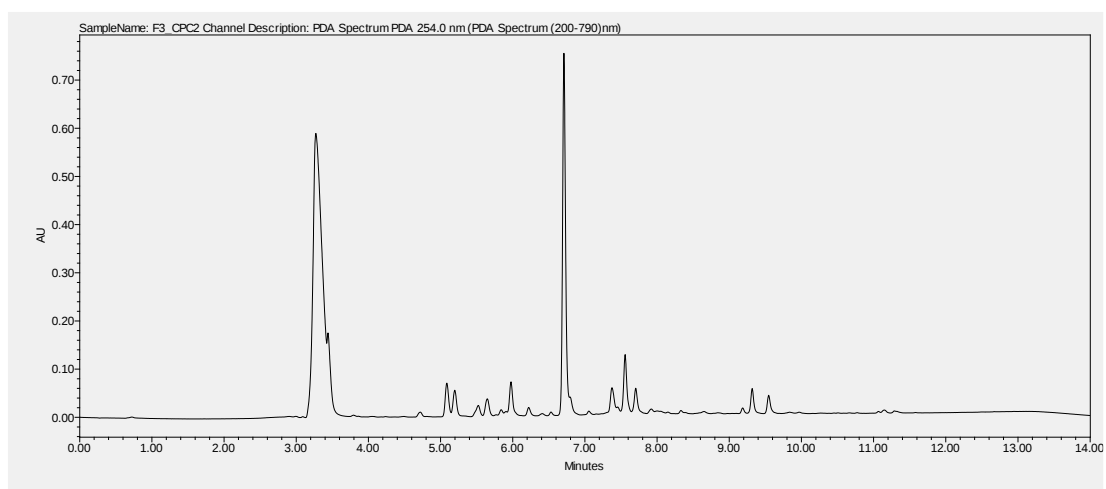


Figure S9. Chromatographic profile of the FD3 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

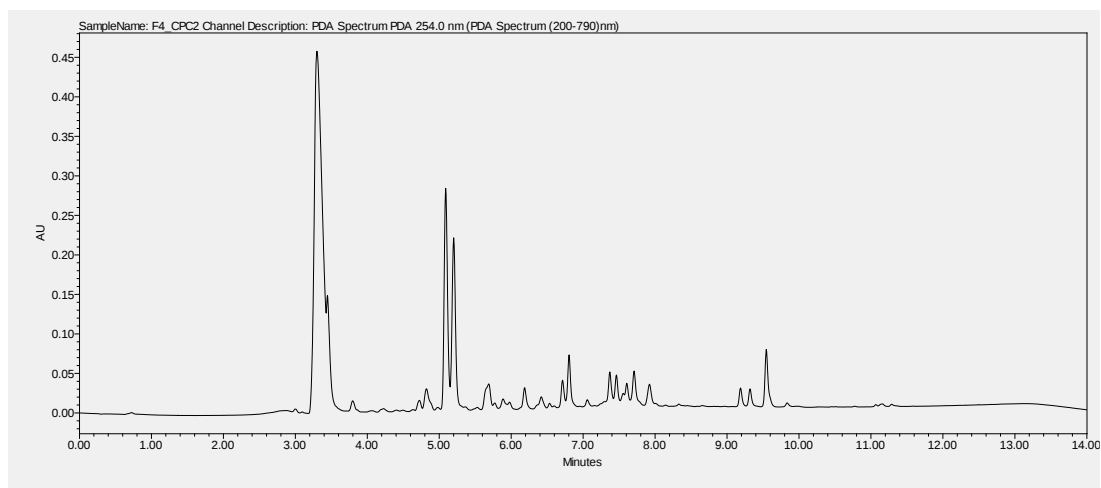


Figure S10. Chromatographic profile of the FD4 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

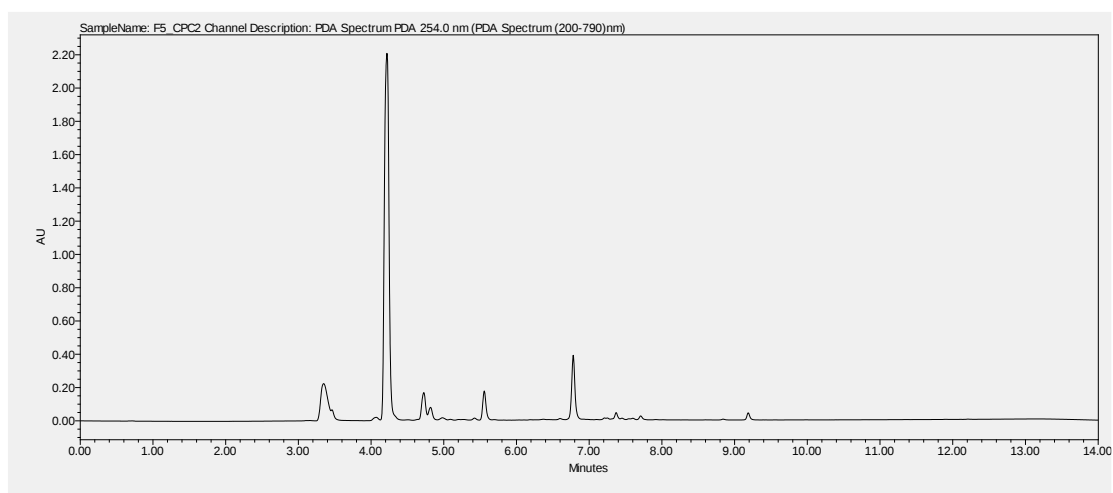


Figure S11. Chromatographic profile of the FD5 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

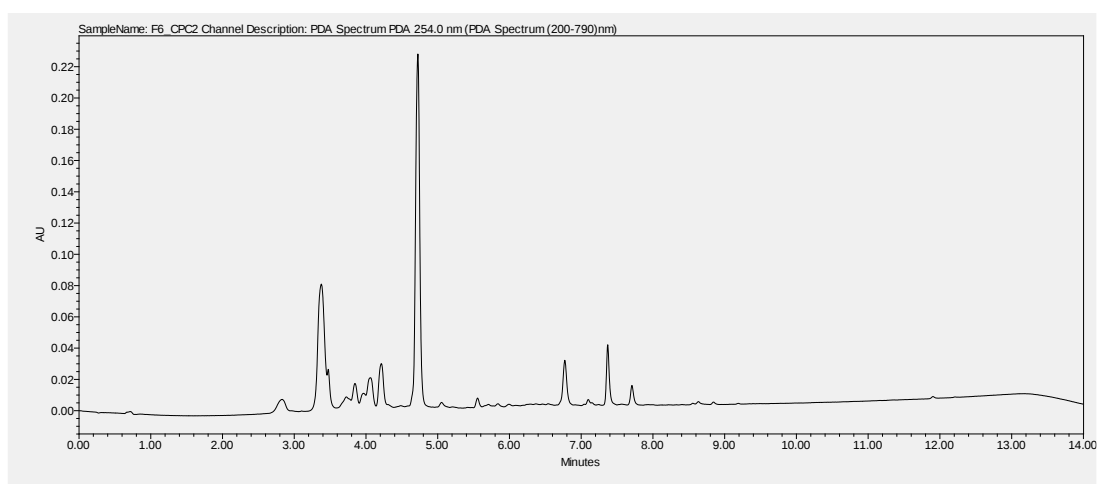


Figure S12. Chromatographic profile of the FD6 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

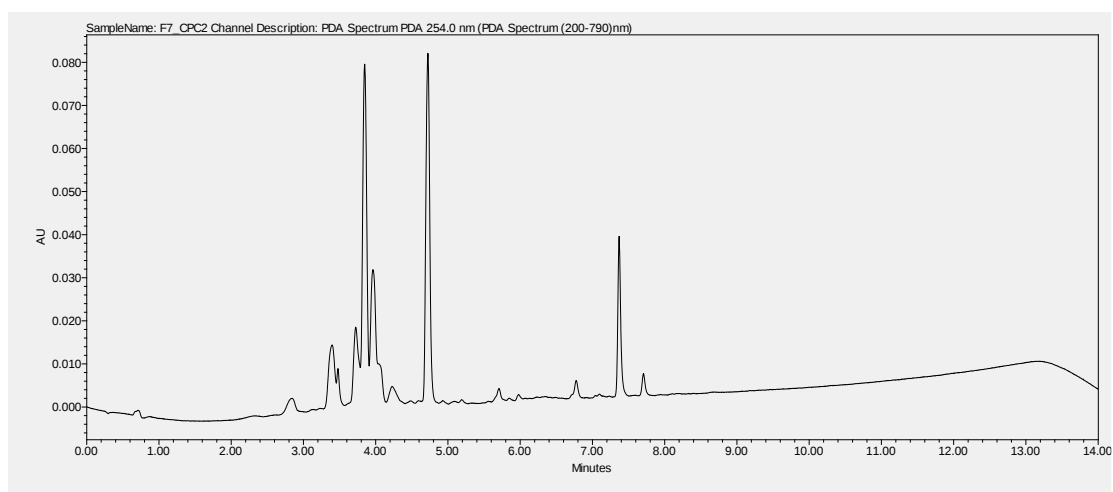


Figure S13. Chromatographic profile of the FD7 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

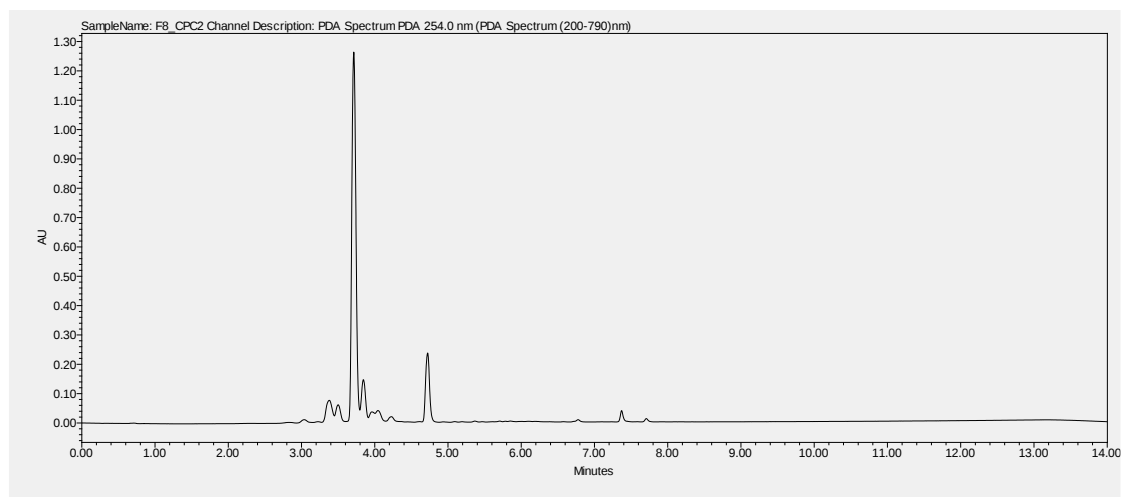


Figure S14. Chromatographic profile of the FD8 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

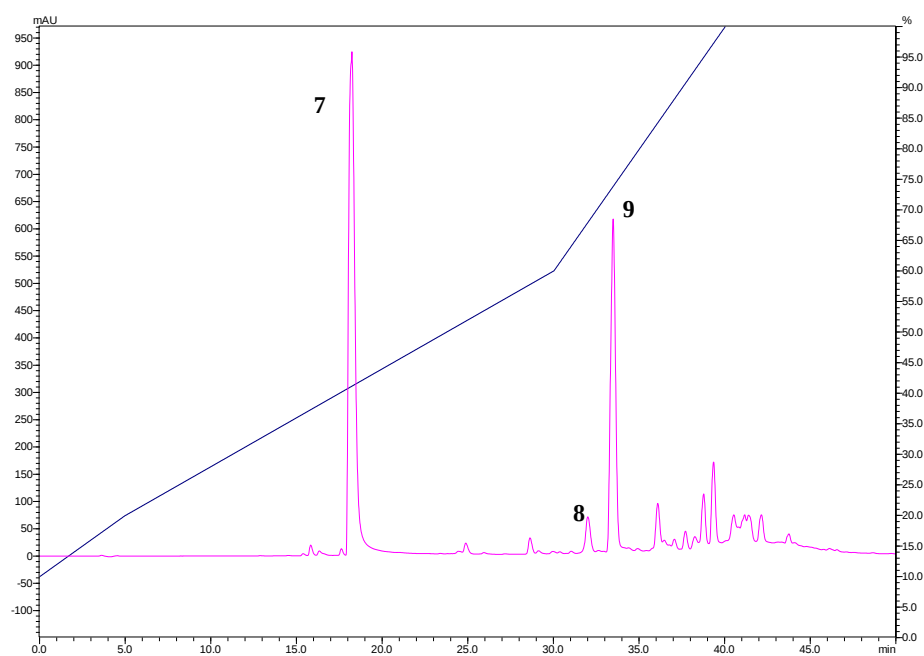


Figure S15. Chromatographic profile of the FD4 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis

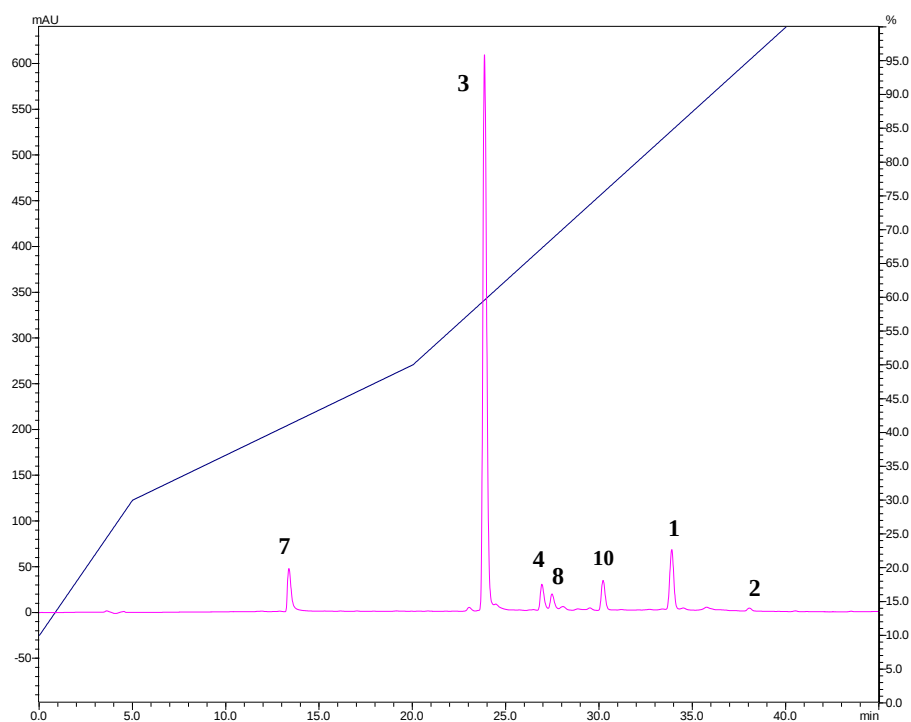


Figure S16. Chromatographic profile of the FD5 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis

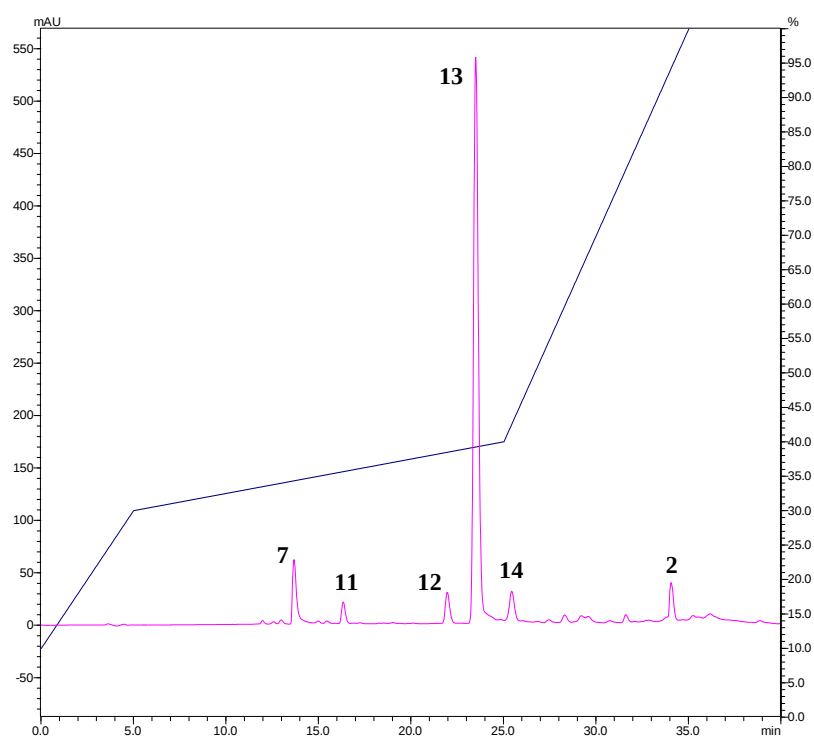


Figure S17. Chromatographic profile of the FD8 fraction from dichloromethane sub-extract at 254 nm obtained by HPLC-UV analysis

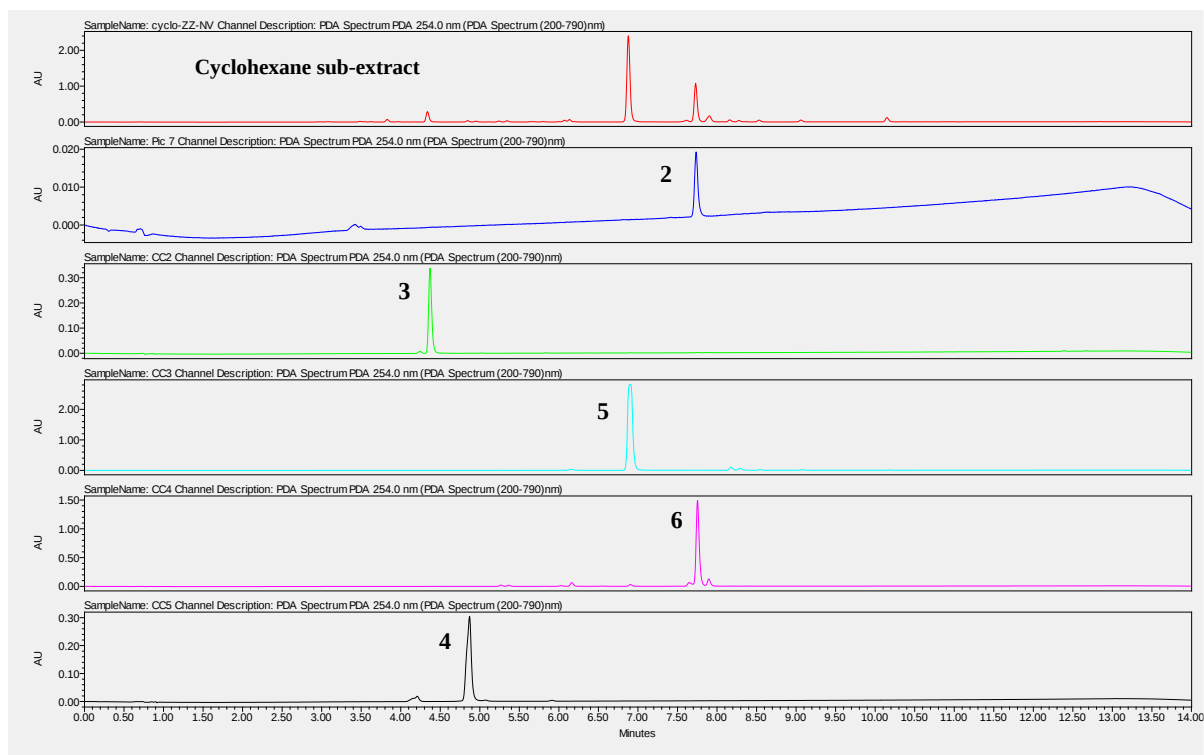


Figure S18. Chromatographic profile of the cyclohexane sub-extract with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

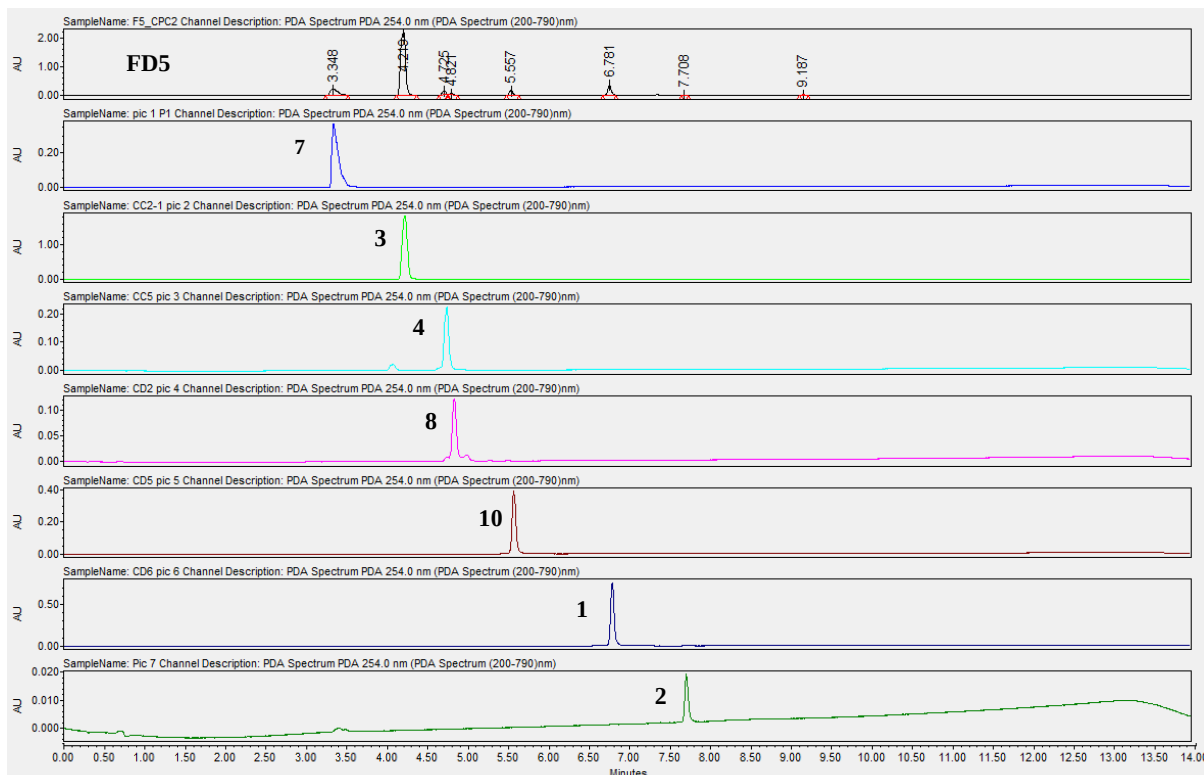


Figure S19. Chromatographic profile of the FD5 fraction with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

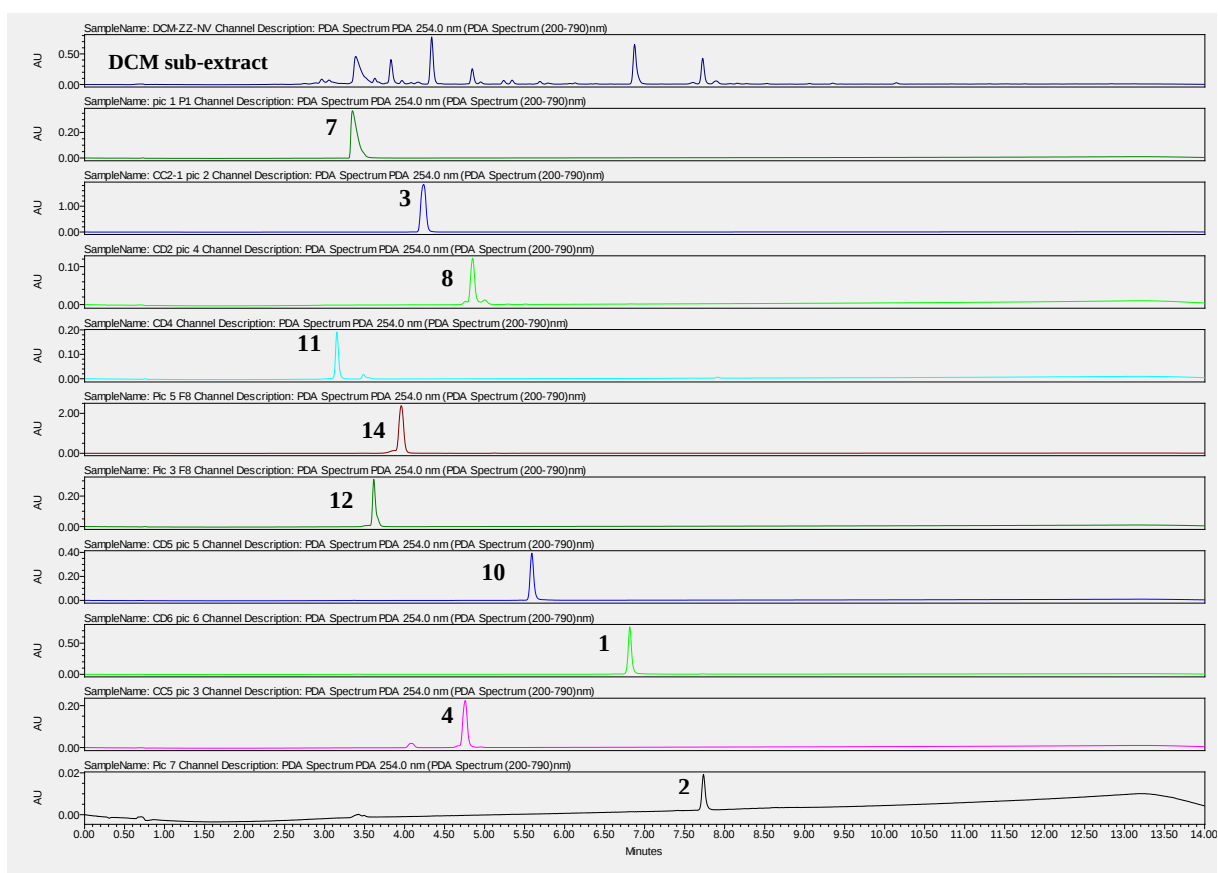
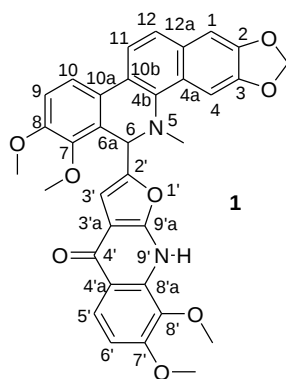


Figure S20. Chromatographic profile of the dichloromethane sub-extract with its isolated compounds at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

Zanthoxylolthrine (1)



Brown powder; m.p: 215-216 °C; $[\alpha]_D^{25} 0$ (*c* 0.01, CH₂Cl₂); UHPLC-UV: $\lambda_{\max}$ (AU) 231 (0.69), 260 (0.88), 282 (0.62), 325 (0.31) nm; IR $\nu_{\max}$ 3400, 3000, 2944, 2893, 2838, 2810, 1634, 1573, 1522, 1492, 1460, 1415, 1361, 1265, 1238, 1072, 1039 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 9.06 (1H, s, NH), 8.02 (1H, *d*, *J* = 9.1 Hz, H-5'), 7.76 (1H, s, H-4), 7.69 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-11), 7.61 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-10), 7.43 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-12), 7.08 (1H, *d*, *J* = 8.6

Hz, H-9), 7.07 (1H, s, H-1), 6.90 (1H, *d*, *J* = 9.1 Hz, H-6'), 6.26 (1H, *d*, *J* = 1.4 Hz, H-3'), 6.06 (2H, *dd*, *J* = 10.3, 1.2 Hz, C-2-O-CH₂-O-C-3), 5.83 (1H, *d*, *J* = 1.4 Hz, H-6), 3.99 (3H, s, C-8-O-CH₃), 3.97 (3H, s, C-8'-O-CH₃), 3.95 (3H, s, C-7'-O-CH₃), 3.91 (3H, s, C-7-O-CH₃), 2.80 (3H, s, N-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm) 173.6 (C=O, C-4'), 154.7 (C, C-9'a), 153.1 (C, C-7'), 152.1 (C, C-8), 150.2 (C, C-2'), 148.1 (C, C-3), 147.5 (C, C-2), 146.4 (C, C-7), 139.6 (C, C-4b), 134.7 (C, C-8'), 131.1 (C, C-8'a), 131.0 (C, C-12a), 126.8 (C, C-4a), 125.5 (C, C-10a), 124.5 (C, C-6a), 124.0 (CH, C-12), 123.3 (C, C-10b), 122.2 (CH, C-5'), 119.8 (CH, C-11), 119.1 (CH, C-10), 118.8 (C, C-4'a), 112.3 (CH, C-9), 107.9 (CH, C-6'), 106.2 (C, C-3'a), 104.9 (CH, C-3'), 104.4 (CH, C-1), 101.0 (CH₂, C-2-O-CH₂-O-C-3), 100.6 (CH, C-4), 61.2 (CH₃, C-7-O-CH₃), 61.0 (CH₃, C-8'-O-CH₃), 56.1 (CH₃, C-7'-O-CH₃), 55.8 (CH₃, C-8-O-CH₃), 55.3 (CH, C-6), 42.2 (CH₃, N-CH₃); ESIMS: *m/z* (rel. int.) 593.1907 [M+H]⁺ (100), 563 (12), 521 (6), 360 (3), 349 (7), 348 (28), 325 (12), 304 (1), 291(8); HRESIMS *m/z* calcd for C₃₄H₂₈N₂O₈, 593.1895; found 593.1907.

