

Ecole Doctorale sciences de l'environnement

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'AIX- MARSEILLE

Spécialité : Environnement et Santé

**ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE SUR LES PLANTES MEDICINALES
UTILISEES DANS LA REGION DE L'OUEST CAMEROUN
ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE *D'AFZELIA
AFRICANA* J.E. Smith ex Pers**

Présentée le 8 décembre 2017 à Marseille

Par

FOUTSE YIMTA

Membres du Jury :

Pr Evelyne OLLIVIER :	Directeur	Université Aix Marseille,
Dr Béatrice BAGHDIKIAN	Co-directeur	Université Aix Marseille,
Pr Denis WOUESSIDJEWE	Rapporteur	Université Grenoble,
Pr Dominique LAURAIN-MATTAR	Rapporteur	Université de Nancy
Dr Géneviève BOURDY	Examineur	Université Paul Sabatier-Toulouse III,
Dr Gaëtan HERBETTE	Examineur	Université Aix-Marseille
Dr Valérie MAHIOU-LEDDET	Invité	Université Aix Marseille
Dr Carole DI GIORGIO	Invité	Université Aix Marseille

REMERCIEMENTS

Au Président de l'AED Monsieur Henri Njomgang et aux membres du bureau exécutif, je voudrais vous remercier pour la confiance et le soutien financier que vous avez consentis pour que cette formation se déroule dans de bonnes conditions. Je vous promets en retour de m'investir totalement dans la transmission des connaissances acquises en direction de la jeune génération et de participer activement au développement de notre Institution Udm.

Au Président de l'Université des Montagnes le Pr Lazare KAPTUE, à la Vice-présidente chargée de l'enseignement, le Pr Jeanne NGONGANG, je tiens à exprimer toute ma gratitude pour avoir soutenu ce projet de formation durant ces trois années. Je vous promets de tout mettre en œuvre pour lever les défis qui me seront proposés.

Au Pr Kaba KOUROUMA, Vice-Doyen de la filière de pharmacie, je vous remercie d'avoir soutenu ce projet de formation, vos conseils tout au long de ces années m'ont été utiles pour conduire à son terme ma formation.

Au Dr François NGUIMATSI, je vous remercie de la confiance que vous m'avez accordée en soutenant ce projet de formation. Vos multiples conseils m'ont toujours redonné le courage. Soyez assuré de toute ma gratitude.

A tous les enseignants de la filière pharmacie de l'Université des Montagnes, **Pr Jean Michel TEKAM, Dr Jonas KOUAMOOU, Dr Ernest DJOKO, Dr François KAMAGNE, Dr Rosine CHOUGOUO, Dr Bérenger NGALEMO, Dr Josué SIMO** pour vos multiples conseils.

A Madame le Professeur Evelyne OLLIVIER, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour la spontanéité avec laquelle vous m'avez acceptée au sein du Laboratoire de Pharmacognosie et d'Ethnopharmacologie de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Aix-Marseille. Votre enthousiasme, votre humanisme, votre constante disponibilité me marqueront à jamais. Vous n'avez cessé de me conseiller, de m'orienter et de me soutenir tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect et de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Béatrice BAGHDIKAN, vous avez accepté de me guider dans la réalisation de ce travail qui n'aurait pas pu se faire sans vos compétences scientifiques, votre totale disponibilité et votre esprit critique. Vous m'avez aidée en toutes circonstances à combler un vide pendant la période d'absence de Madame MAHIOU. J'ai pu apprécier votre grande gentillesse, votre compréhension et vos qualités humaines. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

A Madame le Docteur Valérie MAHIOU, je tiens à vous remercier très sincèrement pour votre aide, vos conseils précieux, votre grande gentillesse, votre compréhension et votre disponibilité dans la réalisation de ce travail malgré les difficultés que vous traversiez.

A Monsieur le Pr Denis WOUESSIDJEWÉ, je tiens à vous exprimer toute ma gratitude et mon respect pour avoir cru en moi et proposé à l'AED et à l'UdM, non sans difficultés d'accepter et de contribuer à ma formation par le biais de cette thèse. Vos constants encouragements, votre grande disponibilité et votre soutien permanent et vos conseils scientifiques ont été d'une importance capitale tout au long de mon travail. Vous avez fait de mes difficultés les vôtres. C'est toujours avec beaucoup de gentillesse, de compréhension, de patience et de justesse que vous avez traité les quelques difficultés survenues durant ce travail. En outre, je suis heureuse et fière que vous soyez un des rapporteurs de cette thèse.

A Madame le Pr Dominique LAURAIN-MATTAR Je vous remercie pour avoir accepté d'être l'un des rapporteurs de cette thèse. Recevez toute ma reconnaissance.

A Madame le Dr Géneviève BOURDY : Je vous remercie pour votre disponibilité à examiner cette thèse.

A Madame le Docteur Sok-Siya BUN, à **Monsieur le Docteur Riad ELIAS**, je vous remercie très sincèrement pour votre accueil chaleureux, vos précieux conseils et vos encouragements.

A Monsieur Fathi MABROUKI, Madame **Elisabeth ORNETO**, Madame **Pascale MARCEL** et Madame **Rose VALENTE**, merci pour votre grande disponibilité pendant la réalisation de ce travail.

A **Madame le Docteur Carole DI GIORGIO, Monsieur Sébastien HUTTER**, je tiens à vous remercier pour votre gentillesse et votre disponibilité pour la réalisation des tests pharmacologiques.

A **Monsieur Gaëtan HERBETTE**, merci pour votre grande gentillesse, pour votre disponibilité dans la phase de la détermination structurale des composés.

A **Madame le Docteur Sandrine ALIBERT**, merci pour votre disponibilité dans la réalisation des tests antibactériens et sur les pompes à efflux.

A tous les collègues de promotion du laboratoire, **Elnur GARAGEV** et **Minh Aih**, merci pour votre grande disponibilité malgré vos occupations multiples, vous trouviez toujours le temps de répondre à mes nombreuses questions, merci infiniment.

A mes chers parents, Feu papa **FOUTSE ABRAHAM** et maman **Dora NJAWE JESSIE**, pour tous les sacrifices, les efforts et le profond amour que vous prodiguez quotidiennement pour la réussite de vos enfants. Ce travail est la concrétisation de l'affection et de la profonde reconnaissance que j'éprouve pour vous.

A la mémoire de mes grands-parents, **papa MESSACK TAKEU, papa Moise WOUTOUCK, maman Simone YUEGO, Maman Rébecca TINTCHOO**. Je suis le fruit de votre lignée. Merci de m'avoir transmis vos gènes de discernement et de compréhension.

A la mémoire de **maman Charlotte TCHOUGA**, tu m'as ouvert tes bras, tu m'as donné de précieux conseils et maintenant tu n'es plus là ! Trouve par ce travail ma profonde reconnaissance.

A la famille **M et Mme Sadrack KOM**, vous m'avez soutenue quand j'en avais le plus besoin, merci pour vos encouragements. Le seigneur vous le rendra au centuple.

Aux familles **Mr et Mme léopold KOUAHOU, M et Mme Armand Marcel KOIMON** merci pour tous vos encouragements, votre soutien moral durant mes séjours à Marseille, merci pour votre sympathie.

A mes belles mamans : **Pauline TANDOUM, Tapita NJIEMOU et Marthe NGAMI**, merci pour votre disponibilité à veiller sur les enfants pendant mon absence et pour tous vos encouragements. Je suis vraiment très émue !

A **toi Mbeuh Nhap Ngong Josten Magloire WANDJI**, je te remercie pour ta grande compréhension, tes conseils pendant les moments difficiles, ton soutien moral et financier, pour tous tes sacrifices consentis pour que cette thèse se termine dans de bonnes conditions. Tu as toujours été là quand j'en avais besoin, je ne te remercierai jamais assez !

A mes tendres enfants, **Jovial, Hermann et Princesse Charlotte**, vous n'avez jamais cessé de m'encourager, merci infiniment pour votre bonne compréhension, vous êtes des amours !

A mes oncles et tantes, **maman Justine, maman Madeleine, maman Marceline, papa Justin**, vous m'avez soutenue chacun à votre manière. Sincères remerciements.

A mes frères, cousins, cousines, neveux et nièces: **Jeannette, Cécile, Momo, Khomh, Hoqtieh, Chouppoh, Khamtchuheng, Yuegoh, Clémentine, Gounou, Louisben, Danielle, Flore, Bibi, Tatiane, kehl, Dimitri, Mao et Emmanuel** pour tous vos encouragements, votre soutien moral durant ces trois années.

A toi **Nicole NTCHAYA NJEVEME**, je ne te remercierais jamais assez pour ta disponibilité à garder les enfants.

A mes amis, pour votre gentillesse, votre amitié sincère et surtout votre fidélité : **Mme Audrey KEMAJOU, Mme Liliane NGAWA, Mlle Ariane NANSENET, Mr Sinclair NJIKE, Mr Christophe JUITSA NANWOUO, Mr Edmond YIMAGOU et Mr Appolinaire NKEMKOUA**. Merci pour tous vos encouragements permanents.

Mes remerciements s'adressent également à :

Tous les enseignants, personnels administratifs et cliniques de l'Université des Montagnes, merci pour vos encouragements.

Ceux que je n'ai pas cités mais pour qui j'ai de l'affection recevez toute ma sympathie

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES TABLEAUX	xiv
LISTE DES FIGURES	xvi
LISTE DES ABREVIATIONS	xx
PUBLICATIONS	1
INTRODUCTION	2
CHAPITRE I : LE CAMEROUN	5
1. Généralités	6
1.1. Situation géographique	6
1.2. Le Cameroun administratif	7
1.3. Le relief [15]	8
1.4. Le climat [16].....	9
1.5. La population.....	9
1.6. La religion	10
1.7. La culture	10
2. La région de l’Ouest Cameroun et ses départements	11
2.1. Généralités	11
2.2. Géographie [21]	12
2.3. Le climat [21].....	12
2.4. Groupe ethnique [22]	13
2.5. Présentation du milieu d’étude : Ndé, Haut-Nkam, Menoua et Noun.....	14
2.5.1. Le département du Ndé	14
2.5.1.1. Situation géographique.....	14
2.5.1.2. Relief, sol et climat.....	14
2.5.2. Département du Haut-Nkam	14
2.5.2.1. Situation géographique.....	14
2.5.2.2. Relief, sol et climat.....	15
2.5.3. Département de la Menoua	15
2.5.3.1. Situation géographique.....	15
2.5.3.2. Relief, sol et climat.....	15
2.5.4. Département du Noun	16

2.5.4.1.	Situation géographique.....	16
2.5.4.2.	Relief, sol et climat.....	16
CHAPITRE II : ETHNOPHARMACOLOGIE ET.....		18
MEDECINE TRADITIONNELLE.....		18
1.	Ethnopharmacologie.....	19
1.1.	Définition.....	19
1.2.	Objectifs.....	19
1.3.	Approche pluridisciplinaire.....	19
1.3.1.	Les historiens.....	20
1.3.2.	Les ethnologues.....	20
1.3.3.	Les linguistes.....	20
1.3.4.	Les ethnobotanistes.....	20
1.3.5.	Les phytochimistes.....	20
1.3.6.	Les pharmacologues et toxicologues.....	21
1.3.7.	Les cliniciens.....	21
1.4.	Méthodologie [27].....	21
1.4.1.	Le travail de terrain.....	22
1.4.2.	Méthode de collecte des données [9].....	22
1.4.3.	Informations recueillies pendant la collecte.....	23
1.4.3.1.	Noms vernaculaires.....	23
1.4.3.2.	Drogue végétale.....	23
1.4.3.3.	Période et lieu de récolte.....	23
1.4.3.4.	Mode de séchage et de conservation.....	23
1.4.3.5.	Informations sur les recettes traditionnelles.....	24
1.4.3.6.	Mode de préparation et voies d'administration.....	24
1.4.4.	Le travail de laboratoire.....	25
1.4.4.1.	Choix des plantes à tester.....	25
1.4.4.2.	La préparation des extraits végétaux.....	25
1.4.4.3.	Les solvants.....	25
1.4.4.4.	L'évaluation de l'activité pharmacologique des extraits.....	26
1.4.4.5.	L'étude phytochimique et fractionnement bioguidé.....	26
1.4.4.6.	Le retour vers le terrain.....	27

2. Médecine traditionnelle	27
2.1. Généralités	27
2.2. Médecine traditionnelle en Afrique [3]	27
2.3. Etiologies de maladies en médecine traditionnelle.....	28
2.4. Médecine traditionnelle au Cameroun	29
2.4.1. Médecine traditionnelle et mode d'acquisition dans la région de l'ouest Cameroun [23]	31
2.4.1.1. Acquisition par héritage [6].....	32
2.4.1.2. Acquisition par échange	33
2.4.1.3. Acquisition par révélation	33
CHAPITRE III: ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE	35
1. Enquêtes ethnobotaniques antérieures.....	36
2. Etudes ethnobotaniques réalisées par l'Université des Montagnes de Bangangté .	37
2.1.1. Constat et historique.....	37
2.1.2. Enquêtes réalisées	38
2.1.3. Matériels et méthodes utilisés pendant l'enquête ethnobotanique.....	39
2.1.3.1. Matériel de récolte.....	39
2.1.3.2. Matériel d'enquête.....	39
2.1.3.3. Matériel de conservation	39
2.1.3.4. Méthodes	40
2.1.3.4.1. Démarches administratives.....	40
2.1.3.4.2. Méthode de collecte des données	40
2.1.3.5. Méthode de récolte des échantillons	41
2.1.3.5.1. Récolte des grands arbres	41
2.1.3.5.2. Récolte des petits arbres	41
2.1.3.5.3. Récolte des lianes ligneuses	41
2.1.3.5.4. Récolte des grandes plantes herbacées	41
2.1.3.5.5. Récolte des petites plantes	42
2.1.3.6. Méthode de conservation des échantillons récoltés	42
2.1.3.7. Identification des plantes médicinales récoltées.....	43
3. Résultats d'enquêtes	43
4. Choix des plantes à étudier	91

CHAPITRES IV : ETUDE DES QUATRE PLANTES SELECTIONNEES: <i>TERMINALIA AVICENNOIDES</i> , <i>CROSSOPTERIX FEBRIFUGA</i> , <i>VITELLARIA PARADOXA</i> , <i>AFZELIA AFRICANA</i>	92
1. Etude des quatre plantes sélectionnées : <i>Terminalia avicennioides</i> , <i>Crossopteryx febrifuga</i> , <i>Vitellaria paradoxa</i> , <i>Afzelia africana</i>	93
1.1. Données bibliographiques.....	93
1.1.1. <i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr.	93
1.1.1.1. Aspects botaniques	93
1.1.1.2. Composition chimique	95
1.1.1.3. Pharmacologie	96
1.1.1.4. Ethnopharmacologie.....	100
1.1.2. <i>Crossopteryx febrifuga</i> (Afzel. ex G. Don) Benth	101
1.1.2.1. Aspects botaniques	101
1.1.2.2. Composition chimique	102
1.1.2.3. Pharmacologie	108
1.1.2.4. Ethnopharmacologie.....	110
1.1.3. <i>Vitellaria paradoxa</i> C.F.Gaertn	111
1.1.3.1. Aspects botaniques	111
1.1.3.2. Composition chimique	113
1.1.3.3. Pharmacologie	114
1.1.3.4. Ethnopharmacologie.....	115
1.1.4. <i>Afzelia africana</i> J.E.Smith ex Pers.....	118
Homonymes : <i>Afzelia africana</i> Sm.....	118
<i>Intsia africana</i> (Sm. ex Pers) Kuntze	118
1.1.4.1. Aspects botaniques	118
1.1.4.2. Composition chimique	120
1.1.4.3. Pharmacologie	120
1.1.4.4. Ethnopharmacologie.....	122
2. Screening pharmacologique préliminaire	123
2.1. Préparation des extraits	123
2.2. Matériels et méthode.....	123
2.2.1. Drogue végétale	123
2.2.2. Préparation des extraits	123
.....	125

2.2.3.	Rendements d'extraction des extraits obtenus	126
2.3.	Activité antiplasmodiale	128
2.3.1.	Matériel et méthodes	128
2.3.1.1.	Matériel.....	128
2.3.1.2.	Méthodes	128
2.3.1.2.1.	Préparation des extraits végétaux	128
2.3.1.2.2.	Ajustement de la parasitémie.....	129
2.3.1.2.3.	Marquage au Syber-Green I et lecture au luminomètre	129
2.3.1.2.4.	Test de cytotoxicité.....	130
2.3.2.	Résultats	132
2.4.	Activité antibactérienne	133
2.4.1.	Matériel et méthodes	134
2.4.1.1.	Matériel.....	134
2.4.1.2.	Méthodes	134
2.4.1.2.1.	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice	134
2.4.1.2.2.	Synergie d'action avec les antibiotiques chloramphénicol et norfloxacine	135
2.4.1.2.3.	Mesure de l'Efflux en Temps Réel (RTE).....	135
2.4.2.	Résultats	136
2.5.	Activité anti-inflammatoire.....	138
2.5.1.	Matériel et méthodes	139
2.5.1.1.	Matériel.....	139
2.5.1.2.	Méthodes	139
2.5.1.2.1.	Evaluation de la libération du NO	139
2.5.1.2.2.	Evaluation de la viabilité cellulaire	140
2.5.2.	Résultats	141

CHAPITRE V : ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET PHARMACOLOGIQUE D' <i>AFZELIA AFRICANA</i>	148
1. Etude phytochimique et pharmacologique d' <i>Afzelia africana</i>	149
1.1. Etude Phytochimique d' <i>Afzelia africana</i>	149
1.2. Matériel et Méthodes	149
1.2.1. Matériel	149
1.2.1.1. Matériel végétal	149
1.2.1.2. Solvants	150
1.2.2. Méthodes	150
1.2.2.1. Méthodes analytiques	150
1.2.2.1.1. Méthodes de caractérisation par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	150
1.2.2.1.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)	151
1.2.2.2. Méthodes préparatives	151
1.2.2.2.1. Chromatographie sur colonne ouverte de Séphadex LH 20	151
1.2.2.2.2. Chromatographie flash	151
1.2.2.2.3. Chromatographie liquide haute performance	153
1.2.2.3. Détermination structurale	154
1.2.2.3.1. Spectrométrie de Masse (SM)	154
1.2.2.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	154
1.3. Résultats et discussion	156
1.3.1. Purification de l'extrait MeOH	156
1.3.2. Fractionnement préliminaire de l'extrait méthanol d' <i>Afzelia africana</i>	157
1.3.3. Purification de l'extrait acétate d'éthyle (AE)	159
1.3.3.1. Purification sur colonne de polyamide	159
1.3.3.2. Purification par CLHP préparative	161
Mise au point des conditions chromatographiques par CLHP analytique	161
1.3.3.2.1. Profils chromatographiques analytiques des fractions G3 et G6 et transposition à l'échelle préparative	162
1.3.3.3. Détermination structurale des composés isolés	169
1.3.3.3.1. Composé G2-4	169
1.3.3.3.2. Composé G3-2	171
1.3.3.3.3. Composé G6-1	173
1.3.3.3.4. Composé G10-1	175

1.3.4.	Purification de l'extrait n-butanol (BU).....	177
1.3.4.1.	Purification par chromatographie Flash	177
1.3.4.1.1.	Bilan des fractions obtenues	177
1.3.4.1.2.	Analyse des fractions par CCM.....	178
1.3.4.1.3.	Analyse des fractions par CLHP	180
1.3.4.1.3.1.	Purification des fractions A3, A5 et A6.....	181
1.3.4.1.3.1.1.	Fraction A3	181
1.3.4.1.3.1.2.	Fraction A5 et A6	184
1.3.4.1.4.	Détermination de structure des cinq composés	186
1.3.4.1.4.1.	Le composé F15	186
1.3.4.1.4.3.	Composé B18.....	190
1.3.4.1.4.4.	Composé B27	192
1.3.4.1.4.5.	Composé C10.....	194
1.3.5.	Purification de la phase aqueuse 2 (AFPA2)	196
1.3.5.1.	Purification par chromatographie Flash	196
1.3.5.1.1.	Rappel du schéma de purification	196
1.3.5.1.2.	Bilan des fractions obtenues	197
1.3.5.2.	Détermination de structure des trois composés.....	200
1.3.5.2.1.	Composé D2	200
1.3.5.2.1.1.	Composé D2-1	200
1.3.5.2.1.2.	Composé D2-2	202
1.3.5.2.2.	Composé D11	204
1.3.6.	Etude par CLHP analytique des extraits d' <i>Afzelia africana</i>	207
1.3.6.1.	Mises au point des conditions chromatographiques	207
1.3.6.2.	Résultats	210
1.3.6.2.1.	Identification des 13 molécules isolées de l'extrait méthanolique d' <i>Afzelia africana</i>	210
1.3.6.2.2.	Etude par Chromatographie sur Couche Mince	213
1.3.6.2.3.	Chromatogramme de l'extrait aqueux obtenu par décoction	215
1.3.7.	Fractionnement bioguidé de l'extrait aqueux d' <i>Afzelia africana</i>	218
1.3.7.1.	Résultats	220
1.3.7.1.1.	Masses et rendements des fractions obtenues.....	220
1.3.7.1.2.	Analyse des fractions F1 à F6.....	220

1.3.7.1.2.1. CLHP des fractions obtenues	221
1.3.7.1.2.2. Chromatogrammes et identification des molécules dans l'extrait de départ et les six fractions.....	223
1.3.7.1.2.3. Purification du composé FY31 de $T_r \approx 31$ min	227
1.3.7.1.2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des 6 fractions	230
Matériel et méthode	230
CHAPITRE VI : ESSAIS PRELIMINAIRES DE FORMULATION D'UN GEL A BASE DE L'EXTRAIT AQUEUX D'AFZELIA AFRICANA	236
1. Essai de formulation préliminaire d'un gel topique à base de l'extrait aqueux d' <i>Afzelia africana</i>	237
1.1. Préparation du lyophilisat d' <i>Afzelia africana</i>	238
2. Essais préliminaires de formulation d'un hydrogel à base d' <i>Afzelia africana</i>	239
2.1. Définition générale des gels	239
2.2. Formulations d'hydrogels d' <i>Afzelia africana</i>	240
2.2.1. Rationnel de formulation	240
2.3. Démarche de formulation : choix des principales composantes de formulation.....	240
2.3.1. Choix des agents gélifiants	240
2.3.2. Choix des co-solvants hydrophiles	241
2.4. Préparation des gels blancs.....	241
2.5. Résultats.....	242
2.5.1. Essais de solubilisation du lyophilisat dans l'eau purifiée et dans les co-solvants	243
2.5.2. Préparation de gel à 2% de lyophilisat d' <i>Afzelia africana</i>	244
2.5.2.1. Formule qualitative et quantitative pour 100 g de gel	244
2.5.2.2. Justification de la formule	244
2.5.2.3. Protocole de fabrication du gel actif	245
2.5.2.4. Analyses macroscopiques du gel obtenu.....	249
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	251
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	257
ANNEXES.....	266

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Département de l'Ouest Cameroun et chef-lieu	12
Tableau 2 : Récapitulatif de quelques enquêtes ethnobotaniques menées au Cameroun	37
Tableau 3 : Présentation des plantes récoltées dans 5 départements de l'Ouest Cameroun de 2009 à 2016.....	39
Tableau 4: Rendement des extractions	127
Tableau 5: Résultats des tests antipaludiques.....	132
Tableau 6 : CMI, Potentialisation d'antibiotiques et RTE des différents extraits.....	137
Tableau 7 : Tableau récapitulatif des tests anti-inflammatoires.....	142
Tableau 8: Récapitulatif avec CI_{50} et ratio anti-inflamatoire	144
Tableau 9 : Récapitulatif des tests pharmacologiques effectués sur les 4 plantes sélectionnées.....	147
Tableau 10 : Systèmes de solvants utilisés pour les CCM	150
Tableau 11 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K des deux composés présents dans G2-4, la sinensine, et l'isosinensine [111,112].	170
Tableau 12 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé G3-2, l'alcool <i>trans</i> -dihydrodéhydroconiférylique [113].	172
Tableau 13 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé G6-1, la 2R, 3R- <i>trans</i> -aromadendrine 7-O- β -D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate) [114].	174
Tableau 14 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé G10-1, le dihydrokaempférol [115].	176
Tableau 15 : Récapitulatif des quantités et des rendements des différentes fractions issues de la chromatographie Flash de l'extrait n-butanol.	178
Tableau 16 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé F15 lyoniside[116]	187
Tableau 17 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé F18, Nudiposide [116].....	189
Tableau 18 : Données RMN 1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé B18, Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside [117]	191

Tableau 19 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé B27, Dunnianoside D[118]	193
Tableau 20 : Données RMN ^1H à 600 MHz, ^{13}C à 150 MHz dans le CD_3OD à 300K du composé C10, Ssioriside [119].....	195
Tableau 21 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D2-1, Taxifoline-7-O- β -glucoside[120].....	201
Tableau 22 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D2-2, Catéchine[121].....	203
Tableau 23 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D11, Lutéoline[122].....	205
Tableau 24 : Récapitulatif des composés isolés, par classe chimique	206
Tableau 25 : Tableau des composés isolés de l'extrait MeOH d'A.africana	211
Tableau 26 : Tableau des composés isolés de l'extrait aqueux d'A.africana.....	217
Tableau 27 : Fractions et rendements obtenus	220
Tableau 28 : Tableau des molécules isolées précédemment avec leur temps de rétention dans les nouvelles conditions.	222
Tableau 29 : Activité anti-inflammatoire des fractions obtenues.....	231
Tableau 30: Activité anti-inflammatoire de quelques molécules.....	232
Tableau 31 : Tests comparatifs d'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux	238

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte du Cameroun représentant les différentes régions[12]	7
Figure 2 : Carte de la région de l'Ouest Cameroun [20]	11
Figure 3 : Salle de consultation d'un tradipraticien à Bahouoc (département du Ndé). Photo prise par Foutse	33
Figure 4 : Tronc, feuilles et fruits de <i>Terminalia avicennioides</i>	94
Figure 5 : Acide arjunolique, α -amyrine, 2,3,23-trihydroxyolean-12-ène	95
Figure 6 : Punicalagine et acide flavogallonique	96
Figure 7 : Feuilles et fruits de <i>Crossopterix febrifuga</i>	102
Figure 8 : Ester méthylique du shanzhizide	103
Figure 9 : Acide bétulinique	103
Figure 10 : Isovitexine	104
Figure 11 : Vitexine	104
Figure 12 : Isoorientine	104
Figure 13 : Orientine	104
Figure 14 : Quercétine 3- rutinoside, Quercétine 4'- glucoside),	105
Figure 15 : Crossoptines A (R1 = H) et B (R1 = OH) R ² = tétrasaccharidique de masse 573 ou pentasaccharide de masse 705	106
Figure 16 : Acide 3 β -(α -L-rhamnopyranosyloxy)-28-O-(β -D-glucopyranosyl) urs- 12,20(30)-diene-27,28-dioïque	107
Figure 17 : Acide 3 β -O-(β -D-glucopyranosyl)-28-O-(β -D-glucopyranosylester)-20(30)- ene quinovique	107
Figure 18 : feuilles, fruits et écorces de <i>Vitellaria paradoxa</i>	112
Figure 19 : Feuilles, fruits et écorce de tronc d' <i>Afzelia africana</i>	119
Figure 20 : Protocole de préparation des extraits pour les tests de screening	125
Figure 21 : Extraction par décoction	126
Figure 22 : Matériel végétal d' <i>Afzelia africana</i> . Photo prise par Foutse	149
Figure 23 : Appareil Combiflash automatisé	152
Figure 24: CCM des extraits: eau, méthanol et méthanol/eau d' <i>Afzelia africana</i>	156
Figure 25: préparation de l'extrait MeOH d' <i>A. africana</i>	157
Figure 26 : Extraction Liquide-liquide de l'extrait MeOH d' <i>Afzelia africana</i>	158

Figure 27 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle d' <i>Afzelia africana</i>	160
Figure 28 : Chromatogramme de la fraction G3	162
Figure 29 : Chromatogramme de la fraction (G3) obtenue par chromatographie préparative	164
Figure 30: Chromatogramme de G3-1 à 254 nm	164
Figure 31 : Chromatogramme de G3-2 à 254 nm	165
Figure 32 : Chromatogramme de la fraction G6 à 254 nm	165
Figure 33 : Chromatogramme de la fraction G6 obtenue par chromatographie préparative	166
Figure 34 : Chromatogramme de la fraction G6-1 obtenue par chromatographie préparative.	167
Figure 35 : Chromatogramme de G6-1	167
Figure 36 : Schéma récapitulatif des composés isolés à partir de l'extrait acétate d'éthyle d' <i>A. africana</i>	168
Figure 37: Spectre de masse du composé G2-4	169
Figure 38: sinensine et isosinensine	170
Figure 39 : alcool trans dihydrodéhydroconiférylique, G3-2.....	171
Figure 40: Spectre de masse du composé G6-1	173
Figure 41: 2R, 3R-trans-aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate) G6-1	174
Figure 42 : dihydrokaempférol G10-1.....	175
Figure 43 : CCM des fractions dans le système (1)	179
Figure 44 : Chromatogramme de la fraction A3 à 254 nm	181
Figure 45 : Profil chromatographique de la fraction A3 obtenue par CLHP préparative	183
Figure 46 : Chromatogramme des sous fractions F15, F 18 à 254nm	184
Figure 47 : Schéma de purification des composés F15, F18, B18, B27 et C10.....	185
Figure 48 : Spectre de masse du composé F15	186
Figure 49 : le lyoniside, F15.....	186
Figure 50 : le nudiposide, F18.....	188
Figure 51 : Spectre de masse du composé B18	190

Figure 52 : Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O- rhamnoside, B18.....	190
Figure 53 : Spectre de masse du composé, B27	192
Figure 54 : le Dunnianoside D, B27	192
Figure 55 : Spectre de masse du composé C10	194
Figure 56 : Ssioriside, C10	194
Figure 57 : Schéma de purification de la phase aqueuse AFPA2	199
Figure 58 : Spectre de masse du composé D2-1	200
Figure 59 : Taxifoline-7-O- β -glucoside, D2-1	201
Figure 60 : Catéchine, D2-2	202
Figure 61 : Spectre de masse du composé D11	204
Figure 62 : Lutéoline, D11	204
Figure 63 : Chromatogramme de l'extrait MeOH avec les composés isolés	212
Figure 64 : Contrôle des composés isolés de l'extrait MeOH.....	214
Figure 65 : Chromatogramme de l'extrait aqueux avec les composés isolés.....	216
Figure 66 : Chromatographie flash de l'extrait aqueux.....	219
Figure 67 : Shéma du fractionnement de l'extrait aqueux d' <i>A. africana</i>	219
Figure 68 : chromatogramme de l'extrait aqueux de départ	223
Figure 69 : Chromatogramme de la fraction 2.	223
Figure 70 : Chromatogramme de la fraction 3	224
Figure 71 : Chromatogramme de la fraction 4	225
Figure 72 : Chromatogramme de la F5.....	226
Figure 73 : Chromatogramme de la fraction 6	227
Figure 74 : Chromatogramme de F4 à 254 nm	228
Figure 75 : Chromatogramme de F4 en CLHP préparative	229
Figure 76: Balance infrarouge Ohaus type MB45 pour mesure de l'humidité résiduelle	239
Figure 77 : Agitateur Heidolph RZR 2041 munie d'une pale en forme d'ancre	242
Figure 78 : Gels blancs de Natrozol : (a) à 1- 1,5 et (b) 2% à 2,5 et 3% (m/m)	242
Figure 79 : Gels blanc de CARBOPOL 980 à 0,5 et 1% (m/m)	243
Figure 80 : Aspect de la poudre du lyophilisat d' <i>Afzelia africana</i>	243

Figure 81 : Essais de solubilisation du lyophilisat d' <i>Afzelia africana</i> dans l'eau, le glycérol, le propylène glycol (PG) et l'éthanol 96°(EtOH).	244
Figure 82 : Solution sirupeuse du lyophilisat d' <i>Afzelia africana</i> dans le glycérol	246
Figure 83 : Hydratation du Carbopol 980 sous agitation modérée.....	246
Figure 84 : Aspect du lyophilisat/glycérol + suspension de Carbopol 980 hydraté au début du mélange des deux parties	247
Figure 85 : Aspect final du gel d' <i>Afzelia africana</i> à 2%	247
Figure 86 : Synoptique de fabrication du gel d' <i>A. africana</i>	248
Figure 87 : Gel conditionné en pots et étiqueté.....	249
Figure 88 : Cycle du paludisme.....	266

LISTE DES ABREVIATIONS

ACT : Artemisinin Combination Therapy

AE : Acétate d'éthyle

BU : n-Butanol

CCCP : Carbonyl Cyanine m-ChloroPhenyl hydrazone

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CHL : Chloramphénicol

CI₅₀ : Concentration inhibitrice 50%

CIPCRE : Cercle International pour la Promotion et la Création

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COSY : Correlation spectroscopy

DMSO : DiMethylSulfOxyde

DO₆₀₀ : Densité Optique à 600 nm

EtOH : éthanol

HMBC : Heteronuclear Multiple Bound Correlation

HMQC : Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

HNC : Herbier National du Cameroun

IL : Interleukine

IMPM : Institut de Recherche Médicale et d'étude des Plantes Médicinales

LPS : Lipopolysaccharide

MDR : Multi Drug Resistance

MeOH : Méthanol

MRSA : Staphylococcus Aureus Multiresistantes à la Méthicilline

MTA : Médicament Traditionnel Amélioré

NFX : Norfloxacin

NO : Nitrate d'Oxygène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PEG : Polyéthylène glycol

PPB : Potassium Phosphate Buffer

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RTE : Real Time Efflux/ Efflux en Temps Réel

SDN : Société Des Nations

SM : Spectrométrie de Masse

TLC : Thin layer chromatography

TNF alpha : Tumour Necrosing Factor

PUBLICATIONS

1. ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE DANS LE DEPARTEMENT DU NDE (CAMEROUN)

Yimta Foutse, T. Mbenkum., F. Nguimatsia., A Pengue

Annales de pharmacie ; Journal of Pharmaceutical, Biomedical and Natural Sciences. Volume 4 N°1 Avril 2012.