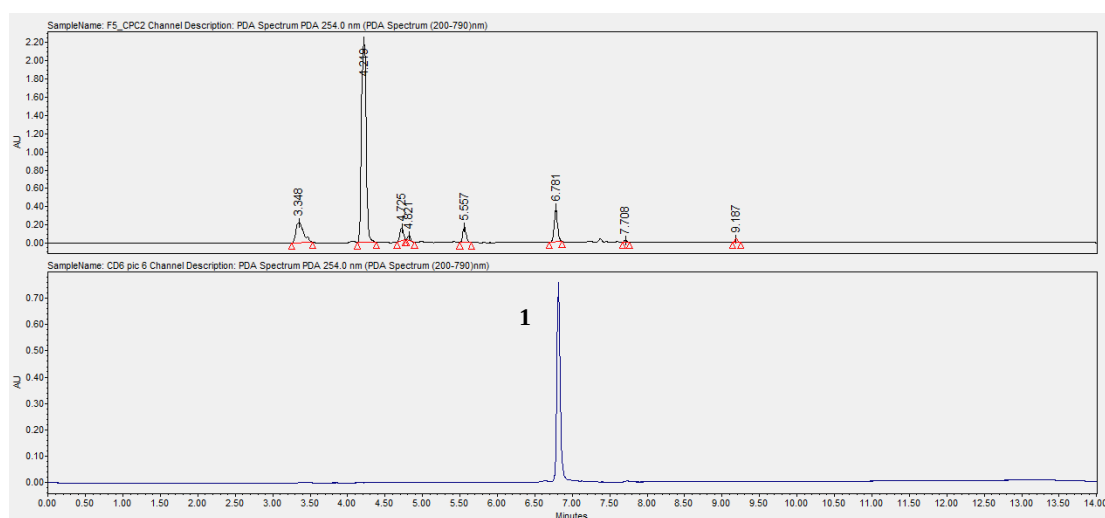


Figure S21. Chromatographic profile of the FD5 fraction with the compound **1** at 254 nm obtained by UHPLC-UV-MS analysis

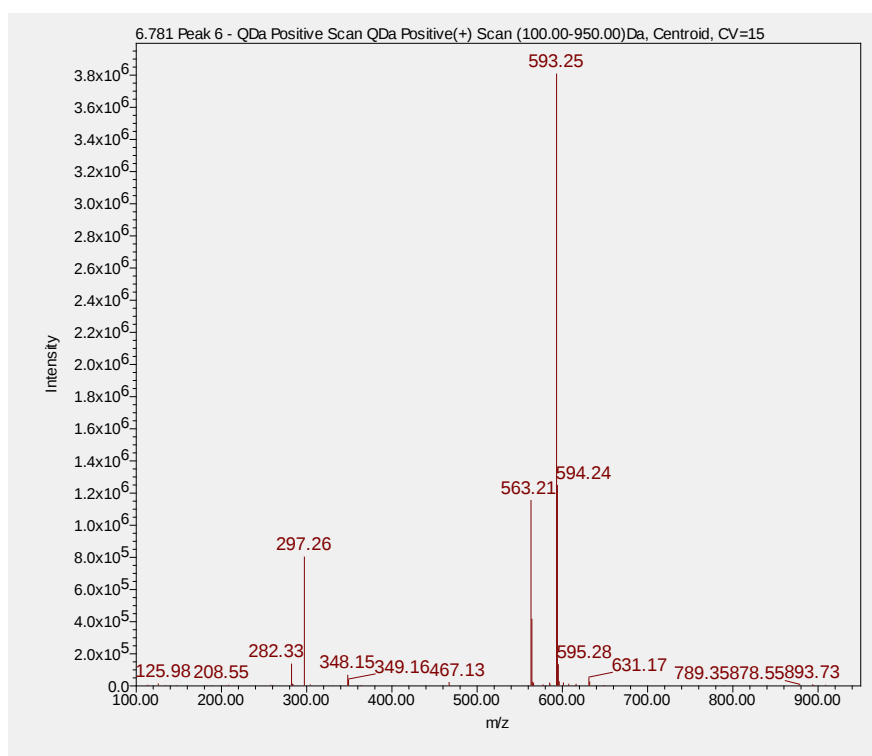


Figure S22. MS spectrum of compound **1** in positive mode obtained by UHPLC-UV-MS

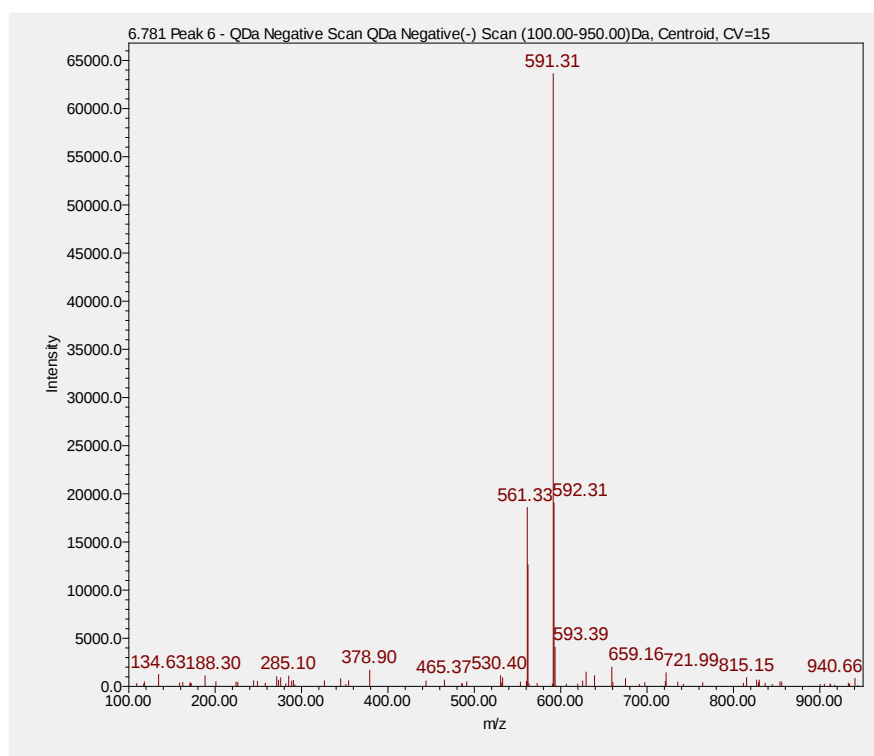


Figure S23. MS spectrum of compound **1** in negative mode obtained by UHPLC-UV-MS

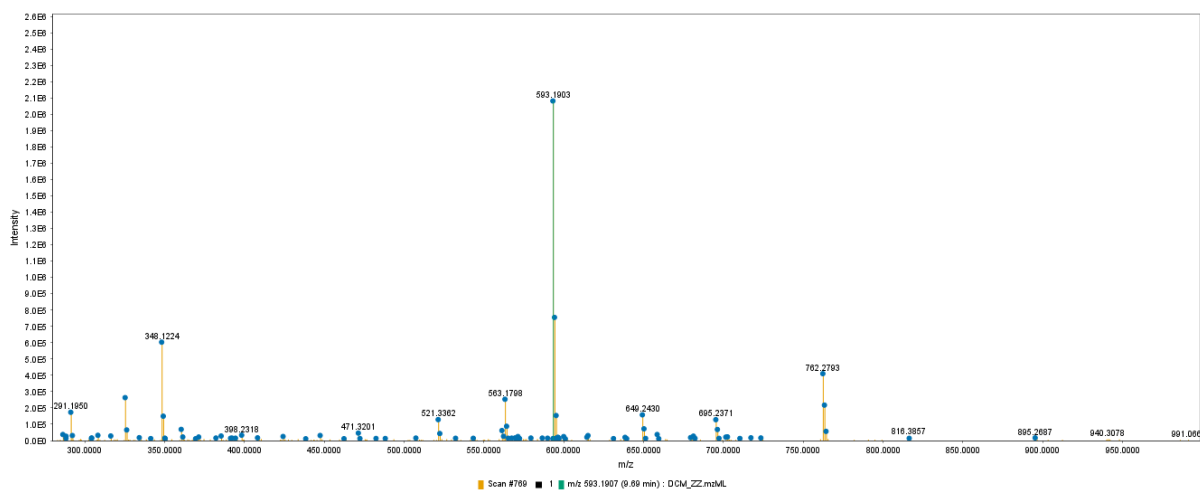


Figure S24. HR-ESI-MS spectrum of the new compound **1**

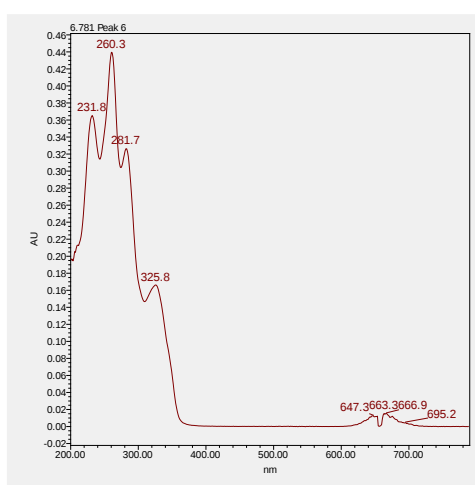


Figure S25. UV spectrum of the new compound **1**

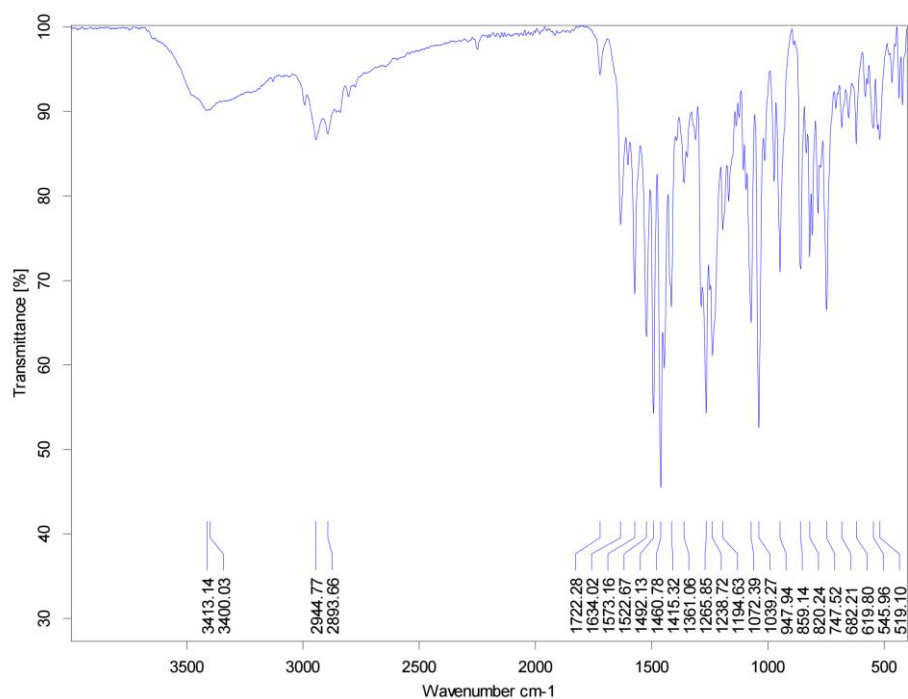


Figure S26. IR spectrum of the new compound **1**

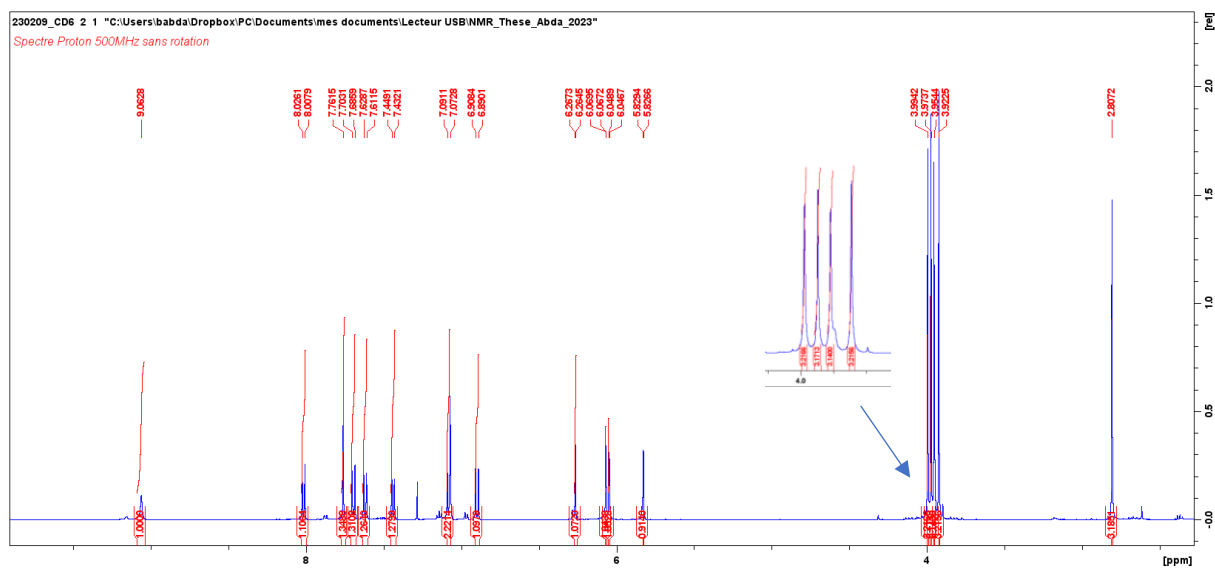


Figure S27. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of the new compound **1**

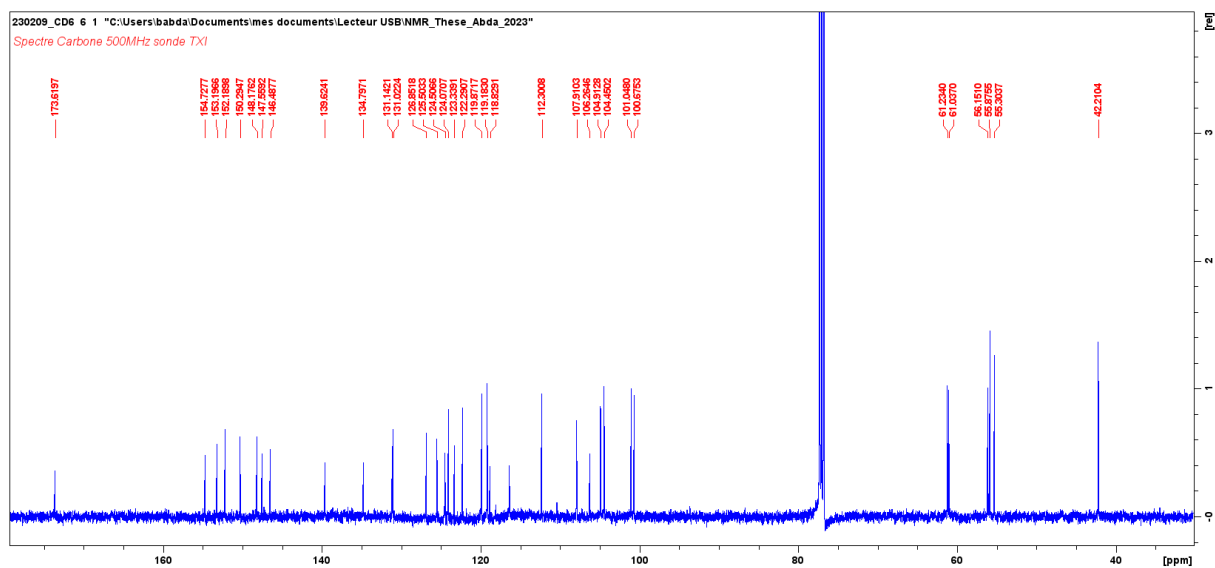


Figure S28. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of the new compound **1**

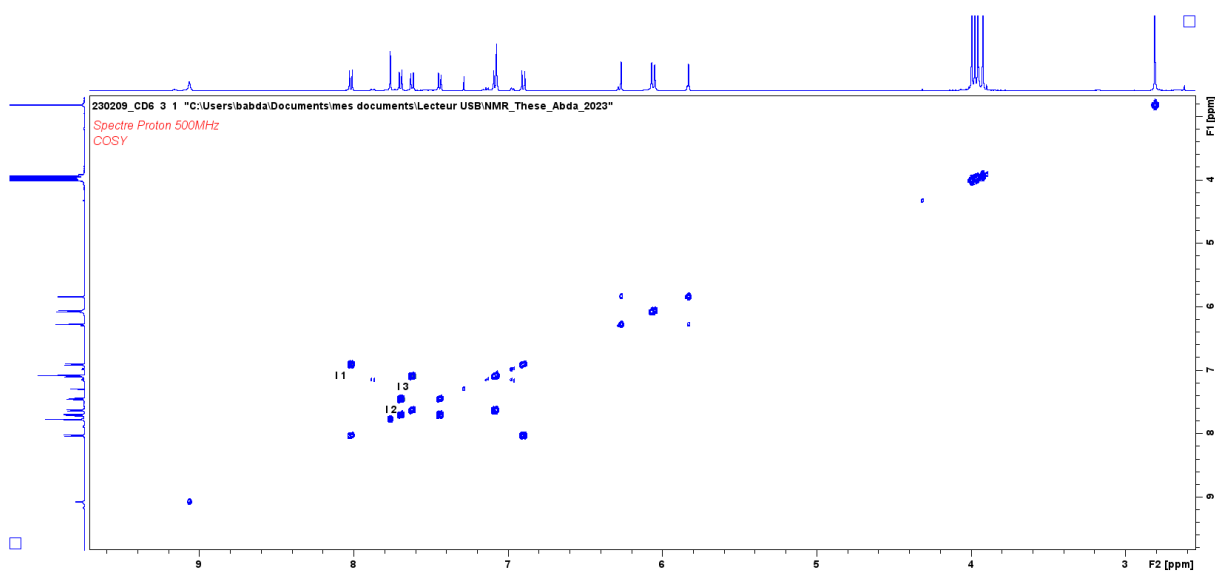


Figure S29. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of the new compound **1**

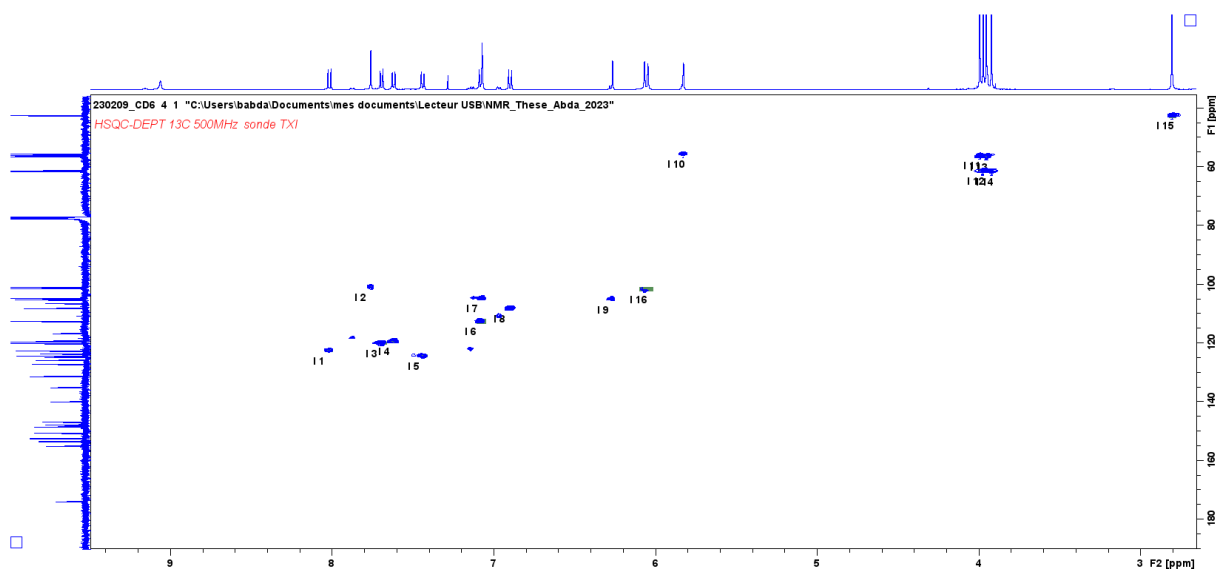


Figure S30. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of the new compound **1**

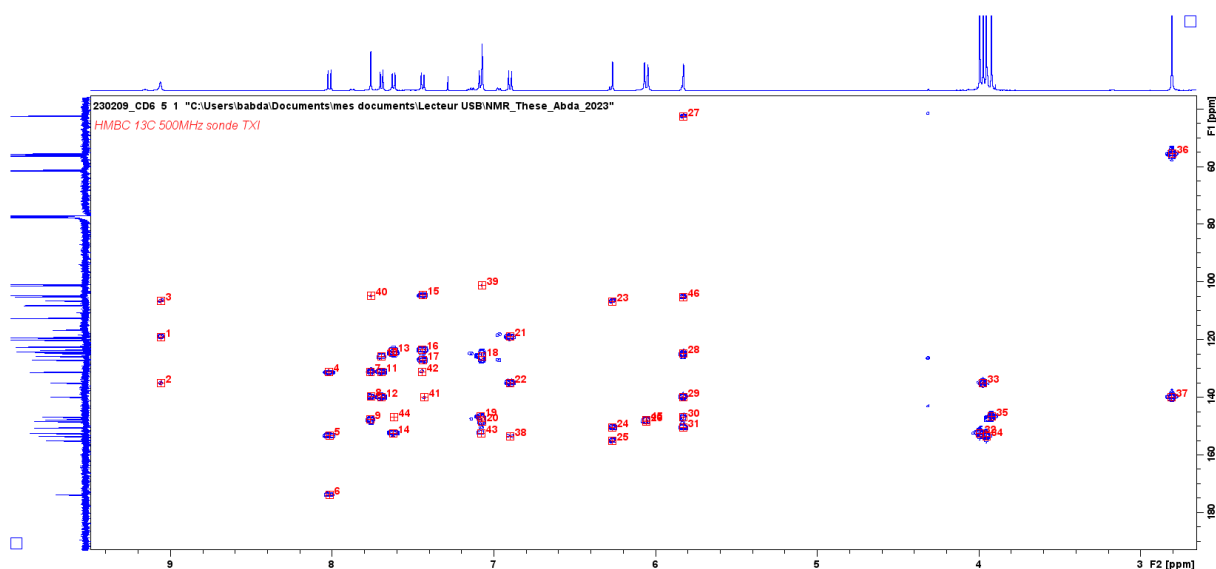
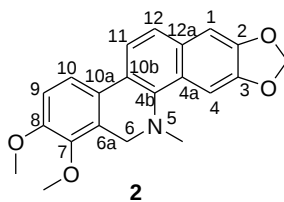


Figure S31. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of the new compound **1**

Dihydrochelerythrine (2):



Yellow powder; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 230 (0.034), 279 (0.045), 317 (0.018), 350 (sh) nm;
 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.74 (1H, *d*, J = 8.6 Hz, H-11), 7.71 (1H, *s*, H-4), 7.55

(1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-10), 7.52 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-12), 7.16 (1H, *s*, H-1), 6.98 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-9), 6.09 (2H, *s*, C-2-O-CH₂-O-C-3), 4.33 (2H, *s*, H-6), 3.97 (3H, *s*, C-7-O-CH₃), 3.91 (3H, *s*, C-8-O-CH₃), 2.64 (3H, *s*, N-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125.77 MHz) δ (ppm) 152.2 (C, C-7), 148.0 (C, C-2), 147.4 (C, C-3), 146.1 (C, C-8), 142.7 (C, C-4b), 130.8 (C, C-12a), 126.3 (C, C-10a), 126.2 (C, C-4a), 126.2 (C, C-6a), 124.2 (C, C-10b), 123.7 (CH, C-12), 120.1 (CH, C-11), 118.6 (CH, C-10), 110.9 (CH, C-9), 104.3 (CH, C-1), 101.0 (CH₂, C-2-O-CH₂-O-C-3), 100.7 (CH, C-4), 61.1 (CH₃, C-8-O-CH₃), 55.8 (CH₃, C-7-O-CH₃), 48.7 (CH₂, C-6), 41.3 (CH₃, N-CH₃); HR-ESI-MS: *m/z* 350.1385 [M+H]⁺ (calcd for C₂₁H₂₀NO₄, 350.1386).

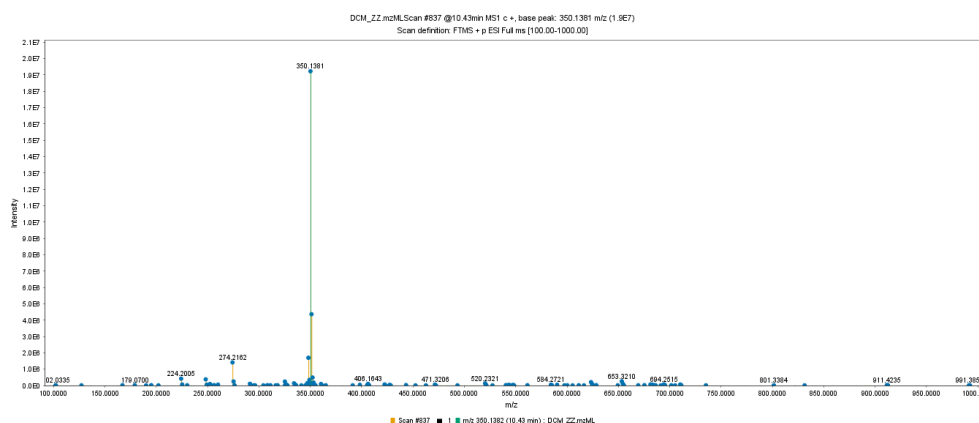


Figure S32. HR-ESI-MS spectrum of compound 2

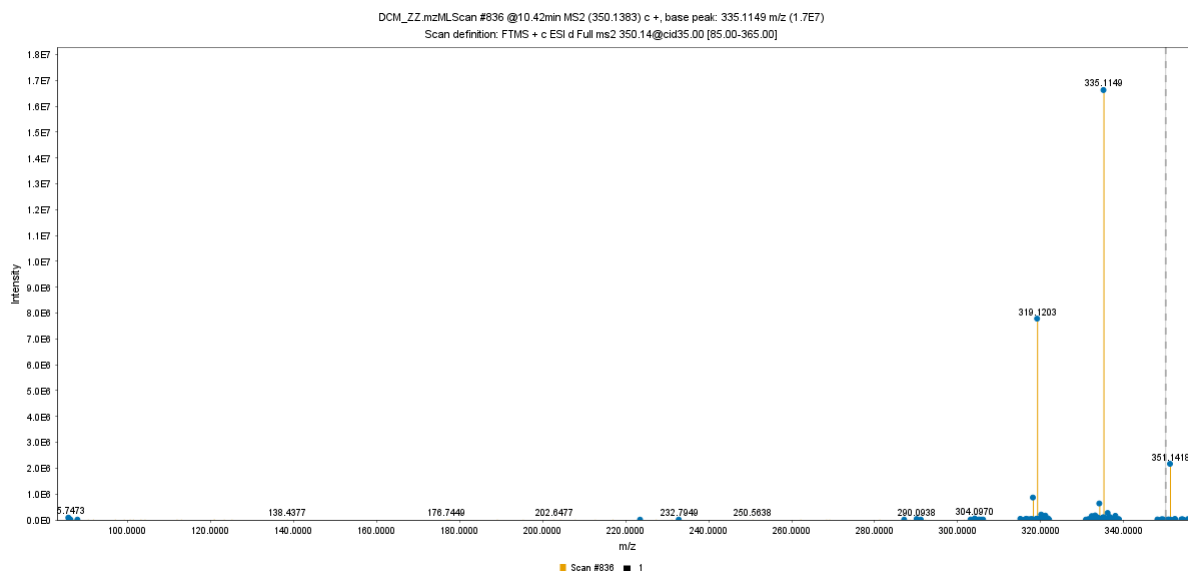


Figure S33. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 2

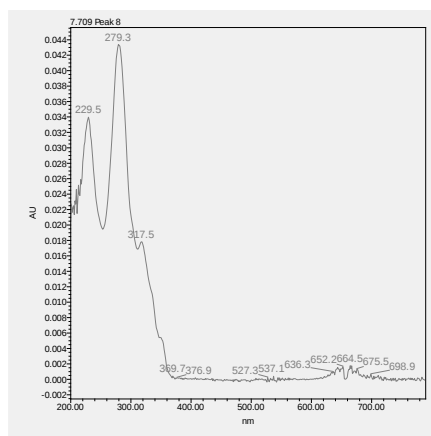


Figure S34. UV spectrum of compound **2**

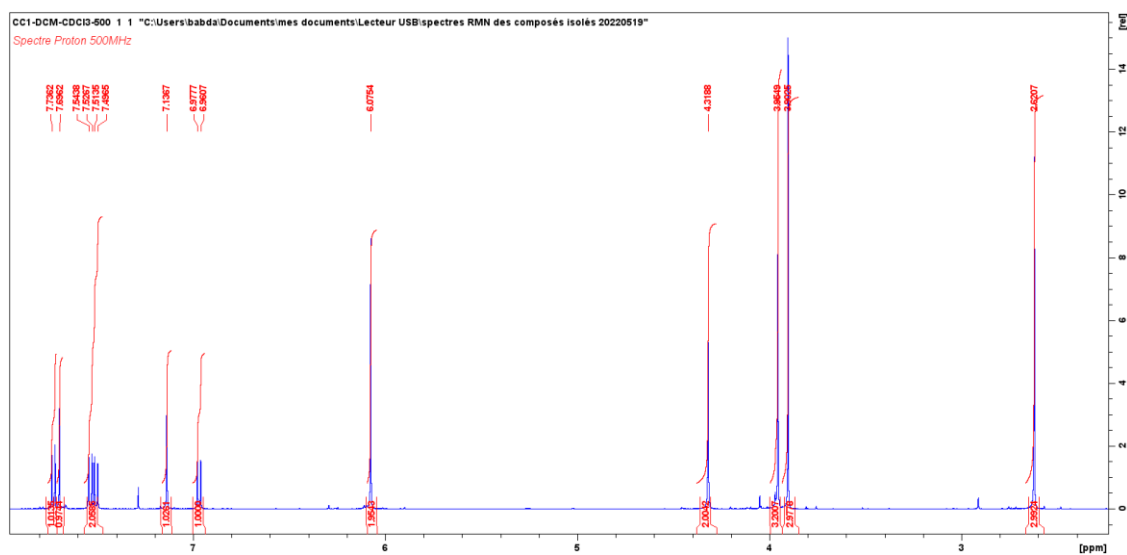


Figure S35. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **2**

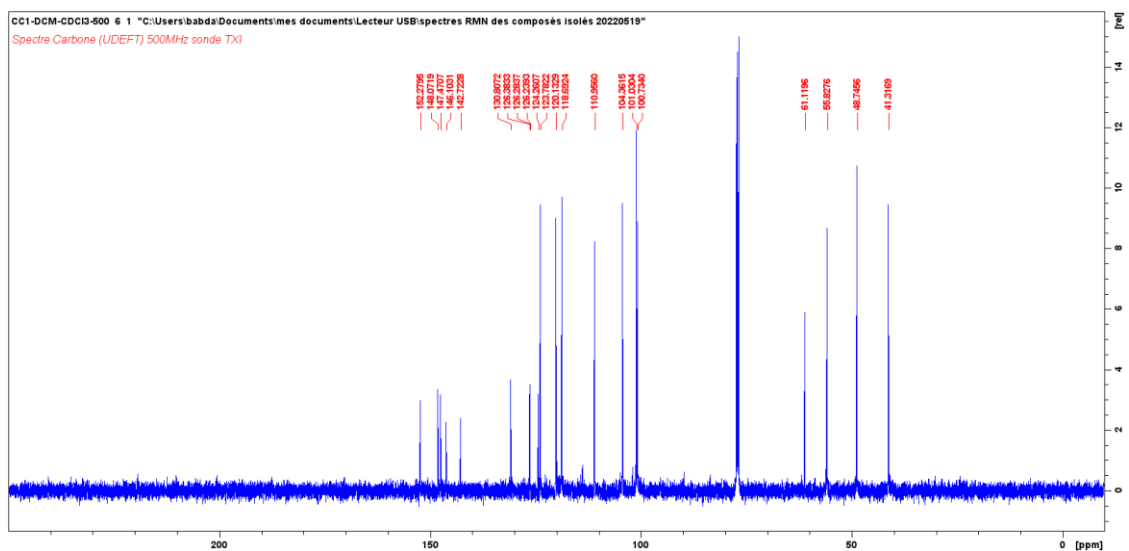


Figure S36. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 2

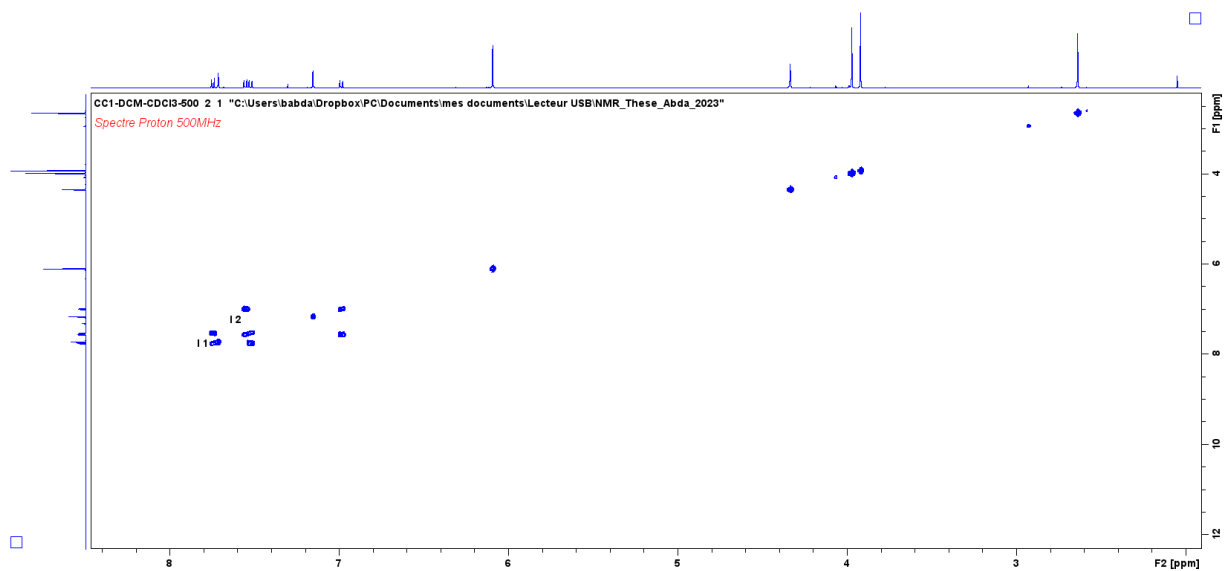


Figure S37. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 2

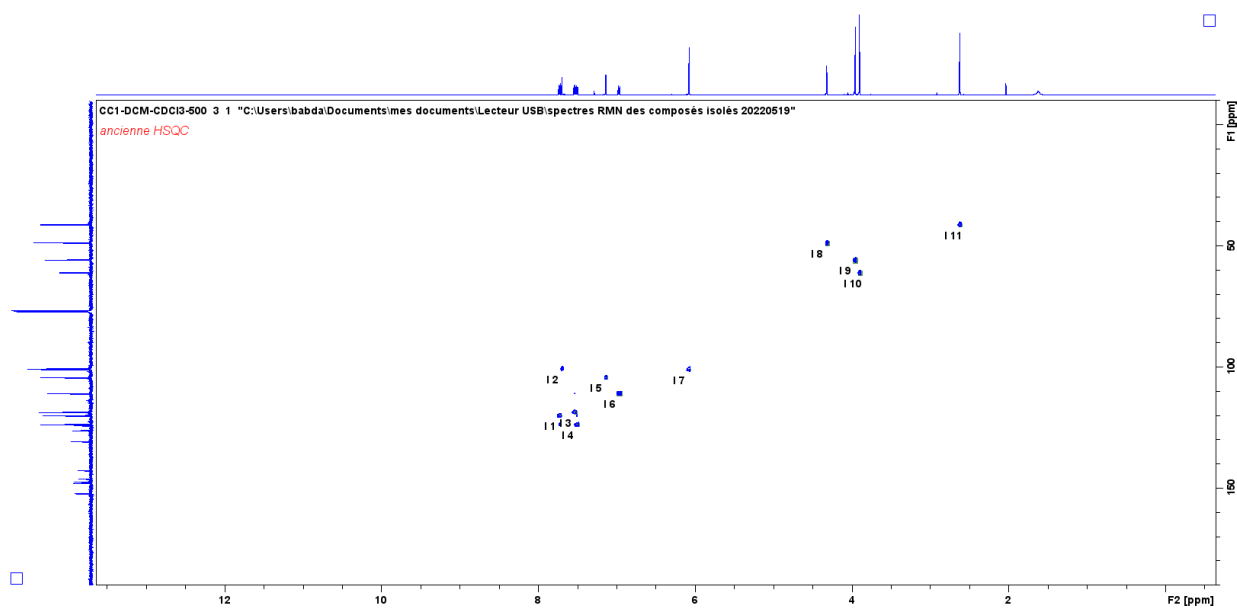


Figure S38. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 2

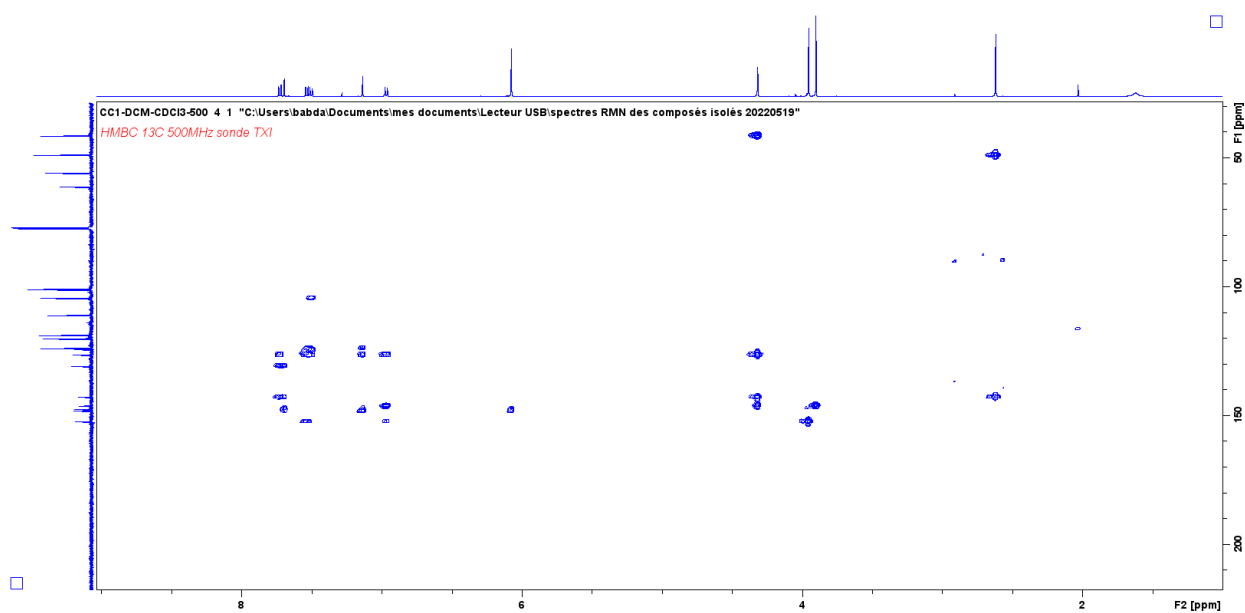
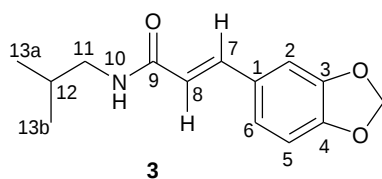


Figure S39. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 2

Trans-fagaramide (3):



White needles; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 217 (0.69), 234 (0.57), 289 (0.58), 321 (0.70) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.55 (1H, *d*, $J = 15.4$ Hz, H-7), 7.02 (1H, *d*, $J = 1.6$ Hz, H-2), 6.99 (1H, *dd*, $J = 8.0, 1.6$ Hz, H-6), 6.81 (1H, *d*, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.25 (1H, *d*, $J = 15.4$ Hz, H-8), 6.00 (2H, *s*, C-3-O-CH₂-O-C-4), 5.75 (1H, *s*, NH, *large*), 3.23 (2H, *dd*, $J = 6.5, 0.6$ Hz, H-11), 1.85 (1H, *nonuplet*, $J = 6.7$ Hz, H-12), 0.96 (6H, *d*, $J = 6.7$ Hz, H-13a, H-13b); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125.77 MHz) δ (ppm) 166.1 (C=O, C-9), 148.9 (C, C-3), 148.2 (C, C-4), 140.5 (CH, C-7), 129.7 (C, C-1), 123.5 (CH, C-6), 118.2 (CH, C-8), 108.1 (CH, C-5), 105.9 (CH, C-2), 102.5 (CH₂, C-3-O-CH₂-O-C-4), 46.2 (CH₂, C-11), 28.9 (CH, C-12), 20.1 (2CH₃, C-13a, C-13b); HR-ESI-MS: m/z 248.1277 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for C₁₄H₁₇NO₃, 248.1273).

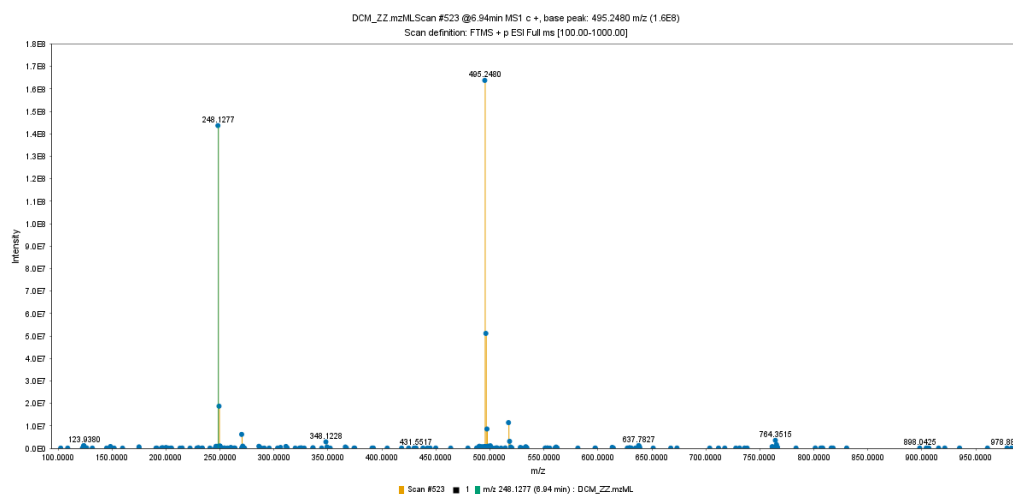


Figure S40. HR-ESI-MS spectrum of compound 3

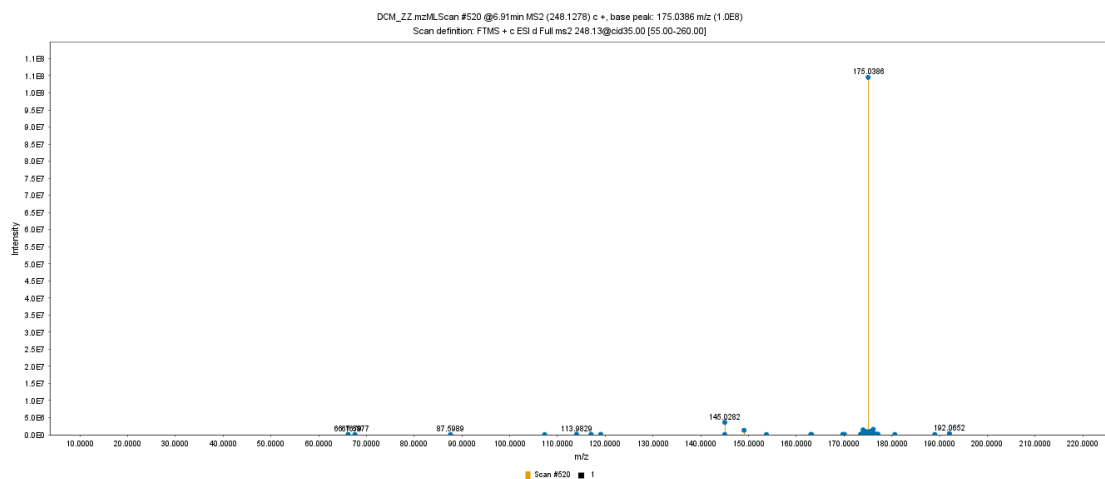


Figure S41. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **3**

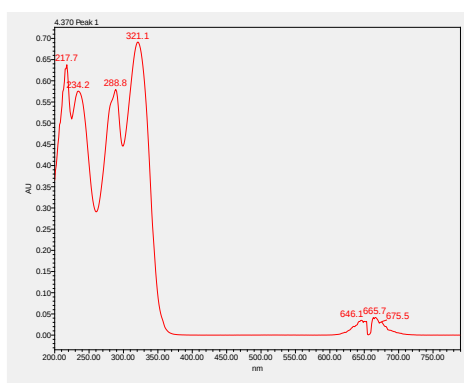


Figure S42. UV spectrum of compound **3**

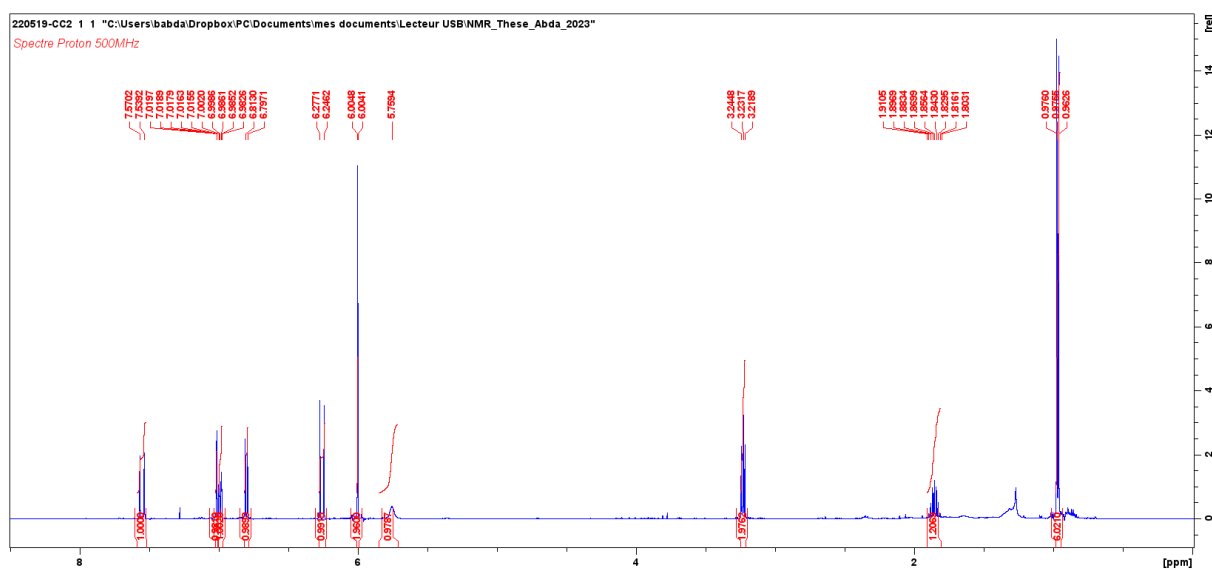


Figure S43. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **3**

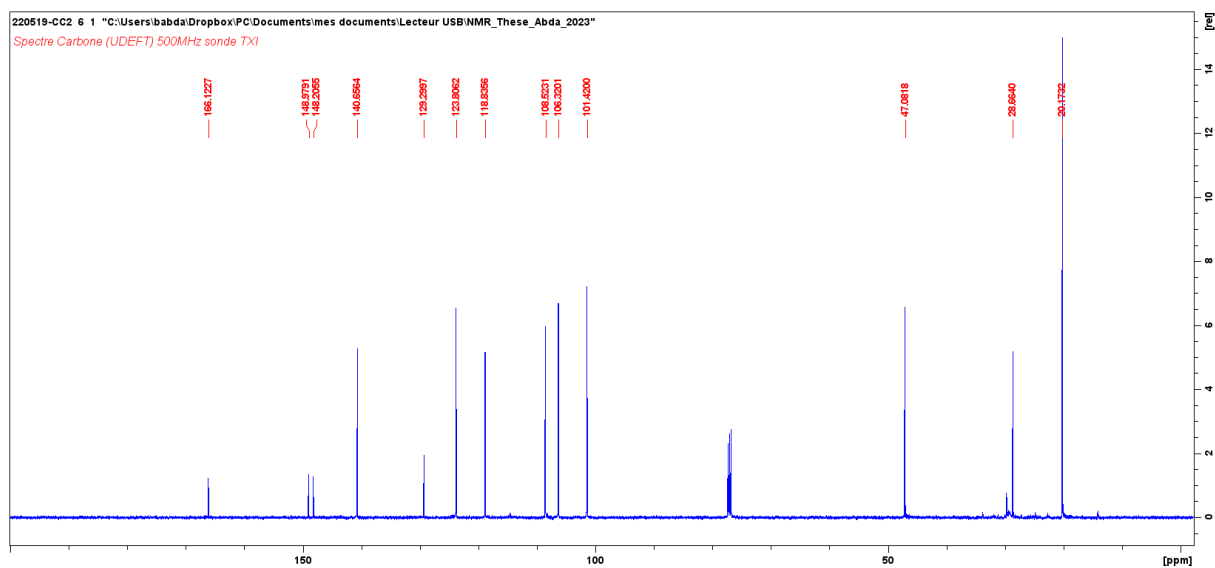


Figure S44. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **3**

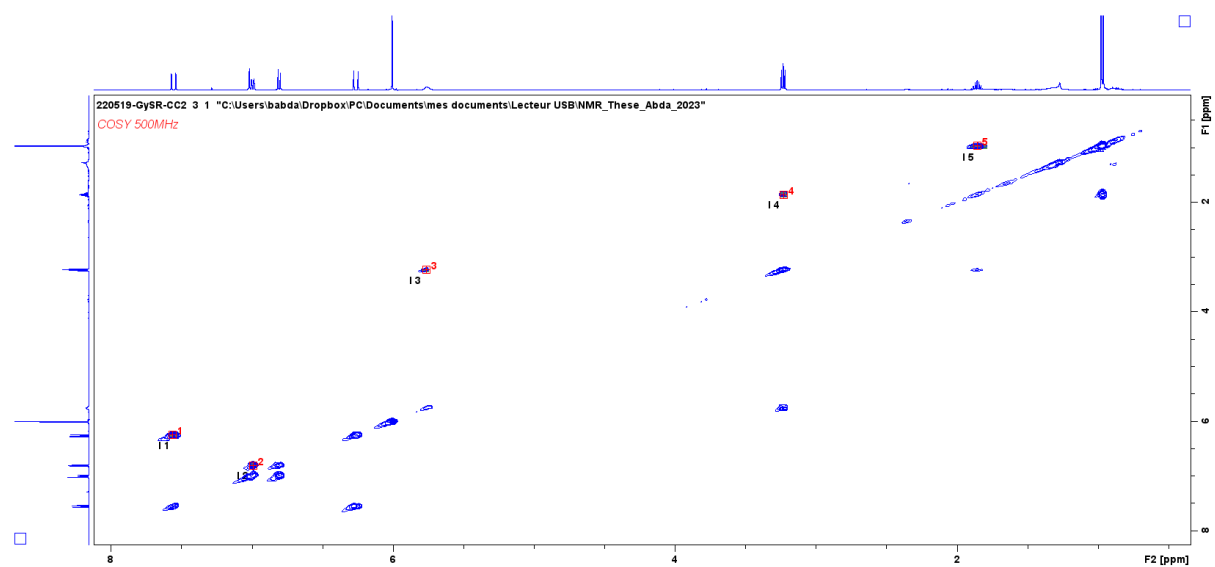


Figure S45. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **3**

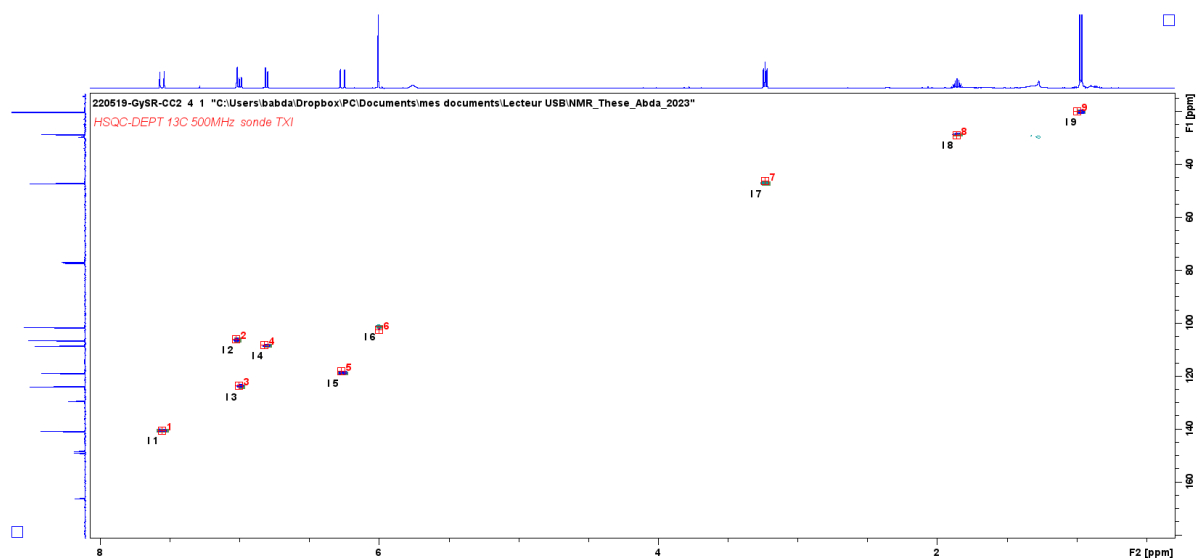


Figure S46. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **3**

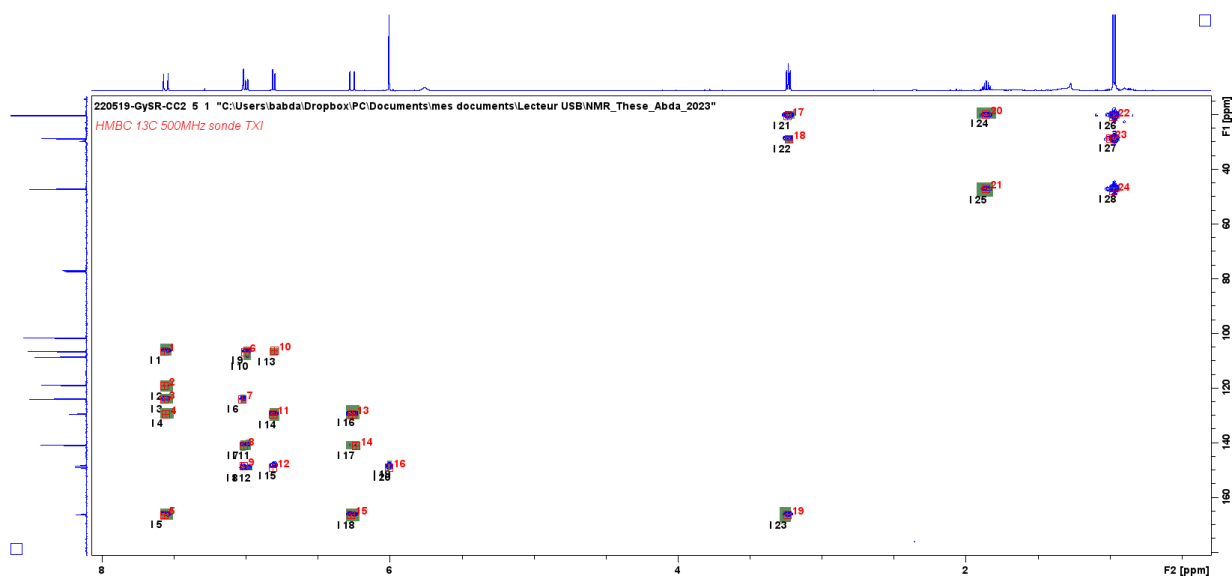
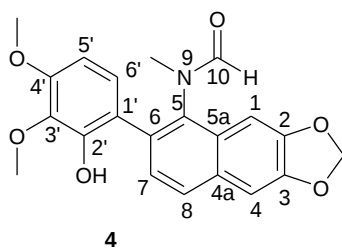


Figure S47. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **3**

Arnottianamide (4):



White powder; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 237 (0.44), 280(sh), 323 (sh), 331 (0.06) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 8.18 (1H, s, H-10), 7.75 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-8), 7.33 (1H, d, $J =$

8.3 Hz, H-7), 7.22 (1H, s, H-4), 7.10 (1H, s, H-1), 6.82 (1H, *d*, *J* = 8.5 Hz, H-6'), 6.56 (1H, *d*, *J* = 8.6 Hz, H-5'), 6.10 (2H, s, C-2-O-CH₂-O-C-3), 5.98 (1H, s, OH), 3.95 (3H, s, C-3'-O-CH₃), 3.92 (3H, s, C-4'-O-CH₃), 3.02 (3H, s, N-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125.77 MHz) δ (ppm) 164.5 (CH, C-10); 151.9 (C, C-4'), 148.6 (C, C-3), 148.5 (C, C-2), 146.8 (C, C-2'), 135.7 (C, C-5), 135.5 (C, C-3'), 133.1 (C, C-4a), 131.3 (C, C-5a), 128.6 (C, C-6), 127.4 (CH, C-8), 127.3 (CH, C-7), 125.1 (CH, C-6'), 118.7 (C, C-1'), 104.3 (CH, C-4), 104.0 (CH, C-5'), 101.2 (CH₂, C-2-O-CH₂-O-C-3), 99.3 (CH, C-1), 61.1 (CH₃, C-3'-O-CH₃), 55.8 (CH₃, C-4'-O-CH₃), 33.1 (CH₃, N-CH₃); HR-ESI-MS: *m/z* 382.1281 [M+H]⁺ (calcd for C₂₁H₁₉NO₆, 382.1277).

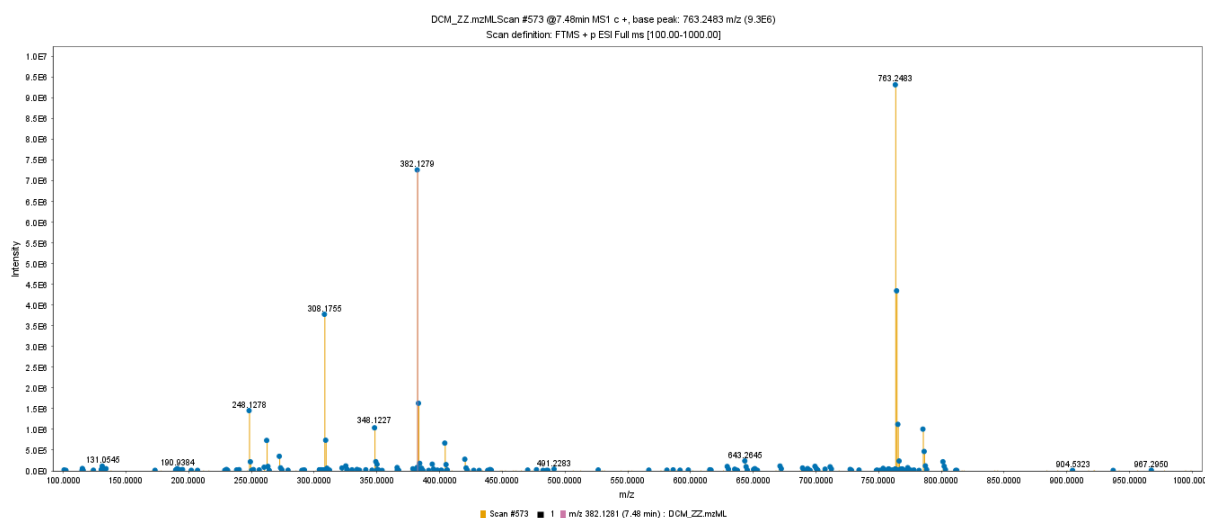


Figure S48. HR-ESI-MS spectrum of compound 4

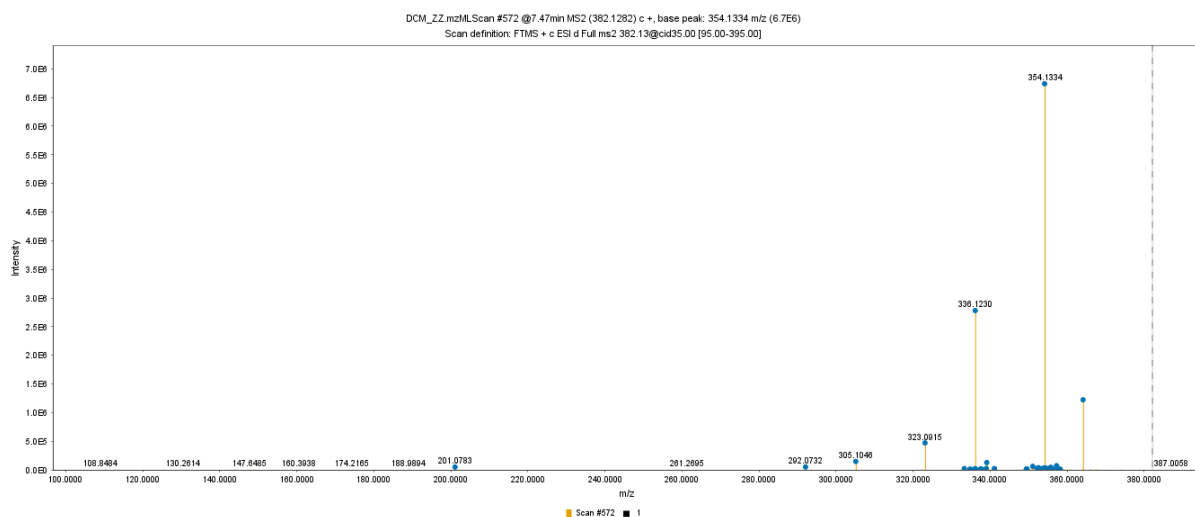


Figure S49. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 4

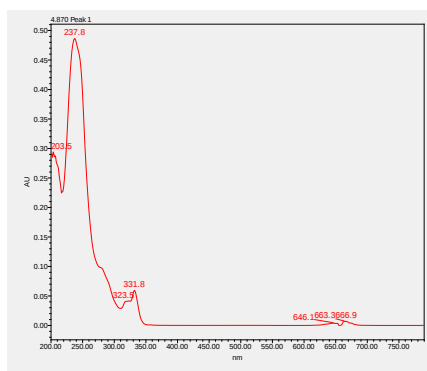


Figure S50. UV spectrum of compound **4**

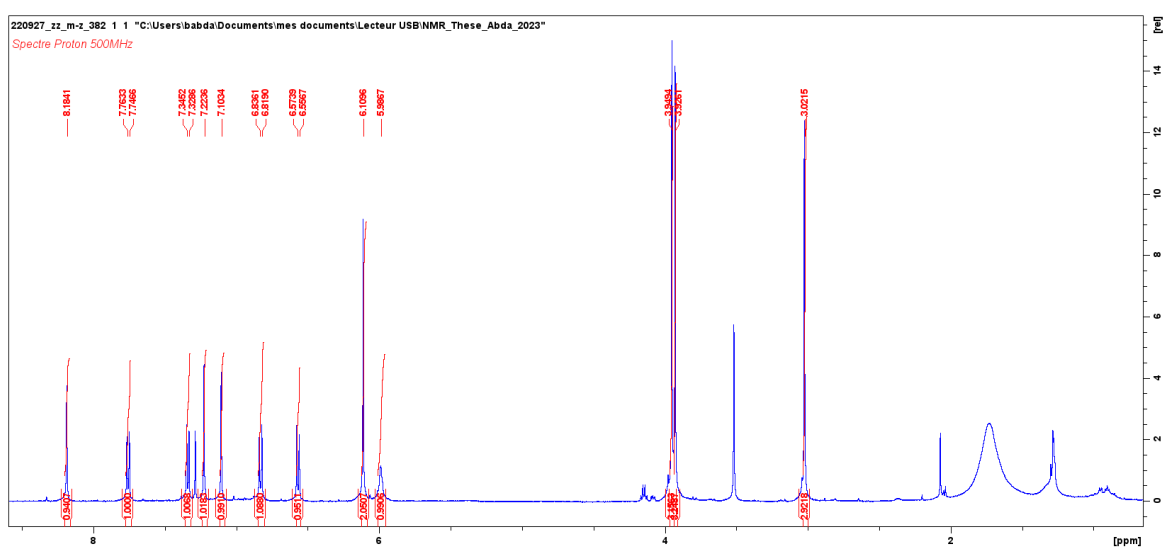


Figure S51. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **4**

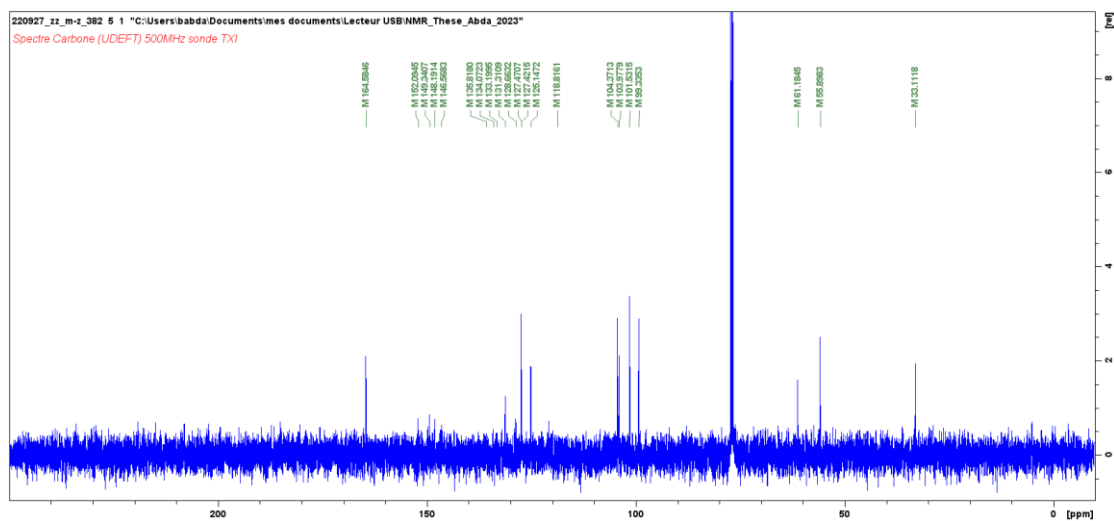


Figure S52. ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **4**

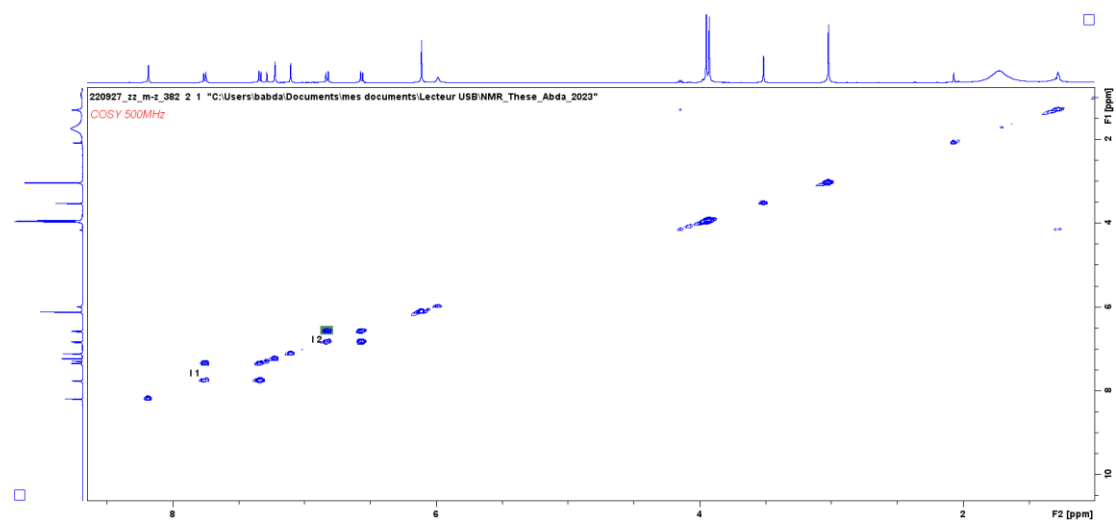


Figure S53. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **4**

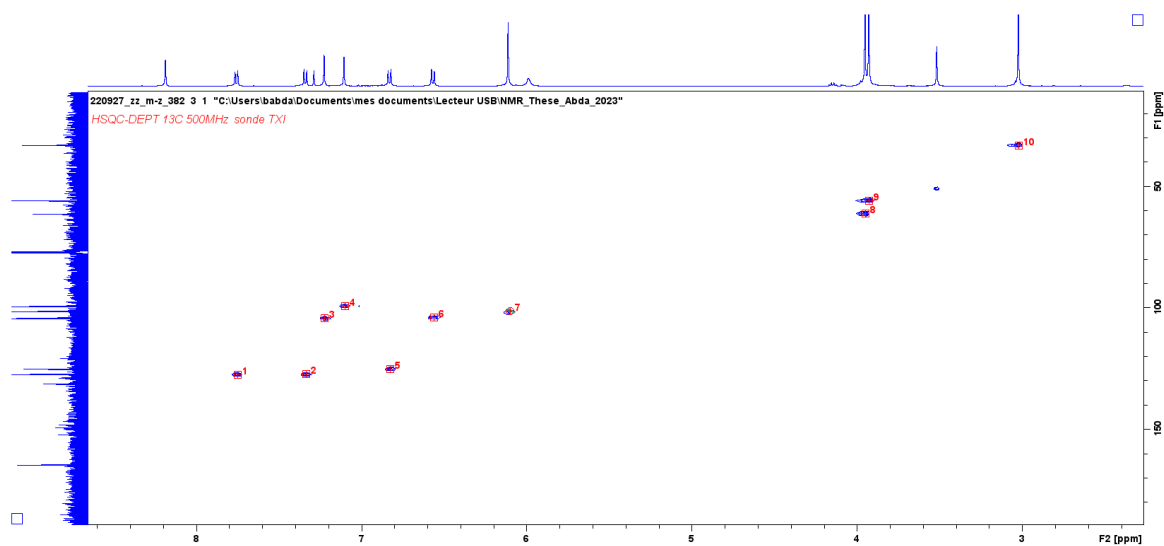


Figure S54. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **4**

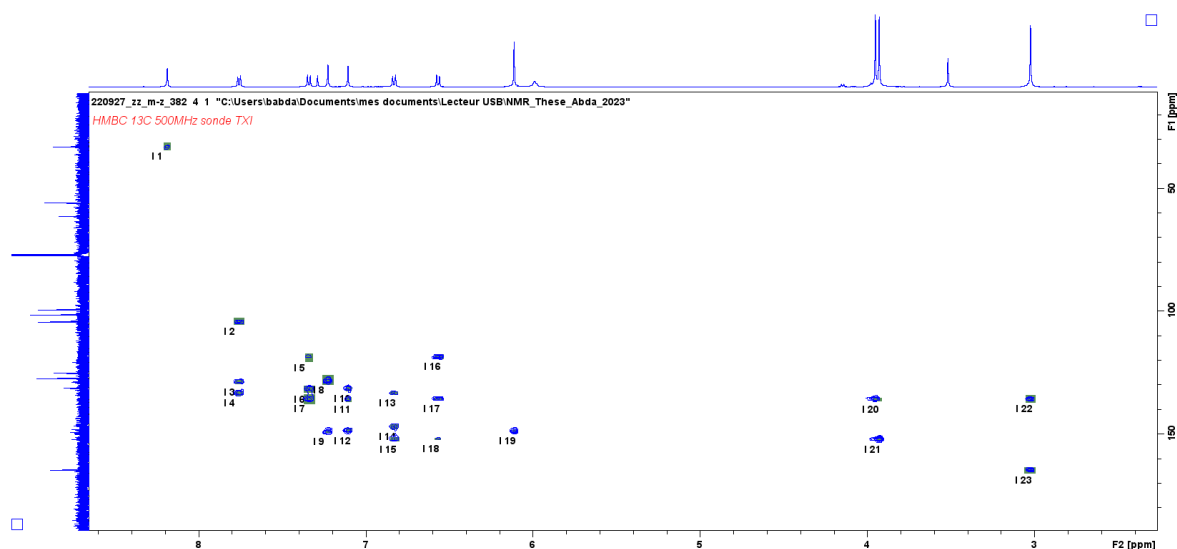
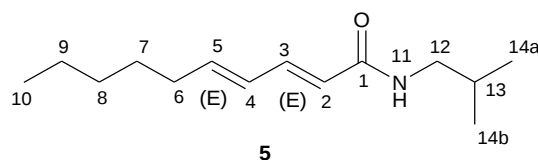