2. ETHNOBOTANICAL SURVEY OF MEDECINAL PLANTS USED IN THE WESTERN REGION OF CAMEROON FOR THE TREATMENT OF VARIOUS INFECTIOUS DISEASES.

Yimta Foutse¹, Valérie Mahiou-Leddet², François Nguimatsia ¹, Tobias Mbenkum ¹, Denis Wouessidjewe^{1,3}, Evelyne Ollivier², Béatrice Baghdikian^{2*}

The Journal of Alternative and Complementary Medicine.

INTRODUCTION

Même au 21^{ème} siècle, l'accès aux soins de santé primaires reste problématique dans les pays en voie de développement. La croissance démographique et l'inaccessibilité aux médicaments modernes, dans ces pays, contribuent à l'augmentation de la demande pour les médicaments traditionnels à base de plantes [1,2]. Ainsi, 80% de ces populations ont recours à la médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes médicinales pour soigner les affections courantes selon l'organisation mondiale de la santé [3].

En Afrique, cette demande est non seulement la résultante de l'inaccessibilité à des équipements modernes et des coûts élevés de la médecine conventionnelle, mais également de la médecine traditionnelle qui est très souvent considérée comme une médecine de première intention. Bien plus, l'utilisation en thérapeutique des plantes médicinales dans nos traditions et nos mœurs nous incite à recenser ce savoir grâce aux enquêtes ethnobotaniques. Ce travail ethnobotanique s'inscrit plus largement dans les objectifs de l'ethnopharmacologie.

L'ethnopharmacologie se définit comme étant l'étude scientifique pluridisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives, ou diagnostiques [4]. Elle s'appuie essentiellement sur l'ethnobotanique qui a permis de recenser la façon dont les êtres humains utilisent les plantes dans les soins de santé primaire.

Au Cameroun, les populations urbaines et rurales se tournent de plus en plus vers l'utilisation des plantes médicinales pour résoudre leurs problèmes de santé [5], particulièrement dans les communautés pauvres vivant dans les régions reculées et qui n'ont pas facilement accès aux hôpitaux conventionnels. L'utilisation des plantes reflète également la diversité culturelle des groupes ethniques dans le pays et par conséquent dans la région de l'Ouest Cameroun. La pratique de la médecine traditionnelle dans cette région remonte à nos ancêtres qui croyaient aux cultes des crânes et aux esprits [6,7]. Cette médecine traditionnelle, essentiellement basée sur une utilisation massive et prioritaire des ressources végétales, joue un rôle très important. Ces importantes

ressources végétales ne sont pas toutes étudiées et peuvent être valorisées en adoptant une démarche ethnopharmacologique afin de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'en rechercher les principes actifs.

Dans l'objectif de la valorisation de ces connaissances traditionnelles, des enquêtes ethnobotaniques ont été menées dans certaines régions du Cameroun, afin de recenser les plantes utilisées en médecine traditionnelle. C'est ainsi que Mapi, en 1988, a recensé 62 plantes appartenant à 34 familles dans le Mounjo [8]. Mbemkum *et al*, en 1990 dans la région du Sud-Ouest Cameroun, a mentionné 50 plantes qui étaient utilisées à des fins thérapeutiques et nutritives par la population de cette région [9]. Toujours dans le même sens, l'Université des Montagnes, dans une démarche de recherche et développement sur les médicaments traditionnels améliorés, a initié des enquêtes ethnobotaniques à travers différents projets de recherche menés par des étudiants. Ces enquêtes généralistes ont commencé dans la région de l'Ouest Cameroun, en 2009 et se poursuivent aujourd'hui. L'étude que nous avons réalisée en 2009, a permis de recenser dans le département du Ndé, 167 plantes et de nombreuses recettes de préparations à base de plantes. Chagam en 2012, dans le département du Haut-Nkam, a recensé 137 plantes. Dongmo en 2013 a recensé 150 espèces végétales dans la Ménoua. Nzoussa a récolté en 2014, dans le Noun, 107 plantes et enfin dans les Haut-plateaux par Kouam en 2016, 106 plantes ayant des intérêts en médecine traditionnelle ont été recensées. Les travaux se sont poursuivis en 2017 dans trois autres départements, notamment dans les Bamoutos, le Nkoug-Khi et la Mifi.

Disposant de cette banque de données, l'objectif pour nous, a été d'initier un processus de valorisation dans ce présent travail.

Les plantes issues de ces différentes enquêtes, utilisées en médecine traditionnelle dans l'Ouest Cameroun, seront étudiées du point de vue phytochimique, pharmacologique. Pour aborder ce travail, nous commencerons, dans un premier temps, par faire une synthèse des enquêtes effectuées dans 4 régions de l'Ouest Cameroun (le Ndé, le Haut-Nkam, la Ménoua, le Noun); ensuite, nous sélectionnerons des plantes d'intérêt pour lesquelles les études phytochimiques sont encore peu nombreuses et évaluerons les activités pharmacologiques en fonction des pathologies courantes dans la région, afin

de confirmer ou infirmer leur utilisation en médecine traditionnelle. Enfin, nous envisagerons la possibilité d'une valorisation pratique et concrète d'un extrait obtenu à partir de plante qui présentera les activités pharmacologiques les plus prometteuses.

Ce travail sera développé en 6 chapitres :

- Les chapitres I et II présenteront de manière générale, le Cameroun, la région de l'ouest ainsi que les informations sur l'ethnopharmacologie et la médecine traditionnelle.
- Les chapitres III, IV, V et VI présenteront nos travaux personnels répartis en ces points :
 - Enquêtes ethnobotaniques effectuées dans les régions du Ndé, Haut-kam, Menoua, Noun et choix de 4 plantes d'intérêt (III) ; tests pharmacologiques préliminaires des plantes choisies (IV)
 - Etude phytochimique et pharmacologique d'*Azelia africana* (V)
 - Essais de formulation d'un gel à base d'*Azelia africana* (VI)

CHAPITRE I : LE CAMEROUN

1. Généralités

Situé en Afrique centrale, le Cameroun est encore appelé « Afrique en miniature » [10] du fait de sa diversité sur plusieurs plans. Pour présenter ce pays à forte diversité sociale, linguistique et culturelle, d'un point de vue historique, nous dirons qu'il a d'abord été une colonie allemande (Kamerun jusqu'en 1916), avant d'être ensuite partagé par la Société Des Nations (SDN) entre la France et l'Angleterre aux lendemains de la Première Guerre Mondiale. C'est ainsi qu'on a pu distinguer le Cameroun Oriental (sous mandat de la France) et le Cameroun Occidental (sous mandat de l'Angleterre). Le vent des indépendances souffle en 1960 et le Cameroun devient alors une République fédérale, tenant ainsi compte de la répartition coloniale.

Le Cameroun est étendu en latitude. Il est riverain du bassin du Congo au sud, il atteint au nord les rives sahéliennes du lac Tchad. Bordé par l'océan Atlantique, le pays est dominé par l'un des massifs montagneux les plus hauts d'Afrique (Le mont Cameroun). L'ensemble constitue une très grande variété de domaines bio-géographiques sur lesquels nous reviendrons dans ce chapitre.

1.1. Situation géographique

Le Cameroun est un pays d'Afrique Centrale situé au fond du Golfe de Guinée, un peu au-dessus de l'Equateur. Il s'étend sur une superficie d'environ 475 650 kilomètres carrés. Il présente une forme triangulaire qui s'étire au sud jusqu'au lac Tchad sur près de 1 200 km tandis que la base s'étale d'ouest en est sur 800 km. Il possède au Sud-ouest une frontière maritime de 420 km le long de l'océan Atlantique. Le Cameroun est limité à l'ouest par le Nigéria, au sud par le Congo, le Gabon et la Guinée Équatoriale, à l'est par la République Centrafricaine, et au nord-est par le Tchad. Enfin, au sommet du triangle, au nord, il est coiffé par le lac Tchad. [11]

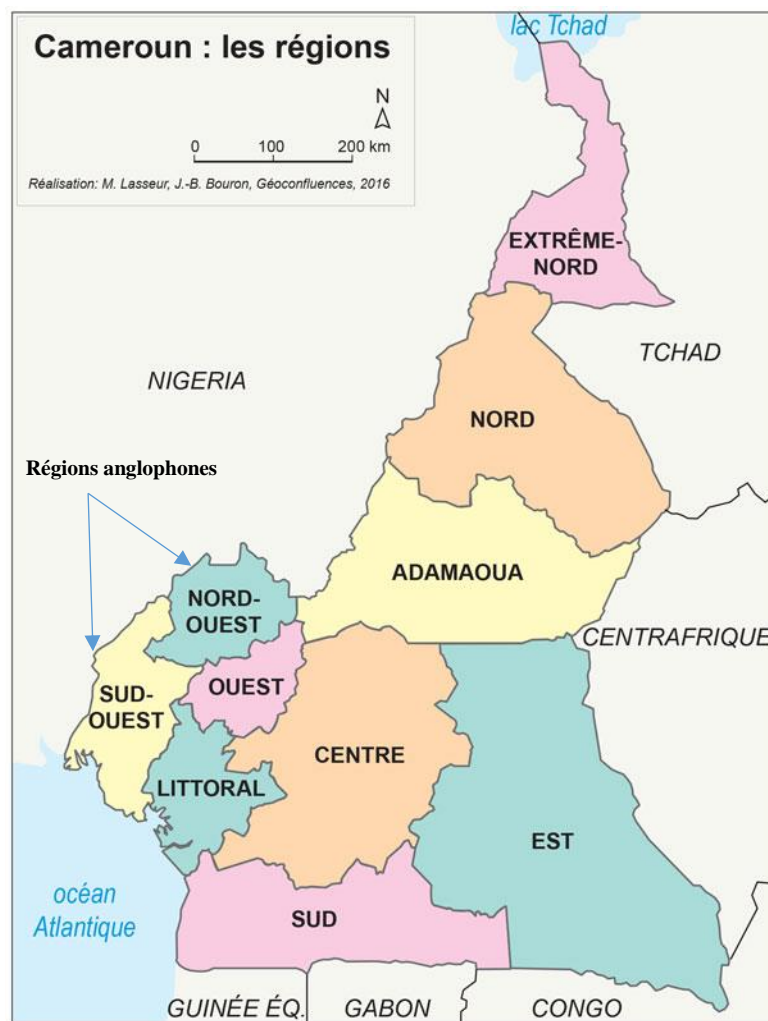


Figure 1 : Carte du Cameroun représentant les différentes régions[12]

Le Cameroun se situe entre la bordure méridionale du Sahara et la limite septentrionale de la forêt équatoriale du bassin du Congo au sud. L'ouest du pays est dominé par les Hauts-Plateaux, et comprend le massif le plus haut de toute l'Afrique de l'Ouest : le mont Cameroun, qui culmine à 4 070 m. C'est le neuvième sommet du continent africain. L'est du pays est recouvert dans sa très grande majorité d'une forêt équatoriale encore bien conservée.

1.2. Le Cameroun administratif

Suite au décret du 12 novembre 2008, les provinces que comptait le Cameroun jusqu'à sont transformées en régions. Il y a aujourd'hui 10 régions (l'Adamaoua, le Centre, l'Est, l'Extrême-Nord, le Littoral, le Nord, l'Ouest, le Sud, le Nord - Ouest et le Sud-Ouest) (figure 1) gérées par des gouverneurs. Les régions sont à leur tour divisées en 58 départements avec à la tête un préfet. Les départements sont divisés en arrondissements.

La République fédérale du Cameroun avait adopté le français et l'anglais, deux langues héritées de la colonisation comme les langues officielles d'égale valeur. Ainsi, le français et l'anglais deviennent les langues de l'administration, de l'enseignement, des médias, de la justice, des relations internationales, etc. Par ce choix, le jeune État recherchait le moyen idéal pour éviter la naissance d'une crise d'origine linguistique. En effet, environ 250 langues locales [10,13] et 300 langues locales selon Anchimbe [14] partagent l'écologie linguistique du Cameroun. L'unité aurait donc été une équation difficile à résoudre si le choix avait porté sur une langue d'origine locale.

Sur le terrain, les deux langues officielles sont pratiquées dans toutes les activités rattachées à la vie de l'État. Pour en citer quelques manifestations, citons la production des actes officiels en français et en anglais, l'enseignement bilingue (français-anglais), l'appartenance sur le plan international à l'Organisation Internationale de la Francophonie et au Commonwealth. La promotion du bilinguisme est renforcée par l'enseignement du français aux étudiants anglophones et l'anglais aux francophones.

1.3. Le relief [15]

Le relief camerounais peut être schématiquement divisé en quatre grands ensembles, organisés autour de la dorsale camerounaise, ensemble de hauts sommets disposés en ligne, et courant d'est en ouest, qui culminent au Mont Cameroun, au bord de l'océan Atlantique.

- **Les basses terres du Nord** sont globalement divisées en deux par les retombées des Monts Mandara.
- **La dorsale** proprement dite s'organise du nord au sud par : les Monts Mandara, le plateau de l'Adamaoua, les hauts plateaux de l'Ouest.
- **Le plateau sud-camerounais**, d'une altitude comprise entre 650 et 900 mètres, couvre environ le tiers de la superficie du pays de l'est au sud, encadrant une étroite plaine littorale.
- **Les plaines côtières**, d'une profondeur maximale de 360 km, qui s'étendent le long de la frontière nigériane au nord-ouest.

1.4. Le climat [16]

Le Cameroun a un climat tropical, semi-aride dans le nord, humide et pluvieux dans le reste du pays. Au nord le climat est chaud et semi-aride, avec une saison des pluies de mi-mai à septembre, tandis que le reste de l'année est caractérisé par la chaleur, souvent écrasante, et la sécheresse. Le Cameroun est séparé en deux grands domaines climatiques : le domaine équatorial et subéquatorial au sud, et le domaine tropical au nord.

- Le domaine équatorial :

Il est caractérisé par des précipitations abondantes et surtout par une saison sèche de décembre-janvier, puis juillet-août, avec des variantes locales. La température varie peu, et se situe entre 25 et 35°C.

- Le domaine tropical :

Du sud au nord, en fonction de la latitude avec des modulations dues au relief, le climat tropical est de trois types très différents :

- un climat tropical humide d'altitude, autour du massif de l'Adamaoua : la pluviométrie est abondante mais la saison sèche est marquée (d'octobre à janvier à Ngaoundéré) et la température est modérée toute l'année (20°C).
- un climat tropical soudanien, autour de la cuvette de la Bénoué : les températures sont élevées, les pluies restent abondantes mais la saison sèche s'allonge (6 mois dans la même station). Les précipitations se font beaucoup plus irrégulières (tornades violentes et brèves, effets des vents desséchants comme l'harmattan).
- un climat tropical soudano-sahélien au nord : les températures sont élevées mais avec une grande irrégularité des pluies, la saison sèche (8 mois à Maroua) est supérieure à la saison des pluies.

1.5. La population

Le Cameroun est un mélange de plusieurs ethnies avec quelques grands ensembles (sémites, hamités, bantous, semi-bantous et soudanais) et de nombreux métissages. Sa population est estimée en 2017 à 23 248 000 habitants. L'histoire nous enseigne que la population s'installe suite à la migration des personnes pour des raisons mercantiles. C'est ce qui a favorisé à notre avis la diversité susmentionnée. Le Cameroun compte toujours un peu plus de femmes (50,6 %) que d'hommes (49,4 %). La moitié de la population a moins

de 17,7 ans et le poids démographique des moins de 15 ans se situe à 43,6 %. Les personnes âgées de plus de 60 ans ne représentent que 5,5 % de la population totale. Malgré une démographie urbaine en constante croissance, une majorité (de 55 % à 65 % selon les estimations) de la population demeure en zone rurale [17].

Les régions les plus densément peuplées (plus de 100 habitants par km²) sont les provinces de l'Ouest, du Littoral, de l'Extrême-Nord et du Nord-Ouest. Par contre, les provinces de l'Adamoua, de l'Est et du Sud sont très faiblement peuplées (moins de 15 habitants par km²).

1.6. La religion

Avant la colonisation, les peuples du Cameroun partageaient des croyances animistes caractérisées par des mythes et des rites variés mais ayant comme points communs le culte des ancêtres. Il y eut, à partir du XIX^e siècle, une véritable compétition entre missionnaires catholiques et protestants pour évangéliser les camerounais. En pratique, beaucoup de personnes associent aujourd'hui une foi chrétienne et d'anciennes croyances autochtones [18]. L'une des conséquences de la reconnaissance du Cameroun comme un État laïque par la constitution révisée en 1996 est la naissance de toutes sortes d'Églises, notamment évangéliques, inspirées de modèles américains ou africains. La population est estimée à 55% de chrétiens (la population catholique est estimée à 35 %, la population protestante est estimée à 20 %), la population musulmane est estimée à 20%. Les fidèles musulmans sont répartis principalement dans l'Adamaoua, le Nord, l'Extrême Nord et à l'Ouest (peuple bamoun), mais également dans la capitale Yaoundé.

1.7. La culture

Le Cameroun se distingue en Afrique, au Sud du Sahara, par sa diversité, laquelle est observable également sur le plan culturel. L'hétérogénéité des peuples a ainsi des incidences sur les plans linguistique, vestimentaire, culinaire et artistique, pour ne citer que ces domaines-là. Cette diversité permet donc le développement d'une créativité d'une grande richesse dans tous les domaines artistiques. Les 250 groupes ethniques estimés du Cameroun forment cinq grandes régions culturelles :

- les peuples des plateaux de l'ouest, incluant les Bamilékés, Bamoun et d'autres groupes au nord-ouest,

La région de l'Ouest, qui se compose de 8 départements, couvre une superficie de 13 892 km². Elle abritait plus de 1 720 047 habitants en 2005. Sa densité est de 123,8 habitants au km², faisant d'elle l'une des régions les plus densément peuplées du Cameroun, quasiment à égalité avec la région Littoral. La région comprend 36 arrondissements et 41 communes. Ci-dessous, les départements et chefs-lieux de la région de l'Ouest Cameroun.

Tableau 1 : Département de l'Ouest Cameroun et chef-lieu

Département	Chef-lieu
Bamboutos	Mbouda
Haut-Nkam	Bafang
Hauts-Plateaux	Baham
Koung-Khi	Bandjoun
Menoua	Dschang
Mifi	Bafoussam
Ndé	Bangangté
Noun	Foumban

2.2. Géographie [21]

Le relief de l'Ouest Cameroun est montagneux avec de nombreux plateaux et plaines. L'Ouest est une région agréable avec ses collines (Dzemto, Dschang), ses montagnes qui offrent des sites naturels qui valent le détour (chutes de la Mifi, d'Ekoum, massif du Manengouba, lacs Nfou, Baleng).

2.3. Le climat [21]

Le climat est tropical soudanien avec 2 grandes saisons : une saison sèche qui va d'octobre-novembre à mars-avril, une saison des pluies qui commence en mars-avril jusqu'en octobre-novembre. Les températures oscillent entre 15°C et 30°C en moyenne, avec une forte variation journalière : la température moyenne est de 25°C. L'Ouest-Cameroun a fondé sa richesse sur la production agro-pastorale notamment celle du café arabica particulièrement adapté aux hautes vallées de la province et regroupant

Bandjoun, Bafoussam, Bamendjou, Bamougoum, Bayangam, Bangou et Baham. On y pratique deux types de production agricole :

- une production vivrière (pommes de terre, tomates, carottes, haricots verts, maïs...)
- une production de rentes : café arabica et robusta et thé.

2.4. Groupe ethnique [22]

Les Bamiléké représentent un groupe socioculturel qui occupe les hautes terres de l'Ouest. Les bamiléké sont issus de plusieurs migrations en provenance du nord et dont l'origine pouvait remonter à l'Égypte ancienne. Les langues du grassfield présentent plusieurs similitudes avec la langue de l'Égypte pharaonique. Une chefferie Bamiléké est une sorte de microétat centralisé autour d'un roi puissant jouissant d'un pouvoir de droit semi-divin. Les toitures des chefferies bamilékés sont toujours de structure pyramidale. Les chefferies, autrement appelées « groupements », couvrent un territoire rassemblant parfois plusieurs villages et quelques dizaines à plusieurs centaines de milliers d'individus.

2.5. Présentation du milieu d'étude : Ndé, Haut-Nkam, Menoua et Noun

2.5.1. Le département du Ndé

2.5.1.1. Situation géographique [23]

Le département du Ndé fait partie de la Région de l'Ouest. Il est limitrophe au Nord et à l'Ouest avec les départements : Haut-Nkam, Hauts-Plateaux, Koung-Khi, Noun, mais également au Sud-Ouest au département du Nkam dans la Région du Littoral et au Sud Est au département du Mbam-et-Inoubou dans la Région du Centre, le Ndé couvre une superficie de 1 524 km² pour une population d'environ 123 661 habitants (2001). Le département a connu un très grand exode rural. Au plan administratif, il est constitué de 3 arrondissements : Bangangté, Bazou, Tonga et du district de Bassamba, le tout pour un ensemble de 13 Chefferies/Villages: Bangoulap, Balengou, Bazou, Bangangté, Batchingou, Bangwa, Bahouc, Bamena, Bangang-fokam, Bakong, Bamaha, Bagnoun et Badoumga.

2.5.1.2. Relief, sol et climat

Le relief du Ndé est très complexe. Le sol présente des roches métamorphiques surtout du granit sur la haute vallée du Ndé (autour de Bazou), la syénite vers Bangoulap et la migmatite vers Bangwa. On note également la présence des sols ferrallitiques rouges peu profonds (1 à 2 m) comportant des cuirasses et des matériaux grossiers sur la partie superficielle des sols hydromorphes. Septembre et Octobre sont les mois les plus pluvieux, mais les précipitations atteignent leur paroxysme surtout en octobre, décembre, janvier et février se caractérisent par une diminution importante des pluies.

2.5.2. Département du Haut-Nkam

2.5.2.1. Situation géographique [24]

Le département du Haut-Nkam fait partie des huit unités administratives que compte la région de l'Ouest. Il a une superficie de 958 km² couvrant ainsi 6,9 % de l'étendue de cette région, il est peuplé d'environ 250 000 habitants, son chef-lieu est Bafang, il est composé de sept communes : Bafang, Bakou, Bana, Bandja, Banka, Banwa et Kekem. Le Haut-Nkam est, de façon administrative, subdivisé en six arrondissements : Bafang, Bakou, Bana, Bandja, Banka et Kekem. Il est situé au Sud-Ouest de la région de l'Ouest,

il est à 230 km de Douala, la métropole économique du Cameroun, et à 60 km de Bafoussam.

2.5.2.2. Relief, sol et climat

Le département est caractérisé par deux zones de relief particulièrement accidenté : zones de basses altitudes et les zones de moyennes altitudes. Dans ces zones, les sols sont très pauvres. On distingue deux types de climat :

- Climat chaud et humide : dans les zones de basse altitude, les précipitations varient entre 145 et 190 jours par an.
- Climat de montagne : frais et humide dans les zones d'altitude moyenne, avec un niveau de précipitation situé autour de 130 jours par an.

Ce climat se caractérise par une longue saison pluvieuse qui va de mi-mars à mi-novembre (8 mois) accompagnée d'une courte saison des pluies qui va de mi-novembre à mi-mars (4 mois).

2.5.3. Département de la Menoua

2.5.3.1. Situation géographique

Le département de la Menoua se trouve dans la province de l'Ouest. Il est situé à la limite occidentale de la province de l'Ouest, Dschang son chef-lieu est à 60 km de Bafoussam, à 300 km de Douala et à 400 km de Yaoundé. Elle a une superficie de 1 380 km², avec une population d'environ 372 244 habitants en 2001 dont une densité de 270 habitants par km². Elle comprend 6 arrondissements que sont : Dschang, Fokoué, Fongo-Tongo, Nkong-Ni, Penka-Michel, Santchou. Elle est découpée en 7 communes : Dschang urbaine, Dschang rurale, Fokoué, Fongo-Tongo, Nkon-Ni, Penka-Michel et Santchou.

Les différents villages de la Menoua sont : Bamendou, Balessing, Bansa, Baleveng, Bafou, Fokoué, Fomepea, Fotomena, Fantsa-Toula, Santchou, Fossong-Wetcheng, Fotetsa, Fongo-Ndeng, Foto, Fongo-Tongo, Fossong-Elelem, Dschang.

2.5.3.2. Relief, sol et climat

La Menoua est une région montagneuse qui est bâtie dans la zone dite de basse altitude, son relief est constitué de savane d'origine anthropique et forêts montagnardes (principalement d'eucalyptus). Les sols ferrallitiques dominant mais, à mesure qu'on

monte en altitude vers les sommets du Mont Bamboutous, on rencontre aussi des andosols. La Menoua a un climat du type mousson équatorial ou Camerounien, la saison pluvieuse s'étend de mars à octobre, la pluviométrie est moyenne.

2.5.4. Département du Noun

2.5.4.1. Situation géographique [7]

Le département du Noun a une superficie de 7687 km². Dans son organisation interne, le département du Noun, dont le Chef-lieu est Foumban, compte depuis le mois d'Avril 2007, 9 arrondissements que sont Foumban, Foumbot, Magba, Malatouen, Massangam, Koutaba, Njimom, Kouoptamo et Bangourain.

Il partage ses frontières avec d'autres départements de la région :

- Mayo Banyo et Donga Mantoung au Nord,
- Le Bui, Ngoketudja, Bamboutos, Mifi, Khoug-khi à l'Ouest,
- Le Mbam et Nkim à l'Est,
- Le Ndé au Sud.

2.5.4.2. Relief, sol et climat

Le Noun est un espace naturel particulier. Sa morphologie s'articule autour de trois grandes zones : une zone d'effondrement constituée par la plaine Tikar du Nord à l'Est, une zone de plateau central, ou plateau Bamoun, dominant la plaine Tikar par un escarpement de 800 m de dénivelé, et enfin une zone de plaine très fertile marquée par une manifestation volcanique éteinte ayant donné naissance, du Nord-ouest au Sud, à des massifs énormes dont le Mont Kogham, Mont Mbam et le Mont Mbètpit qui comporte deux lacs de cratère.

La pédologie est caractérisée par trois types de sols : les sols hydromorphes organiques qui proviennent de l'obstruction des rivières et de leurs affluents par des coulées ou des amas de cendres, les sols ferralitiques moyennement dénaturés et les sols peu évolués qui proviennent de la jeunesse de certains sols volcaniques qui ont une tendance ferralitique très nette.

Le climat qui règne dans le Noun est de type soudano-guinéen à deux saisons :

- Une courte saison sèche de Novembre à Mars, d'une température moyenne de 30 à 35°C.

- Une longue saison de pluies de Mars à Octobre, d'une température moyenne de 27 à 28°C.

Conclusion

Le Cameroun est une « Afrique en miniature » qui comprend 10 régions. Son relief est constitué d'un ensemble de hauts sommets disposés en ligne d'est en ouest. Il a un climat tropical, semi-aride dans le nord, humide et pluvieux dans le reste du pays. Il comprend plusieurs ethnies avec des cultures variées. L'Ouest Cameroun comprend 8 départements et est peuplé des ethnies Bamilékés et Bamoun. Cette région est très attachée à sa culture et à ses traditions qui sont toujours respectées, aussi nous aborderons dans le chapitre 2 la médecine traditionnelle dans l'Ouest Cameroun qui peut être étudié en appliquant une démarche ethnopharmacologique.

CHAPITRE II : ETHNOPHARMACOLOGIE ET MEDECINE TRADITIONNELLE

1. Ethnopharmacologie

1.1. Définition

Le terme d'ethnopharmacologie provient du grec "ethnos" et "pharmakon" qui signifient respectivement "peuple" et "remède". L'ethnopharmacologie consiste donc en l'étude des remèdes ancestraux dans les différentes sociétés. Elle met en relation les savoirs des médecines traditionnelles et les connaissances scientifiques actuelles. La dénomination « ethnopharmacologie » est relativement récente. En effet, ce terme a été défini en 1983 comme « l'exploration interdisciplinaire des agents biologiquement actifs traditionnellement employés ou observés par l'homme » [25].

Selon Fleurentin et Dos Santos en 1991, l'ethnopharmacologie apparaît comme : « l'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale, et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants, à des fins thérapeutiques, curatives, préventives, ou diagnostiques ».

1.2. Objectifs

L'ethnopharmacologie a pour objectif de valider scientifiquement l'utilisation des remèdes traditionnels en particulier celles des plantes médicinales. Elle permet aussi le recensement et la compréhension des savoirs sur les pratiques d'une communauté par rapport à une maladie. L'ethnopharmacologie pourrait ainsi contribuer à l'avènement de solutions alternatives durables aux problèmes sanitaires des populations des pays en voie de développement.

1.3. Approche pluridisciplinaire

L'ethnopharmacologie établit une relation entre les savoirs ancestraux des médecines traditionnelles et les connaissances scientifiques actuelles. Elle est située à l'interface des sciences de l'homme, comme, l'histoire, la linguistique, l'ethnologie et les sciences de la vie, comme la pharmacognosie, la botanique, la pharmacologie, la toxicologie et la clinique. L'ethnopharmacologie respecte la tradition et s'ouvre résolument à l'innovation. Plusieurs acteurs interviennent :

1.3.1. Les historiens

Les historiens interviennent dans l'exploitation de certains documents historiques sur les savoirs anciens, hérités des traditions savantes (médecine grecque, ayurvédique, chinoise ...). Le travail de l'historien nécessite souvent l'aide d'un traducteur ou d'un linguiste.

1.3.2. Les ethnologues

L'ethnologie est une science humaine qui relève de l'anthropologie et dont l'objet est l'étude explicative et comparative de l'ensemble des caractères sociaux et culturels des groupes humains. L'ethnologie joue un rôle central pour recueillir les savoirs vernaculaires et permet de comprendre le sens de l'usage thérapeutique dans son contexte socio-culturel, avant d'entreprendre une recherche pharmacologique.

1.3.3. Les linguistes

La linguistique est une discipline qui apporte sa contribution grâce à l'étude de la structure du langage. Elle est indispensable lorsque l'on s'adresse à des pays où le nombre de dialectes est très élevé, comme en Afrique par exemple.

1.3.4. Les ethnobotanistes

L'ethnobotanique, contraction de « l'ethnologie » et de « la botanique », est l'étude des relations entre les plantes et l'homme. L'ethnobotaniste identifie de façon précise les plantes utilisées par les tradipraticiens en utilisant la dénomination scientifique universelle binomiale. Cela permet d'éviter toute confusion de plantes.

1.3.5. Les phytochimistes

Les phytochimistes interviennent lors de différentes étapes de l'étude des plantes médicinales et de la recherche des principes actifs. Ils réalisent l'étude analytique (qualitative et quantitative) de la drogue végétale, la purification du (des) principe(s) actif(s) et leur détermination structurale. A travers le fractionnement bioguidé, la mise en évidence des principes actifs est effectuée, ce qui permet d'évaluer l'activité biologique à chaque niveau de purification.