Figure S55. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **4**

Pellitorine (5):



White needles; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 258 (2.82) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.21 (1H, *dd*, $J = 15.0$ Hz, H-3), 6.14 (1H, *dd*, $J = 15.1$ Hz, H-4), 6.09 (1H, *dt*, $J = 15.1$, 6.70 Hz, H-5), 5.77 (1H, *d*, $J = 15.0$ Hz, H-2), 5.59 (1H, *s*, NH, *large*), 3.18 (2H, *dd*, $J = 6.5$, 0.6 Hz, H-12), 2.16 (2H, *dt*, $J = 6.8$ Hz, H-6), 1.81 (1H, *nonuplet*, $J = 6.7$ Hz, H-13), 1.44 (2H, *m*, H-7), 1.33 (2H, *m*, H-9), 1.29 (2H, *m*, H-8), 0.94 (6H, *d*, $J = 6.7$ Hz, H-14a, H-14b), 0.90 (3H, *t*, $J = 7.0$ Hz, H-10); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125.77 MHz) δ (ppm) 166.4 (C=O, C-1), 143.3 (CH, C-5), 141.3 (CH, C-3), 128.1 (CH, C-4), 121.6 (CH, C-2), 46.9 (CH_2 , C-12), 32.9 (CH_2 , C-6), 31.3 (CH_2 , C-8), 28.4 (CH_2 , C-7), 28.6 (CH, C-13), 22.4 (CH_2 , C-9), 20.1 (2 CH_3 , C-14a, C-14b), 14.0 (CH_3 , C-10); HR-ESI-MS: m/z 224.2004 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}$, 224.1999).

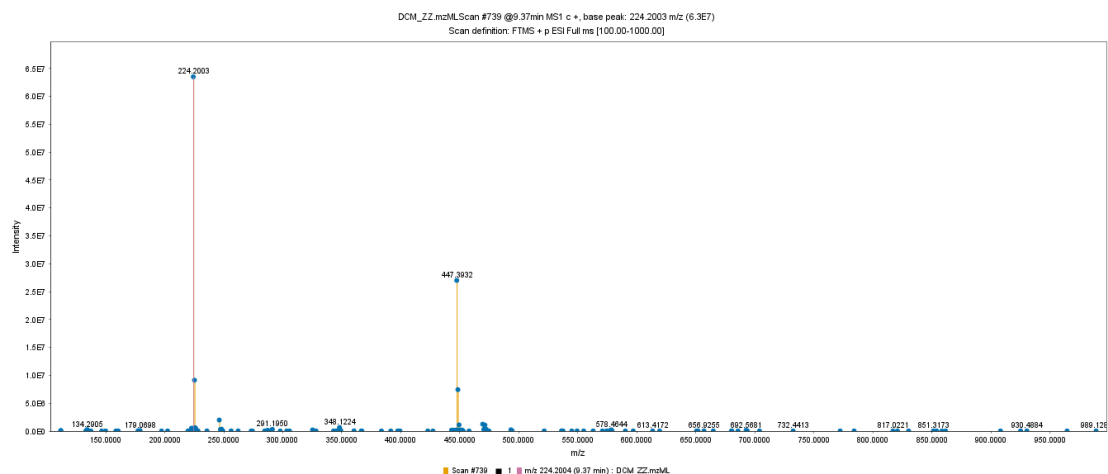


Figure S56. HR-ESI-MS spectrum of compound 5

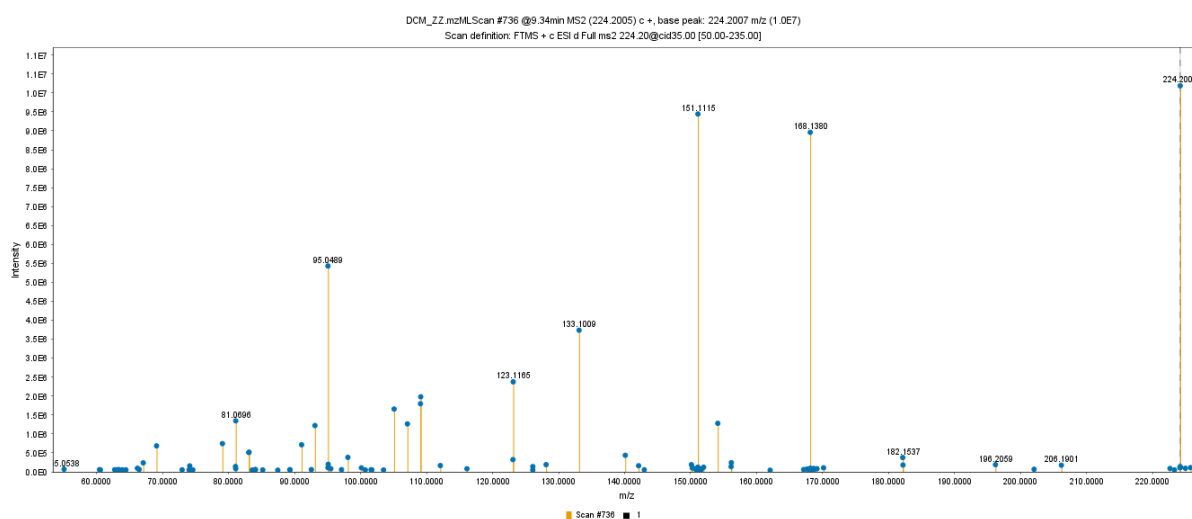


Figure S57. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 5

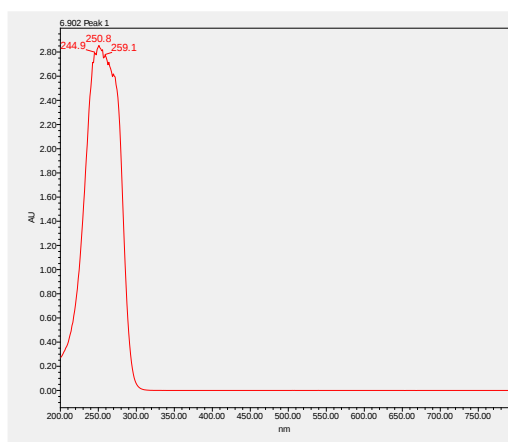


Figure S58. UV spectrum of compound 5

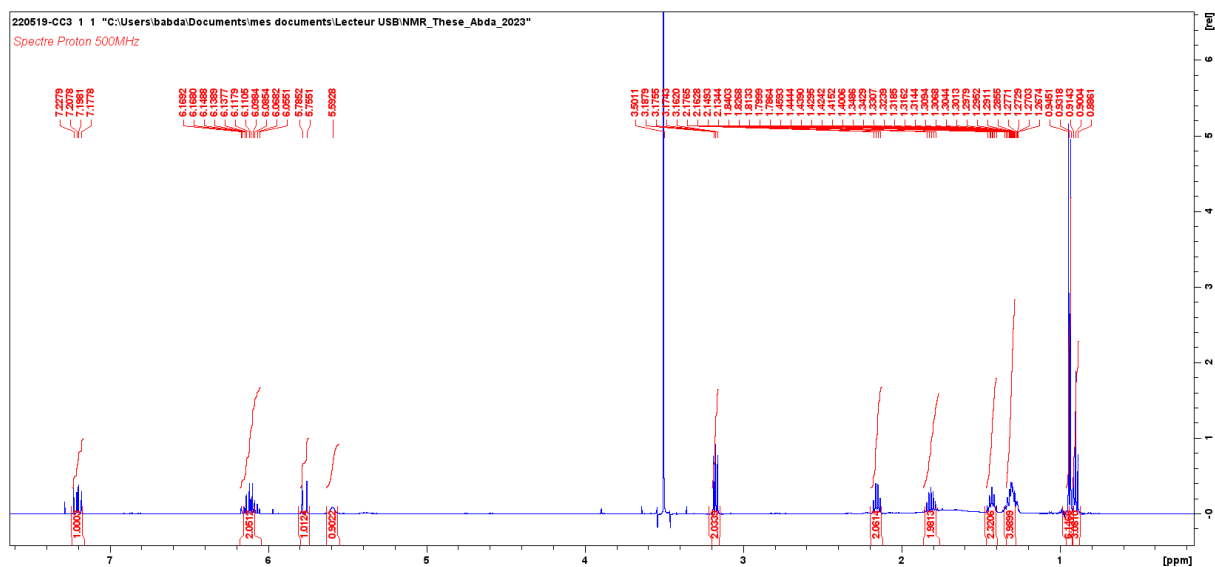


Figure S59. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 5

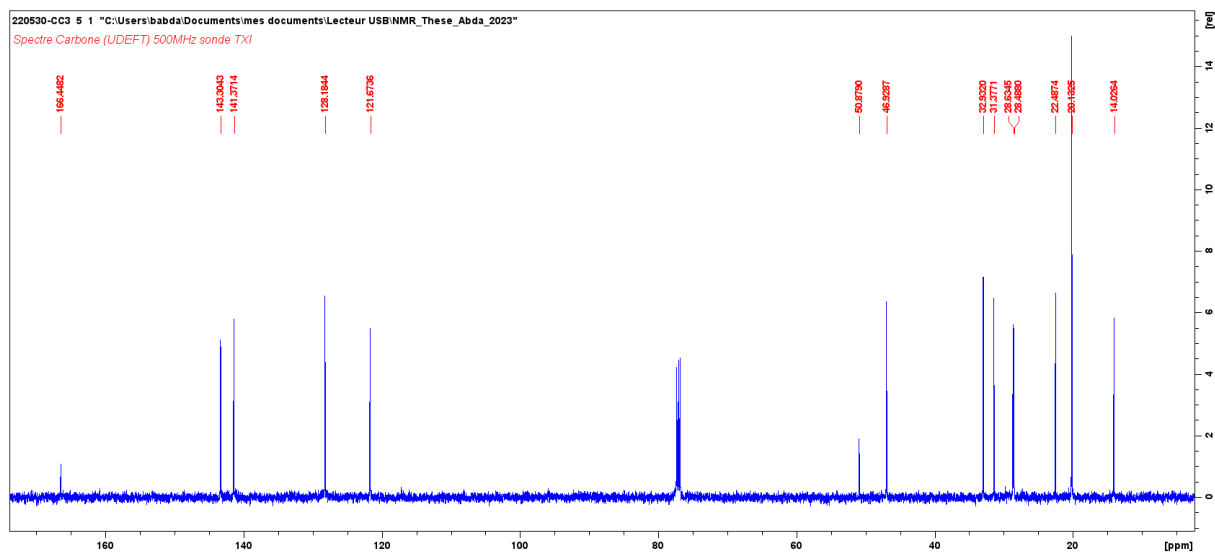


Figure S60. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 5

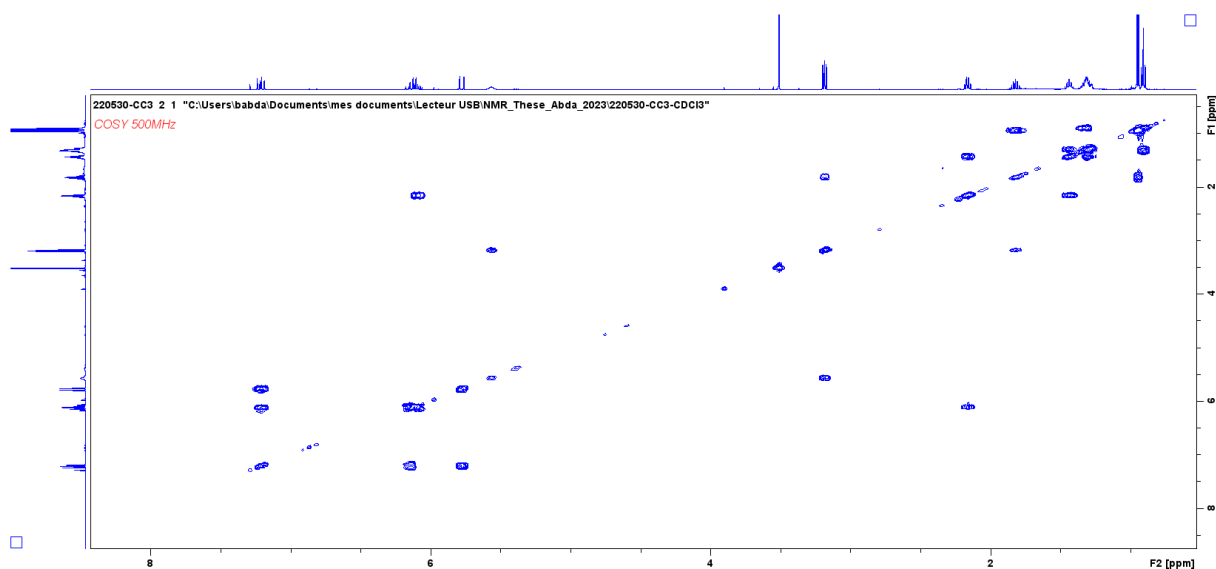


Figure S61. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 5

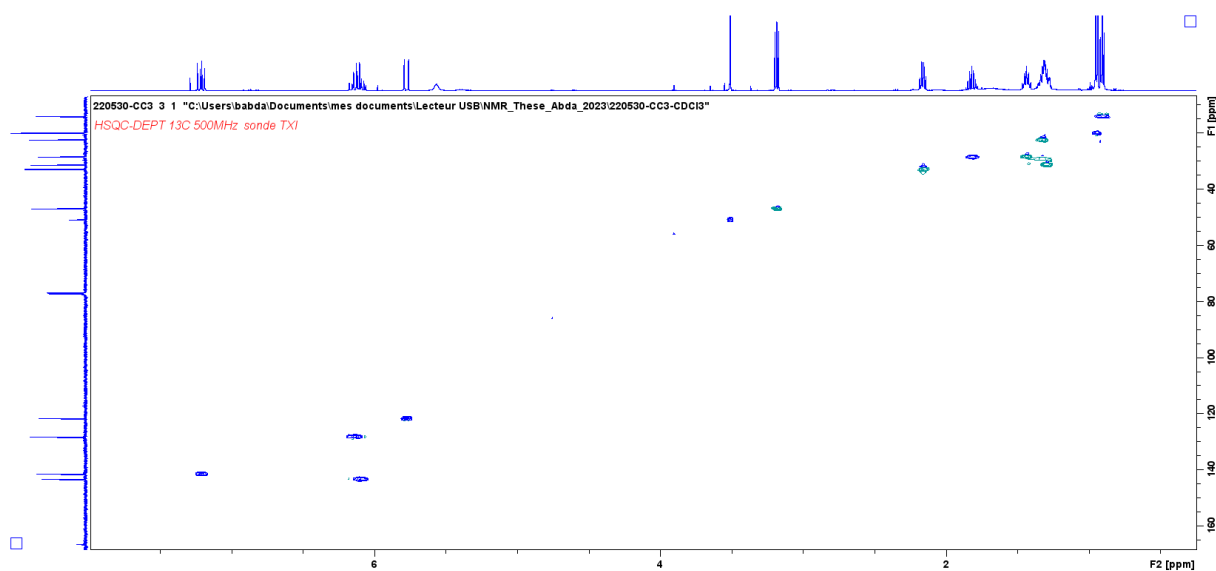


Figure S62. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 5

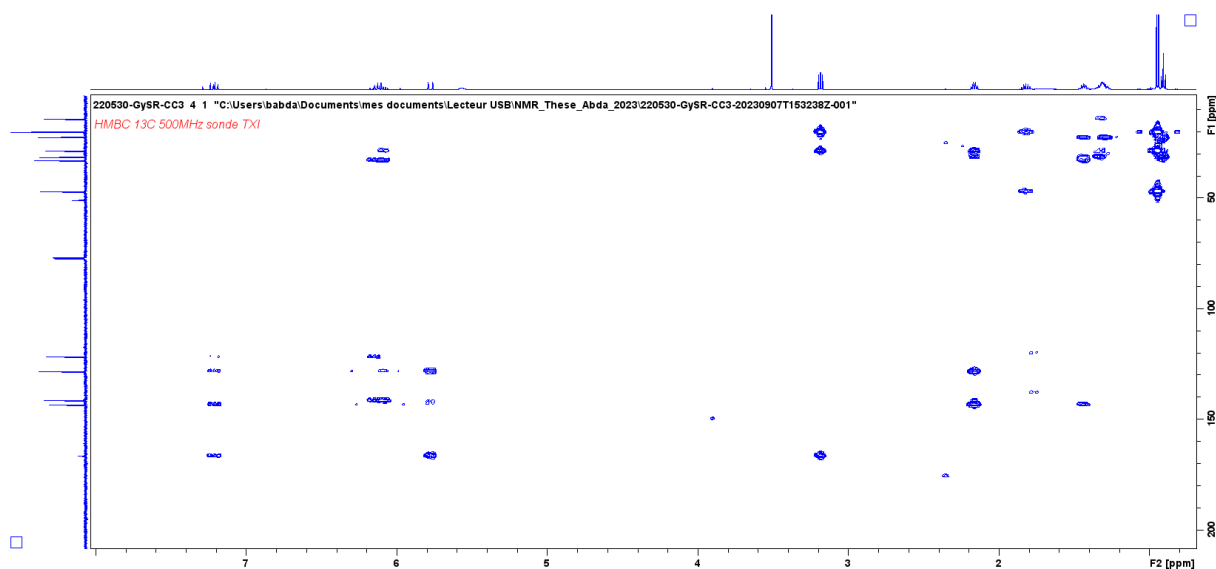
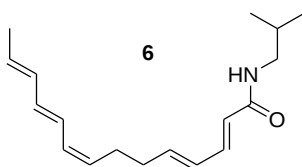


Figure S63. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 5

Gamma-sanshool (6):



White needles; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 272 (1.81) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.20 (1H, *dd*, $J = 15.0, 10.5$ Hz), 6.35 (1H, *dd*, $J = 12.9, 2.4$ Hz), 5.92-6.23 (5H, $J = 15.2, 10.4$ Hz, $J = 15.4$ Hz, $J = 15.1, 10.4, 15.14, 7.0, 10.4$), 5.70-5.80 (2H, $J = 15.1, 7.2$), 5.52 (1H, *s*, NH, large), 5.38 (1H, *dt*, $J = 11.5, 7.4$ Hz), 3.20 (2H, *d*, $J = 6.4$ Hz), 2.35 (2H, *td*, $J = 7.4, 7.0$ Hz), 2.25 (2H, $J = 7.4$ Hz), 1.75-1.88 (4H, $J = 7.1, 6.8$ Hz), 0.96 (6H, *d*, $J = 6.7$ Hz); HR-ESI-MS: m/z 274.2162 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}$, 274.2178).

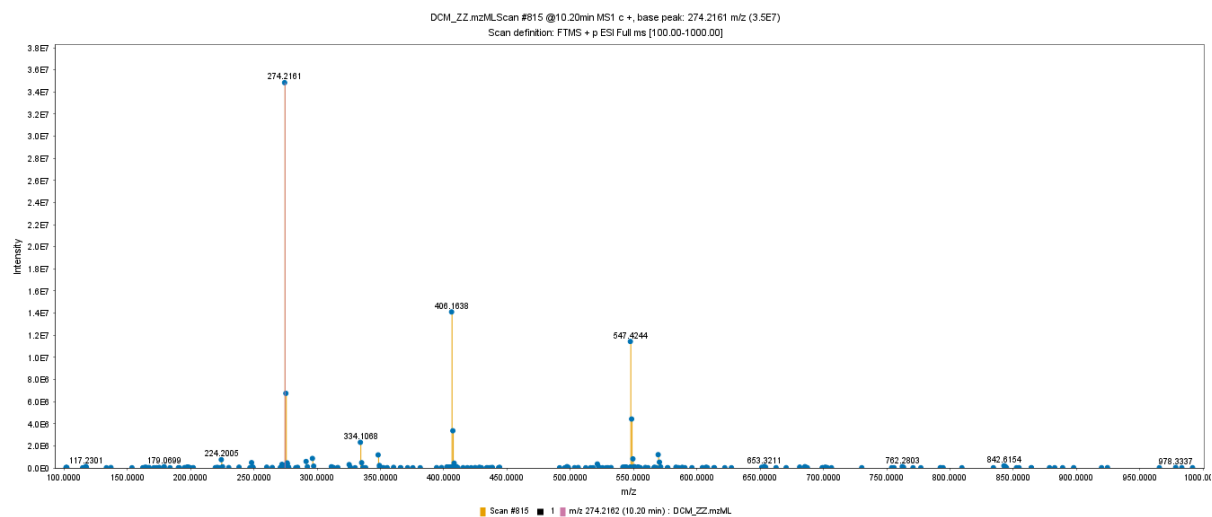


Figure S64. HR-ESI-MS spectrum of compound **6**

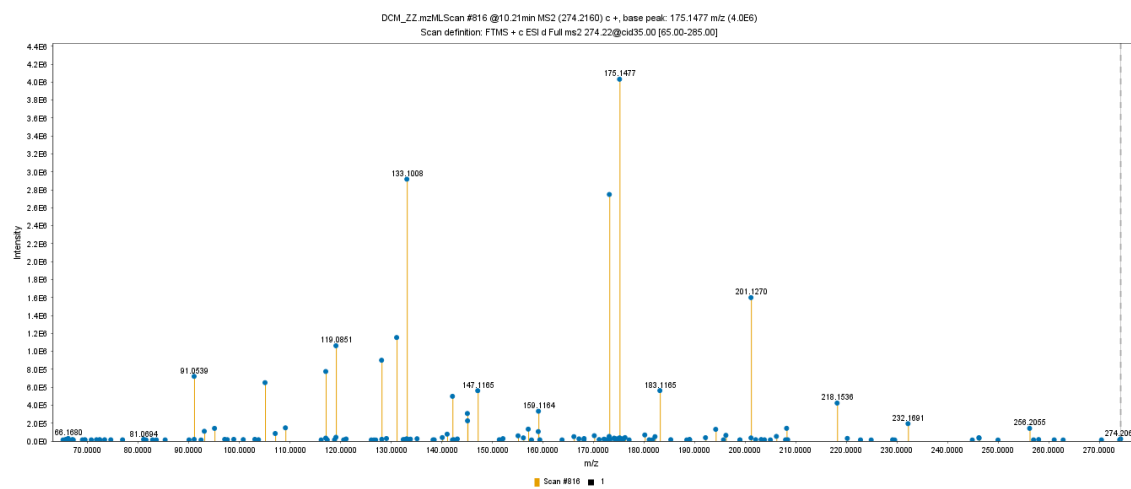


Figure S65. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **6**

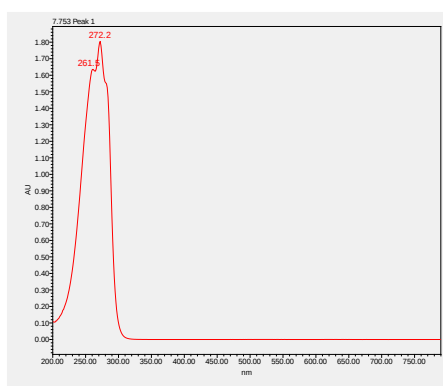


Figure S66. UV spectrum of compound **6**

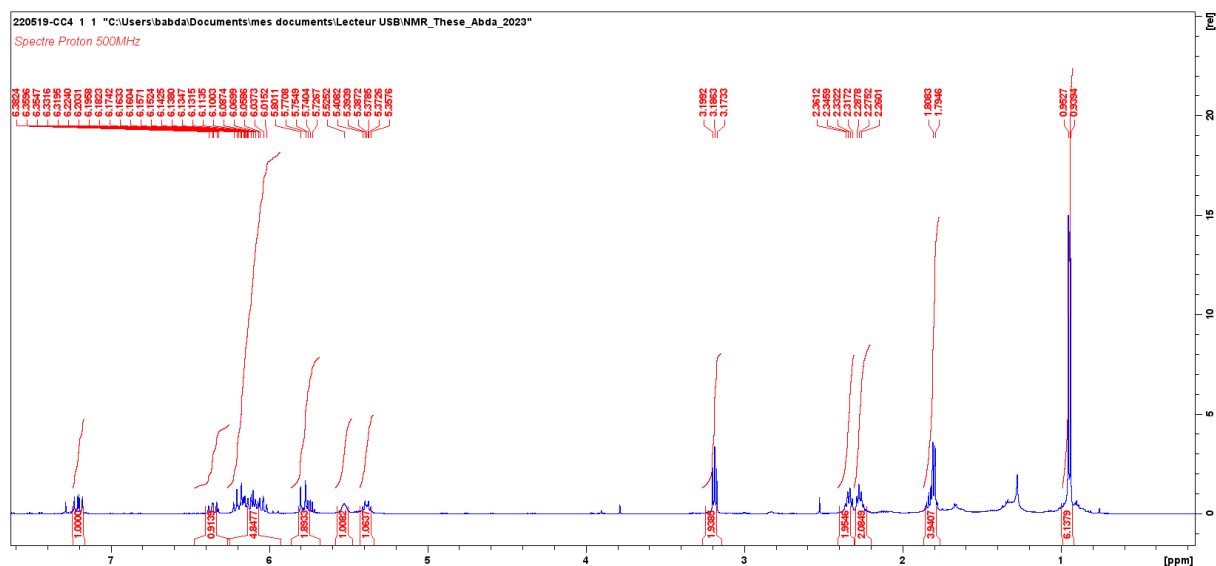


Figure S67. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound 6

Chelerythrine (7):

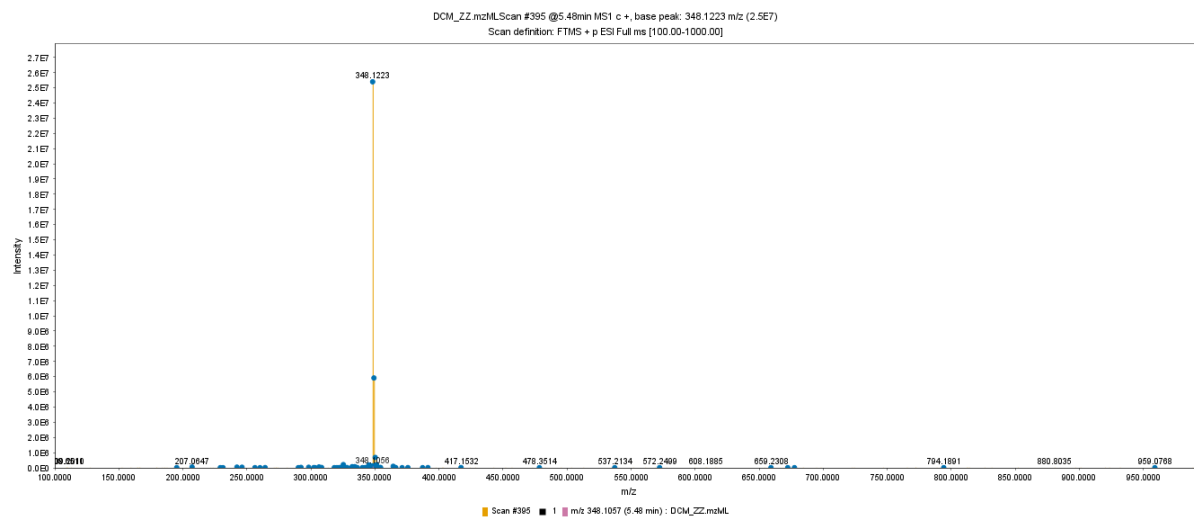
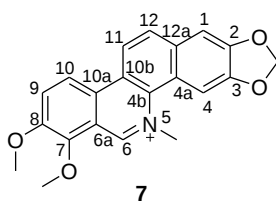


Figure S68. HR-ESI-MS spectrum of compound 7

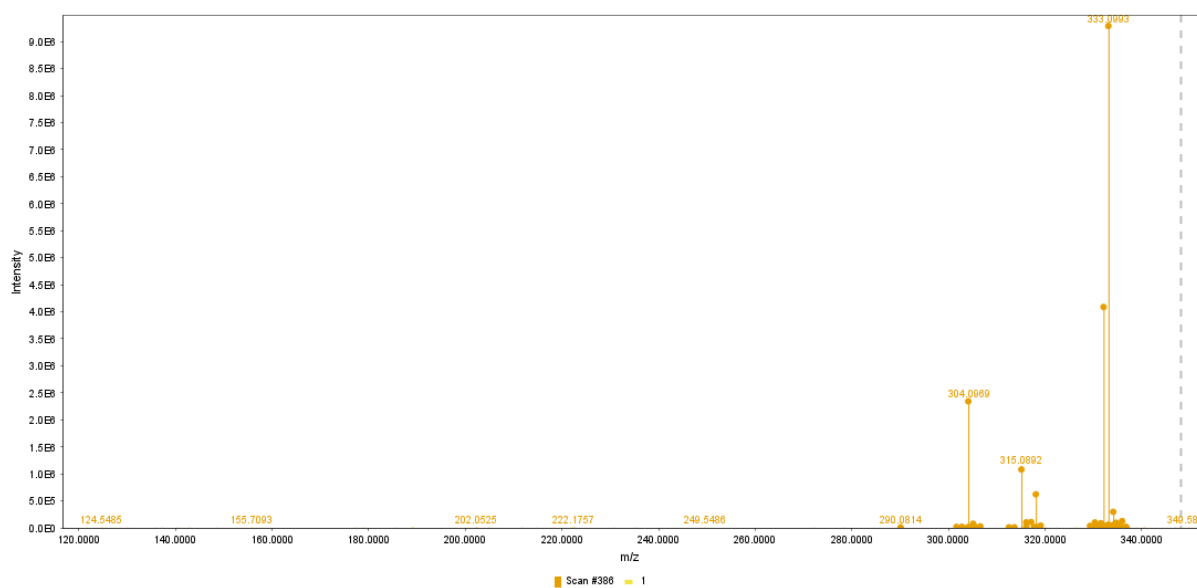


Figure S69. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound 7

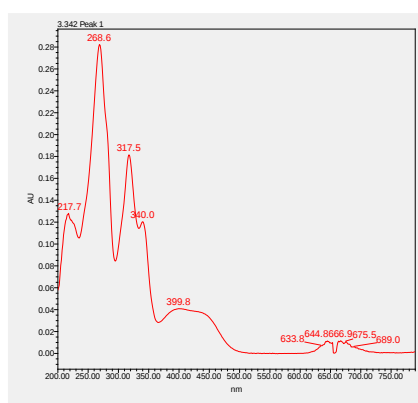
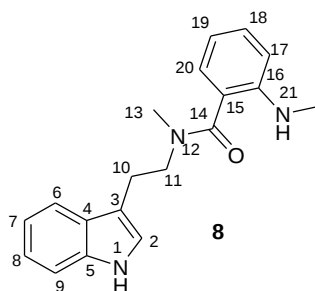


Figure S70. UV spectrum of compound 7

Evodiamide (8):



Yellow powder; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 222 (0.52), 260 (sh), 282 (0.15), 290 (0.14), 318 (0.11) nm; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ (ppm) 10.81 (1H, s, H-1), 7.31 (1H, d, H-9), 7.21 (1H, m, $J = 7.5$ Hz, H-18), 6.72-7.13 (5H, m, H-2, H-8, H-7, H-20, H-6), 6.59 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-17), 6.56 (1H, dd, $J = 7.1$ Hz, H-19), 5.07 (1H, s, NH-21), 3.35 (3H, d, H-13), 2.81-3.06 (4H, m, H-5, H-6), 2.66 (3H, d, $J = 4.9$ Hz, 21-NH-Me); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) δ (ppm) 170.1 (C, C-1), 146.5 (C, C-16), 136.6 (C, C-5), 130.4 (CH, C-18), 127.5 (CH, C-20), 123.3 (CH, C-2), 121.4 (CH, C-8), 118.7 (CH, C-7), 115.5 (CH, C-19), 111.8 (CH, C-9), 110.5 (CH, C-17), 46.7 (CH₂, C-11), 30.3 (2CH₃, 21-NHMe, 12-N-Me), 24.6 (CH₂, C-10); HR-ESI-MS: m/z 308.1756 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for C₁₉H₂₁N₃O, 308.1754).