1.3.6. Les pharmacologues et toxicologues

Un pharmacologue est chargé d'étudier et de comprendre les interactions entre les molécules ayant une activité biologique et un organisme vivant. Les pharmacologues étudient également, à l'aide de tests pharmacologiques *in vitro* et *in vivo*, l'activité des extraits bruts, des fractions purifiées et des molécules isolées par le phytochimiste. Il aborde enfin l'étude du mécanisme d'action des principes actifs. Quant aux toxicologues, ils étudient la toxicité *in vitro* et *in vivo* des différents extraits et des molécules pures.

1.3.7. Les cliniciens

Les cliniciens participent au maintien et à l'amélioration de la santé des individus ou au traitement des individus blessés, malades, souffrant d'un handicap ou d'une infirmité en leur prodiguant des soins. Les études cliniques contribuent à la mise au point des Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA). A titre d'exemple, nous pouvons citer le Mali avec la production d'un sirop, antipaludique à base d' *Argemone mexicana* [26]. Elles participent également à la mise au point de médicaments allopathiques contenant une ou plusieurs molécules. Un exemple de molécule issue d'une démarche ethnopharmacologique est celui de l'artémisinine isolée de l'armoise annuelle, *Artemisia annua*. Cette molécule a permis de proposer un dérivé d'hémisynthèse, l'arthéméther, dans le traitement du paludisme. Aujourd'hui, les combinaisons d'antipaludiques (ACT) sont préconisées par l'OMS dans les cas de résistance observés lors d'un traitement antipaludique. Un exemple d'ACT est la combinaison d'Artesunate et Luméfantrine (Coartem[®]) ou Artesunate et amodiaquine (Coarsucam[®]).

1.4. Méthodologie [27]

La méthodologie utilisée en ethnopharmacologie comporte trois étapes importantes:

- un travail de terrain qui consiste à mener des enquêtes auprès des tradipraticiens afin de recenser l'usage des plantes médicinales ou des produits d'origine naturelle avec les pratiques médicales qui les accompagnent.
- un travail de laboratoire qui est la recherche de molécules naturelles responsables d'une activité biologique et la validation de l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels.

- un travail de retour vers le terrain qui comprend des programmes de valorisation de la recherche par la promotion de médicaments à base de plantes efficaces et dépourvues de toxicité (Médicaments Traditionnels Améliorés, MTA) et par la publication dans des revues scientifiques des résultats des enquêtes de terrain et des travaux de laboratoire.

1.4.1. Le travail de terrain

Les enquêtes de terrain sont effectuées auprès des agents de santé traditionnels ayant une connaissance sur les plantes médicinales. Ils sont représentés par les guérisseurs, les herboristes, les sages-femmes, les rebouteux, les prêtres et chamanes. La transmission des connaissances s'appuie sur un apprentissage et dépend du caractère oral ou écrit de la tradition. Il est possible de cibler l'enquête sur une indication thérapeutique donnée (enquêtes ciblées), par exemple rechercher des plantes utilisées pour traiter la typhoïde ou la « fièvre », ou de recenser toutes les utilisations que les agents de santé traditionnels font des plantes à leur disposition (enquêtes généralistes).

1.4.2. Méthode de collecte des données [9]

- **Evolution sur le terrain**

C'est une méthode très souvent employée avec certains tradipraticiens. Ici le tradipraticien nous amène dans différentes zones végétatives, parfois avec un guide. Au cours de la marche, ce dernier nous montre les plantes à vertus thérapeutiques que nous récoltons et conservons. Avec cette méthode, nous avons l'avantage de voir les plantes dans leur état naturel, de les filmer, ce qui minimise les risques de confusion pendant l'identification.

- **Etude comparative**

Cette méthode est employée afin de comparer l'utilisation des plantes dans différents villages. Elle consiste à récolter les plantes utilisées par les tradipraticiens d'un village, ensuite à les présenter à d'autres tradipraticiens dans d'autres villages, ceci dans le but d'obtenir le maximum d'informations sur ces dernières.

- **Interview à partir d'une liste préétablie**

Elle consiste à présenter une liste de plantes aux tradipraticiens qui nous donnent alors des informations sur chacune de ces plantes.

1.4.3. Informations recueillies pendant la collecte

1.4.3.1. Noms vernaculaires

Plusieurs noms vernaculaires, voisins ou distincts en fonction du groupe ethnique et du groupe linguistique considéré, peuvent être attribués à une plante donnée. Inversement, un nom vernaculaire peut désigner plusieurs plantes.

1.4.3.2. Drogue végétale

La drogue végétale est une plante ou partie de plante entière ou coupées, séchée ou fraîche qui contient les substances actives et qui est utilisée dans un but thérapeutique. La drogue végétale peut être constituée de tous les organes végétaux (racine, feuille, écorce de tronc, rameau, fruit, sève ...). Pour une même plante, les indications thérapeutiques peuvent être différentes selon les organes utilisés. Il existe en effet, pour une plante donnée, une variabilité qualitative et quantitative selon les différents organes, d'où l'importance de préciser la drogue végétale utilisée.

1.4.3.3. Période et lieu de récolte

La période de récolte et le lieu de récolte sont des paramètres qui influent sur la variabilité qualitative et quantitative de la composition chimique des plantes. Ces variations peuvent être saisonnières ou journalières. Selon le biotope de la plante, certains paramètres peuvent évoluer. De ce fait, il est donc très important de noter précisément ces paramètres car ils pourraient influencer les résultats de l'étude phytochimique et pharmacologique.

1.4.3.4. Mode de séchage et de conservation

La composition chimique et les propriétés pharmacologiques des plantes peuvent varier selon leur état frais ou sec, et dans ce dernier cas, peuvent varier selon la méthode de séchage utilisée [séchage naturel (au soleil, à l'ombre) ou séchage à l'aide d'un four à micro-onde par exemple]. Les conditions de conservation des plantes (luminosité,

température, hygrométrie) peuvent également être à l'origine de modifications de la composition chimique de la drogue végétale.

1.4.3.5. Informations sur les recettes traditionnelles

Les enquêtes ethnobotaniques doivent contenir tous les informations sur le mode de préparation des médicaments traditionnels et l'acte thérapeutique.

1.4.3.6. Mode de préparation et voies d'administration

Pour les préparations traditionnelles destinées à un usage par voie orale, l'eau est le principal solvant utilisé. A partir des plantes fraîches ou sèches, coupées ou broyées, les principes actifs solubles dans l'eau sont extraits, soit par macération, infusion ou par décoction. Certaines préparations sont aussi obtenues après macération en milieu alcoolique, c'est l'exemple de la macération dans du vin de palme ou du whisky. Dans ce cas, on obtient alors une alcoolature (si la drogue est fraîche) ou une teinture (si drogue est sèche). Après décantation et filtration, ces préparations sont souvent bues, mais elles peuvent également être utilisées par inhalation, sous forme de bains de vapeur ou de fumigations. L'utilisation de la poudre de plantes est également courante. Dans ce cas, les plantes sont séchées et pulvérisées puis administrées avec un peu de liquide ou incorporées dans une huile ou les aliments du malade. Pour la voie locale, l'utilisation de pommades ou de cataplasmes est très fréquente dans les affections localisées de la peau. Ils sont obtenus à partir de sucs végétaux, poudres, macérés ou décoctés mélangés avec différents excipients (huile de palmiste par exemple). Les bains et frictions accompagnent souvent le traitement par voie orale. Dans ce cas, le malade se frictionne avec une partie de la décoction prise en boisson. Il existe aussi des préparations laxatives à utiliser sous forme de lavement anorectal [27]

Association de plantes, de minéraux et d'animaux

Les tradipraticiens associent fréquemment les plantes médicinales entre elles et/ou avec des minéraux (exemple « sel gemme ») et animaux (exemple « petite sillure »). Les substances actives de ces associations peuvent en effet agir en synergie. Certains de ces

additifs sont parfois intégrés aux préparations pour leur représentation symbolique ou magico-religieuse dans le système de santé étudié.

1.4.4. Le travail de laboratoire

Ce travail consiste en la recherche de substances naturelles responsables d'une activité biologique et la validation de l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels à travers les essais pharmacologiques. Ce travail commence après la sélection des plantes.

1.4.4.1. Choix des plantes à tester

Les enquêtes ethnobotaniques permettent d'établir une liste de plantes utilisées dans une pathologie donnée. Le choix des plantes à tester repose sur cette sélection, complété par des données chimiotaxonomiques et par une étude bibliographique qui fait le point sur les connaissances scientifiques de chaque espèce.

1.4.4.2. La préparation des extraits végétaux

Plusieurs extraits bruts sont préparés à partir de la drogue végétale sélectionnée. Il s'agit de préparer un extrait en restant le plus près possible de la tradition, c'est-à-dire de respecter la préparation des tradipraticiens. Le cas idéal serait de pouvoir systématiquement récupérer l'extrait traditionnel au cours de l'enquête de terrain. Généralement, on ne se limite pas à l'étude pharmacologique d'un seul extrait préparé selon le mode de préparation traditionnel correspondant très souvent à une décoction. Il est en effet fréquent d'épuiser la drogue végétale, à l'aide de l'utilisation successive de solvants de polarité croissante. Les extraits sont couramment préparés par percolation avec les solvants suivants : dichlorométhane, éthanol, méthanol etc... Lors de la réalisation d'un extrait, les étapes peuvent générer une grande variabilité au niveau de la composition chimique avec un impact au niveau de l'activité pharmacologique.

1.4.4.3. Les solvants

Le choix du solvant est important lors de la préparation des extraits car l'activité pharmacologique d'une infusion, d'une macération aqueuse ou d'un extrait hydroalcoolique sera différente. Cette différence est liée à la variabilité des molécules extraites en fonction de la nature et de la polarité du solvant d'extraction. Les solvants peuvent également modifier la structure des principes actifs par des réactions d'hydrolyse ou d'estérification, ou entraîner des phénomènes d'isomérisation. Par

exemple, le pH, la dureté et la pureté de l'eau sont très différents entre l'eau du laboratoire et celle utilisée par les tradipraticiens. D'autre part, l'eau dans les pays en voie de développement est souvent contaminée par des bactéries ou des parasites, pouvant favoriser la biotransformation des molécules.

1.4.4.4. L'évaluation de l'activité pharmacologique des extraits

L'évaluation de l'activité pharmacologique consiste à mettre en évidence un effet, à quantifier cet effet par l'étude des relations dose/réponse et réponse/temps, à rechercher les effets secondaires et enfin à étudier le mécanisme d'action.

- **Etude pharmacologique préliminaire**

Les extraits préparés sont soumis à des tests pharmacologiques préliminaires *in vitro* ou *in vivo* dans le but de vérifier leur utilisation en médecine traditionnelle.

- **Evaluation de la toxicité**

Classiquement, la première étape dans la recherche d'une activité pharmacologique débute par l'étude de la toxicité et en particulier par l'évaluation de la DL₅₀, dose qui provoque la mortalité de 50 % des cellules/animaux. L'évaluation de la cytotoxicité et de la génotoxicité est également réalisée à ce stade.

1.4.4.5. L'étude phytochimique et fractionnement bioguidé

L'étude phytochimique des extraits actifs de la plante est réalisée avec plusieurs objectifs :

- l'analyse qualitative de la fraction active de la plante et de la formulation utilisée en médecine traditionnelle.
- le dosage des principes actifs identifiés.
- l'étude chimique du végétal lui-même au cours de son stade végétatif, de manière à optimiser la période de récolte et le procédé d'extraction pour obtenir une activité optimale.

La caractérisation chimique des extraits actifs est réalisée par : chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie liquide haute performance (CLHP), chromatographie en phase gazeuse (CPG). A partir d'un extrait actif, des fractionnements successifs sont réalisés. A chaque étape de purification, l'évaluation pharmacologique permet de retenir les fractions actives jusqu'à l'isolement des molécules pures.

1.4.4.6. Le retour vers le terrain

Le retour vers le terrain est la dernière étape de la recherche ethnopharmacologique. Ce retour de l'information est très important pour les tradipraticiens qui se sentiront utiles dans le développement de la science par exemple en recevant les résultats d'un travail de recherche.

2. Médecine traditionnelle

2.1. Généralités

La médecine traditionnelle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales [3].

2.2. Médecine traditionnelle en Afrique [3]

En Afrique, tout comme sur les autres continents, la pratique de la médecine traditionnelle est une réalité très courante, car plus de 80 % de la population a recours aux remèdes issus de savoirs médicaux locaux, qu'elles trouvent elles-mêmes ou chez les agents de santé traditionnels. Cependant, malgré leur efficacité, ces produits ne sont pas toujours bien connus du point de vue pharmacologique et ne font pas souvent l'objet d'études appropriées et approfondies en vue de la production de médicaments traditionnels améliorés ou des médicaments à base de plantes.

Par ailleurs, l'exercice de la médecine traditionnelle est rarement réglementé, et la collaboration entre cette dernière et la médecine dite moderne paraît difficile alors qu'elles devraient s'enrichir mutuellement. Au Ghana, au Mali, au Nigéria et en Zambie, le traitement de première intention pour 60% des enfants atteints de forte fièvre due au paludisme fait appel aux plantes médicinales administrées à domicile. L'OMS estime que, dans plusieurs pays d'Afrique, la plupart des accouchements sont pratiqués par des accoucheuses traditionnelles.

Au Burkina Faso, la médecine traditionnelle est légalement reconnue, car pouvant contribuer de façon efficiente à la résolution des problèmes de santé des populations.

Le médecin traditionnel a une autorisation du Ministère en charge de la santé publique ce qui définit le tradipraticien comme une personne reconnue par la communauté, dans

laquelle elle vit. Il peut dispenser des soins de santé en utilisant les méthodes et des produits traditionnels d'origine végétale, animale ou minérale [28].

Dans la pratique médicale, on distingue : la médecine folklorique qui est une médecine propre à une ethnie, le « Juju » qui implique les actes supranaturels et magiques, les rites qui imposent les actes de sacrifices nécessaires pour l'intervention de la force divine dans un traitement particulier, les incantations qui s'accompagnent des paroles sous forme de poème, les herboristes qui font des traitements spécialement à base de plantes, et enfin les masseurs qui, la plupart du temps, sont des spécialistes en massage dans les cas de fractures [29].

2.3. Etiologies de maladies en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, la maladie est la manifestation à travers le malade d'une inconduite située à l'extérieur de ce dernier. Le malade subit une volonté qui s'impose à lui et qui peut être somatique ou psychique. La maladie est le signe d'une faute échappant à la conscience présente de l'acteur social qu'est le malade et, en conséquence, à sa culpabilité. Le diagnostic s'effectue par divination à travers les rêves, soit de l'inspiration éveillée, le médium ou le devin reçoit et retransmet un message. Le diagnostic consiste essentiellement à déterminer la cause (moyen ou mécanisme, empirique ou non), l'engagement de la maladie, à repérer l'agent, le détenteur de la force efficace qui l'a produite et à en situer l'origine. Sont incluses dans les causes de maladies : la mauvaise gestion des sentiments, les excès sexuels qui appauvrissent l'énergie ancestrale, ainsi bien-sûr que les facteurs héréditaires, les parasites, les épidémies et les substances toxiques.

La médecine moderne comme la médecine traditionnelle a pour but de guérir et de prévenir les maladies. En médecine traditionnelle, l'origine organique de certaines maladies est connue malgré l'ignorance des mécanismes d'action [30]. La conception de la cause des maladies diffère dans les deux cas.

En médecine traditionnelle, les causes de maladies peuvent être classées en 5 catégories :

- **Causes bénignes** : ce sont les maladies causées par des agents microbiens qui entrent dans l'organisme par la nourriture, la boisson, la peau etc.
- **Causes psychologiques** : ce sont les maladies qui apparaissent quand la pensée n'est pas en harmonie avec les lois de la nature.
- **Les influences astrales** : il est connu dans les sciences occultes que les radiations d'agents cosmiques comme le soleil, la lune et les planètes ont une influence sur l'homme et ces actions peuvent être mauvaises ou bonnes.
- **Les causes spirituelles** : les pensées et désirs mauvais, les machinations par des ennemis et les messages maléfiqes qui sont véhiculés par télépathie sont des causes spirituelles des maladies.
- **Les causes ésotériques** : les maladies sont causées par des âmes, ou causées par des actes des personnes déjà décédés.

2.4. Médecine traditionnelle au Cameroun

En 2002, l'OMS a publié les directives visant à aider les pays comme le Cameroun à réglementer la médecine traditionnelle [3]. Ces directives sont en train d'être mises en exécution par les autorités camerounaises. Ceux-ci établissent aussi une loi cadre permettant d'intégrer dans le système de soins de santé, des pratiques traditionnelles. L'implication de la médecine traditionnelle au Cameroun s'illustre par une parfaite confiance aux médecins traditionnels communément appelés guérisseurs ou tradipraticiens. La médecine traditionnelle fait partie intégrante de notre culture et de nos mœurs au Cameroun. Plusieurs traditions médicinales co-existent : celle des pygmées, celle des bamilékés, celles du Nord du Cameroun.

Cet aspect n'étant pas formalisé dans le domaine de la santé publique, le ministère de la santé publique du Cameroun propose que, pour exercer dans ce domaine par exemple, le tradipraticien devra avoir un certificat délivré par le ministère de la Santé publique mais cette réglementation s'exécute lentement et difficilement. [31]

En définitive, la médecine traditionnelle reste encore mal organisée au Cameroun malgré la création des organismes de recherche à l'exemple du Cercle International pour

la Promotion de la Création (CIPCRE), Institut de recherche Médicale et d'étude des Plantes Médicinales (IMPM) dont le but est de contribuer à la préservation et à la valorisation des plantes médicinales. L'art du tradipraticien reste toujours un secret. Mais depuis une dizaine d'années, certains sont conscients de l'importance d'enseigner même à des personnes extérieures à la famille, de transmettre ce savoir précieux. Ainsi, des personnes réalisent des enquêtes ethnobotaniques pour collecter ce savoir et le noter par écrit avant qu'il disparaisse.

Au Cameroun, de nombreuses personnes s'improvisent tradipraticiens. Ce qui fait sombrer la profession dans les méandres du charlatanisme. C'est l'exemple de quelqu'un qui ne jure que par les écorces, les racines et les feuilles de la forêt. « *Je me soigne presque toujours avec les plantes. En fait, j'aime plus la médecine traditionnelle que la médecine moderne. Ce qui m'intéresse dans nos hôpitaux modernes, ce sont les examens médicaux. Je préfère faire les examens à l'hôpital et me faire soigner à l'indigène* », affirme-t-il. Aussi, pour lui, les bons tradipraticiens se différencient des mauvais, tout simplement par le nombre de maladies que ce dernier soigne. « *En principe, les gens sont spécialisés pour soigner des maladies précises. Quand quelqu'un dit déjà qu'il est apte à soigner plus de deux ou trois maladies, il faut le prendre avec des pincettes. Il faut également éviter ceux qui font de la publicité, car les vrais tradipraticiens sont calmes. Ce sont les personnes qu'il a guéri qui font sa publicité* », affirme-t-il. A ce jour, nous avons encore du mal à mettre de l'ordre dans la profession faute d'avoir un projet de loi bien réglementé et applicable.

La médecine traditionnelle est pratiquée par des guérisseurs, marabouts, féticheurs, mais l'appellation commune ici est celle de guérisseur [32]. Cette médecine est fondée sur des connaissances empiriques, les croyances religieuses et l'esprit des ancêtres. N'importe qui peut se déclarer à tout moment tradipraticien car, il n'existe aucune réglementation concernant l'exercice de la médecine traditionnelle. Parmi les grands problèmes rencontrés, figure la difficulté de définir l'appellation tradipraticien parce qu'ici, on trouve des praticiens de toute sorte : le vendeur de décoctions et d'écorces en bordure de route, le charlatan au fond du quartier, qui en même temps est médium, le naturopathe qui va jusqu'à se faire appeler "dokta", qui signifie docteur, sans oublier

ceux qui maîtrisent réellement le secret des plantes et qui soignent sans publicité [33]. Les tradipraticiens sont parfois traités avec moins de rigueur que les médecins modernes, alors que le ministère de la santé publique ne reconnaît pas encore l'exercice de la médecine traditionnelle [34].

2.4.1. Médecine traditionnelle et mode d'acquisition dans la région de l'ouest Cameroun [23]

La médecine traditionnelle dans l'ouest Cameroun est pratiquée par toutes les générations. La croyance aux esprits et le culte des ancêtres occupent une place de choix. La consolidation de l'animisme se fait en dépit de l'influence du christianisme. Les chrétiens de l'ouest n'hésitent pas à faire des sacrifices sur les crânes. A l'ouest, et dans certains départements, la sorcellerie est souvent impersonnelle, on peut être sorcier et faire du mal à autrui sans le savoir. Tout événement est une machination magique en quelque sorte, aucune maladie n'est simple, elle provient de la main de quelqu'un qui nous envie ou même qui nous déteste. L'héritage du don de soigner se fait de père en fils. Ils conduisent leurs consultations sur la base de certains objets tels que les corries, les coquilles d'escargots (figure 4), les balais, les crânes d'animaux (corne de buffle), les pierres précieuses etc ... Les incantations sont souvent accompagnées de bougies, d'autres font de l'exorcisme en utilisant comme support : la bible, les idoles, une statue de la Vierge Marie ou de Jésus sans oublier les talismans confectionnés grâce à l'orientation donnée par les esprits pendant le repos ou les moments de concentration. Cette médecine est axée sur le traitement à base des feuilles, écorces, racines, souvent accompagnée d'incantations et rites. Ces pratiques sont absentes chez les herboristes.

Dans tous les départements de l'ouest, les plantes médicinales sont retrouvées sur les marchés. On trouve des vendeurs ambulants qui vantent les qualités de tel ou tel médicament. Parallèlement, les jours de marché, des foules se pressent autour de ceux qui essaient de leur inculquer la notion du respect des plantes, leurs vertus et leurs pouvoirs supranaturels. C'est autant de facteurs qui entraînent une croyance exagérée à tout ce qui touche à la médecine populaire.

Le grand problème en médecine traditionnelle dans cette région, c'est le manque de collaboration. Personne ne connaît la réputation de l'autre car ils ne partagent pas

spontanément leur savoir. Chacun veille à garder scrupuleusement le secret des soins thérapeutiques qu'il dispense. Ils sont peu nombreux à faire partie d'associations des tradipraticiens pour des raisons évoquées plus haut. Chaque guérisseur dispose d'un lieu sacré, lieu où poussent spontanément certaines plantes qu'ils disent « envoyées des esprits ». Certains rituels et traitements sont effectués dans ces endroits comportant quelquefois des canaris ou des calebasses mises en terre. Pendant notre enquête ethnobotanique sur le terrain, nous leur avons fait savoir notre désir de coopération. Certains semblaient intéressés et d'autres réticents car, disaient-ils, « *certaines vous ont précédé et n'ont plus jamais fait signe de vie* ». Pour eux, ils leur ont volé leurs richesses. Par contre d'autres aimeraient bien valoriser la médecine traditionnelle étant donné le coût élevé des médicaments chimiques occidentaux.

Cette étude nous permet de mettre en évidence la diversité de la pratique médicale traditionnelle. L'acquisition de la pratique de la médecine traditionnelle peut se faire par héritage, par échanges ou par révélation.

2.4.1.1. Acquisition par héritage [6]

En général, le parent transmet progressivement à l'enfant la totalité ou une partie de ses connaissances. Ce dernier l'accompagne à la cueillette des plantes, apprend leur nom, écoute les renseignements très précis sur leurs propriétés médicales, assiste aux séances de soins, aide son père ou sa mère et enfin, exerce progressivement le métier de guérisseur sous la conduite de celui-ci, mais il ne l'exercera avec tout son droit qu'à la mort de son père. Ce mode est la forme la plus courante de transmission, car nous avons plusieurs fois entendu dire « *c'est mon père, c'est ma mère qui m'a laissé ce médicament* ».

Dans certaines formes d'héritages, l'héritier est choisi par le père et ensuite une certaine notion d'échange car le père exige de son fils apprenti, des gestes d'amour filial d'obéissance et de dévouement au métier. C'est ainsi qu'un guérisseur affirme : « *Mes frères ne s'intéressaient pas aux médicaments de notre père. Par contre, moi, chaque fois qu'il m'invitait à aller en brousse pour chercher tel ou tel arbre, je prêtais mon concours pour y aller. Ainsi donc, parce que j'étais obéissant envers lui, mon père m'avait laissé tous ces médicaments* » Ce mode d'apprentissage se rencontre également

chez d'autres peuples tel que les pygmés Baka du Cameroun, où il y avait une « école de pharmacie-médecine » qui consistait à apprendre aux pygmées, l'art de guérir par le biais des cérémonies d'initiation de « Jengi » et de « Kosé », qui sont les esprits de la forêt qui apprennent à garder le secret, à vaincre la peur [35].

2.4.1.2. Acquisition par échange

Ce pouvoir s'acquiert moyennant un échange de connaissance ou une offrande pour les non initiés, entre le guérisseur et celui qui est en quête d'un pouvoir quelconque relatif à la pratique de la médecine. L'acquisition prend des formes différentes selon la puissance recherchée. Parfois, c'est un guérisseur qui veut élargir son pouvoir (connaissances) ou un profane quelconque. Par exemple, un malade après avoir suivi avec succès un traitement chez un guérisseur demande à ce dernier de lui transmettre le pouvoir. D'autres profanes aimeraient qu'on leur transmette le pouvoir de soigner. C'est ainsi que le guérisseur va faire la cueillette avec lui tout en lui indiquant les propriétés médicales de chaque plante, les préparations du médicament avec tous les détails thérapeutiques.

2.4.1.3. Acquisition par révélation

Dans ce groupe, l'acquisition des recettes se fait pendant le sommeil à travers les rêves. Par exemple, un membre défunt de la famille peut apparaître et transmettre les détails pour la composition d'une recette médicale.



Figure 3 : Salle de consultation d'un tradipraticien à Bahouoc (département du Ndé).
Photo prise par Foutse

Conclusion :

La médecine traditionnelle au Cameroun est encore mal organisée mais des actions sont mises en place pour un meilleur fonctionnement. A l'Ouest Cameroun, cette médecine est pratiquée par toutes les générations. Ces savoirs transmis oralement et depuis de longues années méritent d'être valorisés. Le chapitre III présentera plusieurs enquêtes ethnobotaniques réalisées au Cameroun et en particulier dans la région de l'Ouest.

CHAPITRE III: ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE

1. Enquêtes ethnobotaniques antérieures

Les documents relatifs à l'utilisation des plantes médicinales du Cameroun sont très peu nombreux. On peut noter les travaux de Mapi en 1988 dans le Moungo, ceux de Mbenkum et Ducan en 1989 dans la région du sud-ouest et dans le Noun et enfin celle organisée par l'Organisation de l'Union Africaine (OUA) lors d'un passage au Cameroun en 1996. Il s'agissait là d'enquêtes généralistes. Par ailleurs, plusieurs enquêtes ciblées ont été effectuées. C'est le cas, par exemple, dans l'ouest Cameroun, de l'enquête ethnobotanique réalisée sur des plantes utilisées dans le traitement de l'infertilité féminine dans la localité de Baham et Fossong-wentcheng (Dschang) respectivement en 2011 et 2012 par Telefo *et al.* D'autres enquêtes sur des activités ciblées ont été réalisées dans d'autres régions, par exemple l'évaluation des activités anticancéreuses de quelques plantes utilisées dans le département de la Vina (Adamaoua-Cameroun) par Tagne pour sa thèse de doctorat soutenue et publiée en 2016 et beaucoup d'autres enquêtes sur les plantes médicinales à propriétés antibactériennes. Certaines enquêtes ciblées et orientées ont été effectuées dans plusieurs marchés du pays. Par exemple, dans la région du littoral, plusieurs travaux de valorisation des plantes médicinales ont été effectués à Douala par Dibong en 2011, Mpondo en 2012 et Ladoh en 2016 sur les plantes médicinales vendues sur le marché. Un récapitulatif de ces travaux est présenté dans le tableau 2 ci après :

Tableau 2 : Récapitulatif de quelques enquêtes ethnobotaniques menées au Cameroun

Auteurs	Type d'enquête	Lieu d'enquête	Année
Mapi	Généraliste	Mungo	1988
Mbenkum et Ducan	Généraliste	Sud-ouest et Noun	1989
Adjanohoun <i>et al</i>	Généraliste	Route yaoundé- sud-est	1996
Telefo <i>et al</i>	Ciblée	Fossong- Wentcheng (Dschang)	2011- 2012
Tagne <i>et al</i>	Ciblée	Vina (Adamaoua- cameroun)	2016

2. Etudes ethnobotaniques réalisées par l'Université des Montagnes de Bangangté

2.1.1. Constat et historique

L'Ouest Cameroun est une région où les populations utilisent les plantes médicinales en première intention, lorsqu'une maladie s'installe. Ayant fait ce constat, l'Université des Montagnes, plus précisément les enseignants de la filière de Pharmacie, ont mis en place un axe de recherche dans ce domaine, dans le but de valoriser les plantes médicinales à travers des travaux ethnopharmacologiques, phytochimiques et toxicologiques. Les plantes médicinales de cette région faisant l'objet de ces études pourraient conduire à la production de Médicaments Traditionnels Améliorés (MTA) qui seraient moins coûteux pour les populations les plus défavorisées.

2.1.2. Enquêtes réalisées

L'Université des Montagnes, dans sa démarche de recherche et développement sur les médicaments traditionnels améliorés, a initié des enquêtes ethnobotaniques à travers les différents projets de recherche des étudiants en Pharmacie. Ces enquêtes généralistes ont été réalisées successivement dans la région de l'Ouest Cameroun. Depuis 2009, nous avons réalisé une enquête dans le Ndé qui a permis de recenser 167 plantes avec de nombreuses recettes. Nous avons co-dirigé les autres travaux d'enquêtes qui se sont réalisées dans le département du Haut-Nkam par Chagam en 2012, qui a recensé 137 plantes, par Dongmo en 2013 qui a recensé 150 espèces de plantes dans la Menoua, par Nzoussa qui a récolté, en 2014, dans le Noun, 107 plantes et enfin par Kouam en 2016 qui a recensé 106 plantes dans les Haut-plateaux, ayant des intérêts en médecine traditionnelle. La co-direction a consisté à assister les étudiants sur le terrain et à les initier à la méthodologie d'enquête.

L'enquête réalisée dans le Ndé a fait l'objet d'une publication dans les Annales de Pharmacie, de la République Démocratique du Congo (voir en annexe)

Les enquêtes ont continué dans le département des Banboutos, de la Mifi et du Nkounkhi en 2017.

Ces différentes enquêtes visent à valoriser les plantes médicinales du Cameroun en général et les plantes de l'Ouest en particulier, à travers le recueil de nombreuses recettes obtenues auprès des tradipraticiens, qui conduiront à la production de MTA, afin de rendre accessibles à toutes les populations les soins de santé.

Cette étude présentera dans une première partie, l'enquête ethnobotanique effectuée dans quatre départements de la région de l'Ouest à savoir : le Ndé, le Haut-Nkam, la Menoua et le Noun. Le récapitulatif des enquêtes de 2009 à 2016 sera présenté dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Présentation des plantes récoltées dans 5 départements de l'Ouest Cameroun de 2009 à 2016

Années des enquêtes	Département	Nombre de plantes recensées
2009	Ndé*	167
2012	Haut-Nkam**	137
2013	Menoua**	150
2014	Noun**	107
2016	Haut-Plateaux**	106

Légende :

* : Enquête que nous avons participé directement

** : Enquêtes que nous avons co-dirigées

2.1.3. Matériels et méthodes utilisés pendant l'enquête ethnobotanique

2.1.3.1. Matériel de récolte

La récolte de nos échantillons sur le terrain s'est effectuée à l'aide du matériel suivant : une machette, un sécateur, un couteau, une perche garnie d'un couteau et des étiquettes.

2.1.3.2. Matériel d'enquête

Une fiche d'enquête a été élaborée par un botaniste, le Dr Mbenkum. Cette fiche est disponible en annexe 2.

2.1.3.3. Matériel de conservation

Pour la conservation de nos échantillons, nous avons utilisé les matériaux ci-après : des papiers journaux, des étiquettes à boucle de fil, de l'alcool à 95°, des presses en bois, des sangles et des sacs en plastique.

2.1.3.4. Méthodes

2.1.3.4.1. Démarches administratives

Avant de commencer notre étude, nous avons rédigé une lettre adressée à Mr le sous-préfet de chaque département pour l'informer du projet d'enquêtes sur le terrain, ensuite, nous avons rencontré les chefs traditionnels des villages de tous les départements (Ndé, Haut-Nkam, Menoua, Noun), qui nous ont recommandé des tradipraticiens.

Dans chaque localité, nous avons rencontré des tradipraticiens qui nous ont donné des renseignements utiles sur la médecine traditionnelle, les plantes médicinales qu'ils utilisent couramment pour traiter de nombreux problèmes de santé.

2.1.3.4.2. Méthode de collecte des données

La collecte des données s'est effectuée à l'aide de la fiche d'enquête (voir annexe 1).

- **Evolution sur le terrain**

Dans chaque localité, pendant la marche dans la savane et les forêts avec le tradipraticien et notre guide, nous avons recueilli les informations sur les noms des plantes et leurs utilisations. Cet exercice comprend deux fonctions : dans un premier temps, il permet de noter l'habileté et l'expérience de nos informateurs et dans un second temps, d'identifier toutes les plantes de l'environnement. Cette technique nous permet d'obtenir le plus d'informations possibles sur les espèces végétales utilisées. Les noms des plantes ont été donnés en langage vernaculaire, ce qui a été mentionné sur la fiche d'enquête. Les spécimens pour l'identification à l'Herbier National du Cameroun (HNC) ont été collectés en utilisant les techniques standards de méthodologie de récolte proposées par Letouzey en 1970.

2.1.3.5. Méthode de récolte des échantillons

La récolte s'est faite au fur et à mesure de l'évolution sur le terrain. Nous avons récolté les plantes, que nous avons conservées en vue de l'identification ultérieure à l'Herbier National.

Les principes et techniques de récolte ont varié suivant la forme des végétaux, les méthodes de récolte que nous avons utilisées ont été décrites par Letouzey [36].

2.1.3.5.1. Récolte des grands arbres

Pour les grands arbres, nous avons coupé les feuilles à partir des branches pendantes. Nous avons sélectionné les rameaux portant les feuilles normales et / ou jeunes, des fleurs, des fruits. Toutefois ces échantillons devaient être capables de tenir dans un format de 40 x 25 cm. Nous avons détaché les feuilles surabondantes en prenant soin de les sectionner avec un sécateur au dessus de la base du limbe pour faciliter l'identification.

2.1.3.5.2. Récolte des petits arbres

Nous avons utilisé une perche garnie d'un couteau pour sélectionner ou détacher les rameaux, à partir du sol. Nous avons traité ces échantillons comme ceux des grands arbres.

2.1.3.5.3. Récolte des lianes ligneuses

Les lianes étaient facilement accessibles à partir du sol. Nous les avons coupées à l'aide d'une machette, en nous assurant que ces échantillons portaient des vrilles, crampons ou crochets.

2.1.3.5.4. Récolte des grandes plantes herbacées

Nous avons prélevé des fragments caractéristiques : les feuilles de la base de la tige, du milieu et du sommet, l'inflorescence, l'enracinement s'il était particulier (rhizomes, tubercules, bulbes). Nous avons sectionné les organes trop longs de telle sorte qu'il était possible de les reconstituer.

Dans le cas des plantes filiformes, nous avons récolté la plante entière et nous l'avons pliée en zig-zag pour la ramener à une taille capable de tenir dans un format 40 x 25cm.

Nous avons récolté les grandes fougères en entier et nous les avons pliées par torsion sur elles-mêmes.

2.1.3.5.5. Récolte des petites plantes

Nous avons récolté les plantes aquatiques, les petites plantes entières avec leurs bulbes et tubercules et nous les avons débarrassées de la terre que portaient les racines. Sur certains échantillons comme le *Voacanga africana* et *Solanum aculeastrum*, nous avons détaché les fruits pour les conserver à part, car leur présence ne permettait pas de presser la plante pour la conservation.

A chaque échantillon récolté, nous avons attribué un numéro qui était en général un chiffre suivi d'une lettre de l'alphabet. Nous avons noté le lieu précis de récolte, la date de récolte, le numéro de récolte.

Exemple : 1a = *Euphorbia hirta*

Nom de la plante	Numéro de la plante	Lieu de récolte	Date de récolte	Numéro de récolte
<i>Euphorbia hirta</i>	1a	Bangangté	2009	01

2.1.3.6. Méthode de conservation des échantillons récoltés

Après la récolte des échantillons, nous les avons conservés selon les procédés ethnobotaniques utilisés à l'HNC, ceci pour faciliter l'identification. Nous avons placé les plantes récoltées entre des feuilles de papiers journaux puis nous les avons imbibées d'alcool à 95°, ensuite nous les avons pressées à l'aide de presses en bois et attachées à l'aide d'une sangle. A chaque fragment détaché d'un échantillon de plante, nous lui avons attribué le même numéro que celui de la plante elle-même. Nous avons noté les renseignements observés sur les échantillons frais pour éviter qu'ils ne soient plus visibles après conservation. Nous avons imbibé les échantillons d'alcool dans le but d'empêcher leur détérioration au cours du séchage. Nous avons conservé nos échantillons par séchage à l'abri de la lumière, dans un endroit sec.

2.1.3.7. Identification des plantes médicinales récoltées.

Nous avons, avec l'aide des botanistes, identifié nos échantillons à l'Herbier National du Cameroun. Les échantillons à déterminer ont été, soit comparés aux illustrations d'un manuel de botanique taxonomique, soit comparé à d'autres échantillons du même type déjà entièrement identifiés et stockés à l'herbier.

3. Résultats d'enquêtes

Une partie des résultats de cette enquête a fait l'objet d'une proposition d'article dans *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*.

ETHNOBOTANICAL SURVEY OF MEDECINAL PLANTS USED IN THE WESTERN REGION OF CAMEROON FOR THE TREATMENT OF VARIOUS INFECTIOUS DISEASES

Yimta Foutse¹, Valerie Mahiou-Leddet², François Nguimatsia¹, Tobias Mbenkum¹, Denis Wouessidjewe^{1,3}, Evelyne Ollivier², Béatrice Baghdikian^{2*}.

¹Université des Montagnes, Laboratory of pharmacognosy, Bangangte BP 208, (Cameroon).

² Aix-Marseille University, Laboratory of Pharmacognosy and Ethnopharmacology, UMR-MD3, Faculty of Pharmacy, 27 Bd Jean Moulin, CS 30064, 13385, Marseille cedex 5, France.

³ University of Grenoble Alpes, UFR of Pharmacy, Departement of Molecular Pharmacochemistry, UMR 5063, Bât E BP53; 3804, Grenoble cedex 9.

*Corresponding author e-mail:

Béatrice Baghdikian: Aix-Marseille University, Laboratory of Pharmacognosy and Ethnopharmacology, UMR-MD3, Faculty of Pharmacy, 27 Bd Jean Moulin, CS 30064, 13385, Marseille cedex 5, France. beatrice.baghdikian@univ-amu.fr

Full names and e-mail address of Author and co-authors of manuscript

Yimta Foutse: fylili09@gmail.com

Valerie Mahiou-Leddet: valerie.mahiou@univ-amu.fr

François Nguimatsia: nguimfran@yahoo.com

Tobias Mbenkum: ft@mbenkum.com

Denis Wouessidjewe: denis.wouessidjewe@univ-grenoble-alpes.fr

Evelyne Ollivier: evelyne.ollivier@univ-amu.fr

Béatrice Baghdikian: beatrice.baghdikian@univ-amu.fr

Abstract

Ethnopharmacological relevance:

In this paper we present the results of a comprehensive ethnobotanical survey on medicinal plants of the Western region of Cameroon, a territory located in the Central-Western portion of the country, which was specifically conducted in 4 divisions: Nde, Haut-Nkam, Menoua and Noun. This study was performed between December 2005 and August 2014 on plants used to treat various ailments especially infectious diseases.

Material and Methods

The information was obtained from traditional practitioners in different villages through interviews using structured questionnaires. Field excursions were carried out with traditional healers and herbal medicine collectors. Descriptive statistics were then used to present the data and finally informant consensus agreements were calculated.

Results

A total of 561 plant species belonging to 44 families were reported in the treatment of various ailments in the 4 division. The botanical families of *Asteraceae* and *Euphorbiaceae* were dominant with 30% and 15% respectively in the Menoua and the Ndé division. Among all of the plants collected, 134 are used to cure infectious diseases. 48.52% represent plants used for digestive ailments, followed by 35.07% used for otorhinolaryngological diseases and 16.41% for skin diseases. Leaves (55%) are the most frequently used parts, followed by the whole plant (13%). Decoction is the most cited method of preparation (51%), followed by maceration (15%). The principal route of administration is oral route (61.84%) followed by local application (36.85%) and anal route (1.32%).

Conclusion

This study is the first important ethnobotanical survey on plants used traditionally in the West Region of Cameroon. It shows the rich diversity of the medicinal plant species used and the indigenous knowledge of the traditional practitioners of this region. Among the numerous diseases treated, amoebic dysentery is the most predominant in the four divisions followed by otorhinolaryngology.

Keywords: Ethnobotanical survey, medicinal plants, traditional healers, infectious diseases, Cameroun.

1. Introduction

Medicinal plants have been required and widely used for thousands of years to treat various disorders and ailments in traditional herbal medicine systems all over the world (Din et al., 2011). The importance of traditional medicine in developing countries is due to several reasons that can be politically, economically, culturally and scientifically justified. Folk medicine should be revived in order to supplant the fields of secrecy and empiricism, and become a real science with its logic, methodology and, above all, its results. Three quarters of the world, especially rural populations, do not benefit from adequate health coverage. This is due to the high costs of generally inaccessible modern medicines. Medicinal plants are a valuable resource for most rural populations in Africa, where over 80% of the population use medicinal plants to provide health care (Jiofack *et al.*, 2010, 2009). Recent surveys in Benin, and south of the Sahara show that 85% of the population use medicinal plants as a primary treatment and most therapies involve the exploitation of active medicinal plants (Biyiti et al., 2004; Dibong et al., 2011a; Mpondo Mpondo et al., 2012; OMS, 2002).

In Cameroon, as everywhere in Africa, no one hesitates to use medicinal plants for health care, often along with modern medicine. Besides its natural biodiversity, Cameroon is characterized by a highly diverse culture with about 250 indigenous populations and many languages and customs. The country is geographically nicknamed "Africa in miniature" as, Cameroon consists of coastlines, mountains, grass plains, forests, rainforests and desert, all the geographical regions of Africa in one country. This geographical morphology contributes to the country's cultural divergence in lifestyle and traditions which also vary because of the diversity of medicinal plants (Nkwi and Socpa, 2011). WHO encourages the intensification of research and tracks those using traditional herbal treatments (OMS, 1996). A study covering traditional medicine practiced in Cameroon refers to the ethnic group of the Bagyeli Pygmies as being known by all Cameroonians to be the best healers in the country. The Bantus people consult them and ask for plants or medical care (Fondaf, 2016). Few ethnobotanical studies have been done in Cameroon. One study was done in Bagyeli by Nguimatsia in 1998 (Nguimatsia *et al.*, 1998). Other more general studies were carried out in 1996 by the Organization of the African Unity on Ethnobotanical Contribution and Floristic Study

of Cameroon of plants discovered along the road, from the Center to the Southwest region. In 1988 Mapi Jean in his thesis, did the same survey in the town of Mungo. Another study was conducted in the Southwest region collecting nutritional plants used by the population of that region (Abondo *et al.*, 1990). Other orientated surveys were conducted in 2011 at the markets in Yaounde (Dibong *et al.*, 2011a). Herbalists were also identified in Douala at five markets (Ladoh-Yemeda *et al.*, 2016) where some plants rich in flavonoids were collected (Ngene *et al.*, 2015). In the West region, a survey gave importance to the plants used in the treatment of female infertility in the localities of Baham (Haut-plateau division), Fossong-Wentcheng and Foto (Menoua division) (Telefo *et al.*, 2012, 2011).

The documentation of indigenous knowledge through ethnobotanical studies is not yet complete in the West region of Cameroon. Therefore it is important to collect the information before the traditions get lost. The rich history of the West regional cultures and their innovative utilization of plants as a source of remedies have been passed down through generations largely by oral tradition (Soelberg *et al.*, 2015). This knowledge is gradually being lost as the folk medicinal practitioners die before passing on information to the younger generations (Tabuti *et al.*, 2012). Besides the gradual loss of ethnobotanical knowledge due to lack of documentation, overharvesting of medicinal materials from their natural habitat has been one of the major threats of traditional medicine. In order to conserve wild plant species, there is a need for reliable data on their distribution and level of use (Bagai, 2000; Tugume *et al.*, 2016). It is on this basis that the utilization of medicinal plants as a source of primary health care by communities of the West region is being documented. This will ensure that the traditional knowledge about the use of these plants is conserved. It will also facilitate the discovery of new sources of drugs and promote sustainable use of medicinal plant resources in Cameroon. The present ethnobotanical study is aimed at collecting data on plant species that are used to treat different health conditions; specifically plants used for infectious diseases in the Nde, Haut-Nkam, Menoua and Noun divisions.

2. Material and methods

2.1 Study Area

This ethnobotanical survey took place in the West region which is a territory located in the central-western portion of the Republic of Cameroon (Fig.1). It borders the Northwest region, the Adamawa region, the Centre region, the Littoral region and the Southwest region. The West region is the smallest of Cameroon's ten regions in the area, yet it has the highest population density. As home to the enterprising Bamileke tribes, the West is an economic hot spot and one of Cameroon's most developed regions. This progressive development is tempered by the strong traditional culture that persists between the Bamileke and the province's other major ethnic group, the Bamum. Its administrative centre is Bafoussam. Other important cities of this region are: Mbouda, Bandjoun, Dschang, Bangangte, Foumban, Bafang and Baham. Geographically, it covers an area of 13,892 km²; with a population of 1,720,047 residents. The climate is tropical Sudanese with two main seasons: a dry season from November/December to May/June, a rainy season that begins from June/July and lasts until November/December. Temperatures range between 15°C and 30°C on average with a strong daily variation: the average temperature is 25°C. Our study was conducted in four divisions namely; Nde, Haut-Nkam, Menoua and Noun (Neba, 1999).

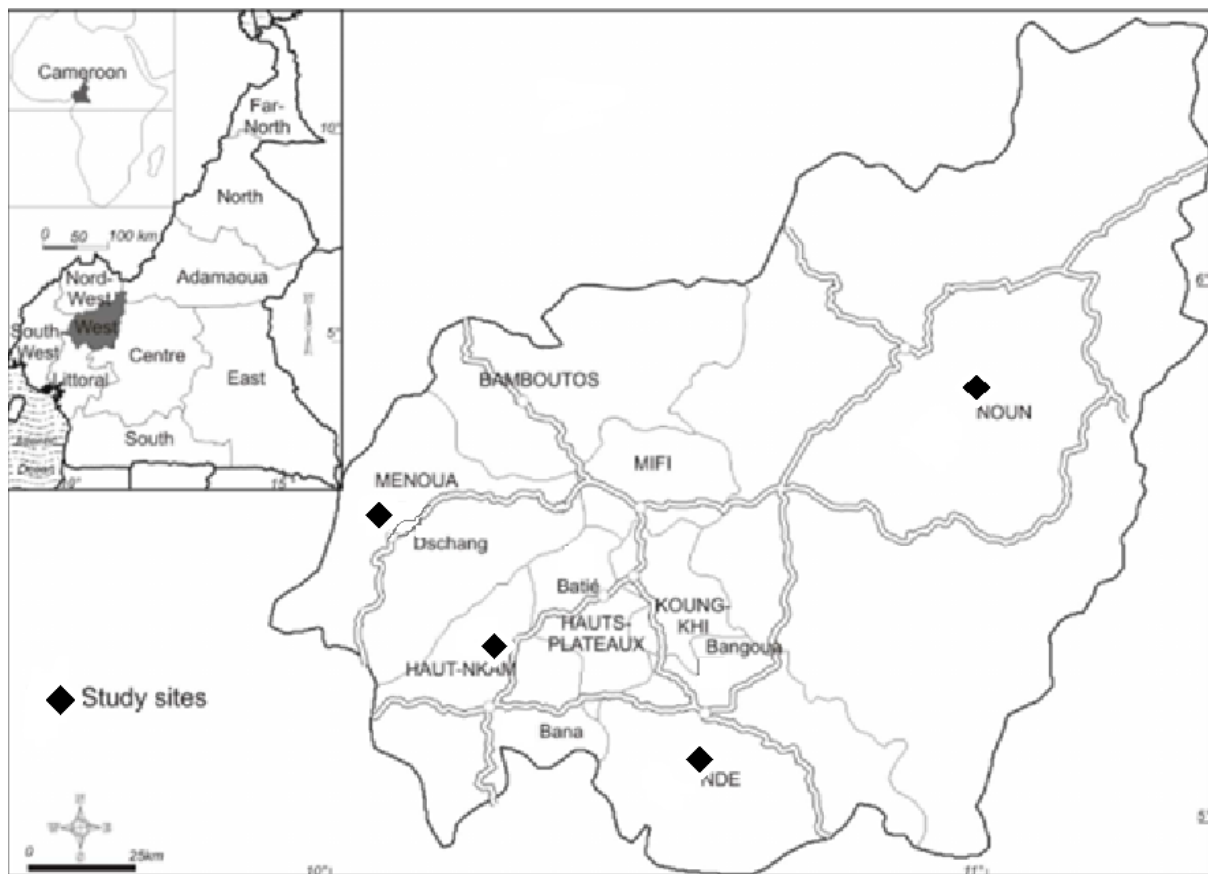


Figure 1. Division of West Region

Ndé division

Ndé is a division located in the Western region of Cameroon. It is bordered in the north by the Haut Nkam division, in the south by Mbam, in the west by Nkam and in the east by the Noun division. It is comprised of thirteen villages: Bangoulap, Balengou, Bazou, Bangante, Batchingou, Bangwa, Bahouc, Bamena, Bangang-Fokam, Bakong, Bamaha, Bagnoun, and Badounga. Ndé is located between N 4° 53' and 5° 16' latitude and E 10° 21' and 10° 49' longitude, it covers an area of 1520 km² and has a population of about 67,942 inhabitants. Ndé has a complex geographical relief and its earth has metamorphic rocks, which explains the climatic issues (low pluviometer) (Tchewo, 1988) because of the diversity of the soil.

Haut-Nkam division

Haut-Nkam is one of eight administrative units that make up the Western region. It has an area of 958 km², covering 6.9 % of the entire region with a population of about 250,000 residents. Its administrative centre is Bafang and it is composed of seven municipalities: Bafang, Baku, Bana, Bandja, Banka, Banwa and Kekem. Haut-Nkam is administratively divided into six districts: Bafang, Baku, Bana, Bandja, Banka and Kekem. It is located in the southwestern part of the region between N 5° and 15° latitude and E 10° and 15° longitude (Dailly, 2008).

Menoua division

The Menoua division is in the Western Region located between N 5° and 27° latitude and E 10° and 4° longitude. It is located at the western edge of the Western region. The administrative centre, Dschang, is 60 km from Bafoussam, 300 km from Douala and 400 km from Yaoundé. It has an area of 1,380 km² with a population of about 372,244 people (2001) with a density of 270 residents per km². It has 6 districts that are: Dschang, Fokoue, Fongo-Tongo, Nkong-Ni, Penka-Michel, Santchou and is divided into 7 towns namely: common urban Dschang, Rural, Fokoue, Fongo-Tongo, Nkong-Ni, Penka-Michel and Santchou. The various villages of Menoua are: Bamendou, Balessing, Bansa, Baleveng, Bafou, Fokoue, Fomepea, Fotomena, Fantsa-Tula, Santchou, Fossong-Wetcheng, Fotetsa, Fongo-Ndeng, Foto, Fongo-Tongo, Fossong-Elelem and Dschang. The climate is equatorial monsoon type and the soil is ferralitic (Noumedem and Nsiempba, 2016).

Noun division

The Noun division is one of the 58 divisions in Cameroon. It has an area of 7,687 km². It is located between N 5° and 6° latitudes and E 10° 3 and 11° 4 longitudes in the North West region of Cameroon. In the Noun division's administrative centre is Foumban and its internal organization, reorganized in April 2007, has 9 districts that are Foumban, Foubot, Magba, Malatouen, Massangam, Koutaba, Njimom, Kouoptamo and Bangourain. Its climate is Sudano-Guinean and the soil is organic hydromorphic (Nzoussa, 2014)

2.2 Ethnobotanical survey

The present study focuses on medicinal plants used by traditional healers to treat many ailments especially infectious diseases. The ethnobotanical survey is based on direct questions on the uses of plants mentioned in traditional medicine and was conducted from December 2005 to June 2006 in the Ndé division (Bangoulap, Bamena, Banekane, Fetap, Bahingou, Balengou, Projet-route 2, Bahouoc, Bazou, Bangangté-ville) ; July-September 2012 in the Haut- Nkam (Bafang, Bakou, Bana, Bandja, Banka, Banwa and Kekem); July to September 2013 in the Menoua division (Bamendou, Balessing, Bansa, Fomepia, Bafou, Fantsa-Toula, Santchou, Fossong-Wetcheng, Foto, Fongo-Tongo); and lastly from June to August 2014 in the Noun division (Kouoptamo, Fouban, Malantouen, Massangam). The approach of inquiries was as follows: traditional healers were interviewed in the four divisions respectively in the villages selected from each of the divisions. The interviews were based on dialogue. The local language and sometimes French was used to communicate. Folk medicinal practitioners sometimes determined a price in the presence of a guide. The uses of these plants were enriched by information collected from healers and the identification was performed by the botanists of the National Herbarium of Cameroon. Health problems were categorized into large groups of diseases according to the latest disease classification proposed by the World Health Organization (OMS, 2002, 1996) for practical use of data and harmonization with the international system cited and adapted by the Organization of African Unity (OAU) for the Cameroon pharmacopoeia (Adjanohoun *et al.*, 1996). Survey questionnaires were developed in order to collect information on plant parts used, methods of preparation, diseases cured and posology.

2.3 Data Collection

Voucher specimens of each medicinal plant species were collected during the field visits and allotted collection numbers. The collected specimens were then dried, identified and deposited at the National Herbarium of Cameroon.

Plant name has been verified with:

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>.

2.4 Given the diversity of medicinal plants in West Cameroon, we preferred to have a wide range of medicinal plants in a general inquiry. This form of inquiry includes information that enables a suitable knowledge of medicinal plants. The questionnaire was thus prepared to include all the necessary information in order to have sufficient knowledge about plants during the interview with the traditional healers.

2.5 Data analysis

Descriptive statistical methods were applied to analyze and summarize the ethnobotanical data such as frequency and percentage of folk medicinal practitioners, plant families and species. We calculated the number of cases during the investigation and used index (UI %). The Use Index was calculated to determine the importance of the use of each medicinal plant. Its formula is $UI = (na / NA) \times 100$, where “na” is the number of interviews that cite the species as useful and “NA” is the total number of people interviewed.

Factor informant consensus (F_{IC})

Factor informant consensus (F_{IC}) is used to determine the homogeneity of the data collected (Heinrich *et al.*, 1998; Ladoh-Yemeda *et al.*, 2016). In other words, it indicates the level of consensus between the plant users in the use of plants for a specific ailment. It was calculated as follows:

$$F_{IC} = (N_{ur} - N_t) / (N_{ur} - 1)$$

Where “ N_{ur} ” refers to the number of use reports in each category of illness, and “ N_t ” refers to the number of taxa/species in each use category. F_{IC} values range from 0 to 1. A value near 1 indicates that a large proportion of informants for a specific ailment use relatively few taxa.

F_{IC} was calculated for each of the 4 selected groups of ailments.

3. Results and discussion

3.1 Socio-demographic characteristics of informants

The communities of the West region use diverse flora in the treatment of various ailments and local people possess rich traditional knowledge of medicinal plants. This ethnobotanical study was conducted in this region for 6 months each year, from 2005 to 2014. The study focused on medicinal plants used by the traditional healers to treat many ailments, particularly infectious diseases. The survey took place in four divisions; Ndé, Haut-Nkam, Menoua and Noun, which belong to the West part of Cameroon where no ethnobotanical survey have been performed (Fig1). We interviewed 53 folk medicinal practitioners (31 men and 22 women) belonging to different ethnic groups in the four divisions (Fig 2). The folk medicinal practitioners' ages varied from 20 to 50 years with a majority of over 30 years (45.28%). 56.60% received their knowledge from their ascendants, 28.30% learned it by apprenticeship, and 15.10% learned it by visions and intuition. 58.49% of folk medicinal practitioners have a primary school level of education, compared to 26.42% to a high school education (table 1).

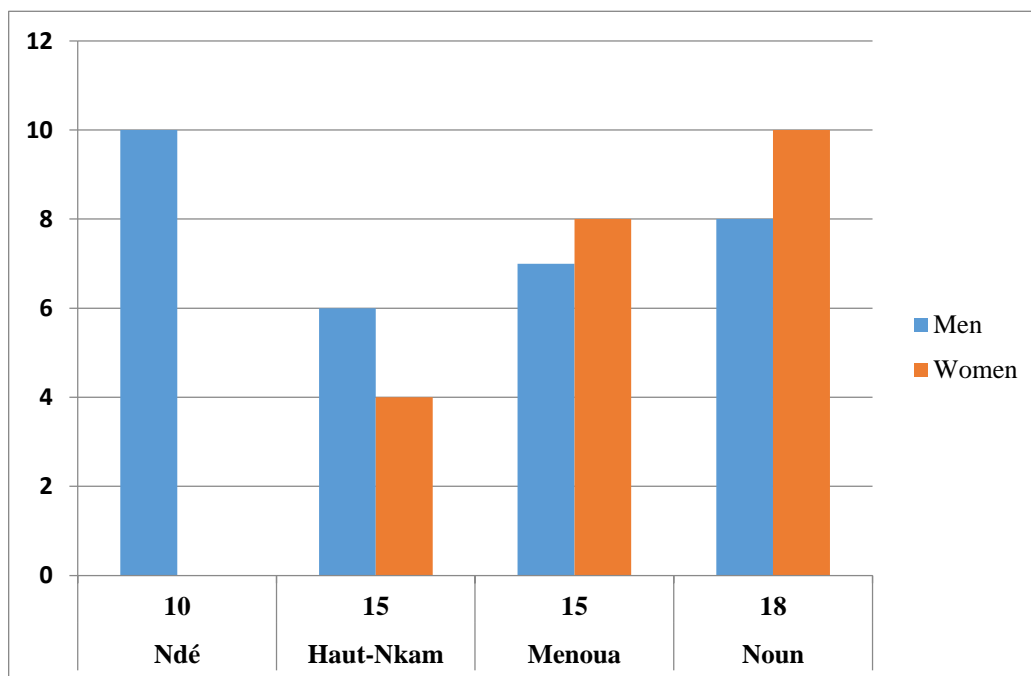


Figure 2. Distribution of the tradipracticicians per division on the basis of gender

Table 1 : Socio-demographic data of the informants (n= 53)

Socio-demographic data		Frequency (%)
Gender		
	Male	58.50
	Female	41.50
Age		
	[20-30]	15.10
	[31-40]	45.28
	[41-50]	28.30
	>50	11.32
Years of experience		
	[1-10]	16.98
	[11-20]	58.50
	[21-30]	13.20
	>30	11.32
Acquisition of knowledge		
	Hereditary	56.60
	Apprenticeship	28.30
	Visions and intuition	15.10
Education		
	Illiterate	13.20
	Elementary school	58.49
	Secondary school	26.42
	Higher education level	1.89

The distribution of traditional healers by region based on gender is represented by figure (2). With regard to this graph, it can be noted that, female folk medicinal practitioners

are well represented in the Menoua and Noun divisions respectively 8 and 10 however; men were equally well represented in the Nde and Haut-Nkam divisions.

3.2 Repartition of plant species collected

The various surveys conducted in the four divisions yielded a total of 561 plants; it should be noted that the same plants that exist in these different divisions may have different or similar indications. Our objective in this study was mainly to make a repertory of these plants with their uses in traditional medicine. The analysis of the survey shows an inequality in the distribution of some species per botanic family in the four divisions. The graphical distribution of plants in each region and the number of botanical families is shown in figure 3. We can see in this figure that, in the Ndé division, we identified 167 plants which are distributed in 68 botanical families unlike other divisions. The Noun region has less botanical families despite its large size. This could be explained by the fact that villages were not accessible due to poor road conditions (rainy season) and the non-cooperation of some practitioners who did not want to share their knowledge.

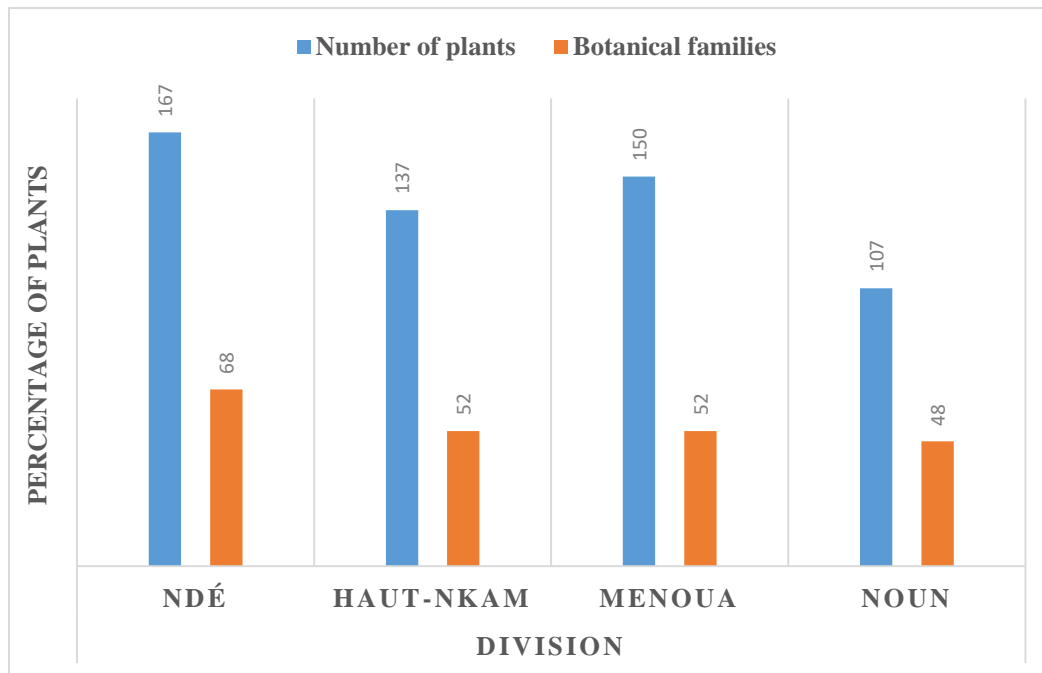


Figure 3. Number of plants in different division and number of botanical families

Figure 4 shows that, in the Ndé, Noun, Menoua and Haut-Nkam divisions, Asteraceae is the most important botanical family, and then comes the Euphorbiaceae family, which is dominant in the Ndé, Haut-Nkam and Noun divisions. On the other hand, the most represented families in the department of Menoua were Asteraceae and Amaryllidaceae. A study in the locality of Sa'a, in the division of Lekié (Cameroon) shows that: the Asteraceae and Euphorbiaceae were predominant (Youba, 2014). In the southern region of Uganda, another African country, the Asteraceae was also richly represented. (Hamill *et al.*, 2003; Kamatenesi-Mugisha and Oryem-Origa, 2007), followed by Euphorbiaceae (Christine *et al.*, 2010).