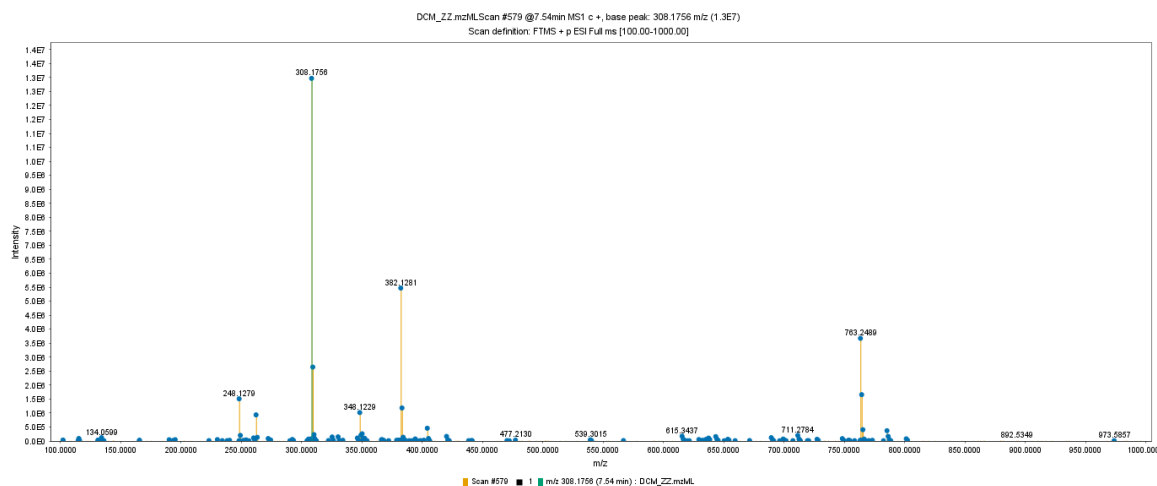


Figure S71. HR-ESI-MS spectrum of compound **8**

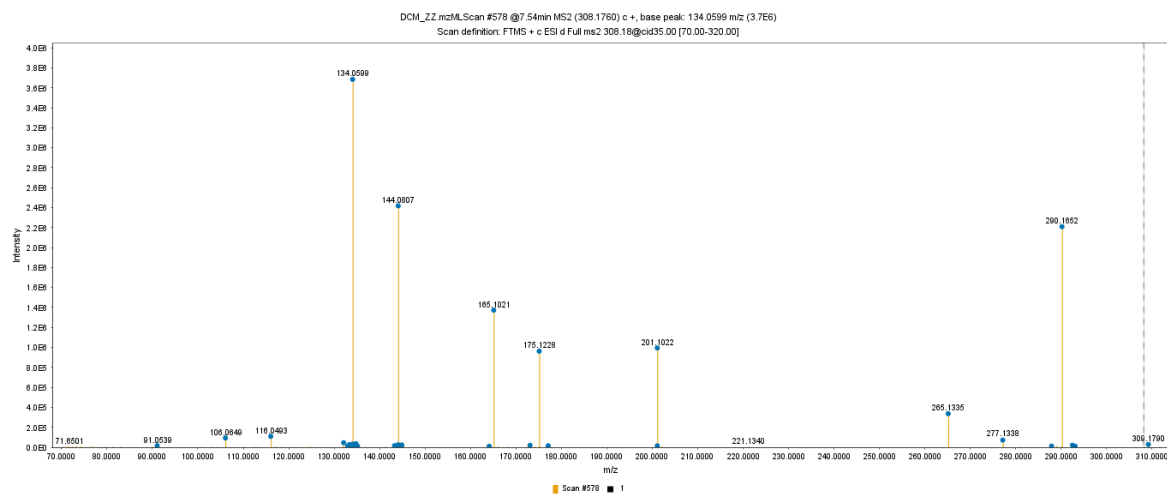


Figure S72. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **8**

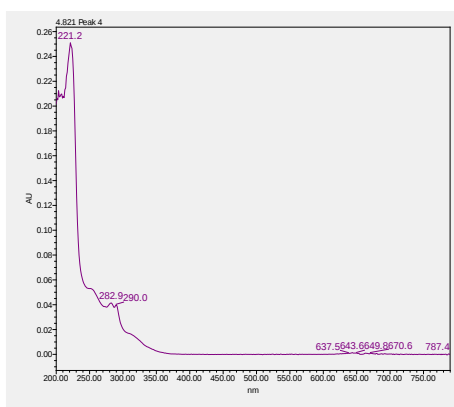


Figure S73. The UV spectrum of compound **8**

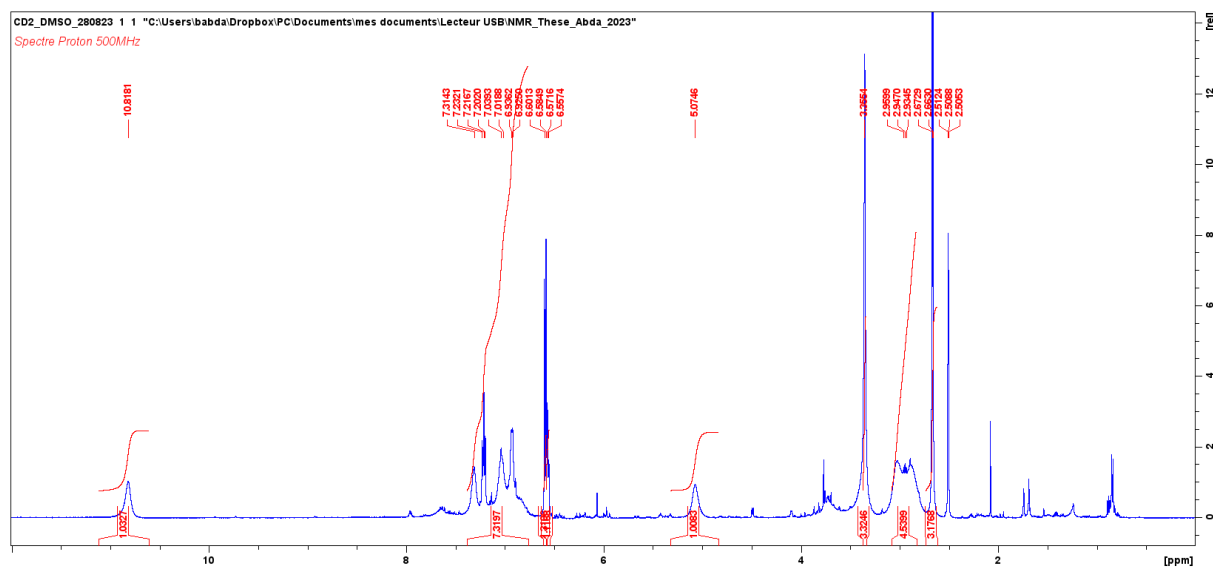


Figure S74. ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spectrum of compound **8**

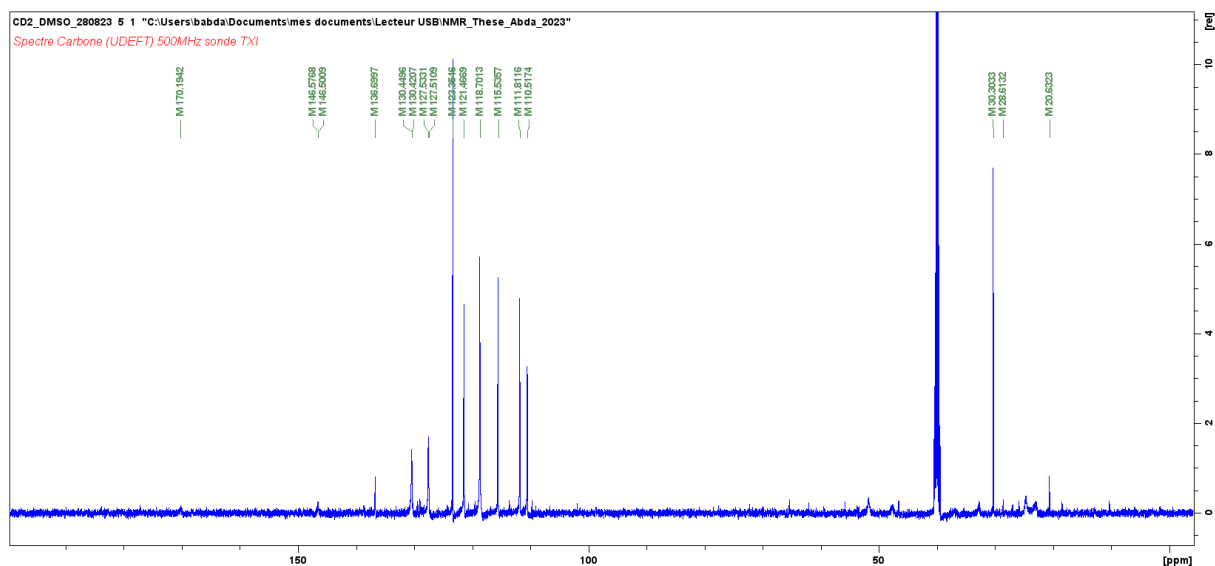


Figure S75. ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spectrum of compound **8**

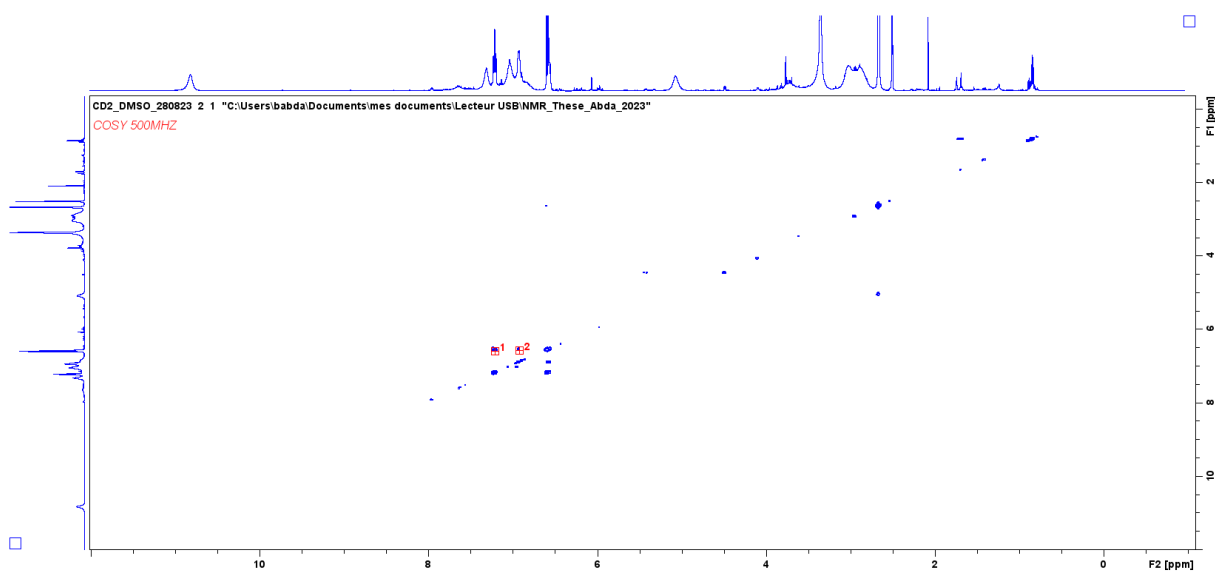


Figure S76. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spectrum of compound **8**

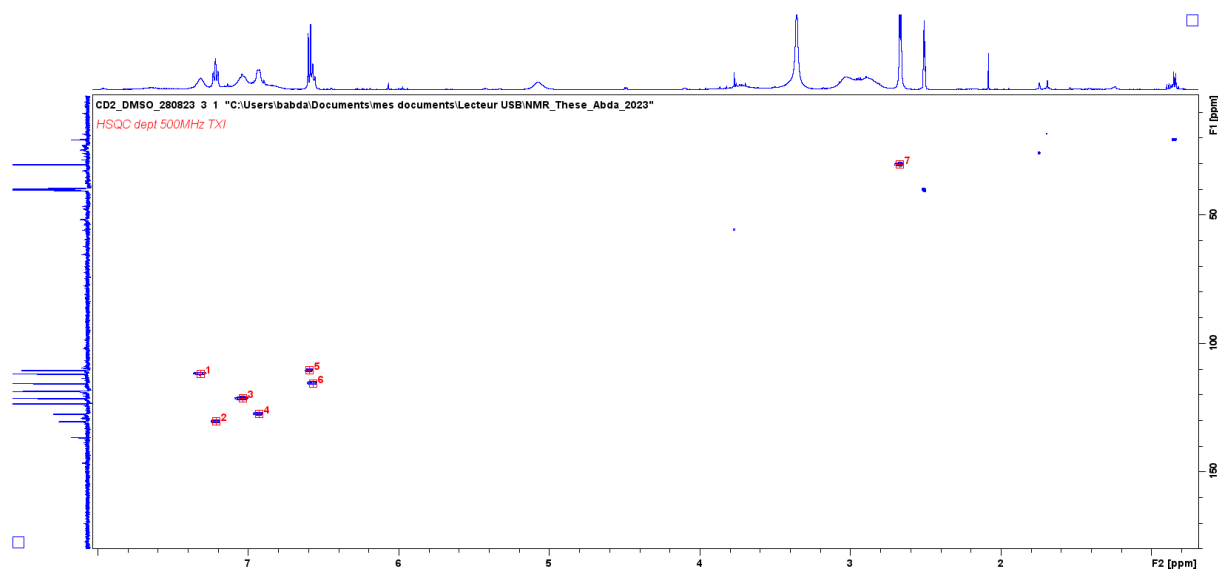


Figure S77. HSQC-DEPT (500 MHz, DMSO- d_6) spectrum of compound **8**

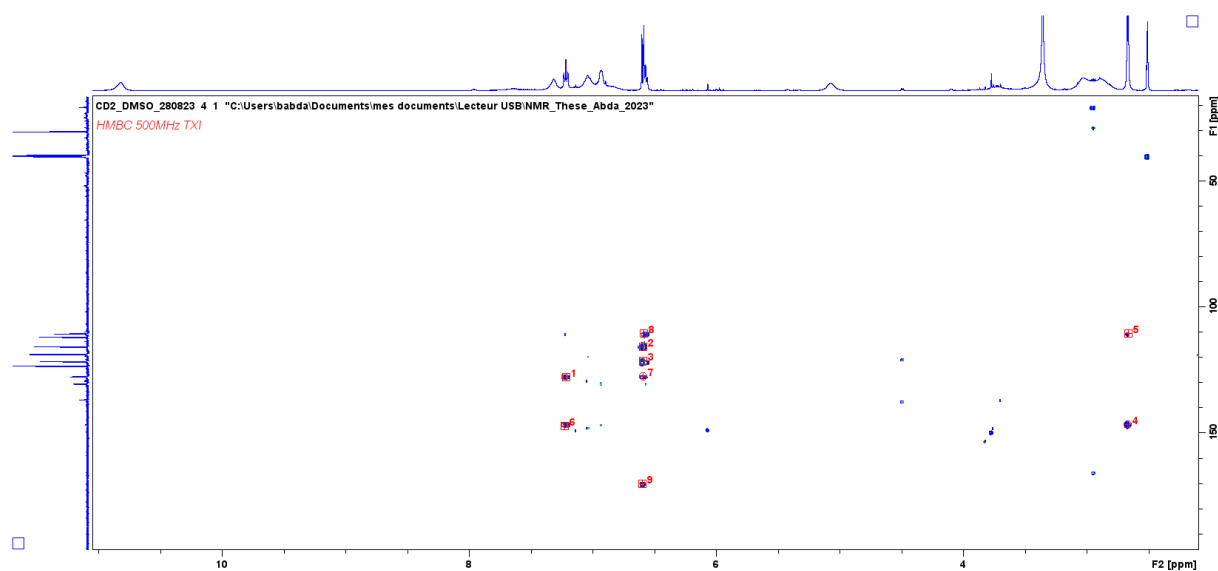


Figure S78. HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) spectrum of compound **8**

Decarine (9):

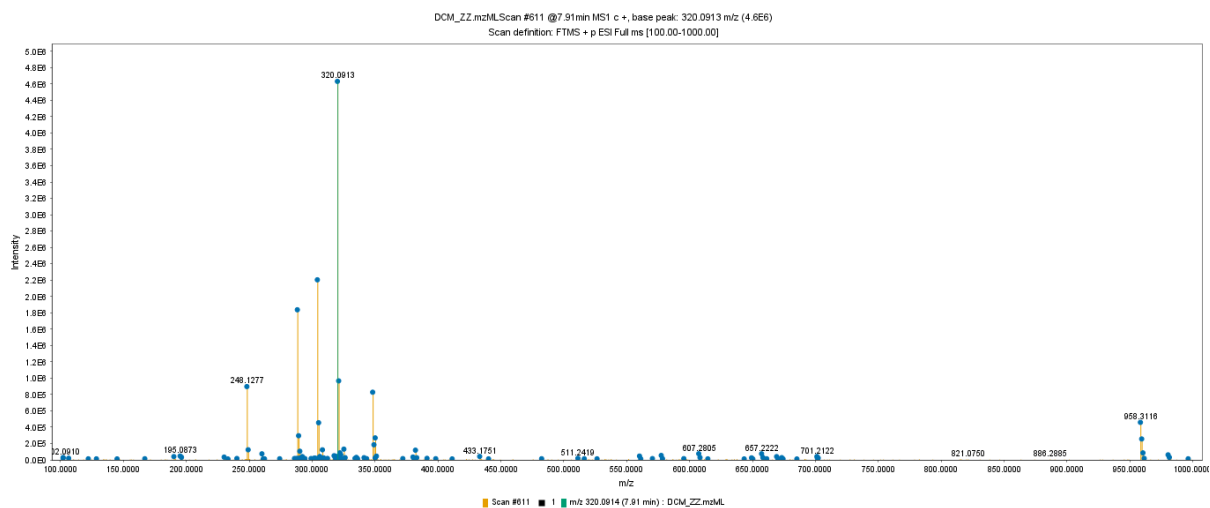
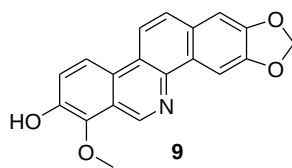


Figure S79. HR-ESI-MS spectrum of compound **9**

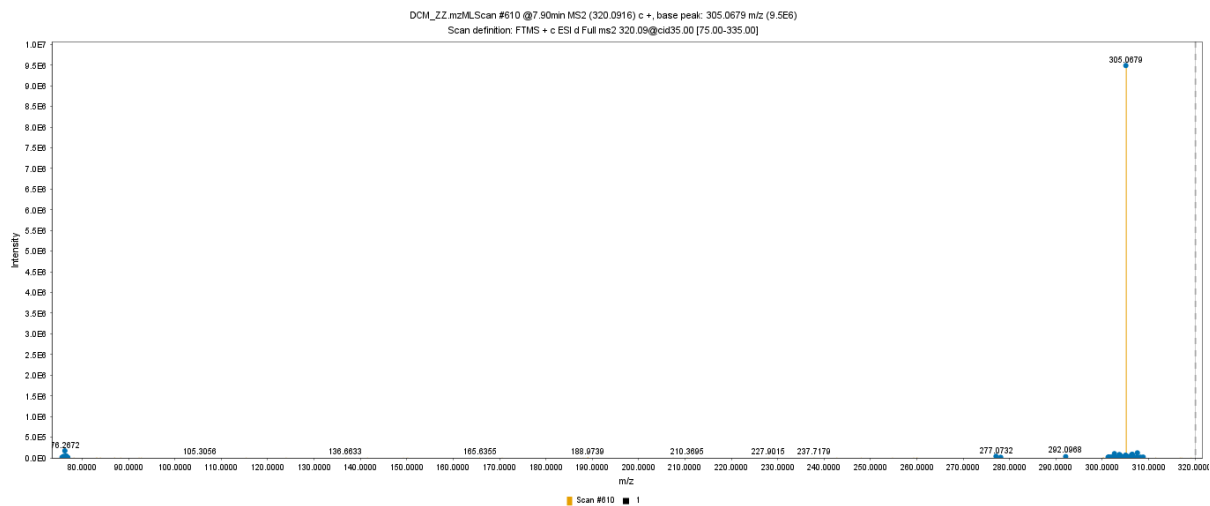


Figure S80. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **9**

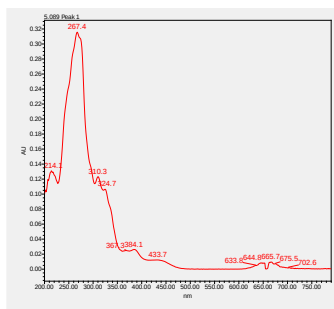
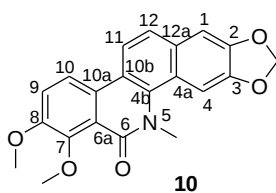


Figure S81. UV spectrum of compound **9**

6-Oxocheletrythrine (10):



Brown prism; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 238 (0.78), 287 (1.09), 323 (0.30), 338 (0.29), 380 (sh) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 8.01 (1H, *d*, J = 8.7 Hz, H-10), 8.01 (1H, *d*, J = 8.7 Hz, H-11), 7.55 (1H, *s*, H-4), 7.54 (1H, *d*, J = 9.8 Hz, H-12), 7.40 (1H, *d*, J = 9.0 Hz, H-9), 7.17 (1H, *s*, H-1), 6.11 (2H, *s*, C-2-O-CH₂-O-C-3), 4.10 (3H, *s*, C-8-O-CH₃), 4.00 (3H, *s*, C-7-O-CH₃), 3.92 (3H, *s*, N-CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ (ppm) 162.6 (C=O, C-6), 152.6 (C, C-7), 150.1 (C, C-8), 147.4 (C, C-2), 147.0 (C, C-3), 135.6 (C, C-4b), 131.6 (C, C-12a), 128.9 (C, C-10a), 123.3 (CH, C-12), 121.0 (C, C-4a), 119.7 (C, C-6a), 118.4 (CH, C-10), 117.8 (CH, C-11), 117.7 (CH, C-9), 117.1 (C, C-10b), 104.6 (CH, C-1), 102.4 (CH, C-4), 101.5 (CH₂, C-2-O-CH₂-O-C-3), 61.7 (CH₃, C-8-O-CH₃), 56.5 (CH₃, C-7-O-CH₃), 40.8 (CH₃, N-CH₃); HR-ESI-MS: m/z 364.1177 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (calcd for C₂₁H₁₇NO₅, 364.1174).

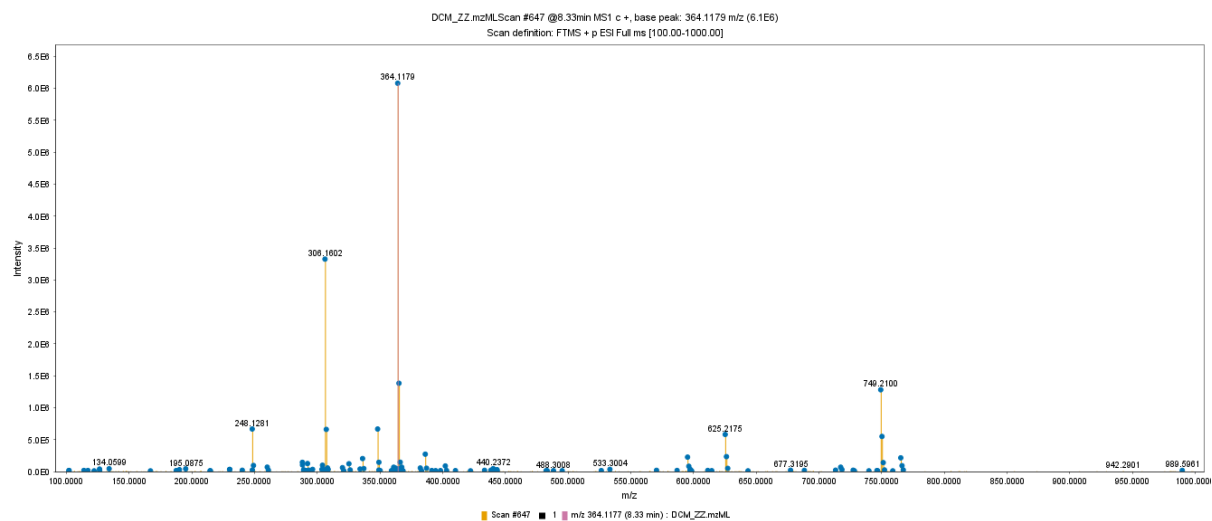


Figure S82. HR-ESI-MS spectrum of compound **10**

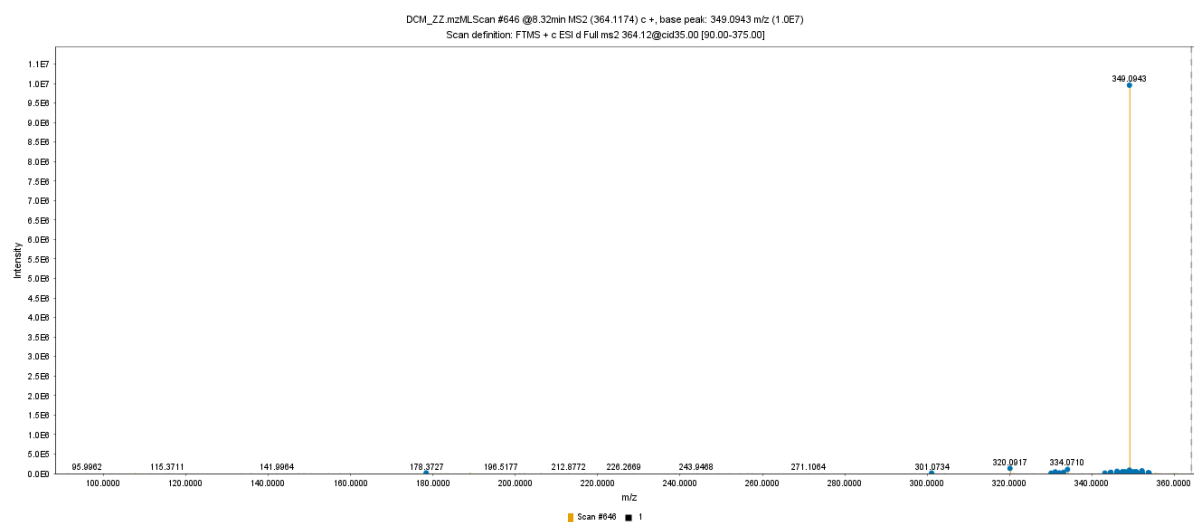


Figure S83. HR-ESI-MS spectrum of compound **10**

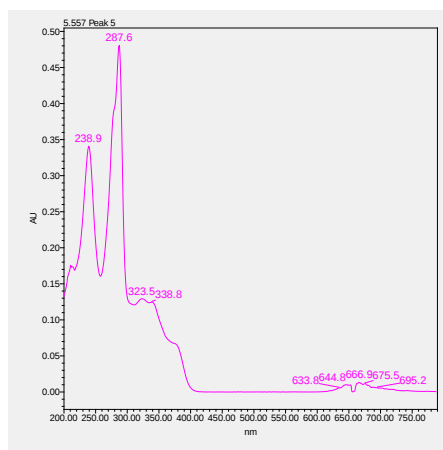


Figure S84. UV spectrum of compound **10**

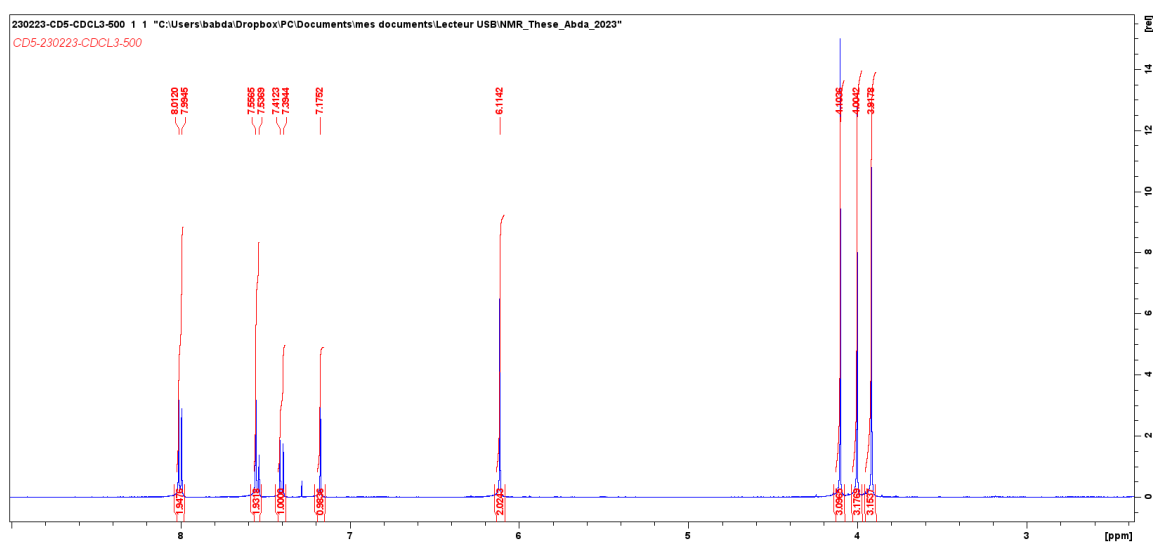


Figure S85. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **10**

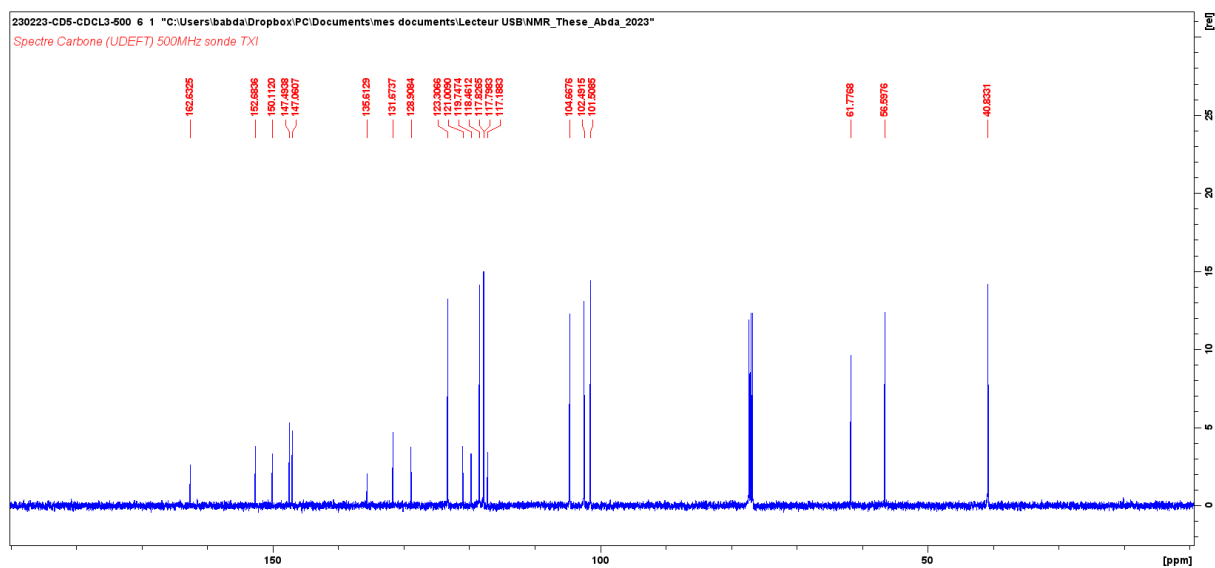


Figure S86. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **10**

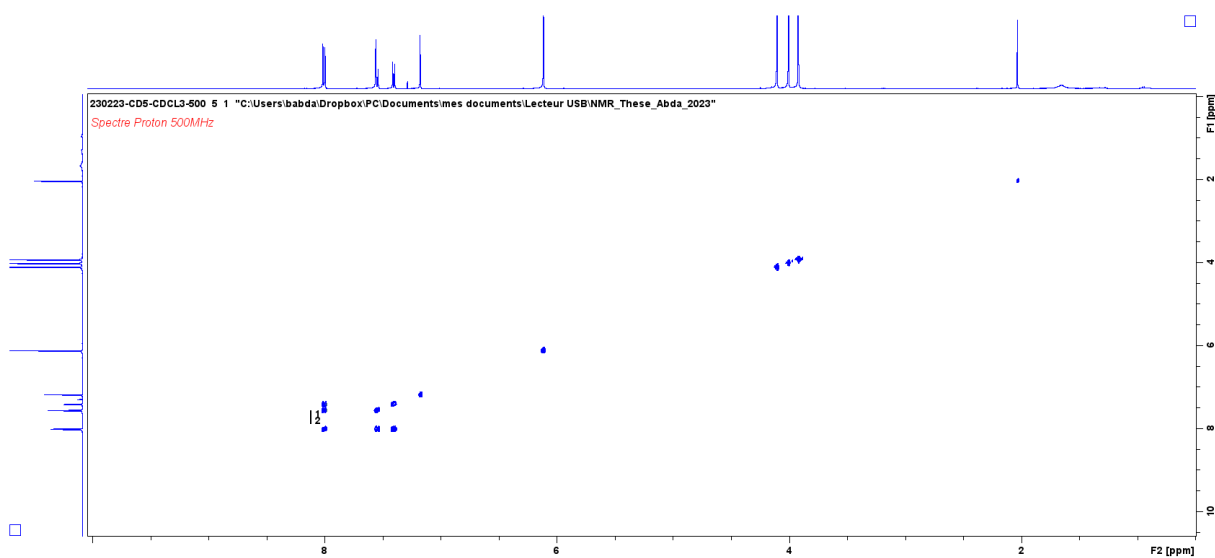


Figure S87. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **10**

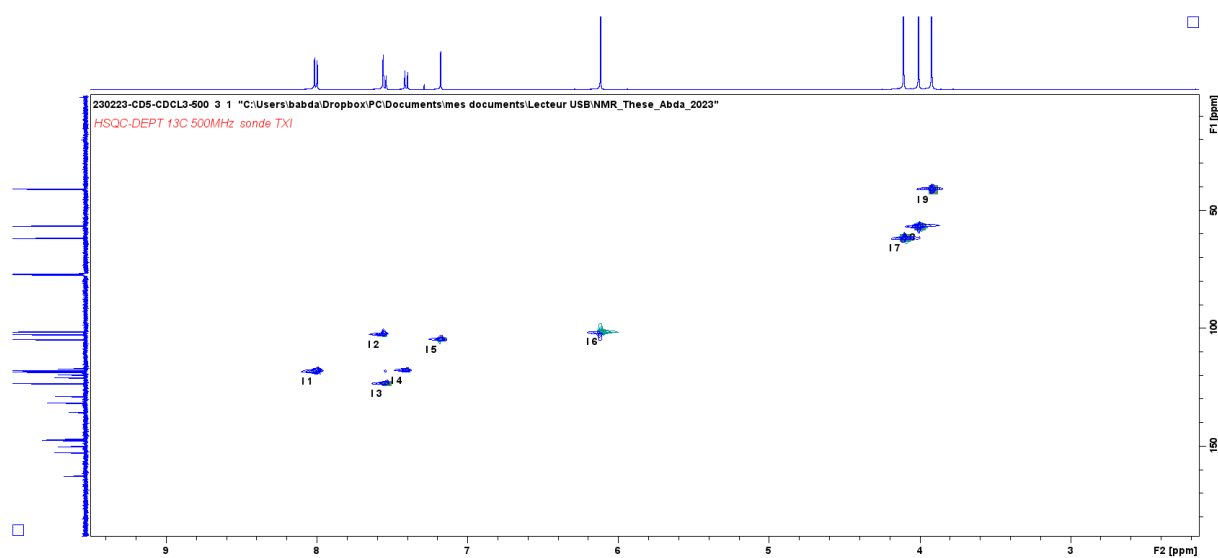


Figure S88. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **10**

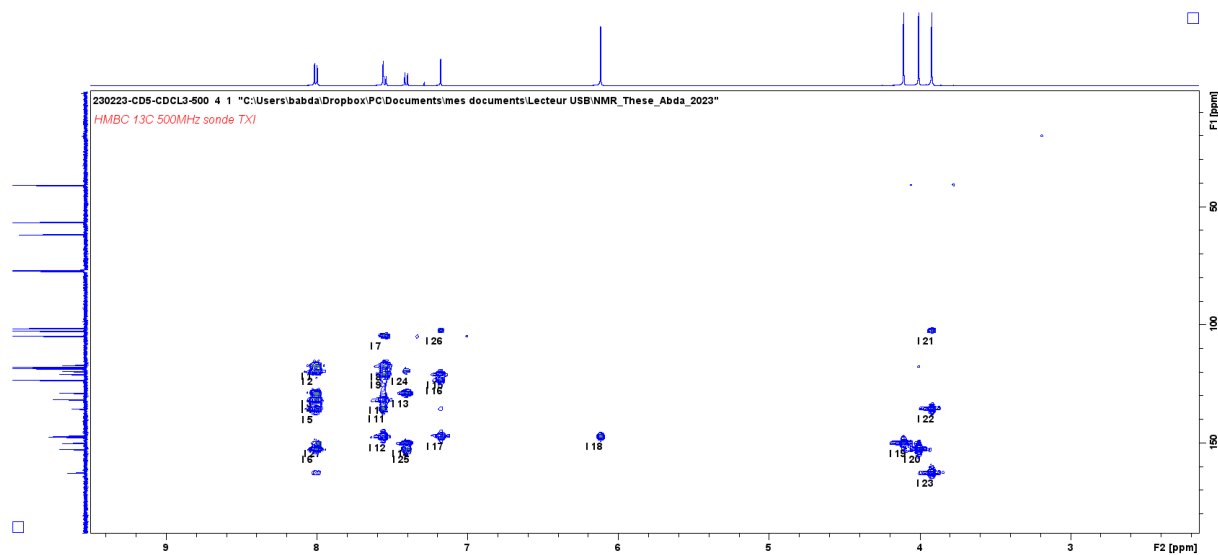
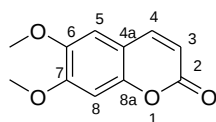


Figure S89. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **10**

Scoparone (11):



11

Yellow powder; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 229 (0.034), 260 (sh), 294 (0.01), 343 (0.02) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.64 (1H, *d*, $J = 9.4$ Hz, H-4), 6.87 (1H, *s*, H-5), 6.87 (1H, *s*, H-8), 6.31 (1H, *d*, $J = 9.4$ Hz, H-3), 3.97 (3H, *s*, C-7-O-CH₃), 3.94 (3H, *s*, C-6-O-CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ (ppm) 161.4 (C=O, C-2), 152.8 (C, C-7), 150.0 (C, C-8a), 146.3 (C, C-6), 143.3 (CH, C-4), 113.5 (CH, C-3), 111.4 (C, C-4a), 107.9 (CH, C-5), 100.0 (CH, C-8), 56.4 (CH₃, C-7-O-CH₃), 56.3 (CH₃, C-6-O-CH₃); HR-ESI-MS: m/z 207.0649 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (calcd for C₁₁H₁₀O₄, 207.0646).

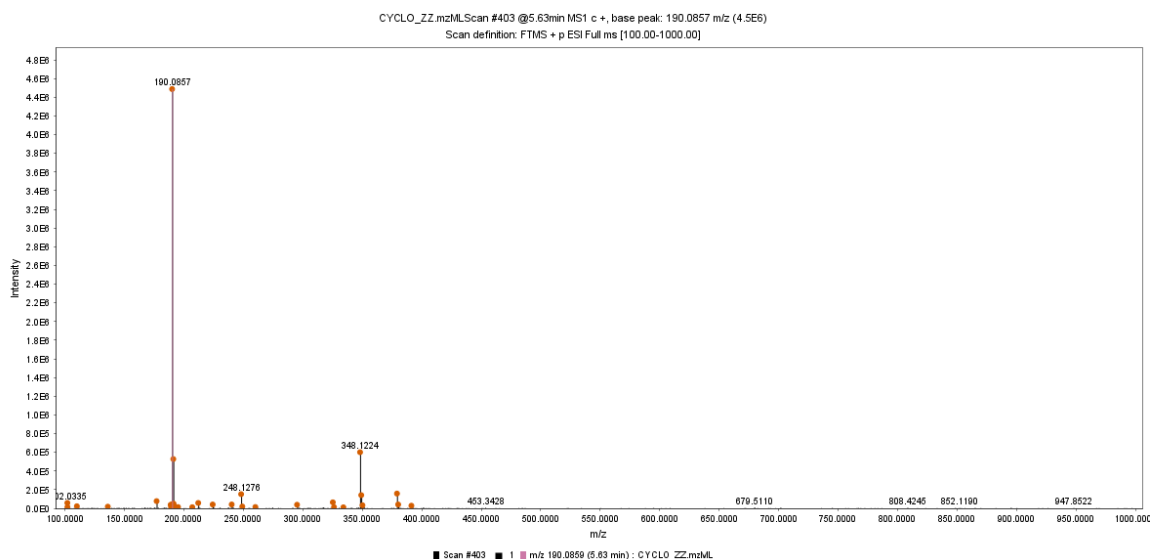


Figure S90. HR-ESI-MS spectrum of compound **11**

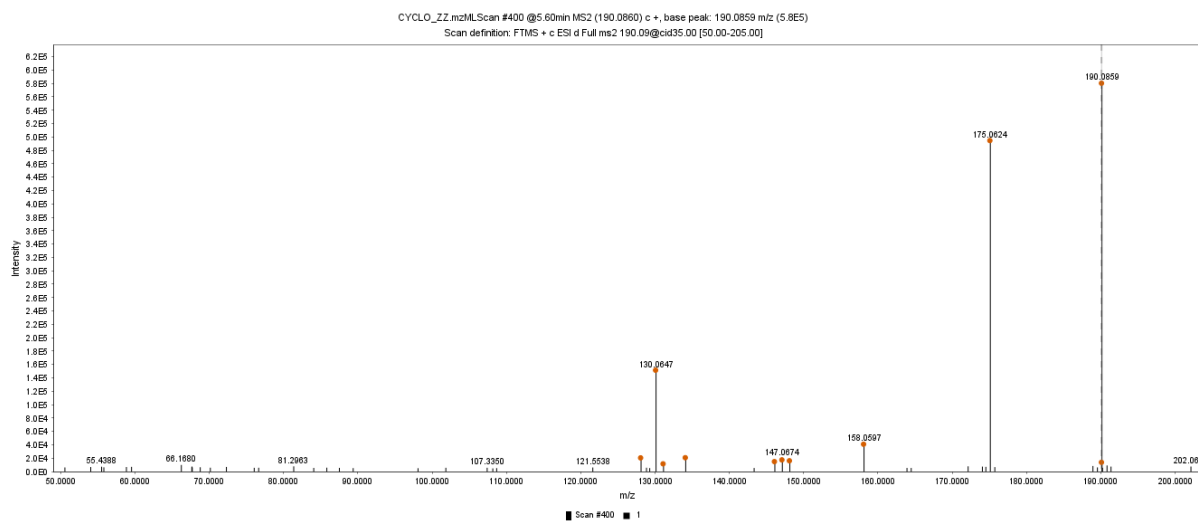


Figure S91. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **11**

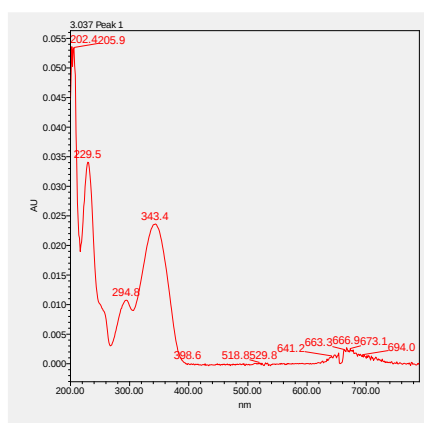


Figure S92. UV spectrum of compound **11**

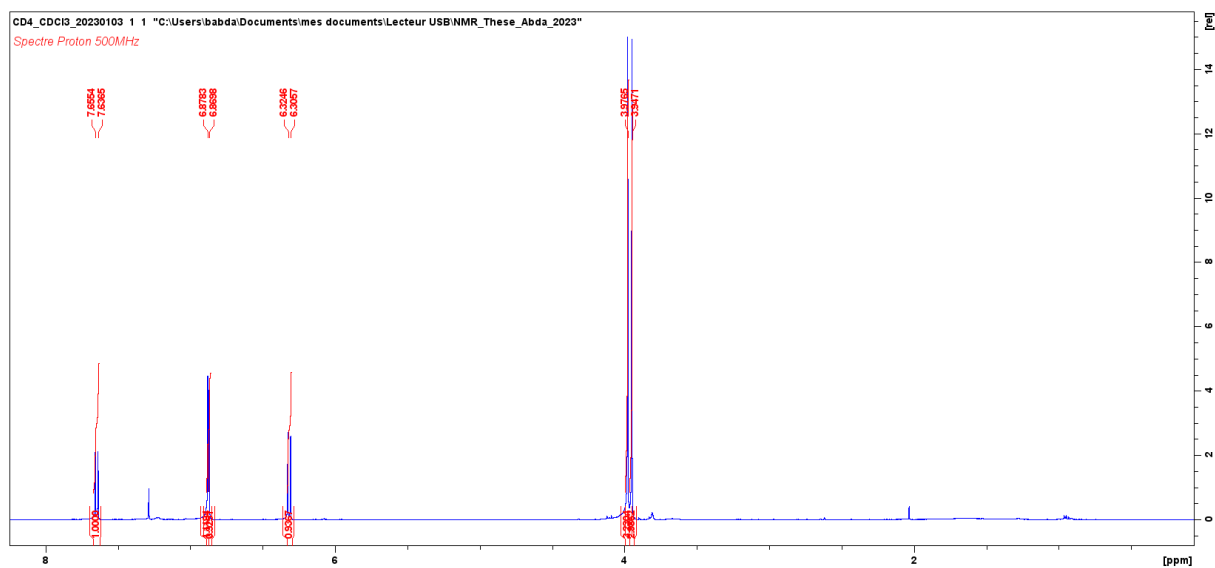


Figure S93. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **11**

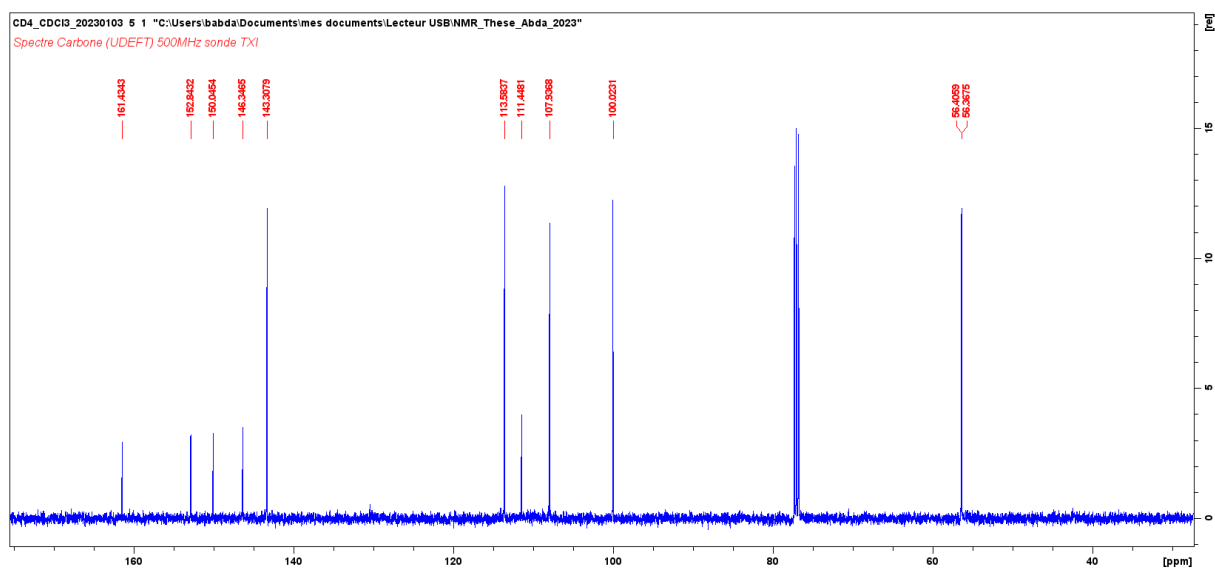


Figure S94. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **11**

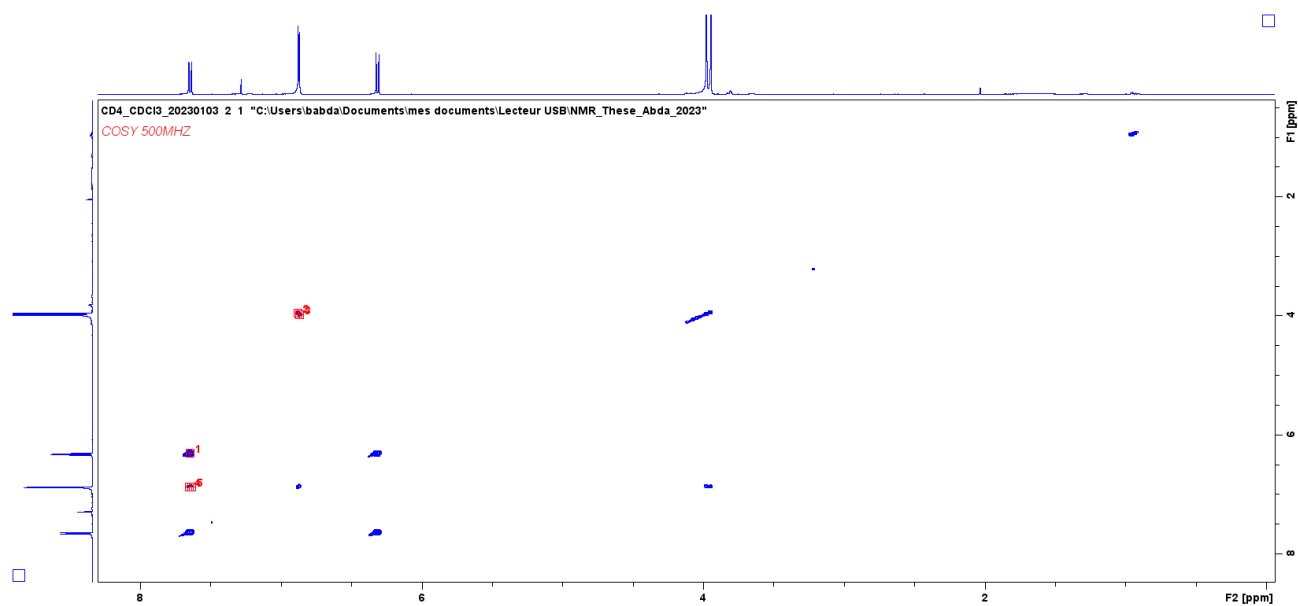


Figure S95. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **11**

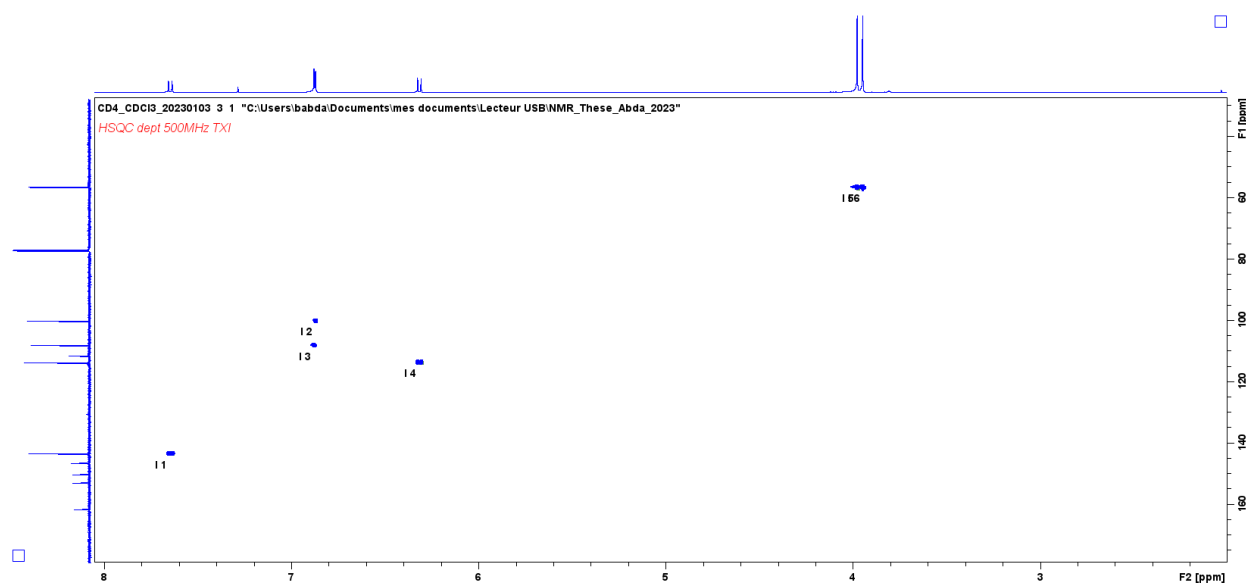


Figure S96. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **11**

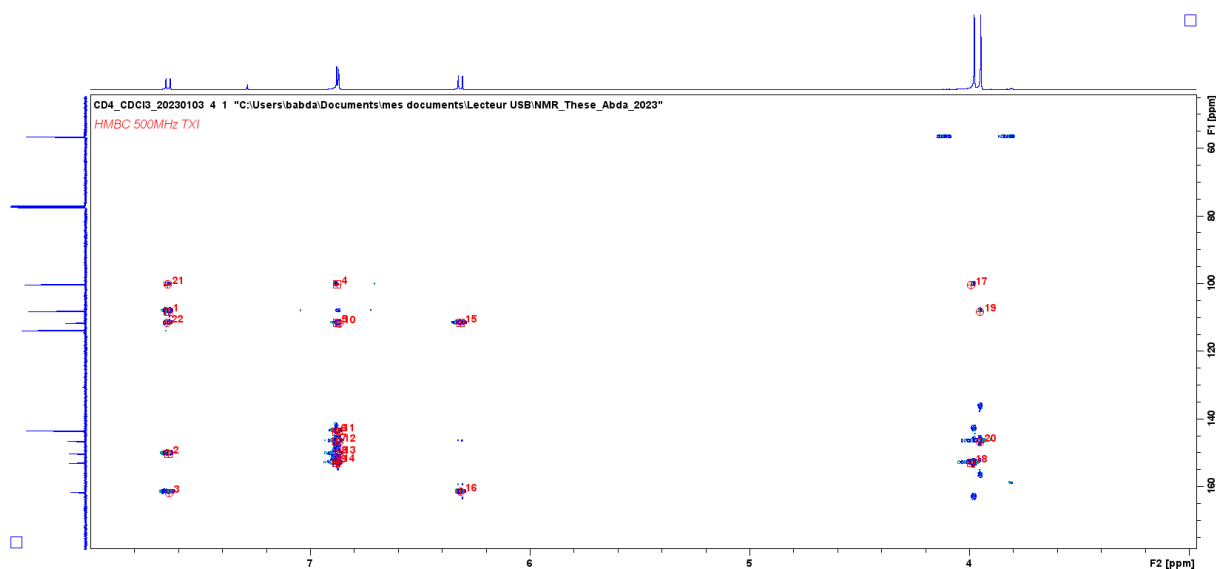
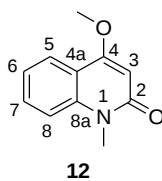


Figure S97. HMBC (500 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **11**

4-methoxy-1-methylquinolin-2-one (12):



White needles; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 234 (2.55), 260 (1.05), 268 (1.05), 315 (0.9), 330 (sh) nm; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 7.99 (1H, *dd*, *J* = 7.9, 1.4 Hz, H-8), 7.60 (1H, *dd*, *J* = 7.9, 1.5 Hz, H-6), 7.36 (1H, *dd*, *J* = 8.5 Hz, H-5), 7.24 (1H, *dd*, *J* = 7.6, 1.0 Hz, H-7), 6.06 (1H, *s*, H-3), 3.97 (3H, *s*, C-4-O-CH₃), 3.69 (3H, *s*, N-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm) 163.8 (C=O, C-2), 162.6 (C, C-4), 139.7 (C, C-8a), 131.2 (CH, C-6), 123.3 (CH, C-8), 121.6 (CH, C-7), 116.5 (C, C-4a), 114.0 (CH, C-5), 96.4 (CH, C-3), 55.8 (CH₃, C-4-O-CH₃), 29.0 (CH₃, N-CH₃); HR-ESI-MS: *m/z* 190.0862 [M+H]⁺ (calcd for C₁₁H₁₁NO₂, 190.0861).