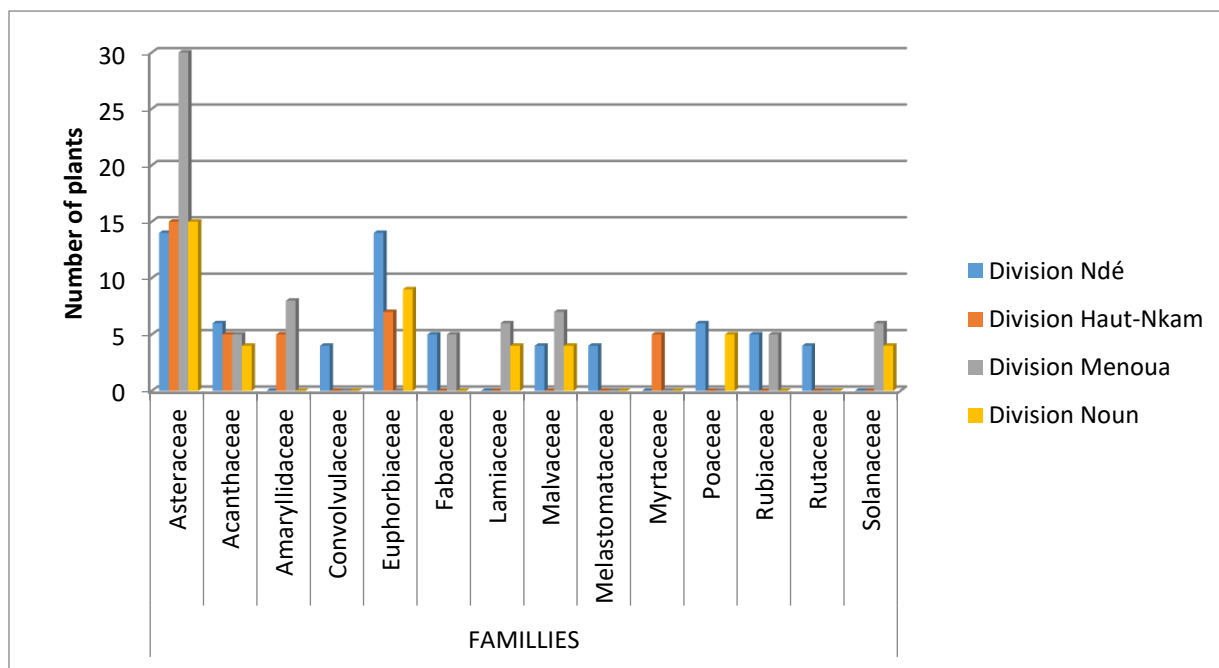


Figure 4. The botanical families of plants by division

3.3 Different plant species recorded and recipes

After this general survey, concerning a total of 561 plants, our aim was to present plants specifically used for infectious diseases since it was the predominant group of pathologies in our four divisions. We identified 134 plants used in the infectious indications with the botanical family, scientific name and vernacular or common name given by the traditional healers. Plant name has been checked with <http://www.tropicos.org>. The plant part used, as well as the preparation method, was indicated during the investigation. The results are presented in the table below (tables 2 to 8). In each division, plants with anti-infectious properties have been divided into 3 groups of illnesses: digestive, skin and otorhinolaryngology (ENT) diseases. The use index was calculated to determine the importance of each medicinal plant's use.

Table 2

Plants used for diarrhea and their Use Index (UI) values

Scientific name (Voucher specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Plant Parts used	Preparation and administration
<i>Annona senegalensis</i> Pers. (2955 SRFK)	Annonaceae	Unknown	Projet route-2	1.8	Root/Bark	Root or bark decocted. Drink three times daily.
<i>Bridelia ferruginea</i> Benth. (3178 SRFK)	Euphorbiaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Bark	Bark decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Centella asiatica</i> L. (Urb). (33896/HNC)	Apiaceae	Toucton	Bafou	1.8	Leaf	Leaf eaten raw one to two times daily.
<i>Cola anomala</i> K. Schum. (35685 HNC)	Malvaceae	Colatier	Kekem	1.8	Fruit	Fruit decocted. Drink. Children: one teaspoon two times daily, adults: ¼ glass three times daily.
<i>Euphorbia hirta</i> L. (46002/HNC)	Euphorbiaceae	Mbunmon	Foumban	5.6	Leaf	Leaf macerated. Drink one glass three times daily.
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. (18611/SRF CAM)	Malvaceae	Unknown	Bangangte-ville	7.5	Leaf	Leaf macerated. Drink one glass morning and evening until better.
<i>Markhamia lutea</i> (Benth.) K. Schum. (1972 SRFK)	Bignoniaceae	Ka'yen	Fonkouankem	1.8	Leaf of yong plant	Grill the leaves and add activated charcoal. Eat.
<i>Oxalis corniculata</i> L. (13102/SRF CAM)	Oxalidaceae	Gouanvou	Bafou	1.8	Leaf	Leaf crushed and mixed with palm kernel oil or honey. Take one teaspoon two times daily.
<i>Polyscias fulva</i> (Hiern) Harms (2990 SRFK)	Araliaceae	Pungue	Massangam	1.8	Bark	Bark boiled in water. Drink one glass three times daily.
<i>Psidium guajava</i> L. (4528/HNC)	Myrtaceae	Goyava	Bamena	5.6	Young leaf	Leaf crushed and mixed with <i>Desmodium hirtum</i> Guill. & Perr. (root), <i>Raphia farinifera</i> (Gaertn.) Hyl. (leaf) and black palm oil. Eat paste two times daily until better or mix with <i>Paullinia pinnata</i> Linn (leaves) and <i>Aframomum melegueta</i> (Roscoe) K. Schum. (seed).

						Eat paste morning and evening for five days.
<i>Rauvolfia vomitoria</i> Afzel. (28760/HNC)	Apocynaceae	Mbeumo'o	Foto	1.8	Leaf / stem bark	Leaf and stem bark decocted. Drink one glass two times daily.
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (7554/HCN)	Combretaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Root	Root decocted. Drink three times daily.
<i>Tristemma camerunense</i> Jacq- Fé l. (11482/SRF CAM)	Melastomataceae	Unknown	Bangoulap	1.8	Leaf	Leaf crushed. Eat paste three times daily.

Table 3

Plants used for amoeboid dysenteries and their Use Index (UI) values

Scientificname (Voucher specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Aspilia africana</i> (P.Beauv. ex Pers.) C.D. Adam. (59114/HNC)	Asteraceae	Wukanné	Bansoa	1.8	Leaf	Leaf crushed and mixed with red oil. Take one teaspoon daily for three days.
<i>Centella asiatica</i> (L) Urb. (33896/HNC)	Apiaceae	Toucton	Bafou	1.8	Leaf	Leaf washed. Eat once or twice daily.
<i>Desmodium adscendens</i> (SW.) DC. (10258/SRF CAM)	Fabaceae	Unknown	Bafou	1.8	Leaf	Leaf crushed and mixed with palm oil. Take one teaspoon two times daily for three days.
<i>Eremomastax speciosa</i> (Hochst) Cufod. (20397/HNC)	Acanthaceae	Penzemzémo'o	Santchou, Fombap	3.8	Leaf	Leaf grilled in pot until powder obtained, then mixed with palm oil. Take one teaspoon two times daily for seven days. Or leaf decocted, drink two glasses daily for five days.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/SRF CAM)	Asteraceae	Unknown	Bangangte- ville	1.8	Leaf	Leaf washed. Eat once or three times daily.
<i>Euphorbia hirta</i> L. (46002/HNC)	Euphorbiaceae	Unknown	Banekane, Banagangte- ville, Bazou	5.8	Whole plant	Whole plant decocted. Take one teaspoon three times daily. Or eat fresh leaf until better. Or leaf decocted with <i>Euphorbia prostata</i> Ait (leaves) and mixed with palm kernel oil. Eat three times daily until better.
<i>Ficus exasperata</i> Vahl (20927 SRF/CAM)	Moraceae	Fiek /Tendonk	Bangangté- ville	1.8	Leaf	Leaf macerated in red wine then mixed in egg yolk and sugar. Drink one glass three times daily.
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam. ex Poir. (11703 SRF/CAM)	Hypericaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Hibiscus asper</i> Hook. f. (6970/SRF CAM)	Malvaceae	Kuikuinah-do/ Korvouo	Bangoulap, Balessing	3.8	Whole plant	Whole plant crushed, hot ashes added. Take one teaspoon three times daily. Or leaf macerated in water

						or mixed with <i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don (leaves). Drink one glass two times daily for three or seven days.
<i>Maytenus senegalensis</i> (Lam.) Exell. (1972 SRFK)	Celastraceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Root	Root boiled in water. Drink one glass three times daily.
<i>Melinis minutiflora</i> P. Beauv (14369 SRF/CAM)	Poaceae	Wouback	Bachingou	1.8	Whole plant	Whole plant crushed and mixed with palm kernel oil. Eat two times/day until better.
<i>Paullinia pinnata</i> L. (3806 SRF/CAM)	Sapindaceae	unknown	Projet-route 2, Balengou	3.8	Leaf	Leaf crushed alone or with pig banana. Eat three times/day for seven days.
<i>Phyllanthus muellerianus</i> (Kuntze) Exell (59856 HNC)	Phyllanthaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink three times daily.
<i>Piper umbellatum</i> L. (44113/HNC)	Piperaceae	Mbeupouet /Mebout	Bangoulap, Bamena, Bangangté	5.7	Leaf	Leaf decocted or macerated or crushed. Drink/eat twice daily for two days.
<i>Psidium guajava</i> L. (4528/HNC)	Myrtaceae	Goyava	Bangoulap, Kekem, Foreke, Blessing, Bamena	18.9	Young leaf	Young leaf crushed with palm kernel oil. Eat three times/day. Or young leaf decocted. Drink one glass two times daily for seven days. Or mix with <i>Piper umbellatum</i> L. (leaves), add salt, palm oil. Take one teaspoon three times/day for three days. Or five leaves crushed with three kola nuts and boiled with water. Drink one glass three times/day. Or leaf crushed with <i>Aframomum melegueta</i> J (seed), <i>Paullinia pinnata</i> L. (leaf). Eat two times daily for five days.
<i>Rauwolfia vomitoria</i> Afzel. (28760/HNC)	Apocynaceae	Mbeumo'o	Foto	1.8	Leaf and stem bark	Leaf and stem bark boiled with water. Drink one glass twice daily.
<i>Solanum aculeastrum</i> Dunal (25878/HNC)	Solanaceae	Chichifon	Foreke	1.8	Fruit	Dried grilled fruit and powder obtained, mixed with palm oil or honey. Take one teaspoon three times daily for three days.

<i>Tragia benthamii</i> Baker (6675 SRF/CAM)	Euphorbiaceae	Beumpap	Kekem	1.8	Whole plant	Whole plant crushed in water and juice squeezed. Purge via anal route once daily.
<i>Urena lobata</i> L. (6976 SRF CAM)	Malvaceae	Kougnedon	Kekem	1.8	Whole plant	Whole plant crushed with water. Drink one glass of juice two times daily.

Table 4

Plants used for intestinal worms and their Use Index (UI) values

Scientific name (Voucher specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Ageratum conyzoides</i> L. (21155/SRF CAM)	Asteraceae	Tchouamo'o	Bafou	1.8	Leaf	Eat seven leaves two times/day for two days.
<i>Allium sativum</i> L. (44810 HNC)	Amaryllidaceae	Ail	Foumban	1.8	Bulb	Bulb decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (21329/SRF CAM)	Amaranthaceae	Feuille de ricin	Fombap, Foto, Bafou, Foumban Malentouen	11.6	Leaf	Leaf macerated. For children: use liquid to purge via anal route once/week. For adults, drink one glass three times daily. Or mixed with <i>Carica papaya</i> L. (leaf) in water. If honey added, take one teaspoon twice daily.
<i>Conyza subscaposa</i> O. Hoffm. (11113/SRF CAM)	Asteraceae	Unknown	Fotouni	1.8	Root	Root crushed in water and liquid used to purge via anal route once daily. Or chew five shoots with groundnut.
<i>Cyathula prostrata</i> (L.) Blume (9143/SRFCAM)	Amaranthaceae	Vin metoto	Fombap	1.8	Leaf	Leaf crushed in water and mixed with seven palm seeds. Drink one glass daily.
<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don (61778/HNC)	Asteraceae	Vinlapin	Fossong-Wentching Bafou	3.8	Leaf	Leaf dried and crushed to a powder and then mixed with honey or palm kernel oil. Take a half-teaspoon twice daily.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/SRF CAM)	Asteraceae	Timbeu	Fombap	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink one glass twice daily for three days.
<i>Eryngium foetidum</i> L. (43535/HNC)	Apiaceae	Vinmetchop	Bafou	1.8	Leaf	Dry leaves crushed and mixed with honey. Take a half-teaspoon twice daily for four or five days.
<i>Lactuca schulzeana</i> Büttner (33052/HNC)	Asteraceae	Tsitreu	Bafou	3.8	Leaf	Leaf boiled in five liters of water. Drink one glass twice daily.
<i>Rumex abyssinicus</i> Jacq. (48521/HNC)	Polygonaceae	Metondect	Foreke	1.8	Root	Root boiled in water. Drink one glass twice daily.

<i>Sida corymbosa</i> R.E.Fr. (49520/SRF CAM)	Malvaceae	Simbreu	Balessing	1.8	Leaf	Leaf macerated in water for thirteen minutes. Drink two glasses daily.
<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray (48790/HNC)	Asteraceae	“Fleur jalousie”	Balessing	1.8	Root	Root boiled in water and mixed with sugar. Drink one glass /week for one month (tapeworm) or drink one glass twice daily for five days (ascaris and other worms).
<i>Voacanga africana</i> Stapf (43460/HNC)	Apocynaceae	Lilè	Fonkouankem	1.8	Fruit	Fruit dried and crushed in water with sugar. Take one tablespoon twice daily.

Table 5

Plants used for gastritis and their Use Index (UI) values

Scientific name (Voucher specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (9657 /SRF CAM)	Euphorbiaceae	unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf/ Bark	Leaf or bark decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Ageratum conyzoides</i> L. (21155/SRF)	Asteraceae	Choutseu	Bangoulap, Bafou	3.8	Leaf	Leaf macerated. Drink one glass three times daily. Or macerate with <i>Erigeron floribundus</i> Shn. Bip (leaf) and mixed with red oil. Take a half-teaspoon daily for six days.
<i>Asystasia gangetica</i> (L.) T. Anderson (9083 SRF CAM)	Acanthaceae	unknown	Kekem	1.8	Leaf	Leaf crushed in water. Drink two glasses twice daily.
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb. (33896/HNC)	Apiaceae	Toh'medam	Fonkouankem	1.8	Whole plant	Whole plant macerated. Drink a half glass three times daily.
<i>Combretum paniculatum</i> Vent. (3067 HNC)	Combretaceae	unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Drymaria cordata</i> (L.) Willd. ex Schult. (24337 SRFK)	Caryophyllaceae	Male de Ketakepka	Bangoulap	1.8	Stem and leaf	Creeping stem and leaf crushed with a kola nut. Eat twice daily.
<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don (61778/HCN)	Asteraceae	Landopeuh'	Kekem, Fonkouankem, Foreke, Fomepia	9.5	Leaf	Leaf crushed with <i>Pistia stratiotes</i> L (leave), <i>Melanthera elliptica</i> O Hoffm (leaf) and mixed with honey. Take one tablespoon twice daily. Or leaf crushed in water, juice mixed with milk or honey. Take one tablespoon three times/day.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/HCN)	Asteraceae	Cunen	Banekane	5.7	Leaf	Leaf eaten raw with kola nut three times/day.

<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L. (18611/SRF CAM)	Malvaceae	Hibiscus	Bangangté-ville	1.8	Leaf	Leaf macerated. Drink one glass twice daily.
<i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. (14371 SRF/CAM)	Poaceae	Nngum	Kouoptamo	1.8	Leaf	Leaf grilled and mixed with salt. Eat three times daily for five days.
<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Poir. (9588 SRF/ CAM)	Convolvulaceae	Creumeton	Foto	11.3	Leaf	Leaf decocted with <i>Hibiscus asper</i> Hook. f. (leaf), <i>Commelina benghalensis</i> L. (leaf), <i>Aloe vera</i> L. (leaf) in palm wine. Drink one glass/day for three days.
<i>Jatropha curcas</i> L. (25713 SRF/CAM)	Euphorbiaceae	Unknown	Banekane	7.6	Seed	Seed crushed with warm water. Drink.
<i>Melanthera elliptica</i> O. Hoffm. (6587/ HNC)	Asteraceae	Let	Fonkouankem	1.8	Leaf	Leaf decocted or dried and crushed in water. Drink half a glass morning and evening.
<i>Nephrolepis biserrata</i> (Sw.) Schott (18183/HNC)	Davalliaceae	Herbe des milles pates	Fetap	1.8	Leaf	Fresh leaf crushed and mixed with honey. Eat twice daily.
<i>Oxalis corniculata</i> L. (13102/SRF CAM)	Oxalideae	Kenamessan	Bangante-ville	1.8	Whole plant	Whole plant crushed and mixed with palm oil. Take one spoon three times daily.
<i>Piper umbellatum</i> L. (44113/HNC)	Piperaceae	Beubeu	Foreke	1.8	Leaf	Leaf macerated in water. Drink one glass three times per day.
<i>Senna alata</i> (L.) Roxb. (29494/HNC)	Fabaceae	Cooryor	Fombap	1.8	Leaf	Leaf boiled with a pinch of traditional bicarbonate. Drink one glass twice daily.
<i>Solanum aculeastrum</i> Dunal (25878/HNC)	Solanaceae	Niakah ou Letaniah	Balengou	3.8	Fruit	Fruit decocted. Use for children to purge via anal route one or two times.
<i>Spermacoce monticola</i> Mildbr. (27405/SRFCAM)	Rubiaceae	Yahti	Fetap	1.8	Leaf	Fresh leaf crushed and mixed with honey. Eat three times daily until better.
<i>Voacanga africana</i> Stapf (43460/HNC)	Apocynaceae	Lilè	Fonkouankem	1.8	Leaf/ bark	Leaf or bark decocted with bicarbonate. Drink one glass twice daily.

Table 6

Plants used for wounds and pruritis. and their Use Index (UI) values

Scientific name (Vouche specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Afzelia africana</i> Sm. (49836/HNC)	Fabaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Bark	Bark decocted. Drink and use to wash the wound twice daily.
<i>Ageratum conyzoides</i> L. (21155/SRF CAM)	Asteraceae	Vè gièh	Projet-route 2, Bana, Foto	7.6	Whole plant leaf/sap	Whole plant crushed with <i>Pennisetum purpureum</i> Schmach. (leaf), <i>Capsicum annum</i> L. (fruit), <i>Aspilia Africana</i> (Pers) Adams L. (leaf). Apply paste to wound once a week until healed. Leaf crushed with <i>Erigeron floribundus</i> (H.B. & K) Shn. Bip. (leaf). Eat paste. Leaf rubbed on wound until soap obtained. Twice daily for pruritis. Apply sap to wound.
<i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (9657 SRF/CAM)	Euphorbiaceae	Gontsi	Banekane	7.6	Leaf or young shoot	Leaf or young shoot crushed. Use to dress wound.
<i>Aspilia africana</i> (P. Beauv. ex Pers.) C.D. Adams (59114/HNC)	Asteraceae	Wucanné/ sapson	Bafou, Fossong- Went, Bana, Balengou	7.6	Leaf	Leaf pressed to obtain liquid. Apply to wound twice daily until healed.
<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R. M. King & H. Rob. (9520/HNC)	Asteraceae	Gapsarbia	Bafou, Kouoptamo	3.8	Leaf	Leaf pressed to obtain liquid. Apply to wound twice daily.
<i>Dacryodes edulis</i> (G. Don) H.J. Lam (43627/HNC)	Burseraceae	Foukuop	Foreke, Massangam	11.3	Leaf	Leaf crushed with snail shell. Apply paste to wound once a day. Leaf crushed with <i>Spathodea campanulata</i> P.

						Beauv. (leaf) and grilled. Apply to wound.
<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don (61778/ HCN)	Asteraceae	« Oreille de lapin »	Fonkouanke m	3.8	Leaf	Leaf crushed to obtain liquid and applied to wound. Leaf rubbed on the pruritus until soap obtained. Twice daily.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/SRF CAM)	Asteraceae	Vinsouk	Banekane, Bafou, Foreke, Bana	7.6	Leaf	Leaf crushed to obtain liquid, then applied to wound. Once or twice daily. Leaf crushed with <i>Aframomum melegueta</i> J (seed). Apply paste to wound and pruritus.
<i>Euphorbia lateriflora</i> Shum. & Thonn. (26549HNC)	Euphorbiaceae	Lahketchou	Bahouoc	1.8	Leaf and stem	Leaf and stem crushed. Apply paste to wound for three days, renewable.
<i>Euphorbia prostrata</i> Aiton (49612/HNC)	Euphorbiaceae	Lepeu mo'o	Bafou	1.8	Whole plant	Whole plant crushed. Apply to wound twice daily.
<i>Grewia venusta</i> Fresen. (7432 SRFK)	Malvaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf crushed. Apply to wound once daily.
<i>Jatropha curcas</i> L. (25713 SRF/CAM)	Euphorbiaceae	Unknown	Kekem, Banekane	7.6	Sap	Apply sap on wound.
<i>Mimosa invisa</i> Mart. (42881/HNC)	Fabaceae	Mannolapplaba	Bafou	1.8	Leaf	Leaf crushed. Apply to infected part once daily.
<i>Paullinia pinnata</i> L. (3806 SRF/CAM)	Sapindaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf crushed. Apply to wound three times daily.
<i>Phyllanthus muellerianus</i> (Kuntze) Exell. (59856 HNC)	Phyllanthaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Root	Root decocted. Drink three times daily.
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC) Hochst. (36376 HNC)	Fabaceae	Unknwon	Projet-route 2	1.8	Fruit	Fruit crushed. Apply paste to wound twice daily.
<i>Polyscias fulva</i> (Hiern) Harms (2990 SRFK)	Araliaceae	Pungue	Malentouen	3.8	Bark	Bark decocted. Drink one glass twice daily for pruritus.
<i>Portulaca oleracea</i> L. (45051/HNC)	Portulacaceae	Nkepipngup	Kouoptamo	3.8	Leaf	Leaf crushed and macerated in water. Bath with twice daily and drink three times daily for seven days for pruritus.

<i>Spermacoce exilis</i> (L. O. Williams) C. D. Adams (6343/SFR CAM)	Rubiaceae	Unknown	Fonkouanke m	1.8	Whole plant	Whole plant macerated. Drink one glass twice daily.
<i>Vernonia amygdalina</i> Delile. (9535SRF CAM)	Asteraceae	Dopah'kong	Bangoulap, Kekem	7.6	Leaf	Leaf pressed to obtain liquid. Apply to wound.
<i>Vitellaria paradoxa</i> C. F. Gaertn. (21818/SRF/CAM)	Vitaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Bark or Leaf	Bark or leaf crushed. Apply to wound.
<i>Voacanga africana</i> Stapf. (43460/HNC)	Apocynaceae	Voacanga	Santchou	1.8	Sap	Apply sap to wound.

Table 7

Plants used for amygdalite and others otorhinolaryngology pathologies and their Use Index (UI) values

Scientific name (Vouche specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Acmella caulirhiza</i> Delile (20451/SRFCAM).	Asteraceae	Mbankuen	Santchou, Fomepia, Kouoptamo	5.7	Whole plant	Whole plant crushed with traditional bicarbonate. Rub three times daily on the tooth.
<i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (9657 SRF CAM).	Euphorbiaceae	Gontsi/ Tchoukenk wah	Banekane, Bachingou	3.8	Dry leaf/ fresh leaf	Leaf crushed with <i>Alchornea laxiflora</i> (Benth) pax & Khoffm. (leaf) and mixed with traditional vinegar, charcoal and ash. Gargle liquid to treat angina two times daily then swallow. Or leave crushed with salt. Gargle for several days. Fresh leaf decocted. Gargle for toothache several times a day.
<i>Alchornea laxiflora</i> (Benth.) Pax & K. Hoffm. (31695 SRFK)	Euphorbiaceae	Fieng	Bamena	3.8	Leaf	Leaf crushed with bicarbonate. For amygdalitis: Take one teaspoon twice daily for two or three days.
<i>Bidens pilosa</i> L. (32987 HNC)	Asteraceae	Mfowen	Kouptamo	1.8	Stem	Stem crushed with <i>Dichrocephala integrifolia</i> (L. f.) Kuntze (whole plant), <i>Abrus precatorius</i> L. (leaf) and mixed with a pinch of salt. Chew then swallow liquid three times daily.
<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb. (33896/HNC)	Apiaceae	Touchikeuc h	Fetap	1.8	Leaf	Leaf squeezed until liquid obtained. Apply drops into ear morning and evening until healed.
<i>Combretum hispidum</i> C. Lawson (9449 SRF CAM)	Combretaceae	Weuh	Bachingou	1.8	Leaf	Leaf crushed with <i>Aframomun melegueta</i> J. Eat twice daily.

<i>Datura stramonium</i> L. (14606 SRF CAM)	Solanaceae	Souh	Malentouen	1.8	Seed	Dry seeds toasted in a calabash with palm oil. For toothache: Inhale vapors by maintaining mouth open.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/SRF CAM)	Asteraceae	Zeguim /Tchekim	Kekem, Fongo-Tongo	3.8	Leaf	Leaf slightly crushed in water. For amygdalitis: Take one tablespoon three times daily. For angina: Eat thirteen leaves twice daily for four or five days.
<i>Erythrophleum suaveolens</i> (Guill. & Perr.) Brenan (6489SRF/CAM)	Fabaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Bark	Bark decocted. For toothache: Gargle with liquid three times daily.
<i>Jatropha curcas</i> L. (25713 SRF/CAM)	Euphorbiaceae	Unknown	Foumban	1.8	Stem	Stem crushed to obtain sap. Put paste on tooth once a day.
<i>Kalanchoe crenata</i> (Andrews) Haw. (142041/SRF CAM)	Crassulaceae	Ziekfem/ djoujoun	Bangoulap, Bafou, Fombap, Fongo-Tongo, Fomepia, Fossong, Bangoulap, Bangangté – ville, Bamena, Bachingou, Bangoulap, Bamendou.	45.3	Leaf	Leaf squeezed until liquid obtained. One drop into each nostril until better. Leaf heated over flame, liquid pressed and two to three drops dropped in each ear until healed. Eat leaf for angina twice daily for three days.
<i>Ocimum gratissimum</i> L. (35087 HNC)	Lamiaceae	Cotomandjo	Bafou	9.4	Leaf	Leaf boiled in water. Apply two drops into each nostril.
<i>Paullinia pinnata</i> L. (3806 SRF CAM)	Sapindaceae	Unknown	Projet-route 2	3.8	Leaf	Leaf crushed with salt. Put paste on tooth.
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn (11847 SRF CAM)	Dennstaedtiaceae	Unknown	Fetap	1.8	Bud	Bud crushed and decocted. Brush teeth morning and night for a week.
<i>Solanum aculeastrum</i> Dunal (25878/HNC)	Solanaceae	Kukue	Malentouen/ foreke	7.6	Leaf	Leaf decocted in palm wine. For toothache: Drink one glass three times daily for three days.

<i>Spilanthes filicaulis</i> (Schumach. & Thonn.) C. D. Adams (33076/HNC)	Asteraceae	Pentrou	Bafou, Bangante-ville	5.6	Whole plant/ Flower	Whole plant crushed with <i>Syzygium</i> <i>aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry. (fruit). Apply paste to infected teeth twice daily for three days. Flower Decocted. Gargle liquid three times daily for toothache.
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (20553/SRFCAM)	Combretaceae	Unknown	Projet-route 2	3.8	Root, Leaf	Root decocted. For toothache: Gargle liquid twice daily Leaf decocted. For rhinitis: Drink one glass three times daily.
<i>Trema orientalis</i> (Linn.) Blume (10829 SRF CAM)	Cannabaceae	Unknown	Projet-route 2	3.8	Bark	Bark decocted. For angina: Drink one glass three times daily and apply on neck. Bark decocted. For rhinitis: Drink one glass three times daily.

Table 8

Plants used for respiratory pathology and their Use Index (UI) values

Scientific name (Voucher specimen)	Family name	Local name	Collected area	UI (%)	Part used	Preparation and administration
<i>Acmella caulirhiza</i> Delile (20451/SRF CAM)	Asteraceae	Mbankuen	Malentouen	1.8	Whole plant	Whole plant macerated with <i>Acanthus montanus</i> L. (leaf), <i>Dichrocephala integrifolia</i> (L. f.) Kuntze. (leaf) and <i>Aframomum melegueta</i> J (seed) in water, with hot charcoal. Drink twice daily and rub on chest.
<i>Allium cepa</i> L. (42791 HNC)	Amaryllidaceae	Ka'a	Kouoptamo	1.8	Bulb	Bulb crushed in water. Liquid mixed with honey and lemon. Drink half a glass three times daily for seven days.
<i>Allium sativum</i> L. (44810 HNC)	Amaryllidaceae	Ail	Foumban	5.7	Bulb	Bulb decocted. Drink one cup three times daily.
<i>Bidens pilosa</i> L. (4871/SRF CAM)	Asteraceae	Tsitsitseuk	Fombap	1.8	Leaf	Leaf decocted in water. Drink one glass twice daily (adults) and (children) half a glass for four days.
<i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Kurz. (19059/SRF CAM)	Crassulaceae	Djoujoungo'o	Bafou	1.8	Leaf	Nine fresh leaves crushed with <i>Aframomum melegueta</i> J (nine seeds). Eat once daily for four days.
<i>Coffea Arabica</i> L. (43144/HNC)	Rubiaceae	Caferu	Santchou	1.8	Leaf and root	Leaf and root crushed with <i>Eucalyptus diversicolor</i> F. Muell (leaf), <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (root) and decocted. Liquid mixed with honey. Drink half a glass twice daily for seven days.
<i>Crassocephalum biafrae</i> (Oliv. & Hiern) S. Moore (5606 SRF CAM)	Asteraceae	Nduetngu	Foumban	1.8	Leaf	Leaf crushed until liquid obtained and mixed with <i>Aframomum melegueta</i> J (seed). Take one tablespoon twice daily.
<i>Crinum glaucum</i> A. chev. (40035/HNC)	Amaryllidaceae	Lakcoq/ nduen	Bachingou, kouoptamo	3.8	Leaf, Root	Leaf crushed and rubbed on painful spot at time of crisis.

						Root decocted with beer. For tuberculosis: Drink one glass twice daily for one month.
<i>Drymaria cordata</i> (L.) Willd. ex Schult. (24337 SRF CAM)	Asteraceae	Tonchiekheu	Bazou	1.8	Whole plant	Whole plant decocted. Take one teaspoon twice daily for three days (children) and half a glass for three days (adults).
<i>Dyschoriste perrottetii</i> (Nees) Kuntze (9094 SRF / CAM)	Acanthaceae	Koumechie	Massangam	1.8	Leaf	Leaf crushed and honey is mixed. Eat twice daily.
<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don (61778/ HNC)	Asteraceae	Ketakepa	Bangangte-ville	1.8	Leaf	Dried or fresh leaf macerated. Drink three times daily for seven days.
<i>Erigeron floribundus</i> (Kunth) Sch. Bip. (20454/HNC)	Asteraceae	Vinguim/ Zeguim	Balessing, Bafou, Kekem, Bangangté-ville, Projet- route 2	9.4	Leaf	Fresh leaf, or slightly crushed in water. Eat three times daily until healed Liquid mixed with honey and whisky. Take one tablespoon three times daily.
<i>Eucalyptus diversicolor</i> F. Muell. (5088 HNC)	Myrtaceae	Eucalytusi	Bafou	1.8	Leaf	Leaf crushed and decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Euphorbia lateriflora</i> Schum. & Thonn. (26549/HNC)	Euphorbiaceae	Melansesouc	Balessing	1.8	Whole plant	Whole plant crushed with honey. Take one tablespoon three times daily (adults) and one teaspoon twice daily (children).
<i>Hibiscus esculentus</i> L. (8537 SRF CAM)	Malvaceae	Calyptuci ancro	Fongo-Tongo, kekem	3.8	Leaf	Leaf decocted with <i>Eucalyptus diversicolor</i> Muell. (leaf). Drink half a glass three times daily for three days then half a glass/day until better.
<i>Kalanchoe crenata</i> (Andrews) Haw. (142041/SRF CAM)	Crassulaceae	Joujoun /mefo, Troh ke you, Ziekfem	Bafou, Fombap, Bafang, Bansoa, Bamendou, Fombap, Fomepia, Fongo-Tongo, Bangangté-ville	22.6	Leaf and stem	Leaf heated over flame. Juice squeezed. Take one teaspoon daily for three days. Or leaf crushed with palm kernel oil. Take one teaspoon twice daily. Leaf and stem decocted with <i>Emilia coccinea</i>

						(Sims) G. Don (leaves). Drink one glass three times daily. Leaf macerated in water. Drink half a glass three times daily.
<i>Mangifera indica</i> L. (18646/SRF CAM).	Anacardiaceae	Mango	Bangangté-ville	1.8	Bark and leaf	Bark and leaf decocted with <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook (leaf). Drink one glass three times daily until healed.
<i>Musa paradisiaca</i> L. (5109/SRFCAM)	Musaceae	Fu gouen	Malentouen	1.8	Fruit	Fruit crushed with <i>Aframomum melegeta</i> J (seed). Apply on the chest once a day after reading the “Koran”.
<i>Ocimum gratissimum</i> L. (35087 HNC)	Euphorbiaceae	Cotomandjo	Bafou	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Oxalis corymbosa</i> DC. (20927 SRF CAM)	Oxalidaceae	Lanmayon	Bachingou	1.8	Whole plant	Whole plant decocted with traditional bicarbonate and mixed with palm oil. Drink three times daily.
<i>Phyllanthus muellerianus</i> (Kuntze) Exell (59856 HNC)	Euphorbiaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Bark	Bark decocted. Drink one glass three times daily.
<i>Pupalia lappacea</i> (L.) Juss. (7702 SRF /CAM)	Amaranthaceae	Kon'giou	Kekem	1.8	Whole plant	Whole plant decocted and mixed with honey. Drink half a glass twice daily.
<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst. (36376 HNC)	Fabaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink a glass twice daily.
<i>Rubus pinnatus</i> Willd. (2473 SRFK)	Rosaceae	Unknown	Fotouni	1.8	Leaf	Leaf crushed with honey or palm oil. Eat paste twice daily.
<i>Solanum aculeastrum</i> Dunal (25878/HNC)	Solanaceae	Melan, Kukue	Foreke, Balessing, Malentouen	9.4	Leaf and fruit	Leaf crushed with <i>Crinum jagus</i> (J. Thomps.) Dandy. (leaf), pistachio, kernel palm oil and boiled in palm wine. Drink one glass three times/day for three months. Fruit put in heated ash, then removed. Liquid

						squeezed and mixed with honey. Eat one teaspoon twice daily (children) and one tablespoon three times/day (adults) for tuberculosis. Fruit crushed with traditional vinegar. Liquid mixed with palm oil. Eat twice daily. Leaf crushed with <i>Acmella caulirhiza</i> Delile (leaf) in water. Drink one glass twice daily.
<i>Sida alba</i> L. (63559 HNC)	Malvaceae	Nsisom	Kouoptamo	1.8	Leaf	Leaf crushed with a pinch of salt and mixed with palm oil. Eat twice daily for ten days.
<i>Terminalia avicennioides</i> Guill. & Perr. (20553/SRF CAM)	Combretaceae	Unknown	Projet-route 2	1.8	Leaf	Leaf decocted. Drink three times daily.
<i>Tragia benthamii</i> Baker (6675 SRF /CAM)	Euphorbiaceae	Beppah	Bamena	1.8	Leaf	Leaf decocted with <i>Ficus exasperata</i> Vahl (leaf), <i>Aspilia africana</i> (Pers) Adams (leaf). Drink one glass twice until better.
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe (14757 SRF CAM)	Zingiberaceae	Suu nsie	Malentouen	1.8	Root	Root crushed and liquid mixed with honey. Take one spoon three times daily for two days.