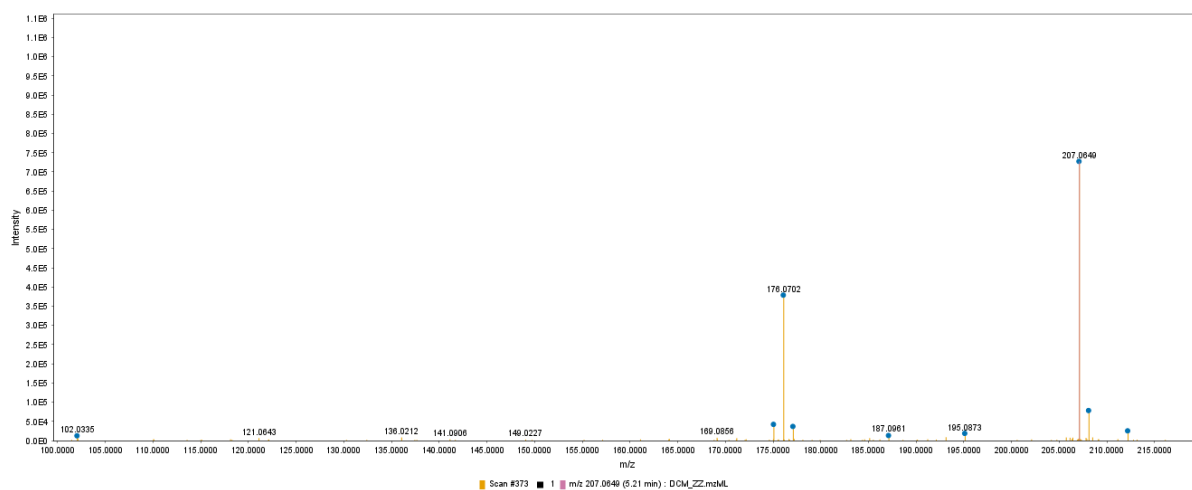


Figure S98. HR-ESI-MS spectrum of compound 12

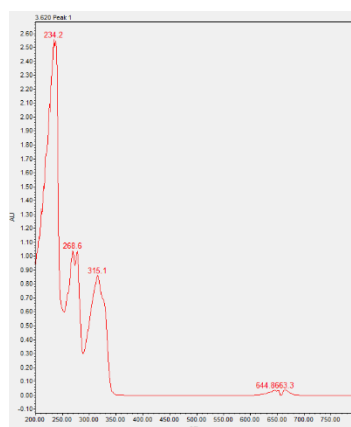


Figure S99. UV spectrum of compound 12

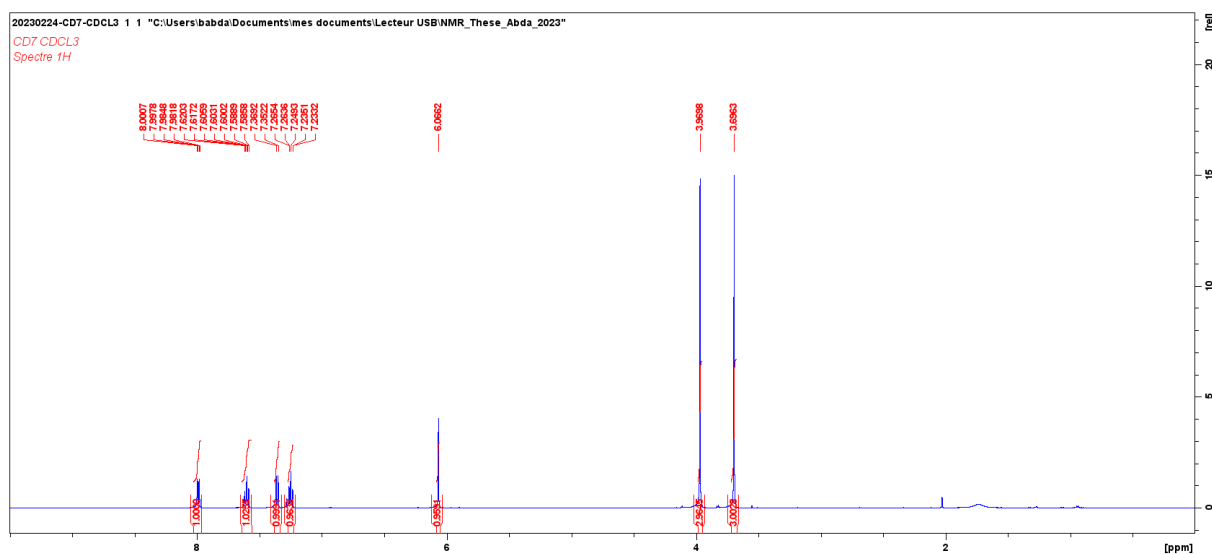


Figure S100. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **12**

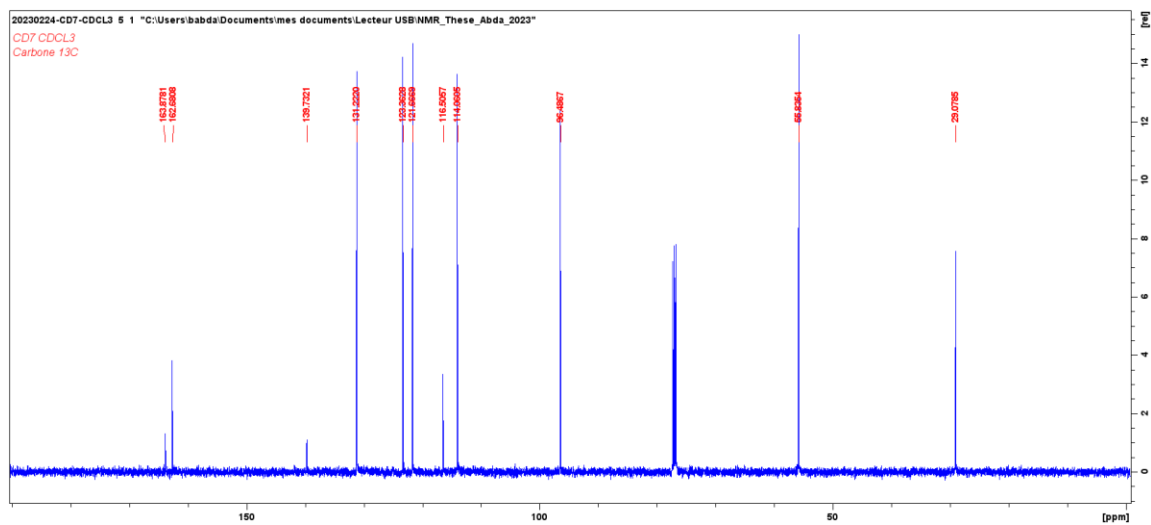


Figure S101. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **12**

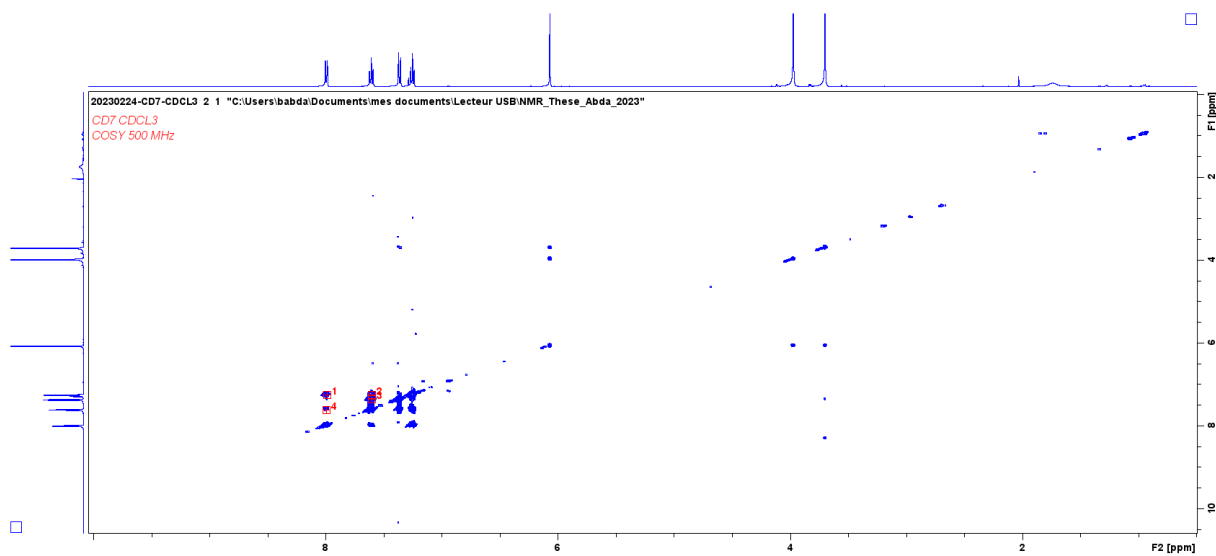


Figure S102. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **12**

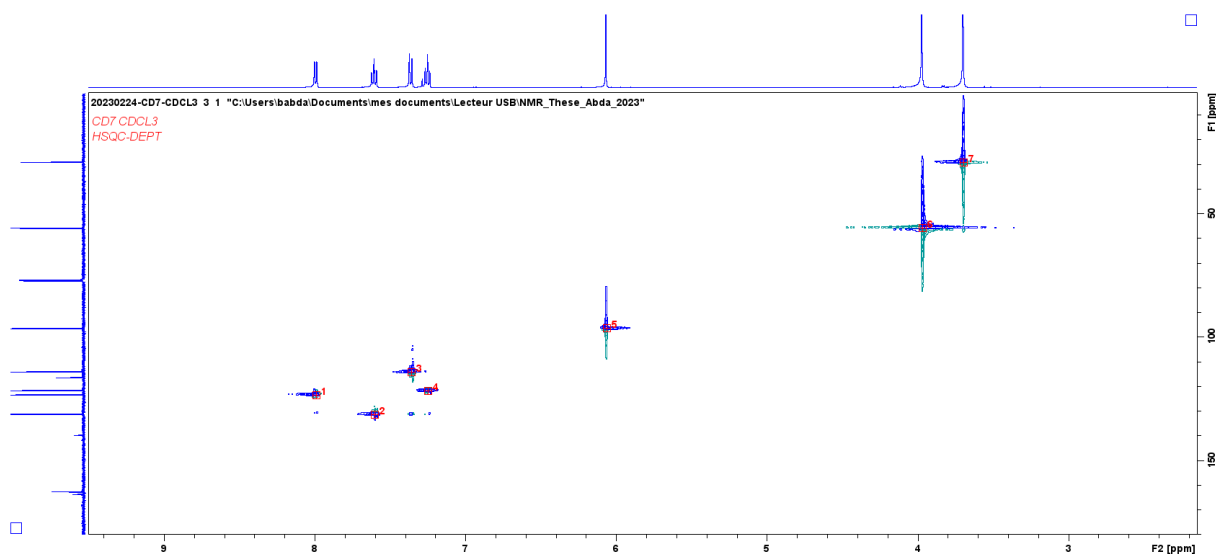


Figure S103. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **12**

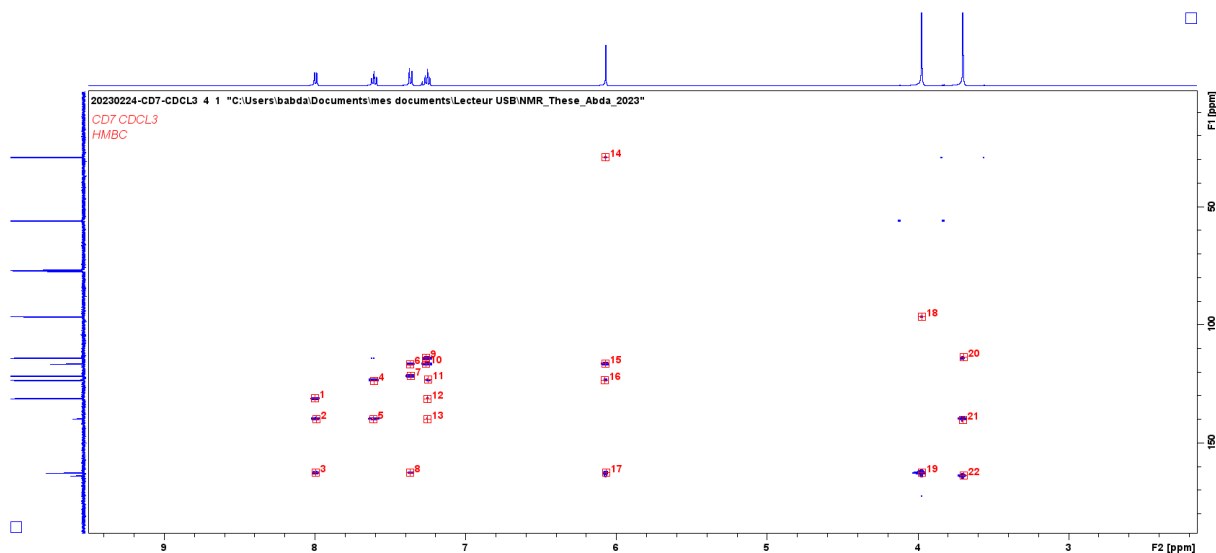
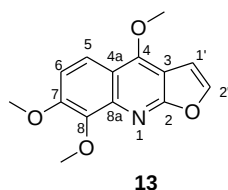


Figure S104. HMBC (500 MHz, CDCl₃) spectrum of compound **12**

Skimmianine (13):



White crystal; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 246 (2.65), 319 (0.55), 328 (0.55) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 8.03 (1H, *d*, J = 9.3 Hz, H-5), 7.60 (1H, *d*, J = 2.7 Hz, H-2'), 7.25 (1H, *d*, J = 9.4 Hz, H-6), 7.05 (1H, *d*, J = 2.7 Hz, H-1'), 4.44 (3H, *s*, C-4-O-CH₃), 4.13 (3H, *s*, C-7-O-CH₃), 4.04 (3H, *s*, C-8-O-CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ (ppm) 164.3 (C, C-2), 157.1 (C, C-4), 152.1 (C, C-8), 143.0 (CH, C-2'), 141.9 (C, C-7), 141.4 (C, C-8a), 118.1 (CH, C-5), 114.8 (C, C-4a), 111.9 (CH, C-6), 104.6 (CH, C-1'), 102.0 (C, C-3), 61.6 (CH₃, C-7-O-CH₃), 58.9 (CH₃, C-4-OCH₃), 56.7 (CH₃, C-8-O-CH₃); HR-ESI-MS: m/z 260.0913 [$\text{M}+\text{H}$]⁺ (calcd for C₁₄H₁₃NO₄, 260.0908).

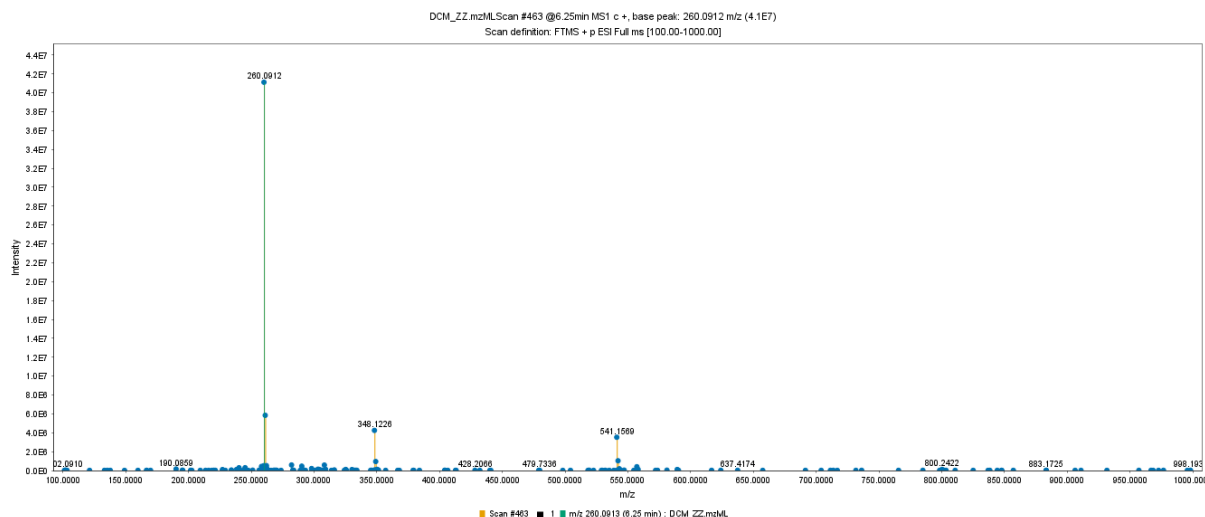


Figure S105. HR-ESI-MS spectrum of compound **13**

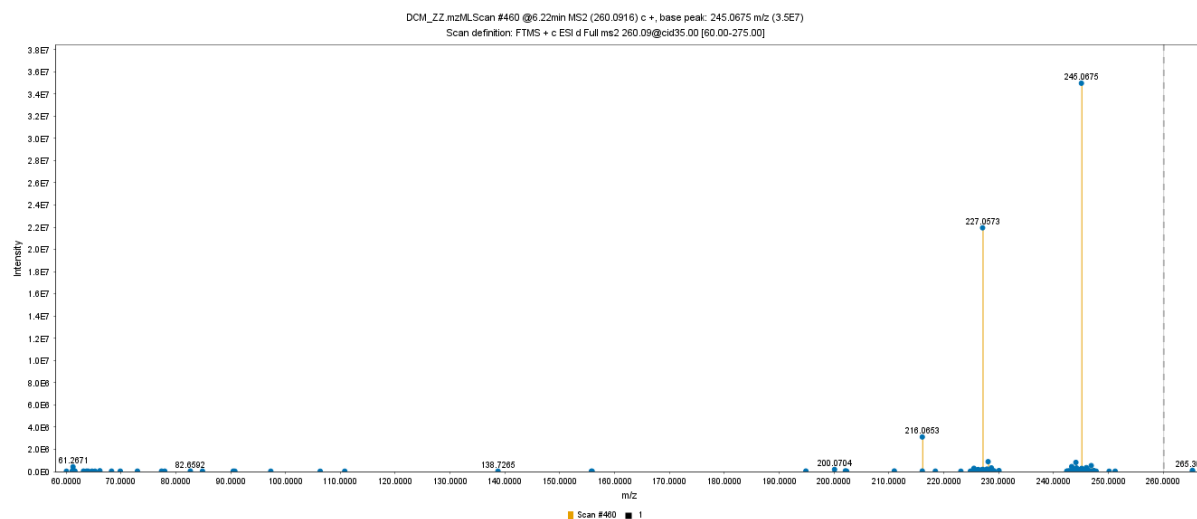


Figure S106. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **13**

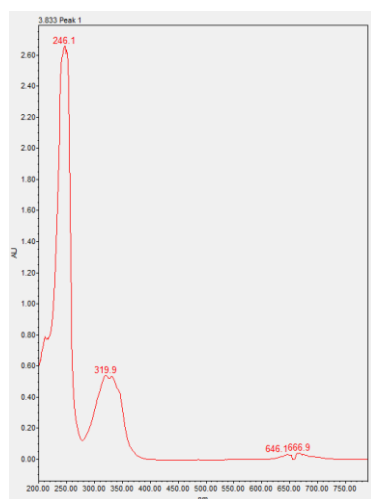


Figure S107. UV spectrum of compound **13**

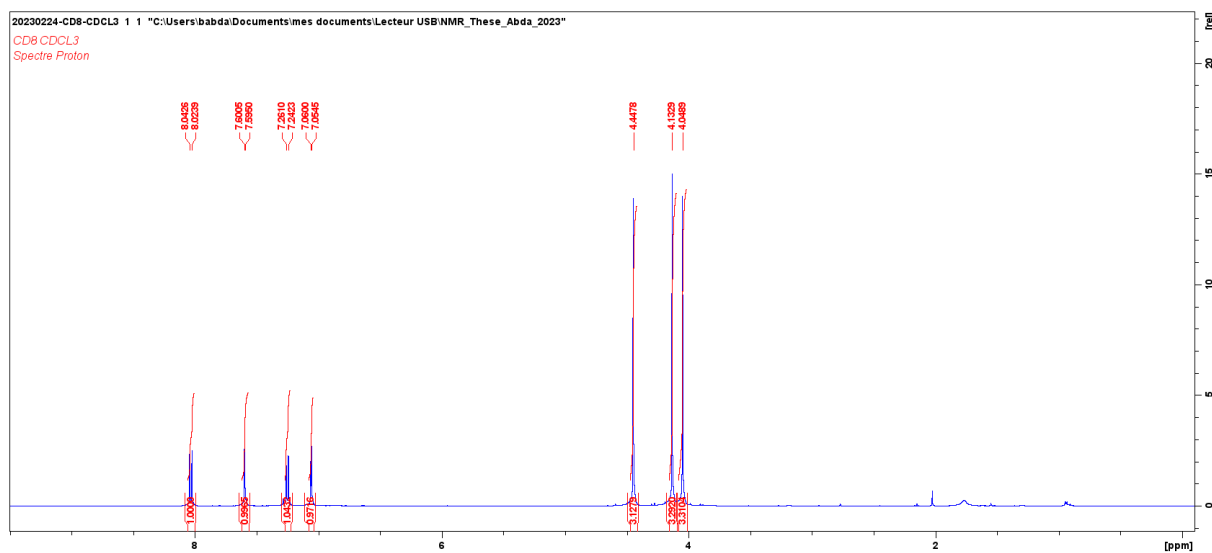


Figure S108. ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **13**

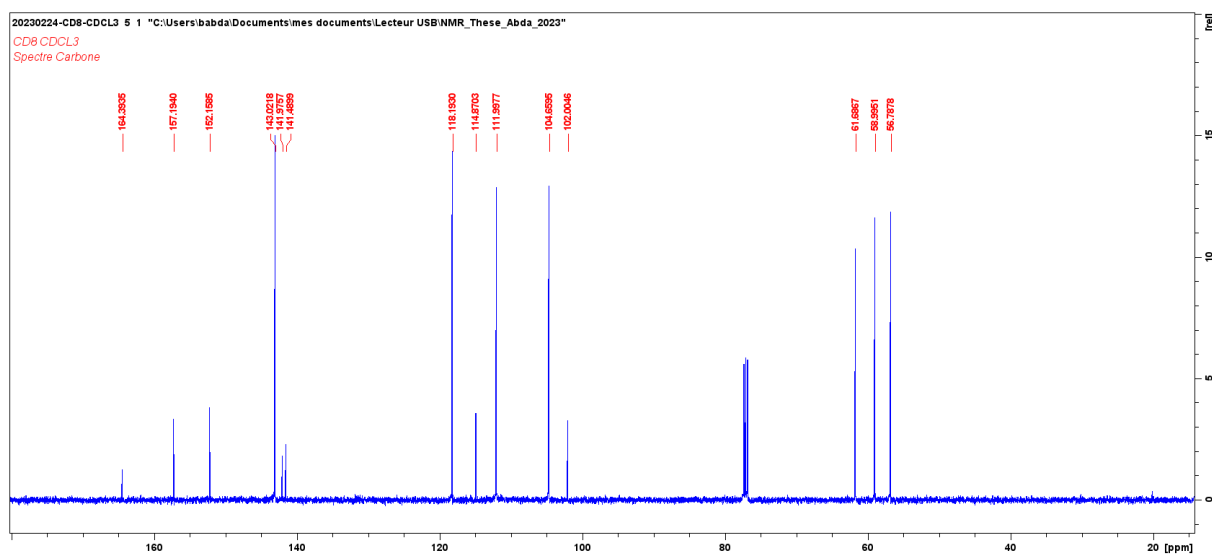


Figure S109. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **13**

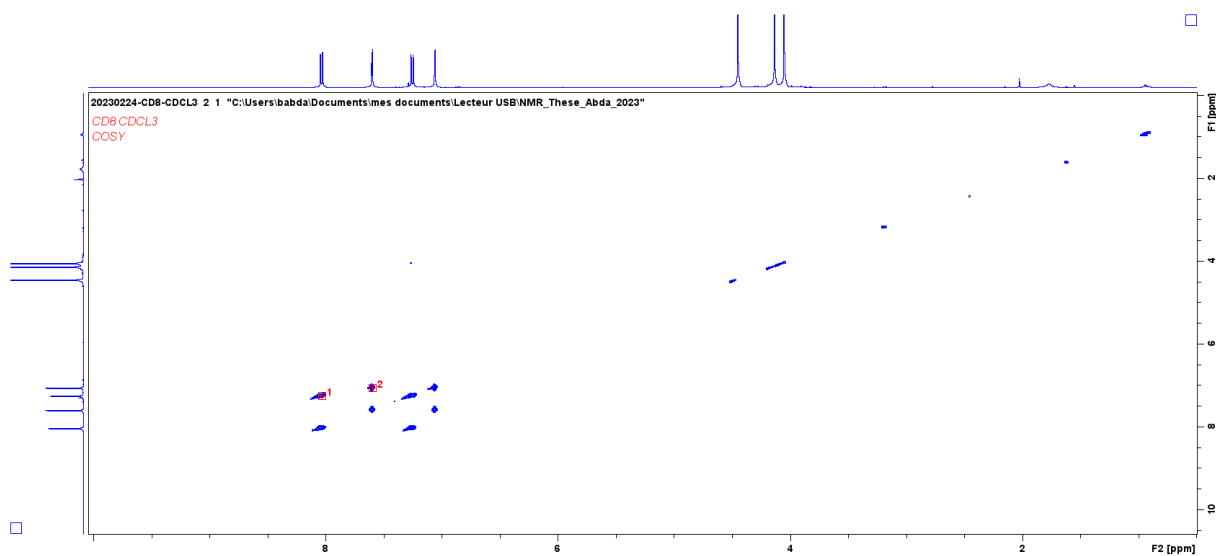


Figure S110. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **13**

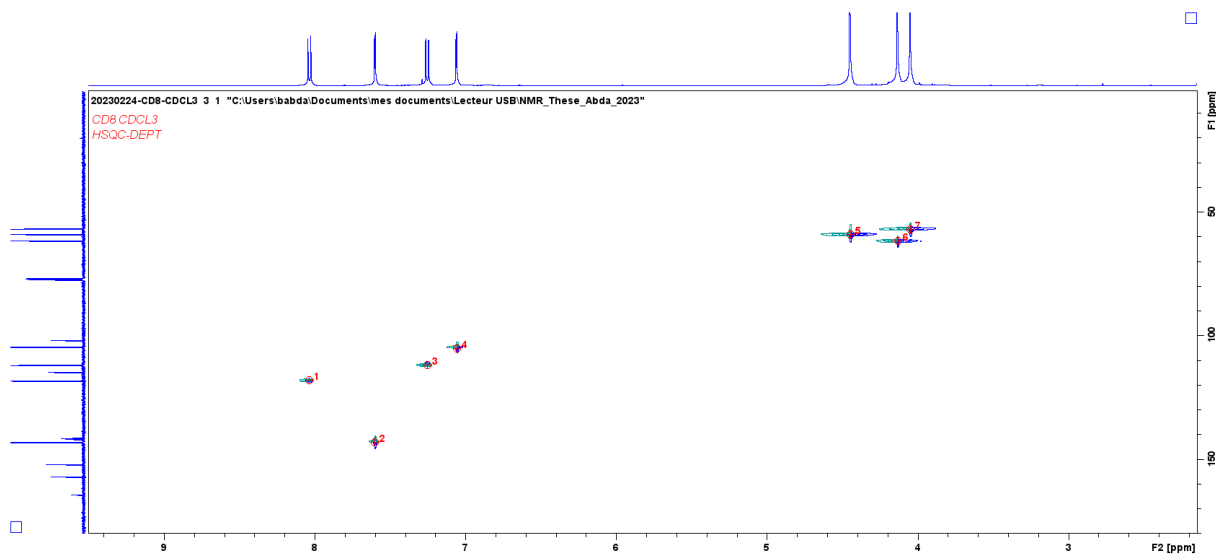


Figure S111. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **13**

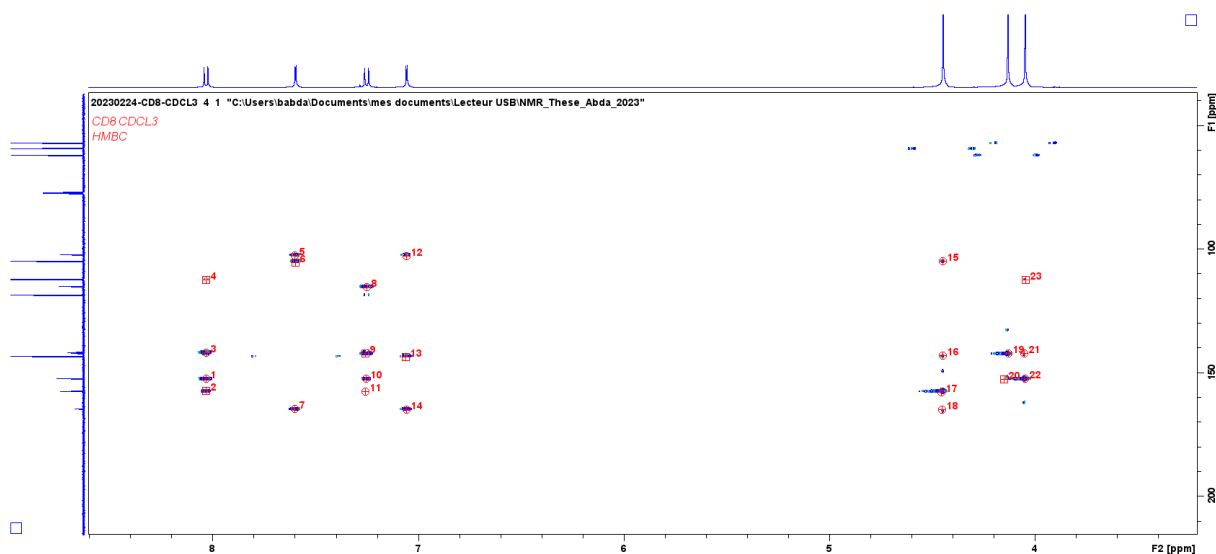
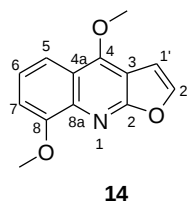


Figure S112. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **13**

Gamma-fagarine (14):



White crystal; UHPLC-UV: λ_{max} (AU) 249 (3.00), 310 (1.37), 328 (1.25), 348 (1.17) nm; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.87 (1H, *dd*, J = 8.6, 1.2 Hz, H-5), 7.67 (1H, *d*, J = 2.8 Hz, H-2'), 7.39 (1H, *dd*, J = 8.6, 0.9 Hz, H-6), 7.11 (1H, *d*, J = 2.8 Hz, H-1'), 7.09 (1H, *dd*, J = 7.7, 1.2 Hz, H-7), 4.48 (3H, *s*, C-4-O- CH_3), 4.09 (3H, *s*, C-8-O- CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ (ppm) 163.0 (C, C-2), 157.0 (C, C-4), 154.4 (C, C-8), 143.9 (C, C-2'), 137.2 (C, C-8a), 123.5 (CH, C-6), 119.6 (C, C-4a), 114.1 (CH, C-5), 107.8 (CH, C-7), 104.6 (CH, C-1'), 103.9 (C, C-3), 59.0 (C-4-O- CH_3), 55.9 (C-8-O- CH_3); HR-ESI-MS: m/z 230.0808 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_3$, 230.0804).

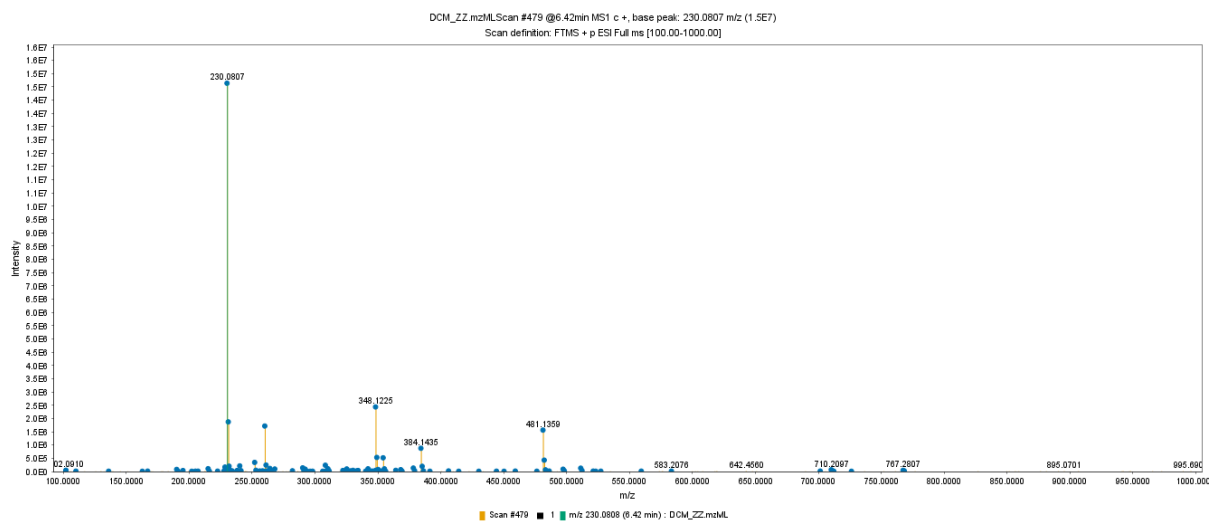


Figure S113. HR-ESI-MS spectrum of compound **14**

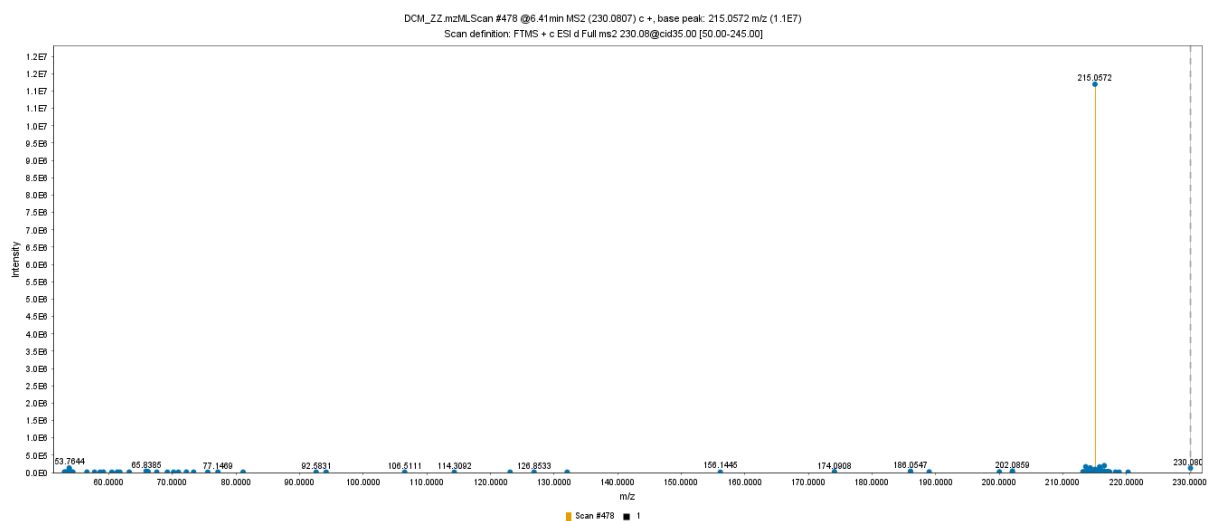


Figure S114. HR-ESI-MS/MS spectrum of compound **14**

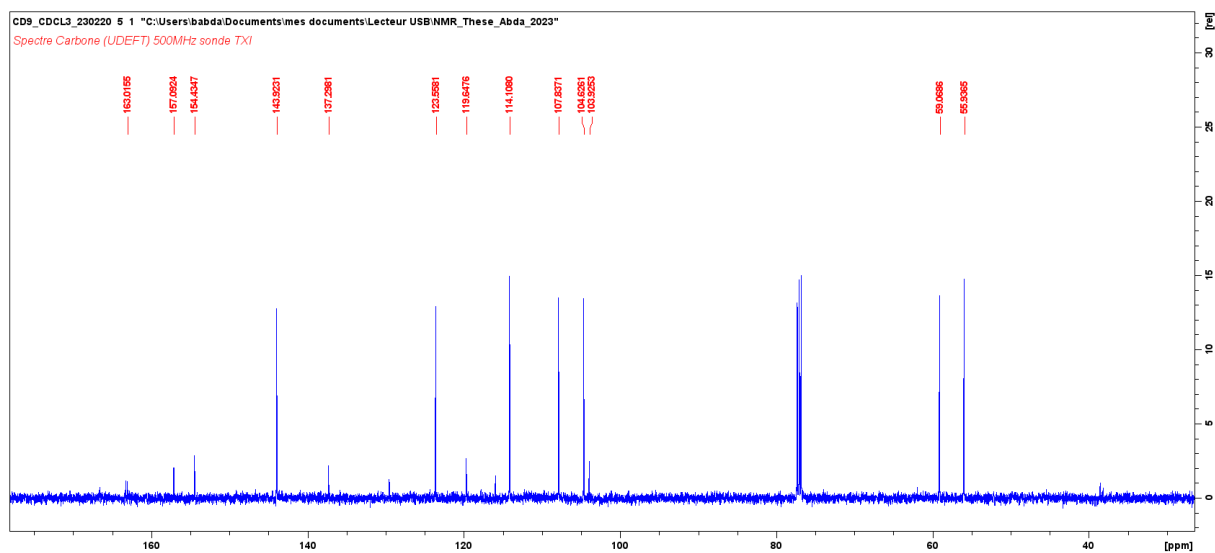


Figure S117. ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **14**

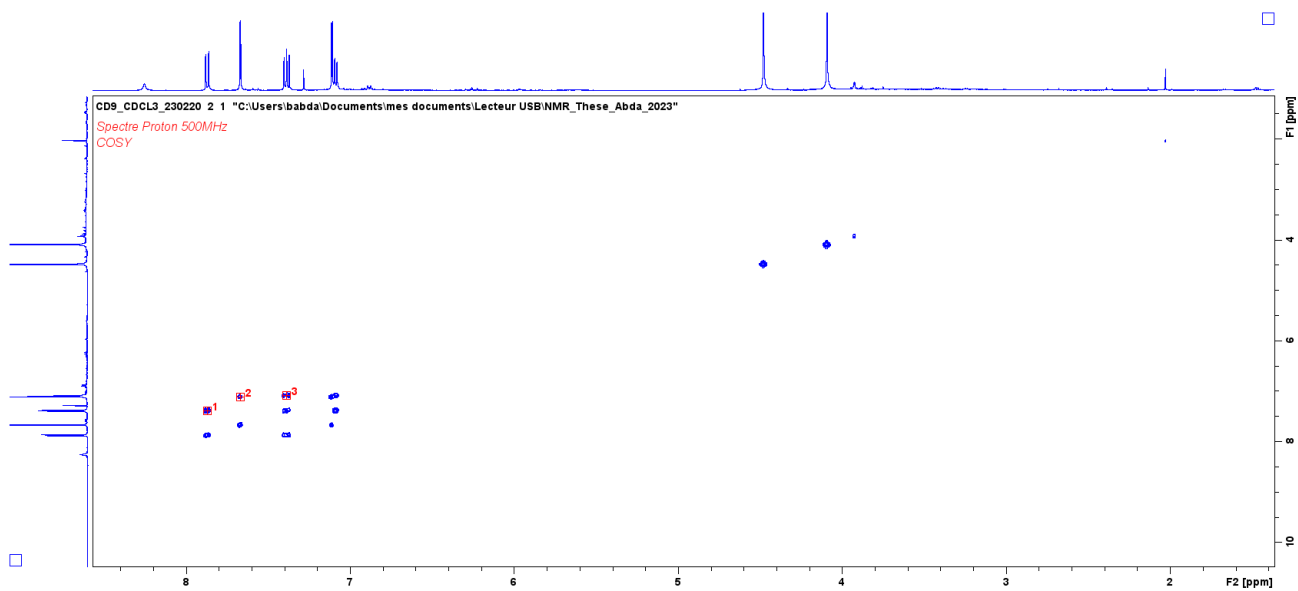


Figure S118. ^1H - ^1H COSY (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **14**