The analysis of a large group of pathologies shows that in the group of otorhinopathologies (FIC of 0.64), we have more information on some plants such as *Kalanchoe crenata*, which is the most cited plant in this group with the use index of 45.30% (table 7). *K. crenata* is used to treat rhinitis, teeth, otitis and bronchitis in our survey. This plant is also used in other areas of Africa. The leaves are used to treated angina, otitis (Akendengué and Louis, 1994; Bokdam and Droogers, 1975; Diafouka, 1997; Dibong *et al.*, 2011a) and rhinitis. The boiled leaves are used as a sedative, in the treatment of asthma and palpitations (Burkill, 1994). A decoction is administered as an enema to pregnant women as a tonic in Burundi (Baerts and Lehmann, 1989). In Congo, the leaf-sap is used as an antiemetic, to increase milk flow, and to calm intercostal and

intestinal pain ; Leaves are put into cuts to staunch bleeding, and are rubbed on feverish infants ; the leaf-sap is used to cicatrize wounds, cure colds and treat eye and ear troubles (Diafouka, 1997). The root and leaf or sap are used as an antimalarial, juice of leaves is used to treat dermatitis and scarification wounds in Brazaville and Cameroun (Diafouka, 1997; Djoko *et al.*, 2016).

In the group of digestive pathologies, we have an F_{IC} of 0.60, which is the second group of the quoted pathologies. The most cited plant here is *Psidium guajava* (UI : 18.90 %) (table 2) which is used to cure amoeboid dysenteries. It is also used against coughing as a decoction drink in Uganda (Tugume *et al.*, 2016). The group of skin diseases, has a consensus factor of 0.55, the most cited plant was *Dacryodes edulis* with the use index 11.30 %. Finally the respiratory track is the last group of pathologies ($F_{IC} = 0.54$). We have noted that some plants are used to treat many diseases such as *Aspilia africana* (UI: 7.60 %) which is used to treat amoeba diseases, wounds, fever, worms and backaches (T. Jiofack *et al.*, 2008); the leaves have also shown in vitro hemostatitis properties (Obadoni and Ochuko, 2002). In our work, *Eremomastax speciosa* (UI : 3.80 %) is used to treat amoeba; moreover, this plant is also known in Cameroonian traditional medicine for infertility in women (Telefo *et al.*, 2012) anemia, malaria, typhoid (Dibong *et al.*, 2011a; Ndjouondo *et al.*, 2012; Ngene *et al.*, 2015) child infections , generalized pain and dermatitis (T Jiofack *et al.*, 2008; Ladoh-Yemeda *et al.*, 2016) and stomach cramps (Fonge *et al.*, 2008). *Ficus exasperata* (UI: 1.80 %) used in our work to treat amoeba diseases, and in association with *Tragia bentharii* for respiratory pathology, is also used in Nigeria. The young leaves are prescribed as a common anti-ulcer remedy, and various pharmacological actions such as anti-ulcer, anti-diabetic, lipid lowering and antifungal activities have been described (Kazeem *et al.*, 2013). The *Psidium guajava leaf* with UI of 5.60%, is used for diarrhoea (table 2); this indication is also mentioned by the Brandelli *et al* study in 2009 in Brazil (Brandelli *et al.*, 2009). In our survey, *Hibiscus asper* (UI: 3.80 %) is used to treat “amoeboid dysentery” in association with *Emilia coccinea*, but generally, the traditional healers mistake diarrhoea and amoeboid dysentery. *Chenopodium ambrosoides* (UI: 11.60%) (table 4), the plant used for intestinal worms , was one of the most quoted plants,

moreover, a research in Morocco showed the hypoglycemic activity (El Amrani *et al.*, 2010).

3.4 Part of plant used, mode of preparation and administration

3.4.1 Part used

A diverse range of plant parts including leaf, bark, stem, root, the entire plant, bulb, flower, sap, bud and seed have been reported to be used in traditional healing. As shown in Fig 5, the part the most used is the leaf 55%, which is followed by the whole plant 13%, bark 10%, root 9%, fruit and stem 4% and finally others (flower, sap, bud, seed, bulb) 5%. The higher percentage of leaf may be due to its higher antioxidant properties which might be due to the presence of flavonoids and phenols (Dharmadasa *et al.*, 2016). Furthermore, leaves are also considered to be the most abundant plant part and are thus easily accessible, readily available and of low cost. This result correlates with other studies in Uganda, Pakistan and China, which reported that leaves (Au *et al.*, 2008; Mahmood, 2012; Tabuti *et al.*, 2012) and the whole plant (Au *et al.*, 2008) were the most used part respectively.

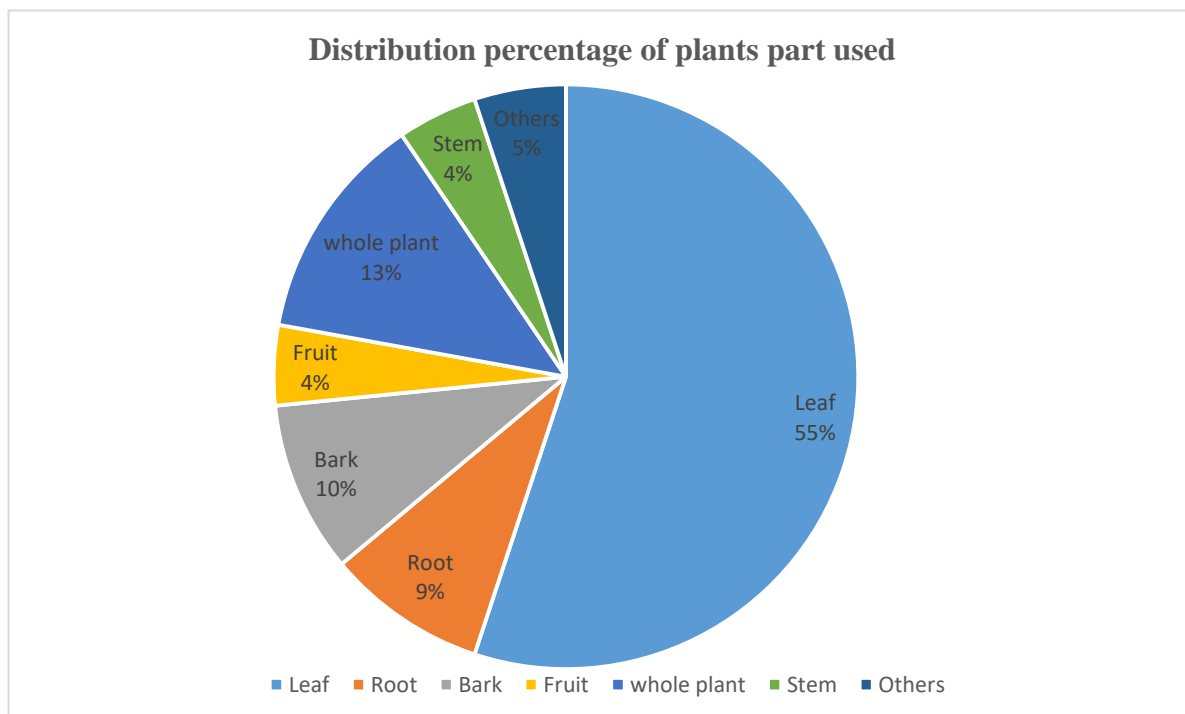


Figure 5. Part of the plant used for preparation of the remedies

3.4.2 Mode of preparation

The mode of preparation of different remedies shows that there are many different preparations used in the West region of Cameroon for infectious diseases (diarrhea, amoeba diseases, intestinal worms, gastritis, wounds, pruritus and otorhinolaryngology diseases). 147 recipes have been inventoried among these preparations; the survey mentioned 27 recipes which concern associations with one or more plants. For example, *Carica papaya* is added to *Chenopodium ambrosioides* to treat intestinal worms of adults and children. Sometimes other ingredients like honey, hot charcoal, salt, palm kernel oil, ash, alcohol, red palm oil, pistachio, sugar, “jujube”, palm wine, snail shell, whisky are used in association. We can suppose that honey is used to ameliorate the taste or as an emollient and ashes to alkalinize the preparation. For example, *Emilia coccinea* is mixed with milk or honey to cure gastritis diseases. Additives including salt are used in remedies against toothaches and oral wounds where it is believed to kill germs. For external application palm kernel oil, red palm oil is used to reduce friction during application of the remedy. Then the resulting paste is applied locally in case of skin injuries (wounds) or eaten for gastrointestinal disorders. There are also recipes with multiple ingredients, as *Allium cepa* bulb mixed with honey and lemon to cure respiratory diseases. Finally, we can find recipes with several plants and one ingredient or vice versa.

Among all the plants mentioned to cure infectious pathologies (134), digestive diseases represent 48.52% (amoeboid 14.20%, diarrhea 9.70%, intestinal worms 9.70%, gastritis 14.92%) followed by otorhinolaryngology diseases with 35.07% (amygdalite diseases represent 13.43%, respiratory diseases 21.64%) and at last skin diseases with 16.41% (wounds (11.94%) and pruritus (4.40%)) (Fig. 6). In light of this analysis, we see that digestive diseases are the predominant pathologies in the four departments followed by ENT (Ear, Nose and Throat disease) and injury pathologies.

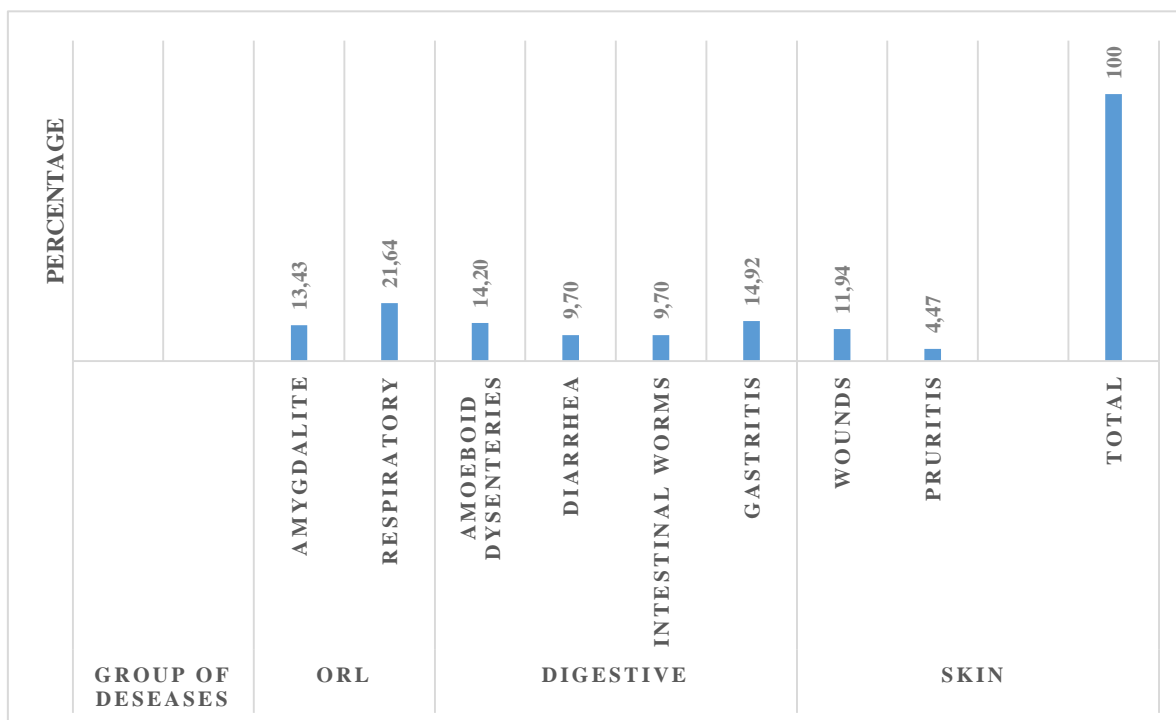


Figure 6. Group of diseases

The medicinal plants were prepared and administered using various methods. In our report, decoction was most commonly used with 51 %, followed by maceration (15%), pressed or squeezed (11%), eaten raw (11%), other methods (7%) and grilled (5%) (Fig 7). An example is the preparation of *Solanum aculeastrum* with *Crinum jagus* mixed with palm wine and other ingredients (pistachio, kernel palm oil) and boiled to cure lung infections. Furthermore, *Trema orientalis*, used in the treatment of angina in the Ndé division, is also boiled with palm wine. Another preparation is decoction or extraction with palm wine after crushing. Fresh or dried plant parts can also be macerated in water or grilled and mixed with palm oil or honey.

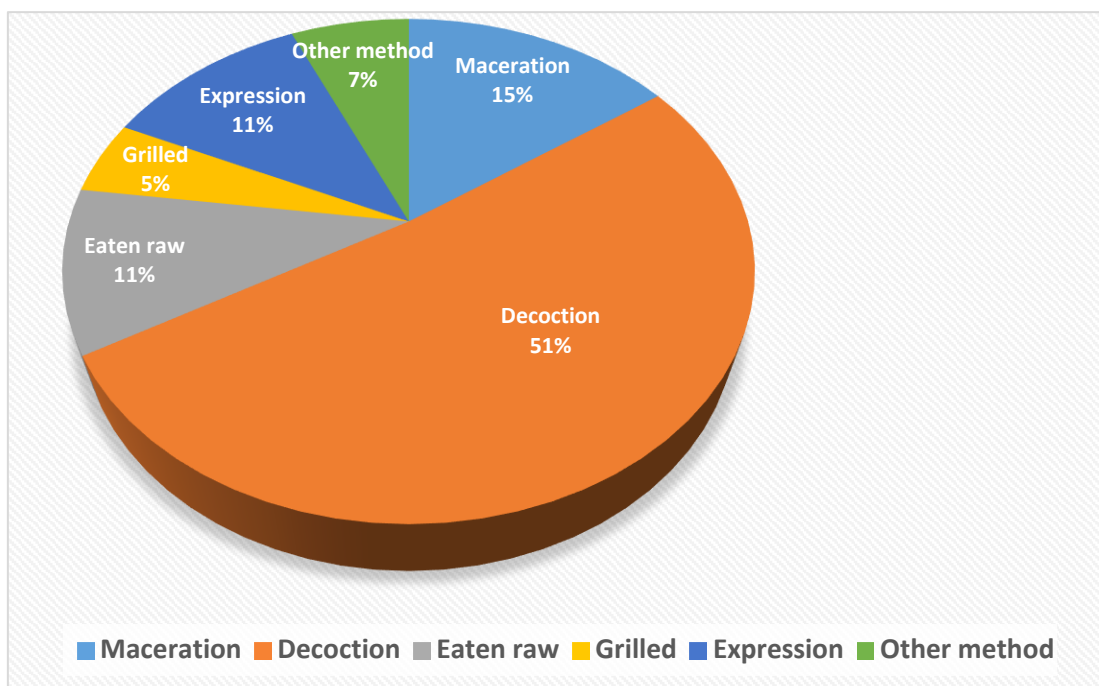


Figure 7. Methods of preparation of the remedies

3.4.3 Administration

Based on the study, different routes were used in the administration of herbal preparations. Oral administration is the common route for the majority of plants used to treat infectious diseases: Fig 8 shows that, oral route represents 61.84% of the total route of administration, where digestive pathologies represented 96.39% of the oral route administration. In the group of ENT pathologies, the oral route is represented with 51.75%, the local route represents 46.15% (drops in the ears, nostrils or remedies rubbed on the chest). An example is the leaf of *Crinum glaucum* that is crushed and rubbed on the chest during a bronchitis fit. Another plant is *Kalanchoe crenata*, which leaves are squeezed until a liquid is obtained and dropped in each nostril in the case of rhinitis. For skin diseases, local application is highly represented 86.79% more than oral and anal route (Fig. 8). We noted that the anal route (1.32%) is rarely used to cure infectious diseases in traditional medicine because of its discomfort. This analysis shows that there is a diversity administration route in the Western region of Cameroon It is the case of *Conyza subscaosa* in which the root is crushed in water and is used to purge, or the shoots chewed with groundnut to cure intestinal worm diseases. We can conclude that the main route of medicinal plant administration is oral. This mode of administration is

commonly used in traditional medicine as reported in other studies in Northern Uganda (Kamatenesi-Mugisha and Oryem-Origa, 2007) and Himalayan (Bhattarai *et al.*, 2010).

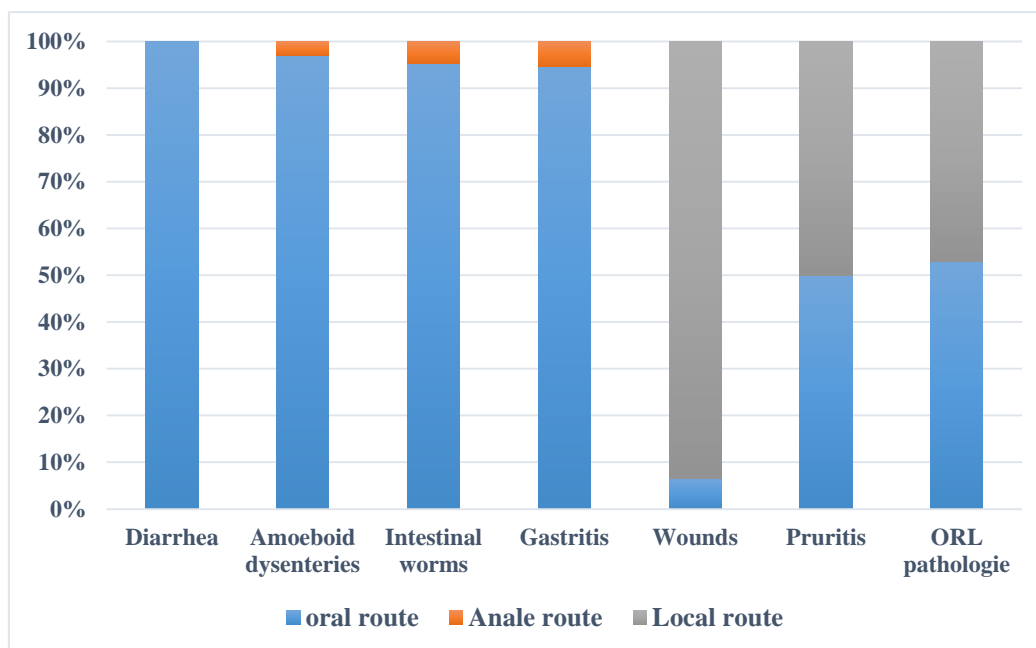


Figure 8. Route of administration

4. Conclusion

This study is the first important ethnobotanical survey on the traditional use of plants in the Western region of Cameroon. The key factor that lead us to do this investigation is that the first treatment of illness in Africa is with medicinal plants, particularly in west Cameroon. Due to this observation, we found that it was necessary to carry out ethnobotanical surveys starting with the Western region of Cameroon. This study enabled us to see that in the four divisions explored, namely the Nde, Haut-Nkam, the Menoua and the Noun there is a diversity of medicinal plants and many of them have not yet been studied. We collected a total of 561 plant species that belong to 44 families, and which are used for the treatment of various ailments in the 4 divisions. Among them, 134 correspond to plants used to cure infectious diseases. Plants given for digestive ailments were the most represented with 48.52% followed by otorhinolaryngology diseases 35.07% and skin diseases 16.41%. Decoction was the main form of presentation of a drug (51%) following by maceration 15%) and oral administration was the principal route. Among the 134 cited plants, 6 of them are particularly used with ($UI \geq 13$) *Emilia*

coccinea, *Euphorbia hirta*, *Erigeron floribundus*, *Solanum aculeastrum*, *Psidium guajava* and *Kalanchoe crenata*. This work is supplementing the knowledge of traditional medicine, and is added to previous works done in the other regions of Cameroon. All the information given by the traditional healers should be confirmed by scientific research in order to assess the safety and the efficacy of these plants, and to evaluate their pharmacological potential.

Abbreviations

ENT: Otorhinolaryngology

F_{IC}: Factor informant concensus

HNC: Herbar National du Cameroun

OAU: Organization of African unity

SRF CAM: Section de Recherche Forestier du Cameroun

UI: Used index

WHO: World Health Organization

Declarations

Ethics approval and consent to participate

Before conducting interviews, prior informed consent was obtained from all participants. No further ethics approval was required.

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The data sets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

« The authors declare that they have no competing interests. »

Funding:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Author's contributions

YF conducted the ethnobotanical survey, analyzed data and drafted the manuscript. YF and VM contributed equally to the manuscript draft of this work. FN and DW are the promoters of the investigation. TM contributed to guiding botanical field survey and the identification of the plants in the herbarium. BB and EO contributed to literature searches, reading and approving the manuscript. All the authors approved the final manuscript.

Acknowledgments

We would like to express our gratitude to all the villagers interviewed in the four divisions during the survey, for their friendship, their availability and their collaboration. We also thank the botanist Dr Tchiengue Barthelemy and his collaborators of the Cameroon National Herbarium for the identification of the plants. At last, we thank all the students who participated in the field during the survey.

References

- Abondo, A., Mbenkum, F., Thomas, D., 1990. Ethnobotany and the medicinal plants of the Korup rainforest project area, Cameroon, in: Proceedings of International Conference on Traditional Medicinal Plants. Arusha, Tanzania, Feb. pp. 18–23.
- Adjanohoun, E., Aboubakar, N., Dramane, K., Ebot, M., Ekpere, J., Enow-Orock, E., Focho, D., Gbile, Z., Kamanyi, A., Kamsu Kom, J., Keita, A., Mbenkum, T., Mbi, C., Mbiele, A., Mbone, I., Mubiru, N., Nancy, W., Nkongmeneck, B., Satabi, B., Sofowora, A., Tamze, V., Wirmum, C., 1996. Contribution to ethnobotanical and floristical studies in Cameroon. CSTR/OUA, Porto-Novo, Benin. Traditional medicine and Pharmacopeia, p. 22p.
- Akendengué, B., Louis, A.M., 1994. Medicinal plants used by the Masango people in Gabon. *J. Ethnopharmacol.* 41, 193–200. doi:10.1016/0378-8741(94)90032-9
- Au, D.T., Wu, J., Jiang, Z., Chen, H., Lu, G., Zhao, Z., 2008. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Hakka in Guangdong, China. *J. Ethnopharmacol.* 117, 41–50. doi:10.1016/j.jep.2008.01.016
- Baerts, M., Lehmann, J., 1989. Guérisseurs et plantes médicinales de la région des crêtes Zaïre-Nil au Burundi, in: *Annales Sciences Economiques*.
- Bagai, Y., 2000. Ethnobotanical features of Aladagar (Yahyali Kayseri) and its vicinity. *Herb J Syst Bot.* 89–94.
- Bhattarai, S., Chaudhary, R.P., Quave, C.L., Taylor, R.S., 2010. The use of medicinal plants in the trans-himalayan arid zone of Mustang district, Nepal. *J. Ethnobiol. Ethnomedicine* 6, 14. doi:10.1186/1746-4269-6-14
- Biyiti, L., Meko'o, D., Tamzc, V., Amvam Zollo, P., 2004. Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm Med Trad Afr* 13:11-20.
- Bokdam, J., Droogers, A., 1975. Contribution à l'étude ethnobotaniques des Wagenia de Kisangani, Zaire. 75.
- Brandelli, C.L.C., Giordani, R.B., De Carli, G.A., Tasca, T., 2009. Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. *Parasitol. Res.* 104, 1345–1349. doi:10.1007/s00436-009-1330-3

- Burkill, H.M., 1994. The useful plants of West Tropical Africa. Vol. 2: Families E - I, 2. ed. ed. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Christine, O., Remigius, B., Nelson, O., 2010. Medicinal plants of Erute country Lira district. Uganda with particular reference to their conservation. *Afr. J. Ecol.* 48 (2):285-29, 117–154.
- Dailly, J., 2008. Synthèse et caractérisation de nouveaux matériaux de cathode pour piles à combustible à conduction protonique PCFC (Protonic Ceramic Fuel Cell). Université Sciences et Technologies-Bordeaux I.
- Dharmadasa, R.M., Akalanka, G.C., Muthukumarana, P.R.M., Wijesekara, R.G.S., 2016. Ethnopharmacological survey on medicinal plants used in snakebite treatments in Western and Sabaragamuwa provinces in Sri Lanka. *J. Ethnopharmacol.* 179, 110–127. doi:10.1016/j.jep.2015.12.041
- Diafouka, A., 1997. Analyse des usages des plantes médicinales dans 4 régions de Congo-Brazzaville. Thèse de Doctorat d'Université libre de Bruxelles. Faculté des Sciences.
- Dibong, S., Mpondo Mpondo, E., Ngoye, A., Kwin, N., Betti, J., 2011a. Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales vendues sur les marchés de Douala, Cameroun. *J. Appl. Biosci.* 37: 2496-2507.
- Din, N., Dibong, S.D., Mpondo, E.M., Priso, R.J., Kwin, N.F., Ngoye, A., 2011. Inventory and identification of plants used in the treatment of diabetes in Douala town (Cameroon). *Eur. J. Med. Plants* 1, 60.
- Djoko, E., Tchanchou, C., Kanmagné, F.-M., Foutse, Y., Fotsing, K., Pierre, Wouessidjewe, D., 2016. Formulation d'un médicament traditionnel amélioré à base de *Kalanchoe crenata* (Andr) haw. HEGEL - HEpato-GastroEntérologie Libérale. doi:10.4267/2042/61675
- El Amrani, F., Rhallab, A., Alaoui, T., El Badaoui, K., Chakir, S., 2010. Étude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet (Maroc). *Phytothérapie* 8, 161–165. doi:10.1007/s10298-010-0552-y
- Fondaf, 2016. Pygmées Bagyeli au Cameroun : Le FONDAF à Bipindi.

- Fonge, B., Egbe, E., Fongod, A.G., Focho, D., Tchetcha, D., Nkembi, L., Tacham, W., 2008. Ethnobotany survey and uses of plants in the Lewoh- Lebang communities in the Lebialem highlands, South West Region, Cameroon. *J. Med. Plants Res.* 2(8), 197–206.
- Hamill, F.A., Apio, S., Mubiru, N.K., Bukenya-Ziraba, R., Mosango, M., Maganyi, O.W., Soejarto, D.D., 2003. Traditional herbal drugs of Southern Uganda, II: literature analysis and antimicrobial assays. *J. Ethnopharmacol.* 84, 57–78.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O., 1998. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. *Soc. Sci. Med.* 47, 1859–1871. doi:10.1016/S0277-9536(98)00181-6
- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B.A., Mapongmetsem, P.M., Tsabang, N., 2010. Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *Int. J. Med. Med. Sci.* 2, 60–79.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., others, 2009. Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 3, 144–150.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Tsabang, N., Nkuinkeu, R., Mapongmetsem, P., Nkongmeneck, B., 2008. Ethnobotany and phytopharmacopoea of the SouthWest ethnoecological region of Cameroon. *J. Med. Plants Res.* 2, 197–206.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Tsabang, N., Nkuinkeu, R., Mapongmetsem, P.M., Nkongmeneck, B.A., 2008. Ethnobotany and phytopharmacopoea of the South-West ethnoecological region of Cameroon. *J. Med. Plants Res.* 2, 197–206.
- Kamatenesi-Mugisha, M., Oryem-Origa, H., 2007. Medicinal plants used to induce labour during childbirth in western Uganda. *J. Ethnopharmacol.* 109, 1–9. doi:10.1016/j.jep.2006.06.011
- Kazeem, M.I., Oyedapo, B.F., Raimi, O.G., Adu, O.B., 2013. Evaluation of *Ficus exasperata* Vahl. Leaf Extracts in the Management of Diabetes Mellitus in vitro. *J. Med. Sci.* 13, 269–275. doi:10.3923/jms.2013.269.275

- Ladoh-Yemeda, C., Vandi, T., Dibong, S., Mpondo Mpondo, E., Wansi, J., Betti, J., Choula, F., Ndongo, D., Tomedi Eyango, M., 2016. Étude ethnobotanique des plantes médicinales commercialisées dans les marchés de la ville de Douala, Cameroun. *J. Appl. Biosci.* 99, 9450. doi:10.4314/jab.v99i1.11
- Mahmood, A., 2012. Indigenous medicinal knowledge of common plants from district Kotli Azad Jammu and Kashmir Pakistan. *J. Med. Plants Res.* 6, 4961–4967. doi:10.5897/JMPR12.703
- Mpondo Mpondo, E., Dibong, S., Ladoh, Y., Priso, R., Ngoye, A., 2012. Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *J. Anim. Plant Sci.* 2083–2098.
- Ndjouondo, G., Ngene, J., Ngoule, C., Kidik Pouka, M., R.C Ndjib, Dibong, S., Mpondo Mpondo, 2012. Inventaire et caractérisation des plantes médicinales des sous bassins versants Kambo et Longmayagui (Douala, Cameroun). *J. Med. Plants Res.* 855–865,9.
- Neba, A., 1999. *Modern Geography of the Republic of Cameroon*, 3rd ed. Neba Publishers, Bamenda.
- Ngene, J.-P., Ngoule, C., Pouka Kidik, C.-M., Mvogo Ottou, P., Dibong, S., Mpondo Mpondo, E., 2015. Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun). *J. Appl. Biosci.* 88, 8194. doi:10.4314/jab.v88i1.6
- Nguimatsia, F., Boutsie, J., Baril, F., Amoros, M., Girre, L., 1998. Les médicaments des pygmées Baka du Cameroun: moeurs thérapeutiques, maladies et inventaire des plantes médicinales. *Fitoterapia* 69, 29–40.
- Nkwi, P.N., Socpa, A., 2011. Chapter Fifteen Ethnicity and Party Politics in Cameroon: The Politics of Divide and Rule. *Reg. Balance Natl. Integr. Cameroon Lessons Learn. Uncertain Future* 1, 247.
- Noumedem, E., Nsiempba, J., 2016. Yemba Canada | Ressorissants Camerounais de la Menoua au Canada [WWW Document]. <http://www.yembacanada.org/>. URL (accessed 5.24.17).
- Nzoussa, Y., 2014. Contribution à l'étude ethnopharmacologique dans le département du Noun (Cameroun) (Thesis in pharmacy). Université des Montagnes.

- Obadoni, O., Ochuko, P., 2002. Phytochemical Studies And Comparative Efficacy Of The Crude Extracts Of Some Haemostatic Plants In Edo And Delta States Of Nigeria Global. *J. Pure Appl. Sci.* 203–208.
- OMS, 2002. Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Genève 78P.
- OMS, 1996. Classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé connexes,. Genève 3.
- Soelberg, J., Asase, A., Akwetey, G., Jäger, A.K., 2015. Historical versus contemporary medicinal plant uses in Ghana. *J. Ethnopharmacol.* 160, 109–132. doi:10.1016/j.jep.2014.11.036
- Tabuti, J.R., Kukunda, C.B., Kaweesi, D., Kasilo, O.M., 2012. Herbal medicine use in the districts of Nakapiripirit, Pallisa, Kanungu, and Mukono in Uganda. *J. Ethnobiol. Ethnomedicine* 8, 35.
- Tchewo, A., 1988. Bangangté et sa région : Histoire et société, 1916-1970 (mémoire pour l’obtention du DIPES II).
- Telefo, P.B., Lemfack, M.C., Bayala, B., Lienou, L.L., Goka, C.S., Yemele, M.D., Mouokeu, C., Tagne, S.R., Moundipa, F.P., 2012. Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de l’infertilité féminine dans les localités de Fossong-Wentcheng et Foto, Cameroun. *Phytothérapie* 10, 25–34. doi:10.1007/s10298-011-0678-6
- Telefo, P.B., Lienou, L.L., Yemele, M.D., Lemfack, M.C., Mouokeu, C., Goka, C.S., Tagne, S.R., Moundipa, F.P., 2011. Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of female infertility in Baham, Cameroon. *J. Ethnopharmacol.* 136, 178–187. doi:10.1016/j.jep.2011.04.036
- Tugume, P., Kakudidi, E.K., Buyinza, M., Namaalwa, J., Kamatenesi, M., Mucunguzi, P., Kalema, J., 2016. Ethnobotanical survey of medicinal plant species used by communities around Mabira Central Forest Reserve, Uganda. *J. Ethnobiol. Ethnomedicine* 12:5.
- Youba, M., 2014. Contribution à l’étude ethnopharmacologique des plantes médicinales à SA’A dans le département de la Lékié (Cameroun) (Thesis in pharmacy). Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales.

4. Choix des plantes à étudier

A partir de nos travaux d'enquête, le choix des plantes en vue de poursuivre les études phytochimiques et pharmacologiques s'est effectué selon 4 critères principaux :

- Les plantes facilement disponibles et abondantes
- Les plantes les plus citées par les tradipraticiens
- Les plantes ayant un large spectre d'action selon les tradipraticiens
- Les données bibliographiques scientifiques

En tenant compte de ces critères, les quatre plantes retenues sont : *Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Azelia africana*. Les critères de choix de chaque plante sont présentés ci-dessous.

Pour ces plantes, nous allons :

- dans un premier temps, faire une synthèse bibliographique sur la botanique, la composition chimique, les propriétés pharmacologiques et l'utilisation traditionnelle de chaque plante,
- dans un deuxième temps, nous allons effectuer un travail de laboratoire, en commençant par la préparation de différents extraits végétaux qui seront soumis à un screening pharmacologique préliminaire dans une démarche de fractionnement bioguidé.

**CHAPITRES IV : ETUDE DES QUATRE
PLANTES SELECTIONNEES: *TERMINALIA
AVICENNIOIDES, CROSSOPTERIX FEBRIFUGA,
VITELLARIA PARADOXA, AFZELIA AFRICANA***

1. Etude des quatre plantes sélectionnées : *Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa*, *Azelia africana*

1.1. Données bibliographiques

1.1.1. *Terminalia avicennioides* Guill. & Perr.

Systematique (<http://www.tropicos.org/>)

Taxonomie :

Classe : Equisetopsida

Famille : Combretaceae.

Sous-classe : Magnoliidae

Genre : *Terminalia*

Superordre : Rosanae

Espèce : *avicennioides*

Ordre : Myrtales

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

1.1.1.1. Aspects botaniques

Description : (figure 4)

T. avicennioides est un arbuste ou petit arbre, de 7 à 10 mètres de haut, à cime ouverte, visible de loin avec ses feuilles blanchâtres. L'écorce est profondément crevassée, liégeuse, de couleur gris foncé à noire, épaisse, à tranche jaunâtre, brunissant rapidement. Le rameau tomenteux est blanc rosâtre et reste longtemps fibreux.

Feuilles : elles sont alternes, étroitement elliptiques (2,5 à 4 fois plus longues que larges), à pubescence veloutée (poils plus ou moins crépus) beige grisâtre. Le limbe à sommet et à base plus ou moins obtus, présente une pubescence feutrée, disparaissant plus ou moins sur le dessus des feuilles âgées, mais persistant dessous. Le pétiole est tomenteux, de 10 à 30 mm de long. La nervure pennée est peu saillante, possède 10 à 16 paires de nervures secondaires ascendantes, se raccordant plus ou moins vers le sommet. Parfois, il y a 2 glandes à la base de la nervure primaire dessous. Les nervilles sont plus ou moins réticulées et apparaissent déprimées dessus [37].

Fruit : c'est une samare oblongue elliptique, tomenteuse, présentant une aile disposée autour de la graine, à base tronquée et à sommet tronqué et mucroné, 2 à 3 fois plus longue que large. Les graines sont en fuseau.

Inflorescence : elle est racème axillaire spiciforme, tomenteuse, plus ou moins rose, de 10 à 12 cm de long. La fleur apétale, possède un calice à 5 lobes densément tomenteux.

Les fleurs : elles sont tomenteuses à réceptacle inférieur fusiforme, les étamines à filets de 3,5 mm et anthères de 0,7 mm de longueur, le style de 3 mm est pubescent vers le bas. Elles fleurissent à la seconde partie de la saison sèche, juste après l'apparition des premières feuilles [38].

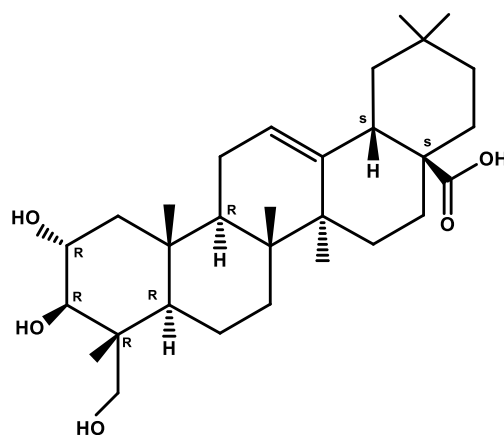


Figure 4 : Tronc, feuilles et fruits de *Terminalia avicennioides*

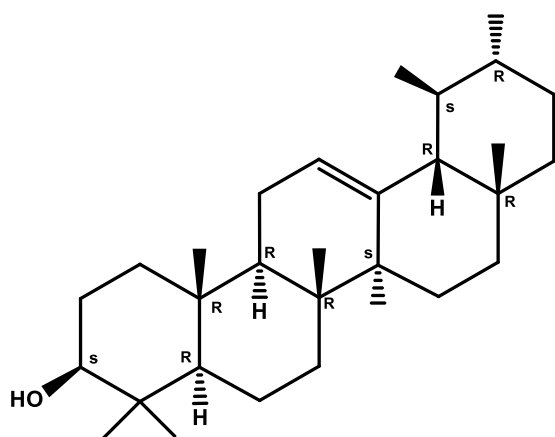
Habitat et répartition géographique : c'est une espèce des savanes et des forêts sèches nord-soudaniennes à guinéennes poussant surtout sur les sols sableux en jachère; elle est répandue au Sénégal, au Tchad et au Nord-Cameroun jusqu'en Ethiopie. Au Cameroun, on la trouve au Nord de la falaise septentrionale de l'Adamaoua, particulièrement en zone soudano-sahélienne et sahélo-soudanienne [37]. Quelques espèces poussent aussi dans la région de l'Ouest-Cameroun plus précisément dans la réserve du Noun.

1.1.1.2. Composition chimique

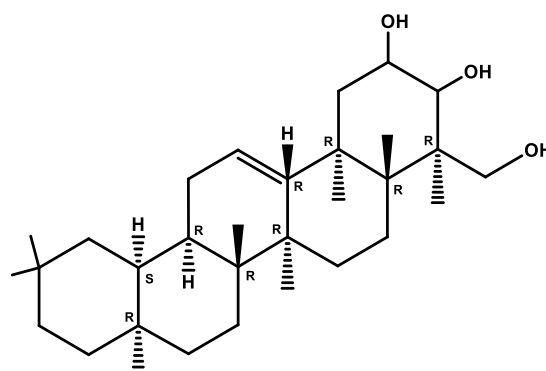
D'après un screening chimique réalisé en 1999, un extrait hydroalcoolique des écorces de tige serait riche en tanins et saponines[39]. Par ailleurs, un screening chimique d'un extrait éthanolique des racines a montré que la plante contenait des alcaloïdes, des tanins, des saponines, des anthraquinones, des flavonoïdes, des naphthoquinones, des sesquiterpènes et des acides phénols [40–42]. Des essais du même type montrent, pour un extrait aqueux des racines, la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de phénols, de tanins, de terpènes et de saponines [43]. Plus récemment, le fractionnement bioguidé d'un extrait des racines de *T. avicennioides*, présentant des activités antifongiques intéressantes, a conduit à l'isolement de trois triterpènes, l'acide arjunolique, l' α -amyrine et le 2,3,23-trihydroxyléan-12-ène (figure 5)[44].



Acide arjunolique



α -amyrine



2,3,23-trihydroxyoléan-12-ène

Figure 5 : Acide arjunolique, α -amyrine, 2,3,23-trihydroxyoléan-12-ène

Un fractionnement bioguidé par l'évaluation de l'activité antiplasmodiale d'un extrait butanolique des écorces de tronc de *T. avicennioides*, récolté au Nigeria, a abouti à l'isolement de l'acide flavogallonique, de la punicalagine et de la terchébuline (figure 6) [45]. D'autre part, un fractionnement bioguidé par l'activité antiplasmodiale d'un extrait acétate d'éthyle des feuilles de *T. avicennioides*, récoltées au Burkina Faso, a permis d'isoler l'acide ellagique, responsable de l'activité antiplasmodiale [46].

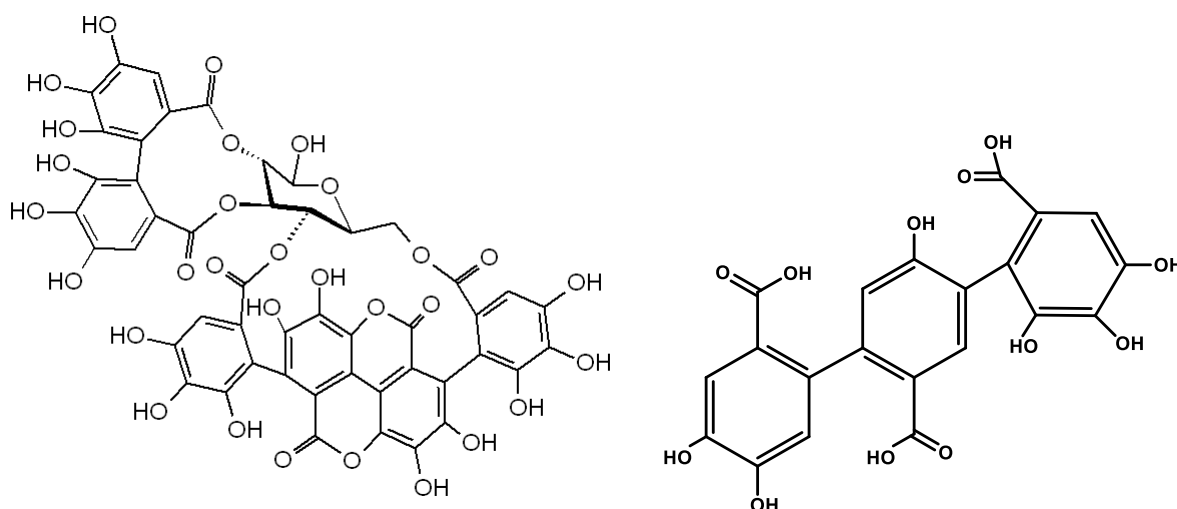


Figure 6 : Punicalagine et acide flavogallonique

1.1.1.3. Pharmacologie

En 1969, des études menées au Nigéria, sur un extrait aqueux des écorces de racines de *T. avicennioides*, ont montré des activités antimicrobiennes et antifongiques sur *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus* et *Mycobacterium phlei* [47].

Par la suite, des tests antifongiques ont été menés, en 1999 par Baba-Moussa et *T. avicennioides* s'est avéré être la plus active des plantes testées sur les souches fongiques suivantes : *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*. Par ailleurs, des travaux menés en Tanzanie ont montré une activité antifongique, *in vitro*, d'extraits chloroformique, éthanolique, méthanolique, acétate d'éthyle et aqueux des racines de *T. avicennioides*, sur *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium sp*, *Microsporium audouinii* et *Trichophyton rubrum* par la technique de croissance radiale. Les CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) étaient comprises entre 0,03 - 0,07 µg/ml tandis que les CMF

(Concentration Minimale Fongicide) variaient de 0,04 - 0,08 µg/ml. L'extrait éthanolique était le plus actif [48].

De nombreux travaux ont été réalisés sur les activités antibactériennes, *in vitro*, de cette plante. Tout d'abord, un extrait a montré une importante activité vibriocide *in vitro* (*Vibrio cholerae*) [49]. Puis, les tests réalisés avec des extraits aqueux et éthanolique, sur des souches résistantes de *S. typhi* (MDR), ont montré une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 9,60 µg/ml et une concentration minimale bactéricide (CMB) de 24 µg/ml [40]. Des essais, *in vitro*, menés par la même équipe, sur des souches de *Staphylococcus aureus* multirésistantes à la méthicilline (MRSA), avec des extraits éthanoliques et aqueux ont montré une activité intéressante avec une CMI de 18,2 µg/ml et une CMB de 43,0 µg/ml [50].

Par ailleurs, des travaux menés en Afrique de l'ouest ont montré une activité importante sur des souches multirésistantes d'*Escherichia coli*, de *Klebsiella pneumoniae* et de *Salmonella typhi* [42].

D'autre part, en 2010, un extrait méthanolique d'écorces de racines a montré, *in vitro*, une inhibition intéressante de *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus spp*, *Lactobacillus spp* et *Pseudomonas aeruginosa* comparativement à la streptomycine [51]. Les composés responsables de l'activité antibactérienne n'étaient pas isolés.

Plus récemment, un extrait méthanolique des écorces du tronc a montré des propriétés antibactériennes, *in vitro*, sur différentes bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) [52].

L'activité d'une décoction (mélange de *Ocimum gratissimum*, *Momordica basalmia* et *T. avicennioïdes*) a été démontrée sur des isolats de *Shigelles* résistantes, isolées de patients souffrant de dysenterie bacillaire au Nigeria [53].

En 2006, des travaux ont porté sur l'activité anti-trypanosome, *in vitro* et *in vivo*, au Mali. Des extraits de *T. avicennioïdes*, chlorométhylénique, méthanolique et aqueux, préparés à partir des feuilles, et chlorométhylénique préparé à partir des écorces de racines, ont montré des activités intéressantes, *in vitro*, sur *Trypanosoma brucei brucei*. Puis, des tests *in vivo*

ont été réalisés sur des souris infectées par *Trypanosoma brucei brucei*. L'extrait aqueux des feuilles réduit la parasitémie chez les animaux traités à 100 mg/kg par voie intrapéritonéale, 2 fois par jour, pendant 3 jours [54]. D'autres travaux effectués dans le nord du Nigeria en 2011, sur des souris infectées par *Trypanosoma brucei brucei*, ont montré qu'un extrait méthanolique du fruit de *T. avicennioides*, testé à 200 et 300 mg/kg (voie intrapéritonéale), a réduit la parasitémie sans éliminer la totalité des parasites [51].

L'activité antiplasmodiale de *T. avicennioides* a également été évaluée *in vitro* et *in vivo*. Les essais réalisés par Shuaibu *et al.* en 2008 sur deux souches de *Plasmodium falciparum*, montrent, pour un extrait méthanolique des écorces de tronc de *T. avicennioides*, une CI₅₀ de 12 µg/ml sur la souche 3D7 (souche chloroquinosensible) et une CI₅₀ de 14 µg/ml sur la souche K1 (souche chloroquinorésistante). D'autre part, des tests *in vitro*, effectués en 2014, ont montré qu'un extrait méthanolique des feuilles de *T. avicennioides* du Burkina-Faso avait une activité antiplasmodiale sur *Plasmodium falciparum* (K1) avec une CI₅₀ = 3,5 µg/ml. Le fractionnement bioguidé de cet extrait a permis d'isoler l'acide ellagique présentant une CI₅₀ = 0,2 µM [46]. L'extrait méthanolique des écorces de tronc de *T. avicennioides* a été testé, *in vivo*, chez les souris infectées par *Plasmodium bergeri* (NK-65). Les résultats ont montré une suppression de la parasitémie par l'artésunate et l'extrait de *T. avicennioides* à 100 et 200 mg/kg. Après un jour de traitement, les pourcentages de suppression étaient respectivement de 11 et 18%; le 5^{ème} jour, les pourcentages étaient respectivement de 77 et 84 %. L'activité antipaludique de *T. avicennioides* est comparable à celle de l'artésunate dans cet essai [55].

Un extrait méthanolique obtenu à partir d'écorces de tiges de *T. avicennioides* a été testé, *in vitro*, sur la forme promastigote de différentes souches de Leishmania (*L. aethiopica*, *L. amazonensis* et *L. donovani*). L'activité la plus intéressante a été observée sur *L. amazonensis*[45]. La même équipe a testé également cet extrait, *in vitro*, sur les parasites responsables de la trypanosomiase africaine, ou maladie du sommeil (formes trypomastigotes de *Trypanosoma brucei brucei*, *T. b. gambiense*, *T. b. rhodesiense*, *Trypanosoma evansi*) avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 12,5-17,5 mg/ml [56]. *T. avicennioides* fait partie des plantes utilisées traditionnellement dans la région de Kaduna au Nigeria dans le traitement de la trypanosomiase africaine [57].

Par ailleurs, d'autres travaux, réalisés au Nigéria, ont porté sur l'évaluation, *in vivo*, de l'activité antiulcéreuse d'un extrait hydrométhanolique (70%) des racines de *T. avicennioides*, sur les rats dont les ulcères gastriques étaient provoqués par l'acide chlorhydrique (HCl). Les animaux traités par l'extrait de *T. avicennioides* ont montré une diminution des ulcères gastriques à 350, 500 et 900 mg/kg ($p < 0,05$). A ces doses, on observe une augmentation significative de la production de mucus. Par ailleurs, l'extrait hydrométhanolique n'a montré aucune toxicité apparente sur les souris traitées à 1000 mg/kg ou moins [58].

Un mélange d'écorces de racines d'*Anogeissus leiocarpus* et de *Terminalia avicennioides* est utilisé en médecine traditionnelle dans le traitement de tumeurs. L'activité antiproliférative, *in vitro*, d'un extrait aqueux du mélange des deux écorces de racines a été testée sur des cellules tumorales d'ascite d'Ehrlich à diverses concentrations (0 à 1000 µg/ml). Cet extrait montre une diminution de la viabilité des cellules de façon dose et temps dépendante [43].

D'autre part, l'activité antidiarrhéique d'un extrait aqueux de racines de *T. avicennioides* a été évaluée sur des jéjunums de lapin isolés, et sur la diarrhée de la souris induite par de l'huile de castor (100, 200 et 400 mg/kg). Les résultats ont révélé que l'extrait a entraîné une inhibition dose-dépendante du mouvement pendulaire spontané du jéjunum de lapin et a atténué les contractions induites par l'acétylcholine. L'extrait a également causé une diminution dose-dépendante du transit intestinal et a manifestement protégé les souris contre la diarrhée induite par l'huile de castor. La DL_{50} de l'extrait est de 871,4-917,4 mg/kg chez la souris [59].

Des propriétés antifongiques *in vitro*, ont été aussi prouvées pour cette plante. C'est le cas de l'extrait méthanolique des racines qui a montré une activité antifongiques sur les souches d'*Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium sp*, *M. audouinii* et *T. rubrum* [48]. Egalement l'extrait méthanolique de l'écorce du tronc a aussi des propriétés antibactériennes sur *S. typhi* et *E. coli* et des propriétés antifongiques sur *Candida glabrata*, *Candida kruzei* et *Cryptococcus neoformans* [52].

En conclusion, *Terminalia avicennioides* possèdent des propriétés antiparasitaire (souches de *Plasmodium falciparum* et *Tripanosoma brucei brucei*), antibactériennes, antifongiques et vibrocides.

1.1.1.4. Ethnopharmacologie

L'écorce de la racine est utilisée en médecine traditionnelle au Nigéria dans le traitement des dysménorrhées, des ménorragies, des helminthiases, des trypanosomiasés, des diarrhées, de la tuberculose, de la toux, des plaies surtout pour une meilleure cicatrisation des infections de la peau [44,48,51,60], des troubles gastro-intestinaux, des ulcères, des caries dentaires et des hémorroïdes au Cameroun [6].

L'écorce du tronc est utilisée dans le traitement du paludisme, des trypanosomiasés et des diarrhées [61,62].

La plante entière (feuilles, écorces du tronc et de la racine) est utilisée au Nigéria dans le traitement des ulcères gastroduodénaux, des diarrhées, des plaies, des infections des voies respiratoires, des trypanosomiasés, des infections de la peau, de la syphilis et des caries dentaires [51,58].

Les feuilles et racines sont indiquées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles, des bronchites, des maladies vénériennes et des plaies [38]. Enfin, les feuilles sont réputées pour soigner la toux, les brûlures et l'amibiase à l'ouest Cameroun [6].

1.1.2. *Crossopteryx febrifuga* (Afzel. ex G. Don) Benth

Systématique (<http://www.tropicos.org>)

Taxonomie :

Classe : Equisetopsida

Famille : Rubiaceae

Sous-classe : Magnoliidae

Genre : *Crossopteryx*

Superordre : Asteranae

Espèce : *febrifuga*

Ordre : Gentianales

Synonymes :

Chomelia buchananii K. Schum.

Rondeletia africana Winterb.

Crossopteryx africana Baill.

Rondeletia febrifuga Afzel. ex G. Don

Crossopteryx kotschyana Fenzl

Tarenna angolensis Hiern

1.1.2.1. Aspects botaniques

Description : (figure 7)

Crossopteryx febrifuga est un arbre à feuilles caduques de savane, de 1,8 à 15 m de haut, avec une cime arrondie et des rameaux pendants. L'écorce gris pâle à brun foncé, est écailleuse, finement réticulée avec des jeunes tiges glabres densément pubescentes [63]

Feuilles : elles sont en lame elliptique, elliptique - oblongue, ovale, obovale ou presque ronde, mesurant 1,5 à 13,5 cm de long et 1,2 à 7,5 cm de large, elles sont arrondies et courtement acuminées à l'apex, largement cunéiformes et arrondies à la base, glabres et densément pubescentes ou veloutées. Le pétiole mesure 0,5 à 1,8 cm de long et les stipules, de 2-3 mm de long, sont acuminées.

Inflorescences : elles sont denses et fortement parfumées, de 6-10 cm de long, avec des pédoncules de 6 cm de long. Le tube du calice est long de 1 mm, les lobes elliptiques sont linéaires de 0,5 à 1,5 mm de long, obtus ou aigus. La corolle est blanc crème ou jaune pâle, densément pubescente à l'extérieur, le tube est teinté en rose et mesure 5-11

mm de long, les lobes sont ronds de 1,5 mm de long et de large. Le style mesure 3-5 mm de long et 2,5 à 3,5 mm de large.

Fruit : il est globuleux, violet foncé ou noir et présente un diamètre de 6-10 mm.



Figure 7 : Feuilles et fruits de *Crossopteryx febrifuga*

Habitat et répartition géographique : *Crossopteryx* est un genre africain mono spécifique avec une large distribution. C'est une plante originaire d'Angola, du Burkina Faso, de Côte d'Ivoire, de République Démocratique du Congo, d'Ethiopie, du Kenya, du Mozambique, du Sénégal, d'Afrique du sud, du Soudan, de Tanzanie, d'Uganda et du Zimbabwe. On retrouve la plante dans les savanes du Centre, de l'Est et de l'Ouest de l'Afrique.

1.1.2.2. Composition chimique

Les travaux menés par Clemens *et al* en 1987, sur les écorces de racines récoltées au Ghana, ont permis d'isoler un iridoïde, l'ester méthylique du shanzhizide (Figure 8), [64].

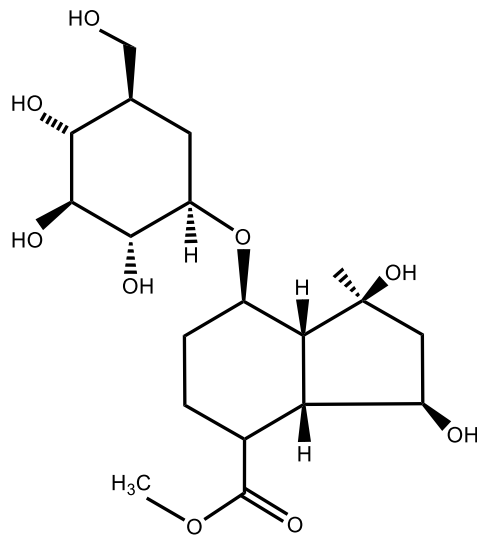


Figure 8 : Ester méthylique du shanzhizide

En 1988, l'acide bétulinique, un triterpène, fut isolé des écorces des racines et 9 flavonoïdes furent isolés des feuilles : la vitexine, l'isovitexine, l'orientine, l'isoorientine, la myricétine 3-galactoside, la quercétine 3-arabinoside, la quercétine 3-galactoside, la quercétine 3-glucoside, la quercétine 3-rutinoside et la quercétine 4'-glucoside [65] (Figures 9, 10, 11,12,13, 14).

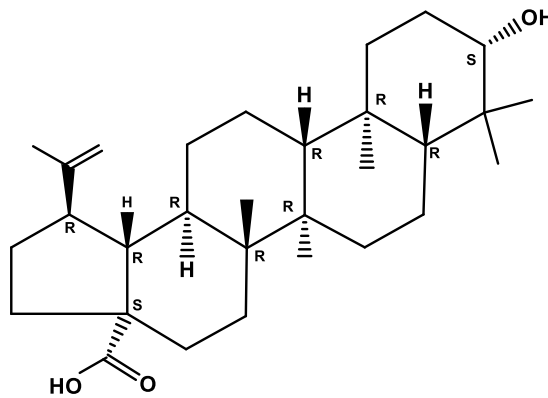


Figure 9 : Acide bétulinique

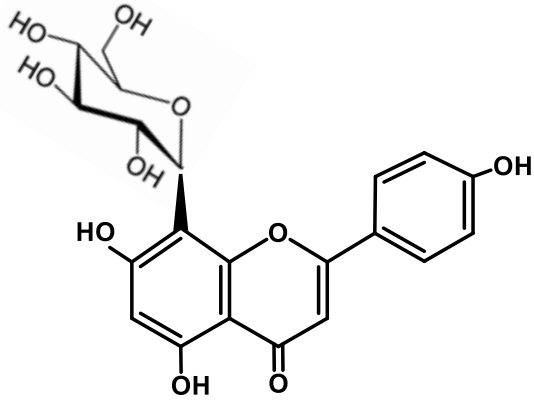


Figure 11 : Vitexine

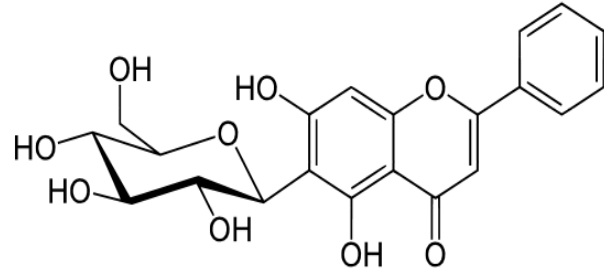


Figure 10 : Isovitexine

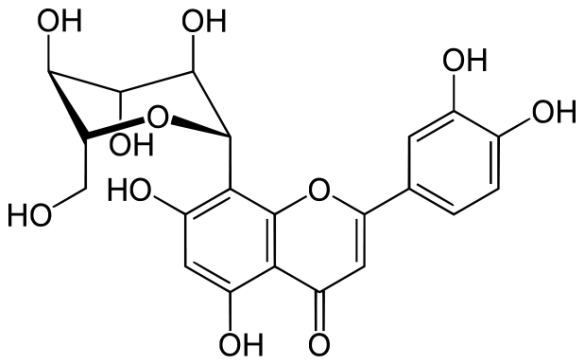


Figure 13 : Orientine

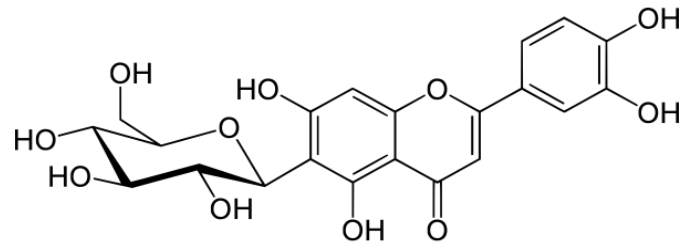
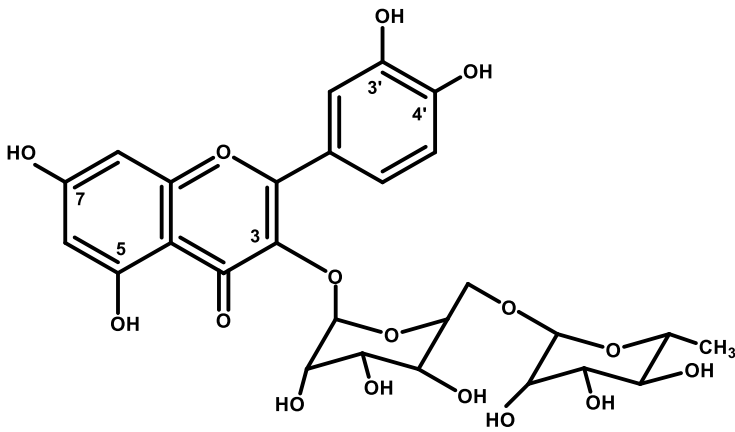
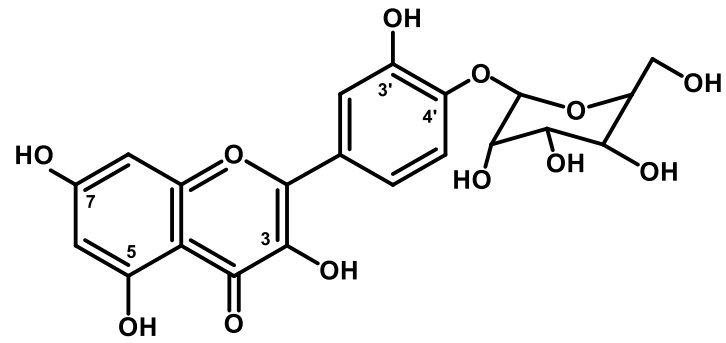


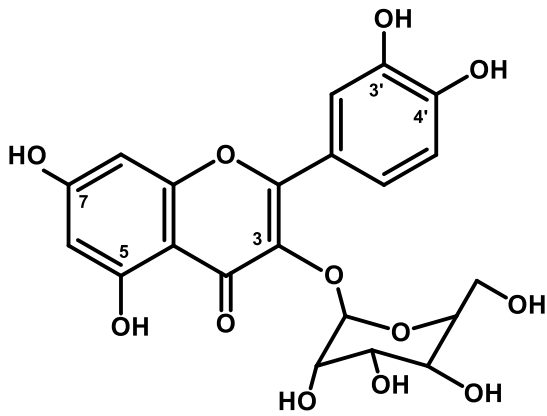
Figure 12 : Isoorientine



Quercétine 3-rutinoside



Quercétine 4' glucoside



Quercétine 3-glucoside

Figure 14 : Quercétine 3- rutinoside, Quercétine 4'- glucoside),

Quercétine 3- glucoside)

Des saponines triterpéniques (crossoptines A et B) (figure 15) ont été isolées d'un extrait méthanolique (80 %) des écorces et des racines de *C. febrifuga* par chromatographie sur colonne de silice, après extraction liquide/liquide et complexation avec le cholestérol [66].