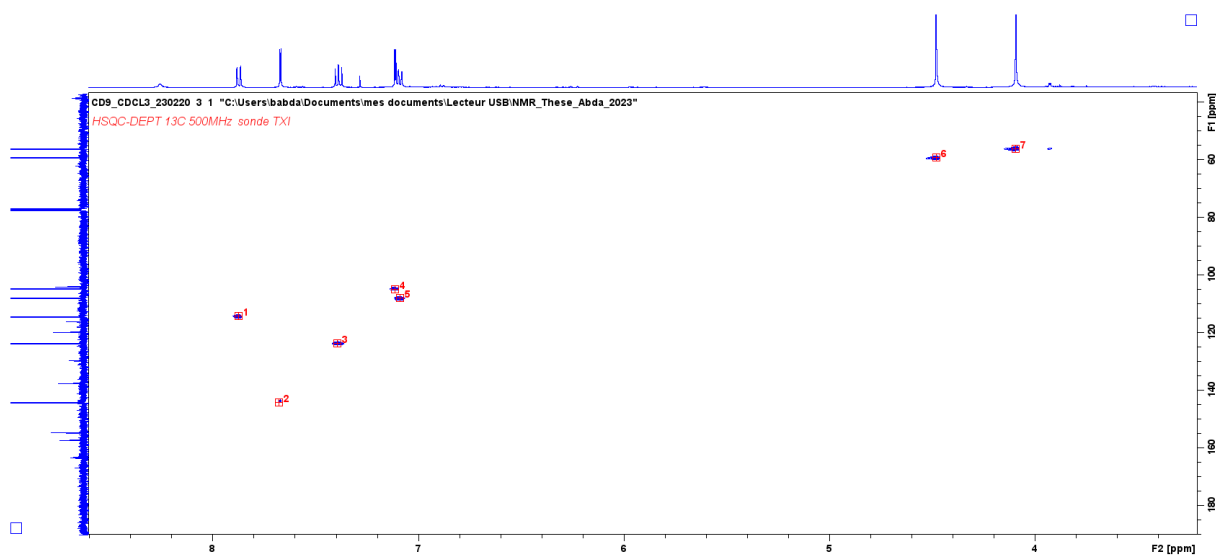


Figure S119. HSQC-DEPT (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **14**

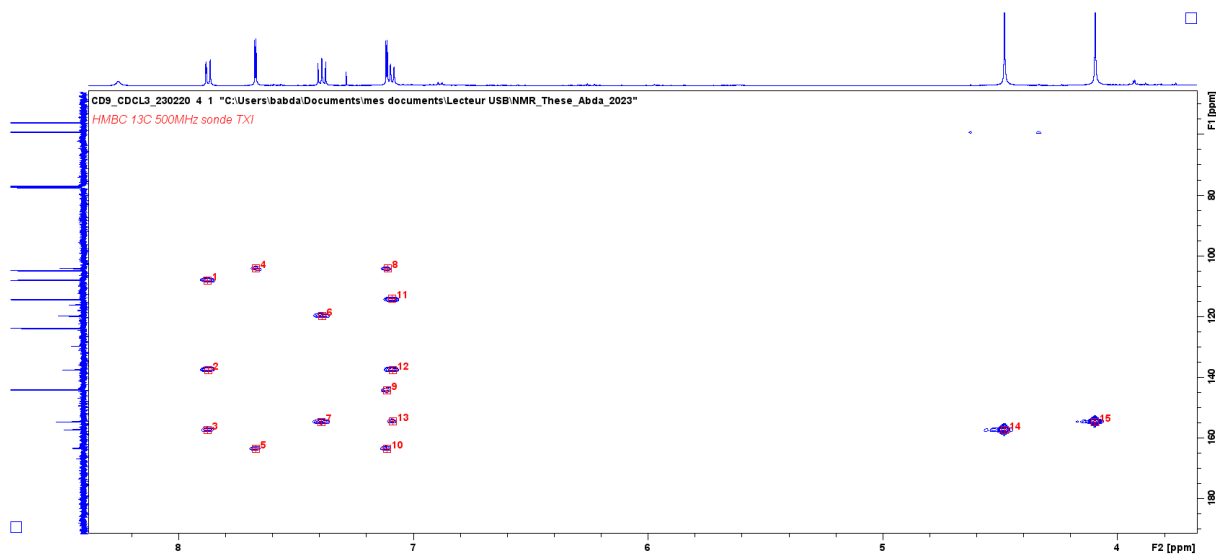


Figure S120. HMBC (500 MHz, CDCl_3) spectrum of compound **14**

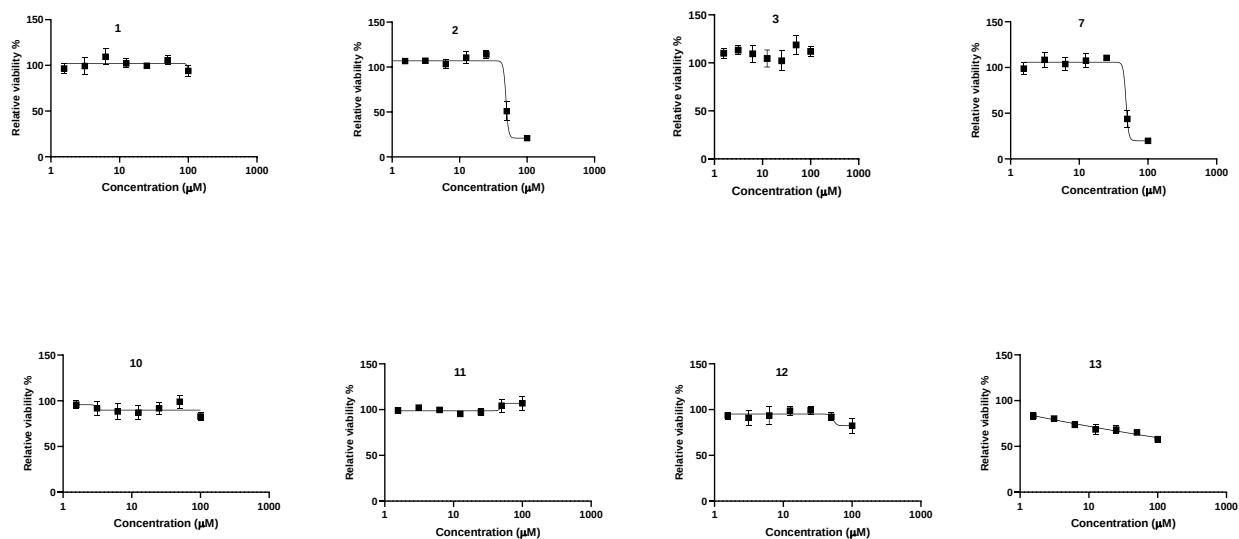


Figure S121. Cytotoxicity evaluation of compounds **1**, **2**, **3**, **7**, **10**, **11**, **12**, and **13** on Huh-7 cells. For each sample, toxicity activity was determined with increasing concentrations. Huh-7 cells were incubated with each sample at the indicated concentrations for 24 h. The MTS assay was performed to monitor cell viability. Data are expressed relative to the control DMSO ($p < 0.001$, for 2 and 7). Results are expressed as mean $\pm$ SEM from three independent experiments, performed in triplicates.

Table S1. Identification of chemical constituents in cyclohexane and dichloromethane sub-extracts by comparison of the MS² data (Positive mode, HR-ESI-MS/MS) and matched with KEGG and PubChem databases by using Mzmine 3 (v3.3.0) software. Several levels of confidence were assigned (levels 1-4): level 1 (unambiguously identified metabolite, confirmed by at least two parameters of an authentic standard, such as retention time and MS/MS spectrum, purified compounds in the case of our study), level 2 (putatively annotated metabolite), level 3 (putatively annotated metabolite class) and level 4 (unidentified metabolite).

Rt (min)	Isolated compounds	m/z	Major quasi-molecular ions	MS/MS fragments [m/z]	Molecular formula	Δ ppm	Δ mDa	Combined score (%)	RDBE	w	Area	Identification	Chemical class identified	Level of confidence
4.26		260.1275	[M+H] ⁺	66.1679	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃	-2.5	-0.6	75.17	8		6.9E3	-	Alkaloid	Level 3
4.51		206.0807	[M+H] ⁺	66.1679; 191.0573	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	-2.4	-0.5	75.95	7		4.1E4	Edulitine	alkaloid	Level 2
4.56		356.1850	[M+H] ⁺	192.1014	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	-1.9	-0.7	81.47	10		2.3E4	Glaucine	alkaloid	Level 2
4.67		260.1277	[M+H] ⁺	66.1679; 188.0702; 242.1171;	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃	-1.7	-0.4	82.89	8		2.8E4	Norsanguinine	Alkaloid	Level 2
4.76		679.5103	[M+H] ⁺	336.2277; 435.3328; 452.3604; 643.4906; 661.5000	C ₃₅ H ₇₀ N ₂ O ₁₀	-0.1	-0.0	99.66	2		3.5E4	-	-	Level 4
4.76		701.4923	[M] ⁺	591.4539; 657.5030; 683.4820; 684.4858; 701.4905	C ₄₇ H ₆₃ N ₃ O ₂ ⁺	0.4	0.3	96.13	18		3.3E4	-	Alkaloid	Level 3
4.81		370.1645	[M+H] ⁺	149.0593; 165.0906; 188.0703; 206.0808; 290.0935; 321.1354; 337.1307; 352.1540	C ₂₁ H ₂₃ NO ₅	-1.1	-0.4	88.55	11		1.3E5	Allocryptopine	Alkaloid	Level 2
4.92		302.1284	[M+H] ⁺	156.0804; 167.0601; 185.0707; 257.1073; 272.0819; 287.10491	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O	-1.4	-0.4	86.31	14		4.0E5	-	Alkaloid	Level 3
5.21	11	207.0649	[M+H] ⁺	n.f	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	-1.5	-0.3	85.01	7		4.7E4	Scoparone	Coumarin	Level 1
5.24		352.1538	[M+H] ⁺	294.1488; 309.1117; 321.1355; 337.1303;	C ₂₁ H ₂₁ NO ₄	-1.6	-0.6	84.10	12		1.4E5	Ochotensine	Alkaloid	Level 2
5.45	7	348.1228	[M] ⁺	202.0531; 304.0970; 333.0994	C ₂₁ H ₁₇ O ₄ N ⁺	-2.2	-0.8	77.51	13		1.3E4	Chelerythrine	Benzo[c]phenanthridine alkaloid	Level 1
5.95	12	190.0862	[M+H] ⁺	130.0647; 158.0597; 175.0624	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂	-0.4	-0.1	98.90	7		3.8E5	4-methoxy-1-methylquinolin-2-one	Alkaloid	Level 1
6.25	13	260.0913	[M+H] ⁺	61.2607; 138.7265; 200.0703; 210.9619; 216.0653; 227.0572; 245.0674	C ₁₄ H ₁₃ NO ₄	-1.8	-0.5	82.33	9		3.3E6	Skimmianine	Alkaloid	Level 1
6.42	14	230.0808	[M+H] ⁺	186.0546; 200.0266; 215.0572;	C ₁₃ H ₁₁ NO ₃	-1.7	-0.4	82.83	9		1.4E6	Gamma fagarine	Alkaloid	Level 1
6.63		240.1954	[M+H] ⁺	93.06950; 121.1007; 156.1378; 167.1062; 222.1850	C ₁₄ H ₂₅ NO ₂	-1.8	-0.4	82.06	3	2	1.6E5	-	Amide	Level 3
6.73		382.1280	[M+H] ⁺	201.0781; 305.1044; 323.0910; 336.1226; 354.1331	C ₂₁ H ₁₉ NO ₆	-1.4	-0.5	85.9	13		2.1E5	Isoarnottianamide	Formamide	Level 2
6.94	3	248.1277	[M+H] ⁺	66.1679; 107.3148; 117.0332; 119.0488; 145.0281; 149.0594; 173.9689; 175.0385; 192.0651	C ₁₄ H ₁₇ NO ₃	-1.8	-0.4	82.06	7	1	1.1E7	Trans-Fagaramide	Amide	Level 1

6.94		495.2480	[M+H] ⁺	175.0386; 248.1280	C ₂₈ H ₃₄ N ₂ O ₆	-2	-1	80.03	13		6.9E6	Fagaramide dimer	Amide	Level 3
7.48	4	382.1281	[M+H] ⁺	201.0783; 305.1046; 323.0914; 336.12298; 354.1333	C ₂₁ H ₁₉ NO ₆	-1.1	-0.4	88.53	13		9.0E5	Arnottianamide	Formamide	Level 1
7.50		763.2489	[M+H] ⁺	292.0733; 339.1098; 354.1330; 382.1282	C ₄₂ H ₃₈ N ₂ O ₁₂	-1.1	-0.9	88.53	25		7.1E5	Arnottianamide or isoarnottianamide dimer	Formamide	Level 3
7.54	8	308.1756	[M+H] ⁺	91.0539; 106.0648; 116.0492; 134.0598; 165.1020; 201.1021; 265.1335; 290.1651	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	-0.5	-0.2	94.72	11		1.2E6	Evodiamide	Alkaloid	Level 1
7.70		196.1693	[M+H] ⁺	66.1679; 95.0851; 123.0800; 140.1066	C ₁₂ H ₂₁ NO	-1.6	-0.3	83.9	3	2	1.3E5	N-(2-methylpropyl)octa-2,4-dienamide	Amide	Level 2
7.82		304.1443	[M+H] ⁺	118.0647; 144.0805; 161.0706; 187.0862; 261.1384; 287.1177	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O	-0.5	-0.2	94.65	13		6.9E5	Evodiamine	Alkaloid	Level 2
7.91	9	320.0914	[M+H] ⁺	76.2671; 277.0731; 305.0679	C ₁₉ H ₁₃ NO ₄	-1.1	-0.4	88.78	14		5.3E5	Decarine	Alkaloid	Level 1
8.19		288.1129	[M+H] ⁺	66.1680; 167.0599; 227.2003; 243.0912; 273.0892	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O	-0.9	-0.3	90.87	14		1.8E5	Rutaecarpine	Alkaloid	Level 2
8.24		336.1228	[M+H] ⁺	276.1016; 291.1012; 304.0963; 321.0991; 323.7860	C ₂₀ H ₁₇ NO ₄	-0.8	-0.3	92.3	13		9.1E4	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
8.33	10	364.1177	[M+H] ⁺	178.3727; 301.0734; 320.0917; 333.0993; 334.0709; 349.0942	C ₂₁ H ₁₇ NO ₅	-0.8	-0.3	92.49	14		7.6E5	6-Oxocheleerythrine	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 1
8.38		306.1601	[M+H] ⁺	134.0598; 161.0706; 175.0863; 199.0863; 263.1541; 289.1333	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O	0.0	0.0	99.6	12		6.4E5	-	Alkaloid	Level 3
8.51		318.2062	[M+H] ⁺	177.0543; 250.1433	C ₁₉ H ₂₇ NO ₃	-0.6	-0.2	93.89	7	1	1.7E5	-	Amide	Level 3
8.58		222.1850	[M+H] ⁺	66.1680; 67.0537; 93.0695; 107.0851; 123.1164; 149.0957; 166.1223	C ₁₄ H ₂₃ NO	-1.2	-0.3	88.05	4	3	4.6E5	-	Amide	Level 3
8.63		288.2530	[M+H] ⁺	66.1680; 88.0753; 106.0859; 227.2002; 270.2424	C ₁₆ H ₃₃ NO ₃	-1.2	-0.3	88.0	1	0	7.3E5	-	Amide	Level 3
8.96		408.1435	[M+H] ⁺	348.1226	C ₂₃ H ₂₁ NO ₆	-1.7	-0.7	83.12	14		1.7E5	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
8.96		649.2436	[M+H] ⁺	304.0963; 333.0992; 348.1226	C ₄₀ H ₃₂ N ₄ O ₅	-1.5	-1	85.03	27		1.8E5	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
9.37	5	224.2004	[M+H] ⁺	66.1679; 95.0489; 107.0852; 123.1165; 133.1008; 151.1114; 168.1380	C ₁₄ H ₂₅ NO	-2.3	-0.5	76.95	3	2	5.4E6	Pellitorine	Amide	Level 1
9.49		288.1956	[M+H] ⁺	88.0754; 106.0860; 227.2003; 270.2425	C ₁₈ H ₂₅ NO ₂	-0.8	-0.2	92.02	7		6.2E4	-	Amide	Level 3
9.56		521.3364	[M+H] ⁺	213.0906; 248.1278; 347.1638; 375.1585; 420.2526; 448.2474; 503.3257	C ₃₂ H ₄₄ N ₂ O ₄	-1.9	-1	80.63	12		3.0E5	-	Alkaloid	Level 3

9.69	1	593.1907	[M+H] ⁺	n.f	C ₃₄ H ₂₈ N ₂ O ₈	-2	-1.2	80.33	22		2.6E5	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 1
9.78		471.3208	[M+H] ⁺	299.1639; 325.1430; 370.2373; 398.2320; 453.3104	C ₂₈ H ₄₂ N ₂ O ₄	-2	-1	79.63	9		3.1E5	-	-	Level 4
10.05		532.1954	[M+H] ⁺	333.0991; 334.1070; 348.1225; 488.2059; 500.1690; 517.1723	C ₃₀ H ₂₉ NO ₈	-2.3	-1.2	77.09	17		1.7E5	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
10.14		334.1070	[M+H] ⁺	290.0808; 302.0809; 304.0602; 318.0758; 319.0834	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	-1.2	-0.4	87.75	14		3.7E5	Norchelelythrine	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 2
10.20	6	274.2162	[M+H] ⁺	66.1679; 93.0695; 107.0851; 119.0850; 133.1008; 168.1378; 175.1477; 201.1270; 224.8881	C ₁₈ H ₂₇ NO	-1.3	-0.4	86.66	6	5	3.6E6	Gamma sanshool	Amide	Level 1
10.43	2	350.1382	[M+H] ⁺	85.7472; 232.7949; 290.0938; 304.0970; 319.1203; 333.1125; 334.1076; 335.1148	C ₂₁ H ₁₉ NO ₄	-1.5	-0.5	85.45	13		1.8E6	Dihydrochelelythrine	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 1
10.58		276.2319	[M+H] ⁺	93.0695; 107.0851; 121.1007; 135.1164; 177.1634; 194.1535; 206.1536; 220.1690	C ₁₈ H ₂₉ NO	-1.1	-0.3	88.57	5	4	5.1E5	Hazaleamide	Amide	Level 2
10.89		252.2318	[M+H] ⁺	66.1680; 93.0694; 119.0850; 133.1007; 161.1319; 179.1426; 196.1691	C ₁₆ H ₂₉ NO	-1.7	-0.4	83.5	3	2	2.4E5	-	Amide	Level 3
11.36		278.2475	[M+H] ⁺	93.0694; 107.0850; 121.1007; 135.0800; 152.1065; 167.1300; 177.1634; 205.1582; 222.1848	C ₁₈ H ₃₁ NO	-1.3	-0.4	86.85	4	3	2.9E5	-	Amide	Level 3
11.65		348.1227	[M] ⁺	85.2431; 304.0969; 315.0892; 318.0762; 319.0846; 333.0992; 349.1262	C ₂₁ H ₁₈ NO ₄ ⁺	-2.5	-0.9	74.63	14		1.6E6	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
12.06		564.2370	[M+H] ⁺	348.1224	C ₃₅ H ₃₃ NO ₆	-1.9	-1.1	80.69	20		6.1E4	-	Benzo[c]phe nanthridine alkaloid	Level 3
12.06		739.2638	[M+H] ⁺	196.0182; 303.2381; 533.1547; 616.3439; 634.3195; 701.9672	C ₄₄ H ₃₈ N ₂ O ₉	-1.7	-1.2	83.33	27		8.8E4	-	Alkaloid	Level 3
12.26		398.2320	[M+H] ⁺	121.0278; 149.0230; 233.1169; 268.0965; 296.1278; 314.1383; 369.1930	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄	-1.5	-0.6	84.68	10		2.5E5	1-(3,4-diethoxybenzyl)- 6,7-diethoxy-3,4- dihydroisoquinoline	Alkaloid	Level 2
12.33		280.2631	[M+H] ⁺	66.1680; 93.0695; 107.0850; 119.0850; 133.1007; 154.1221; 168.1378; 189.1633; 207.1739; 224.2005	C ₁₈ H ₃₃ NO	-1.5	-0.4	85.15	3	2	5.3E5	N-isobutyl-(2E,4E)- tetradecadienamide	Amide	Level 2
12.72		447.3938	[M+H] ⁺	275.2364; 346.3099; 374.3046; 389.3043; 429.3361	C ₂₈ H ₅₀ N ₂ O ₂	-1.6	-0.7	83.67	5	4	8.1E4	-	diamide	Level 3
12.83		497.4091	[M+H] ⁺	224.2005; 269.1895; 323.2365; 351.2313; 396.3253; 424.3200; 479.3984	C ₃₂ H ₅₂ N ₂ O ₂	-2.2	-1.1	78.27	8	7	2.2E5	-	diamide	Level 3

12.83		739.2638	[M+H] ⁺	205.2081; 334.3310; 348.1224	C ₄₄ H ₃₈ N ₂ O ₉	-1.7	-1.2	83.33	27		1.7E5	-	Benzo[c]phenanthridine alkaloid	Level 3
13.22		256.2632	[M+H] ⁺	66.1680; 88.0753; 102.0909; 116.1065; 130.1221; 144.1378; 158.1534; 172.1693; 186.1849; 200.2005; 214.2157	C ₁₆ H ₃₃ NO	-1.2	-0.3	87.67	1	0	1.5E5	N-(2-methylpropyl)dodecanamide	Amide	Level 2
13.22		294.2788	[M+H] ⁺	70.3319; 95.0851; 109.1008; 133.1008; 182.1534; 203.1795; 221.1896; 238.2161	C ₁₉ H ₃₅ NO	-1.2	-0.4	87.56	3	2	4.4E4	-	Amide	Level 3
13.28		547.4248	[M+H] ⁺	183.1165; 247.1478; 274.2162; 312.2318; 373.2521; 401.2469; 446.3412; 474.3357; 529.4141	C ₃₆ H ₅₄ N ₂ O ₂	-1.9	-1	81.17	11	10	3.0E5	-	diamide	Level 3

w: number of double bonds on aliphatic chain of polyunsaturated amides and diamides

RDBE: Ring Double Bond Equivalents

-: no identification

n.f: no fragmentation (compound covered by another)

Table S2. Assessment of antiparasitic, cytotoxic and anti-coronavirus (HCoV-229E) activities of extracts and pure compounds of *Z. zanthoxyloides*

		Antiparasitic and cytotoxic activities												Huh-7 cells infected with HCoV-229E						
		IC ₅₀ (μg/mL)				CC ₅₀ (μg/mL)		IC ₅₀ (μM)				CC ₅₀ (μM)		Selectivity Index		IC ₅₀ (μg/mL (μM))		CC ₅₀ (μg/mL (μM))		Selectivity Index
Extracts /pure compounds	MW (g/mol)	Lmm	SD	Tbb	SD	WI-38	SD	Lmm	SD	Tbb	SD	WI-38	SD	SI (Lmm)	SI (Tbb)	+TMPRSS2	-TMPRSS2	Huh-7	SI +TMPRSS2	SI -TMPRSS2
ZZM		0.62	0.04	2.15	0.21	41.43	14.13							67.00	19.30	nd	nd	-		
ZZE		1.37	0.47	5.70	0.40	>100	-							>72.8	>17.6	n.a	n.a			
ZZA		0.18	0.05	7.38	0.50	53.08	8.98							299.90	7.20	n.a	n.a			
ZZC		0.66	0.09	5.18	2.03	41.45	8.40							62.80	8.00	5.29	6.24	51.11	9.60	8.20
ZZD		0.07	0.00	0.22	0.01	18.23	3.59							252.40	81.50	4.88	4.36	23.91	4.70	5.50
1	592	0.09	0.02	0.21	0.04	4.44	0.15	0.14	0.04	0.36	0.06	7.49	0.25	52.00	20.76	3.96 (6.70)	3.19 (5.40)	>59.2 (>100)	>14.9	>18.5
2	349	0.01	0.00	0.06	0.01	2.03	0.09	0.03	0.01	0.18	0.02	5.81	0.26	168.70	32.01	4.51 (12.95)	3.62 (10.38)	14.27 (40.89)	3.10	3.90
3	247	7.72	1.01	16.85	0.78	51.52	5.92	31.24	4.09	68.20	3.15	208.56	23.96	6.70	3.10	nd	nd	>24.7 (>100)	>4.2	>2.6
4	381	13.25	0.09	nd	-	20.35	0.12	34.77	0.23	nd	-	53.40	0.30	1.54	-	nd	nd			
5	223	20.71	5.80	13.19	2.50	32.85	11.90	92.88	26.01	59.13	11.19	147.29	53.37	1.60	2.50	nd	nd			
6	273	2.16	0.11	4.97	0.31	13.47	2.99	7.93	0.40	18.22	1.13	49.35	10.93	6.20	2.70	nd	nd			
7	348	0.02	0.00	0.17	0.02	6.06	0.32	0.06	0.00	0.49	0.05	17.40	0.92	271.74	35.28	3.95 (11.36)	6.76 (19.43)	16.67 (47.92)	4.20	2.50
8	307	2.68	1.07	11.16	1.16	20.78	1.76	8.73	3.49	36.35	3.77	67.69	5.73	7.75	1.86	nd	nd			
9	319	1.88	0.11	4.51	0.50	4.35	1.52	5.90	0.35	14.13	1.58	13.62	4.78	2.31	0.96	nd	nd			
10	363	5.59	0.35	nd	-	8.34	1.11	15.39	0.96	nd	-	22.98	3.06	1.49	-	9.37 (25.84)	6.92 (19.08)	>36.3 (>100)	3.80	5.20
11	206	0.53	0.03	1.97	0.04	19.66	0.37	2.56	0.17	9.55	0.21	95.43	1.79	37.22	10.00	nd	nd	>20.6 (>100)		
12	189	10.61	1.11	11.35	1.75	12.03	6.02	56.14	5.86	60.05	52.34	63.67	31.87	1.13	1.06	n.a	n.a	>18.9 (>100)		
13	259	12.59	2.19	14.61	1.20	20.08	1.97	48.62	8.46	56.42	4.62	77.52	7.59	1.59	1.37	n.a	n.a	>22.9 (>100)		
14	229	11.02	0.16	nd	-	21.47	0.76	48.12	0.68	nd	-	93.75	3.32	1.95	-	n.a	n.a			
Pentamidine	340	0.08	0.01					0.24	0.03											
Amphotericin B	924	0.09	0.01					0.10	0.01											
Suramin	1297			0.06	0.01					0.04	0.00									
Camptothecin	348					0.03	0.00					0.07	0.00							

Lmm: *Leishmania mexicana mexicana*; **Tbb:** *Trypanosoma brucei brucei*; **WI-38:** Normal human lung fibroblast cell line; **Huh-7:** Human hepatoma cell line; **TMPRSS2:** Transmembrane protease, serine 2; **HCoV-229E:** Human coronavirus 229E; **nd:** not determined; **n.a:** no activity

Étude phytochimique et propriétés anti-infectieuses de plantes médicinales sénégalaises : molécules bioactives de *Zanthoxylum zanthoxyloides* et de *Terminalia avicennioides*

Résumé :

Ce travail pluridisciplinaire a permis d'étudier des plantes utilisées en médecine traditionnelle sénégalaise dans la prise en charge de pathologies infectieuses et d'isoler, selon un processus de fractionnement bioguidé, des agents antimicrobiens naturels. Tout d'abord, une enquête ethnobotanique menée au Sénégal auprès de 127 informateurs a permis de recenser 41 plantes appartenant à 19 familles botaniques. Les familles botaniques les plus mentionnées ont été les Combretaceae (30,2%, 6 espèces) et les Fabaceae (29,3%, 12 espèces). Au total, 34 extraits bruts méthanoliques de 25 plantes ont été évalués *in vitro* sur 36 souches bactériennes pathogènes de l'homme, des coronavirus humains (HCoV-229E et SARS-CoV-2), des parasites (*Trypanosoma brucei brucei* et *Leishmania mexicana mexicana*) et trois lignées cellulaires Huh-7, Vero-81 et WI-38. Les espèces *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Terminalia avicennioides*, ayant montré de bonnes activités leishmanicide, trypanocide et/ou anti-coronavirus, ont été sélectionnées pour la poursuite du fractionnement bioguidé. À partir des écorces de racines de *Z. zanthoxyloides*, un nouvel alcaloïde de type benzophénanthridine et racémique, nommé zanthoxyloithrine, ainsi que 13 composés connus, ont été isolés. En parallèle, une analyse de déréplication et une approche de réseaux moléculaires basées sur les données HR-ESI-MS/MS ont été réalisées afin d'identifier des composés non purifiés dans les sous-extraits apolaires. Le nouvel alcaloïde a montré de fortes activités leishmanicide ($CI_{50} = 0,14 \mu M$), trypanocide ($CI_{50} = 0,36 \mu M$) et antivirale contre HCoV-229E ($CI_{50} = 6,7 \mu M$, dans des cellules Huh-7 exprimant TMPRSS2) avec un bon index de sélectivité. Des composés trypanocides ont aussi été isolés des feuilles de *T. avicennioides*, en particulier les acides 3,4,3'-tri-O-méthylellagique, 3,4,5-O-triméthyl-3',4'-O,O-méthylidèneflavellagique, hexaméthylcoruleoellagique et pentaméthylflavellagique. Ce dernier a montré la meilleure activité contre *T. brucei brucei* ($CI_{50} = 6,2 \mu M$). Ces travaux ont permis de confirmer les propriétés anti-infectieuses de certaines plantes médicinales utilisées au Sénégal.

Mots clés : Sénégal; Ethnobotanique; Antibactérienne; Antiparasitaire; Anti-coronavirus; SARS-CoV-2; *Terminalia avicennioides*; *Zanthoxylum zanthoxyloides*, Alcaloïdes Benzophénanthridines

Phytochemical study and anti-infective properties of Senegalese medicinal plants: bioactive molecules from *Zanthoxylum zanthoxyloides* and *Terminalia avicennioides*

Abstract:

This multidisciplinary work has made it possible to study plants used in traditional Senegalese medicine in the management of infectious diseases and to isolate, according to a bioguided fractionation process, natural antimicrobial agents. First, an ethnobotanical survey conducted in Senegal among 127 informants identified 41 plants belonging to 19 botanical families. The most mentioned botanical families were Combretaceae (30.2%, 6 species) and Fabaceae (29.3%, 12 species). A total of 34 methanolic crude extracts from 25 plant species were evaluated *in vitro* on 36 human pathogenic bacterial strains, human coronaviruses (HCoV-229E and SARS-CoV-2), parasites (*Trypanosoma brucei brucei* and *Leishmania mexicana mexicana*) and three cell lines: Huh-7, Vero-81, and WI-38. *Zanthoxylum zanthoxyloides* and *Terminalia avicennioides* species that showed good leishmanicidal, trypanocidal and/or anti-coronavirus activities were selected for further bioguided fractionation. From the root bark of *Z. zanthoxyloides*, a novel racemic benzophenanthridine alkaloid, named zanthoxyloithrine, along with 13 known compounds, were isolated. In parallel, a HR-ESI-MS/MS based dereplication and molecular networking analysis was performed to identify unpurified compounds in the nonpolar sub-extracts. The novel alkaloid showed strong leishmanicide ($IC_{50} = 0.14 \mu M$), trypanocidal ($IC_{50} = 0.36 \mu M$) and antiviral activities against HCoV-229E ($IC_{50} = 6.7 \mu M$, in Huh-7 cells expressing TMPRSS2) with a good selectivity index. Trypanocidal compounds have also been isolated from the leaves of *T. avicennioides*, 3,4,3'-tri-O-methylellagic acid, 3,4,5-O-trimethyl-3',4'-O,O-methylidene flavellagic acid, hexamethylcoruleoellagic acid and pentamethylflavellagic acid. The latter showed the best activity against *T. brucei brucei* ($IC_{50} = 6.2 \mu M$). This work has confirmed the anti-infective properties of certain medicinal plants used in Senegal.

Keywords: Senegal; Ethnobotany; Antibacterial; Antiparasitic; Anti-coronavirus; SARS-CoV-2; *Terminalia avicennioides*; *Zanthoxylum zanthoxyloides*, Benzophenanthridine alkaloids