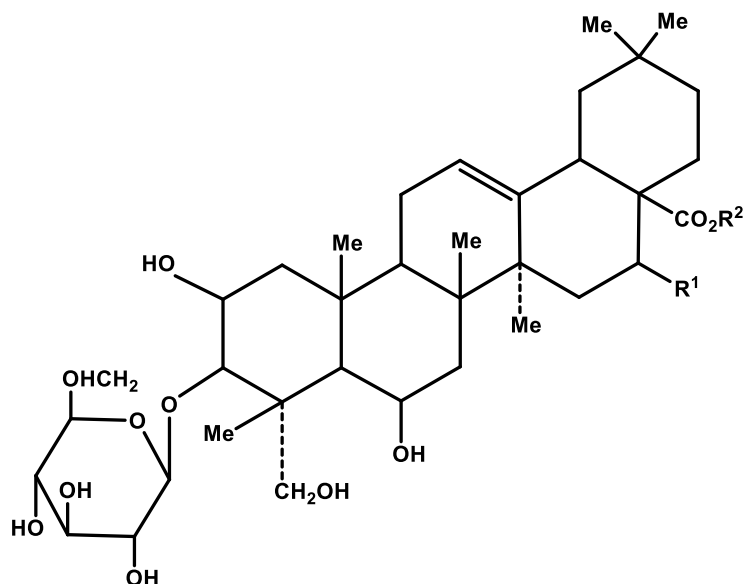


Figure 15 : Crossoptines A ($R_1 = H$) et B ($R_1 = OH$) $R^2 =$ tétrasaccharidique de masse 573 ou pentasaccharide de masse 705

Par la suite, 2 autres saponines bidesmosidiques ont été isolées d'un extrait méthanolique de racines : acide 3-O- β -D-glucopyranosyl-2 β ,3 β ,6 β ,16 α ,23-pentahydroxyolean-12-en-28-oïque,28-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 3)][β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 4)][α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)] α -L-arabinopyranoside et l'acide 3-O-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 3)] β -D-glucopyranosyl-2 β ,3 β ,6 β ,16 α ,23-pentahydroxyolean-12-en-28-oïque [67].

Par ailleurs, Babady et collaborateurs en 1991 ont isolé une autre saponine triterpénique d'un extrait butanolique des écorces de racine, l'acide 3 β -(α -L-rhamnopyranosyloxy)-28-O-(β -D-glucopyranosyl) urs-12,20(30)-diène-27,28-dioïque (figure 16). La même équipe a ensuite isolé une autre saponine des racines : l'acide 3 β -O-(β -D-glucopyranosyl)-28-O-(β -D-glucopyranosylester)-20(30)-enequinovique (figure 17)[68].

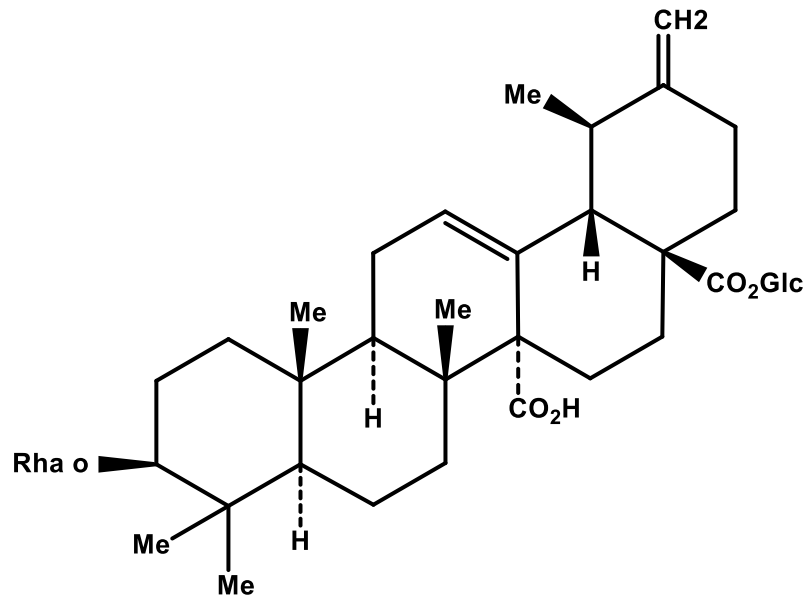


Figure 16 : Acide 3 β -(α -L-rhamnopyranosyloxy)-28-O-(β -D-glucopyranosyl) urs-12,20(30)-diene-27,28-dioïque

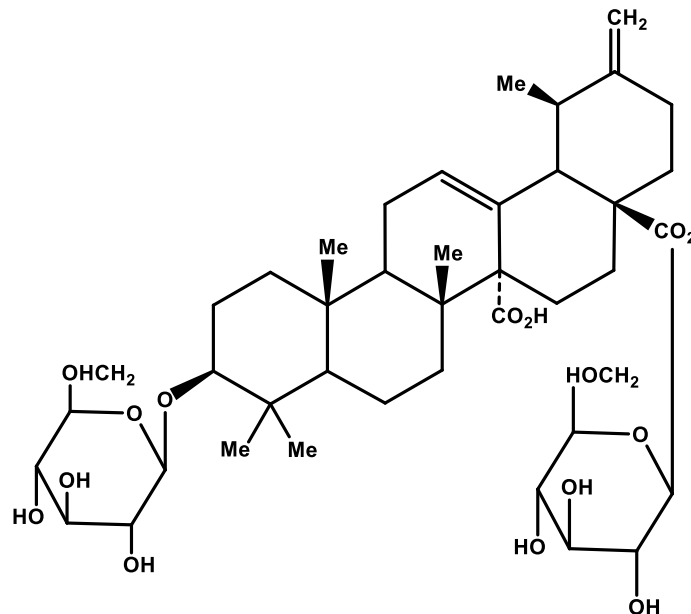


Figure 17 : Acide 3 β -O-(β -D-glucopyranosyl)-28-O-(β -D-glucopyranosylester)-20(30)-ene quinovique

Par ailleurs, Sutovska en 2009 isole, à partir d'un extrait hydro-éthanolique (1:1) des fruits, un polysaccharide de type pectique, riche principalement en acide galacturonique (70 %)[69].

1.1.2.3. Pharmacologie

En 1988, un brevet a été déposé par Foresta *et al.* sur des activités anti-inflammatoires, *in vivo*, des crossoptines A et B, isolées d'un extrait méthanolique des écorces et des racines de *C. febrifuga*. Ces deux composés ont montré une activité intéressante sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat [66].

Par ailleurs, des tests *in vitro* réalisés au Mali sur l'activité antibactérienne d'une décoction et d'un extrait méthanolique de *C. febrifuga* sur des isolats de *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* et *Moraxella catarrhalis* ont montré une activité modérée sur *S. aureus* [70].

Des travaux sur l'activité antitussive, *in vivo*, d'un extrait éthanolique du fruit, ainsi que d'un extrait polysaccharidique ont été réalisés sur la toux induite par l'acide citrique et sur la réactivité des voies aériennes chez le cochon d'Inde. Les extraits n'ont montré aucune activité à 50 mg/kg [69].

Une autre étude portant sur l'activité amibicide et spasmolytique, *in vitro*, a été réalisée sur un extrait aqueux des feuilles fraîches récoltées en République Démocratique du Congo et sur différents extraits obtenus après extraction liquide/liquide. Les extraits ont montré une inhibition modérée de *Entamoeba histolitica* ($8,5 < \text{MAC} < 50 \mu\text{g/ml}$), (MAC = Concentration Minimale Amoebicide), le plus actif étant l'extrait obtenu par extraction liquide/liquide avec du butanol (MAC = $8,5 \mu\text{g/ml}$). L'extrait aqueux a également montré des activités antispasmodiques avec 94,55 % d'inhibition des contractions induites par l'acétylcholine sur l'iléon isolé de cochon d'Inde [71,72].

D'autre part, un extrait méthanolique de l'écorce du tronc n'a pas montré d'activité, *in vitro*, sur les souches bactériennes et fongiques testées (*Bacillus cereus*, *Mycobacterium fortuitum*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*)[73]. D'autres tests antibactériens, réalisés sur les extraits hexanique, acétonique et éthanolique des écorces de tige, ont montré une activité sur *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'activité la plus importante a été obtenue avec l'extrait acétonique (300 mg/ml) et une plus faible activité pour l'extrait éthanolique (100 mg/ml), aucune activité n'a été observée pour l'extrait hexanique [74]. D'autres travaux portant sur l'activité antibactérienne et antifongique d'un extrait méthanolique des

écorces de racine ont été menés par une équipe du Nigéria sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*. L'extrait a inhibé la croissance des bactéries Gram – et Gram + avec des zones d'inhibition de 7 à 23 mm à 50 µg/ml, 100 µg/ml et 200 µg/ml. L'extrait n'a pas montré d'activité significative sur les souches de champignons, seule une activité a été observée sur *Aspergillus fumigatus* à 400 µg/ml et 500 µg/ml avec des zones d'inhibition de 8 mm et 12 mm respectivement [74]

Par ailleurs, différents travaux ont étudié l'activité antiplasmodiale de *C. febrifuga*. Les extraits aqueux, hydro-méthanolique (50/50), méthanolique, chloroformique et l'extrait des alcaloïdes totaux des feuilles, récoltées au Burkina-Fasso, ont été testés *in vitro* sur la souche chloroquino-sensible W2 de *Plasmodium falciparum*. L'extrait des alcaloïdes totaux a montré la meilleure activité ($4 < CI_{50} < 10$) [75]. Par contre, dans les tests, *in vitro*, réalisés en 2010 sur la souche 3D7 de *P. falciparum* (chloroquino-sensible), avec différents extraits des feuilles (hydro-méthanolique (50/50), méthanolique, chloroformique), aucune activité antiplasmodiale significative n'a été détectée [76]. Des tests, *in vivo*, sur la souris infectée par *Plasmodium berghei* var. *Anka*, réalisés avec l'extrait éthanolique des écorces de tige, montrent une activité dose dépendante sur la parasitémie avec une inhibition de 71 % à la dose journalière de 400 mg/kg par voie orale [77].

D'autre part, des extraits éther de pétrole, dichlorométhanique, chloroforme et hydro-méthanolique des graines de *C. febrifuga* récoltées au Mali ont montré des activités anti-oxydantes (tests au DPPH) et anti-radicalaires (activité inhibitrice de la 5-lipoxygénase) *in vitro* modérées [78]. Par la suite en 2011, l'évaluation, *in vivo*, de l'activité antiulcéreuse de l'extrait méthanolique d'écorces fraîches du tronc, récoltées au Nigéria, a été effectuée chez le rat dont les ulcères étaient provoqués par l'éthanol et le piroxicam (25, 50 et 100 mg/kg par voie orale). L'étude histopathologique réalisée sur l'estomac, après sacrifice des animaux, a montré que l'ulcère a été réduit de façon dose-dépendante et que l'extrait avait une action protectrice sur la muqueuse intestinale [79]. Les études précédentes ont montré que l'extrait méthanolique des écorces du tronc possédait une activité analgésique et anti-inflammatoire significative [80].

Par ailleurs, l'acide bétulinique isolé des écorces de tige de *C. febrifuga*, a montré une activité cytotoxique intéressante sur une lignée (Co-115) de cellules cancéreuses du colon avec une DL50 de 0,375µg/ml. [65].

1.1.2.4. Ethnopharmacologie

Les racines et des écorces de *Crossopteryx febrifuga* sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés anti-inflammatoire, mucolytique et anti-œdémateuse [66].

La décoction est utilisée en médecine traditionnelle malienne pour soigner la fièvre, les affections respiratoires, l'asthme et les infections microbiennes [81].

L'extrait de fruit de *C. febrifuga* est utilisé au Mali pour soigner la fièvre et les affections respiratoires, mais aussi, pour le traitement de la tuberculose, et pour ses propriétés antispasmodique et ocytocique. Le sirop « Balembo » est un médicament traditionnel amélioré (MTA), utilisé au Mali contre la toux. Il contient de l'extrait de fruit et est classé parmi les expectorants [69].

La décoction des feuilles est utilisée en République Démocratique du Congo, pour ses propriétés antibactériennes, spasmolytique et amoebicide [82]. En Guinée, la décoction des feuilles a des propriétés antibactériennes [73], anthelminthique [83] et au Burkina-Faso, antipaludique [75].

Les feuilles et écorces en décoction ou macération sont également utilisées en Guinée pour soigner la trypanosomiase africaine, la malaria et les douleurs inflammatoires [84].

L'écorce en décoction est utilisée dans le Ndé (Cameroun) pour soigner les coliques, les « enflements » traduisant les oedèmes, la fièvre, la gingivite, les maladies de la peau, les plaies, pour la production du lait maternel, contre les amibes et est considéré comme vermifuge [6].

1.1.3. *Vitellaria paradoxa* C.F.Gaertn

(<http://www.tropicos.org/>)

Taxonomie

Classe : Equisetopsida

Famille : Sapotaceae

Sous-classe : Magnolijdae

Genre : *Vitellaria*

Superordre : Asteranae

Ordre : Ericales

Espèce: *paradoxa*

Synonyme :

- *Bassia parkii* G.Don
- *Butyrospermum paradoxum* (C.F.Gaertn.) Hepper
- *Butyrospermum paradoxum* subsp. *parkii* (G.Don) Hepper
- *Butyrospermum parkii* (G.Don) Kotschy

Nom commun : Karité

1.1.3.1. Aspects botaniques

Description : (figure 18)

Vitellaria paradoxa ou karité est un arbre qui peut atteindre une quinzaine de mètres de haut et le diamètre de son tronc peut faire plus d'un mètre. Il peut vivre de deux à trois siècles. C'est un arbre persistant (hauteur : 6-20 m), à la cime dense et ramifiée, à l'écorce noire grisâtre. Les feuilles alternes, oblongues (longueur : 12-25 cm, largeur : 4-9 cm), coriaces, à la base aiguë, aux marges entières, à l'apex aigü, au pétiole plus ou moins pubescent (longueur : 3,5-10 cm). Les fleurs sont actinomorphes et bisexuées, avec 8 sépales pubescents, bisériés, soudés à la base, 8 pétales partiellement connés, imbriqués, formant une corolle campanulée, groupées par 20-40 en fascicules ramiflores ombelliformes. Les drupes sont ovoïdes (longueur : 4-5 cm).

Les feuilles : Les feuilles ont une cuticule striée et ont un hypoderme et des sclérites. Un des caractères particuliers, très apparent, des Sapotaceae est la présence constante

d'un latex blanc, très poisseux et à écoulement assez lent, dans toutes les parties de la plante : écorce, rameaux, feuilles, fleurs, fruits.

Les fleurs sont bisexuées ou rarement unisexuées et femelles par réduction staminale, actinomorphes, parfumées, et habituellement pollinisées de nuit par les chauves-souris. Elles sont solitaires ou groupées en fascicules ou en pseudoracèmes axillaires et bractéolés. Quelques espèces sont cauliflores. Chaque fleur est formée d'un calice unisériel à 4-6 sépales imbriqués, ou bien encore, disposé sur deux verticilles formés chacun de 2-4 sépales valvaires. Les sépales sont libres ou courtement soudés à la base. La corolle gamopétale, campanulée à urcéolée ou tubulaire, est constituée de 4-8 lobes, parfois garnis d'appendices latéraux ou dorsaux.

Le fruit appelé également karité, se présente sous la forme de grappes de fruits ovoïdes de couleur vert sombre à brun, mesurant entre quatre et huit centimètres de long. C'est une baie charnue renfermant une, voire deux amandes dures (comparable à une graine d'avocat i.e. son noyau), d'une teinte blanchâtre entourée(s) d'une coque mince et de pulpe (55 %). Chaque amande recèle une matière grasse pour environ la moitié de son poids.

Habitat et répartition géographique : Cet arbre pousse dans les savanes arborées d'Afrique de l'Ouest (Mali, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée, Nigeria, Bénin, Togo, Sénégal) ainsi qu'au Cameroun, en République du Congo, RDC, au Soudan et en Ouganda.



Figure 18 : feuilles, fruits et écorces de *Vitellaria paradoxa*

1.1.3.2. Composition chimique

Dans les racines, feuilles et écorces, il est décrit la présence de glucides, de saponines, de stérols, de tanins et d'alcaloïdes [85]. Cependant, d'autres travaux menés récemment sur la plante récoltée au Cameroun, montrent la présence de phénols et de terpènes [86]. Le fractionnement d'un extrait éthanolique de l'écorce de racine a permis d'obtenir un ester, le 2-O-butyl-1-O-(2-ethylhexyl) benzene-1,8-dicarboxylate et une cétone, la 1-phenyl-1,4-pentanedione [87].

La caractérisation de l'huile essentielle des écorces, obtenue par hydrodistillation, a montré la présence d'une grande quantité de germacrène D (21,8%), de linalol (6,5%), (E)-caryophyllène (6,3%), (E)-phytol (4,9%), and β -elemene (3,8%) [88]. Les molécules présentes dans l'huile essentielle de l'écorce sont : le linalol (15,0 %), limonène (14,8 %), n-décane (14,4 %), pseudocumène (8,6 %), mesitylène (8,1 %), nonanal (5,5 %), (E)-géranylacétone (5,2 %), safrole (3,2 %), n-tétradécane (2,8 %), n-hexadécane (2,7 %), germacrène D (2,2 %) et pentadécane (2,1 %). Les composants minoritaires sont : géraniol, α -pinène, β -pinène, L-carvone, eugénol, β -ionone et le citral identifié précédemment [89].

Les composés isolés de l'huile essentielle des feuilles sont le linalol (12,2 %), (E)- β -ionone (8,4 %), salicylate de méthyle (7,0 %), nonanal (6,9%), 1-nonanol (5,8 %). En minorité, les composés suivants ont été retrouvés : β -caryophyllène (4,9 %), (E)-géranylacétone (3,7 %), (E)-nérolidol (3,5 %), limonène (3,0 %), n-décane (2,9 %), α -terpénol (2,4 %), (Z)-3-hexenylbenzoate (2,4 %), hexyl tiglate (2,3%) and n-nonane (2,2 %) [90].

Les travaux plus récents sur l'huile essentielle extraite des feuilles et des écorces, récoltées au Nigéria, ont montré la présence de plusieurs composés représentant 90,1 % et 95,1 % de l'huile totale identifiée dans les feuilles et les écorces respectivement. Un autre travail, à partir d'un mélange de solvant, hexane : acétate d'éthyle, 1:1 et 3:1, v:v, a donné un index de rétention (IR) indiquant la présence de géraniol (0,54), β -pinène (0,63), D-carvone (0,73), L-carvone (0,86), eugénol (0,74) et citral (0,76) [91].

1.1.3.3. Pharmacologie

Les composés de l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles et des écorces auraient des propriétés antibactériennes et antifongiques, sur des microorganismes pathogènes, à une concentration allant de 50-300 mg/ml [91]. De plus, l'extraction successive par l'éther de pétrole et le méthanol a montré, du point de vue antibactérien, que : *in vitro*, l'extrait méthanolique des feuilles, écorces et racines a une activité plus élevée que l'extrait éther de pétrole sur les souches suivantes : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhi*. Ainsi, l'extrait méthanolique de l'écorce inhibe la croissance de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. cereus* et *S. typhi* avec une CMI de 50 mg/ml, tandis que l'extrait méthanolique des feuilles a une CMI de 70 mg/ml sur *S. aureus*, *E. coli* et *S. typhi*; l'extrait méthanolique des racines a une CMI de 60 mg/ml sur *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *S. typhi* [85].

D'autres travaux ont montré qu'un extrait éthanolique, préparé à partir des écorces (concentration 50 mg/ml) a une activité antibactérienne avec un diamètre de 8,0 mm de zone d'inhibition sur *S. typhi* et *K. pneumoniae* puis 7,0 mm (diamètre d'inhibition) sur *P. mirabilis*, *S. dysenterie*, tandis qu'une faible activité (6,0 mm zone de diamètre d'inhibition) a été démontré sur *E. coli*. En ce qui concerne un extrait acétonique (concentration 50 mg/ml) préparé à partir des écorces, une grande activité (zone de diamètre inhibition : 8,0 mm) a été démontré contre *P. mirabilis* et *S. typhi* et 7,0 mm (zone de diamètre d'inhibition) sur *K. pneumoniae*, *S. dysenterie* et *E.coli*. Enfin, pour l'extrait aqueux (50 mg/ml), l'activité antibactérienne (zone de diamètre d'inhibition : 5,0 mm et deux fois 4,0 mm) a été démontré respectivement sur *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *S. dysenterie* [92]. D'autres composés, provenant de l'extrait éthanolique préparé à partir des racines, tels que l'ester 2-O-butyl-1-O-(2-éthylhexyl) benzène-1,8-dicarboxylate et une cétone, la 1-phényl-1,4-pentanedione auraient une activité sur les bactéries Gram + (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et les Gram – (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa*) [87]. D'autres travaux ont montré qu'un extrait éthanolique des écorces a un effet inhibiteur supérieur à celui d'un extrait aqueux sur *E. coli*, *K. Pneumoniae*, *P. mirabilis*, *E. foecalis* et *S. aureus* mais il n'est pas actif sur *P. aeruginosa* et *S. pyogenes*.

De même, des extraits méthanoliques de cette plante préparés à partir de différentes drogues végétales (extraits méthanoliques de feuilles, des écorces et des racines) auraient des propriétés cytotoxiques, anti-transcriptase reverse et anti-gonorrhéales avec une CI_{50} d'environ 100 $\mu\text{g/ml}$ sur les 10 lignées de *Nisseria gonorrhoeae* testées [93].

Une étude récente montre une toxicité, *in vitro*, modérée des huiles essentielles contenues dans les feuilles et les écorces avec une CI_{50} de 171,240 $\mu\text{g/ml}$ et 160,098 $\mu\text{g/ml}$ respectivement [89].

1.1.3.4. Ethnopharmacologie

L'amande de la graine (souvent appelée "noix" à tort) contient une matière grasse végétale connue sous le nom de beurre de karité. Du beurre de karité de grande qualité est utilisé dans toute l'Afrique de l'Ouest comme graisse de cuisson. La graisse raffinée est commercialisée sous forme de margarine et de graisse pour la cuisson. On l'utilise dans les pâtisseries et en confiserie parce qu'elle rend la pâte malléable. C'est un substitut au beurre de cacao qui a des propriétés similaires. Beaucoup de produits cosmétiques, en particulier les crèmes hydratantes, les lotions et les rouges à lèvres, contiennent du beurre de karité comme base car son contenu, riche en matières insaponifiables, donne d'excellentes propriétés hydratantes. Du beurre de karité de moindre qualité, souvent mélangé à d'autres huiles, est une matière de base pour le savon. Il est particulièrement adapté à la fabrication de bougies grâce à son point de fusion élevé. Le beurre de karité est un produit de base adapté aux médicaments topiques. Son application soulage les rhumatismes et les douleurs articulaires et il soigne les plaies, les dermatites, les contusions et d'autres problèmes de peau. Il est utilisé traditionnellement pour soulager les inflammations nasales. Comme agent d'imperméabilisation, le beurre de karité est appliqué en enduit sur les murs en terre, les portes et les fenêtres. Le résidu noir collant, laissé après l'extraction de l'huile, est utilisé pour combler les fissures dans les murs et comme matériau d'imperméabilisation. Les eaux usées provenant de la production du beurre de karité ont des propriétés identiques à celles des pesticides, et au Burkina Faso, elles ont été mélangées à des graines de niébé (grains de haricot) stockées pour les protéger des attaques de la bruche (petit insecte) *Callosobruchus maculatus*. Cependant, la farine peut être donnée comme aliment en

faibles proportions. Le tourteau et les coques sont également des engrais et du combustible potentiels.

Les fleurs et les fruits sont des aliments importants. Les fleurs sont quelquefois utilisées pour préparer des beignets. Malgré leurs propriétés légèrement laxatives, les fruits mûrs frais sont couramment consommés dans les zones de savane, car ils mûrissent pendant la saison de préparation du terrain et la saison de plantation. La pulpe sucrée des fruits mûrs tombés au sol peut être donnée au bétail.

Les feuilles sont utilisées pour traiter les maux d'estomac. On peut également les ajouter aux bains de vapeur pour soigner les maux de tête et les utiliser comme collyre. Les feuilles trempées dans l'eau produisent une bonne mousse pour le lavage.

Les racines et l'écorce pilées sont utilisées pour traiter la diarrhée, la jaunisse et les maux d'estomac. Elles sont appliquées en bains d'yeux contre le venin de cobra. La décoction d'écorce est utilisée dans les bains pour faciliter l'accouchement et stimuler la lactation chez les mères allaitantes. Les racines sont utilisées en chewing-stick dans les infections orales [85] et comme médicament vétérinaire pour les chevaux.

Le latex rougeâtre (gutta-karité ou caoutchouc kano rouge) qui exsude de coupures profondes dans l'écorce, sert à produire de la colle, il est mâché comme chewing-gum et il sert à faire des balles pour les jeux d'enfants. Les musiciens l'utilisent pour réparer les tambours.

Seuls des arbres non-productifs et en mauvaise santé sont abattus pour le bois d'œuvre. Le bois est utilisé pour fabriquer des poteaux, des piliers de maison, des chevrons, des parquets, des ustensiles domestiques et des meubles. C'est un excellent bois de feu, qui brûle en dégageant une forte chaleur, et c'est une source de charbon de bois.

Le karité favorise la production de miel par les abeilles. Des ruches placées dans ses branches sont assurées d'être bien approvisionnées en nectar et en pollen.

La chenille comestible de *Cirina butyrospermi*, riche en protéines et largement consommée, se nourrit uniquement de feuilles de *Vitellaria paradoxa*.

L'arbre est considéré comme sacré par beaucoup de tribus. L'huile est déposée dans des reliquaires et utilisée comme onction. Dans certaines régions, on suspend des feuilles dans l'entrée pour protéger les nouveau-nés et on les utilise pour faire des masques [90].

Au Cameroun, plus précisément à Bangangté, les racines sont utilisées en décoction dans le traitement des ascites, hydrocelles, les feuilles en décoction sont utilisées comme fébrifuge, les graines pour la production du beurre de karité et les amandes sous forme pulvérisées comme répulsif des serpents et termites [6].

1.1.4. *Afzelia africana* J.E.Smith ex Pers.

(<http://www.tropicos.org/>)

Taxonomie :

Classe : Equisetopsida

Famille : Fabaceae

Sous-classe : Magnoliidae

Genre : *Afzelia*

Superordre : Rosanae

Espèce : *africana*

Ordre : Fabales

Homonymes : *Afzelia africana* Sm.

Synonymes : *Pahudia africana* (Pers.) Prain

Intsia africana (Sm. ex Pers) Kuntze

1.1.4.1. Aspects botaniques

Description : (figure 19)

Afzelia africana est un arbre atteignant 40 m de haut, sempervirent, a fût dépourvu de branches sur 20 m, généralement droit et cylindrique, jusqu'à 150–200 cm de diamètre, à contreforts souvent inégaux et épais atteignant 1,5 m de haut, la surface de l'écorce est grisâtre à brun rougeâtre, écailleuse avec des écailles plus ou moins rondes, l'écorce interne brun pâle à brun rosé, sécrétant un exsudat brun jaunâtre, très aromatique, la cime est allongée à arrondie ou aplatie en fonction de l'âge et des conditions de croissance, à branches tortueuses, plus ou moins érigées, les rameaux sont glabres.

Feuilles : Elles sont alternes, composées paripennées à 2-5 voir 6 paires de folioles, stipules à parties basales soudées et persistantes, les parties supérieures sont libres, linéaires et caduques, pétiole et rachis mesurant ensemble entre 4 à 32 cm de long, sillonnés, pétiolules de 0,5 à 1 voir 1,5 cm de long, souvent légèrement tordus, les folioles sont opposées, elliptiques à ovales-elliptiques, de 5 à 15 cm et 3 à 8,5 cm,

obtus à aiguës ou courtement acuminées à l'apex, glabres, pennatinervées à 6 à 9 paires de nervures latérales.

Inflorescence : c'est une panicule terminale ou axillaire atteignant 20 cm de long, garnie de poils courts et bruns.

Fleurs : les fleurs sont bisexuées, zygomorphes, parfumées avec un pédicelle de 1 à 1,5 cm de long, articulé à la base, des bractéoles d'environ 0,5 cm, caduques; hypanthium d'environ 0,5 cm de long; sépales 4, de 0,5 à 1 cm de long, inégaux, recouverts de poils courts et denses; pétales 5, l'un d'environ 1,5 cm, muni d'un onglet long, 2-lobé, blanc verdâtre à tache rouge-pourpre au centre, les 4 autres minuscules; étamines fertiles 7, de 1,5 à 2 cm de long, étamines rudimentaires 2, d'environ 0,5 cm de long; ovaire supère, d'environ 4 mm de long, à stipe d'environ 2 mm de long, à pubescence courte, style d'environ 2 cm de long, courbe.

Fruit : c'est une gousse oblongue, aplatie, de 10 à 20 cm et 5 à 8 cm, brun foncé à noire, déhiscente par 2 valves ligneuses, renfermant environ 10 graines. Les graines sont ellipsoïdes ou oblongues-ellipsoïdes, de 1,5 à 3 cm de long, noires, pourvues à la base d'un arille en coupe de couleur orange. La plantule à germination épigée est hypocotyle de 7 à 16 cm de long, épicotyle de 8 à 20 cm de long, glabre; cotylédons charnus, oblongs, d'environ 2 cm de long, érigés; 2 premières feuilles opposées, à 2-3 paires de folioles.



Figure 19 : Feuilles, fruits et écorce de tronc d'*Afzelia africana*

Habitat et répartition géographique : *A. africana* est répandu en Afrique de l'Ouest dans les zones de forêts sèches à la limite de la savane. On le trouve principalement dans l'hémisphère nord, du Sénégal jusqu'au Cameroun et à l'est de l'Ouganda.

1.1.4.2. Composition chimique

Les recherches sur la valeur nutritive des graines de *Azelia africana* ont permis de constater qu'elles contenaient 23,2 % à 26,7 % de protéines et de 37,15 % à 39,50 % de matières grasses [94]. Une autre étude a montré que les graines contiennent des quantités importantes de gomme et d'huile composée de bêta-carotène, de stérols, de phospholipides et de glycolipides. L'acide linoléique est le principal acide gras [95]. Par ailleurs, un nouveau xyloglucane a été isolé des graines d'*A. africana* [96,97] et récemment, la fraction volatile isolée des endospermes des graines a montré la présence de : constituants aromatiques (0,80 %), glucides (7,67%), acides phénols (0,39 %), esters (10,19 %), acides gras (36,35 %), alcools (42,24 %) et stéroïdes (2,36 %) [98].

D'autres recherches ont montré la présence de coumarines, de stérols, d'alcaloïdes et de flavones dans un extrait éther éthylique d'écorce du tronc. De même, un extrait alcoolique d'écorce de tronc a montré la présence de tanins, d'alcaloïdes et de glucosides flavaniques et l'extrait aqueux la présence de saponines et d'anthocyanes[99,100].

1.1.4.3. Pharmacologie

Un screening des activités antimicrobiennes de plantes récoltées au Nigeria montre qu'un extrait éthanolique des racines d'*A. africana* n'a révélé aucune activité sur les microorganismes testés (*B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, et *C. albicans*) [41]. Par contre, une étude de synergie *in vitro* entre un extrait hydro-méthanolique (2:3) des écorces de tige fraîches et des antibiotiques (tétracycline, pénicilline G, érythromycine, amoxicilline, ciproloxacine, chloramphénicol, oxytétracycline et ampicilline) a été réalisée. L'extrait a montré une potentialisation de l'action inhibitrice des antibiotiques sur les isolats de bactéries gram + et gram – résistantes (*Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Bacillus pumilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus kristinae*, *M. luteus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*), avec

une CMI de 0,1 à 5,0 mg/ml. Dans 64 % des combinaisons entre extrait et antibiotiques, une synergie a été observée [101].

Enfin dans une autre étude, les extraits méthanolique, n-butanolique, acétate d'éthyle, aqueux et n-hexanique d'écorce d'*Azelia africana*, originaire du Soudan, a montré des activités sur certaines souches bactériennes et fongiques : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, avec des CMI allant de 0,1 à 0,6 mg/ml [99].

Un extrait aqueux des écorces de tige d'*A. africana* montre une diminution, *in vivo*, du diabète induit par la streptozotocine chez le rat (voie orale, 100 et 200 mg/kg), avec une diminution significative du taux de glucose dans le sang surtout à 200 mg/kg [102]. Une autre étude, *in vivo*, effectuée chez la souris montre pour un extrait méthanolique des écorces de racine une activité antidiabétique dose-dépendante (diabète induit par l'alloxane) avec une activité optimale à 250 mg/ml, 6 heures après le traitement (voie orale) [103].

Une étude de l'activité hypolipémiante des graines d'*A. africana* a été réalisée sur 13 Nigériens diabétiques, les fibres apportées par *A. africana* à l'alimentation entraînaient une diminution importante des triglycérides (TG), LDL-C et du ratio HDL/triglycérides (TG) après 4 jours de supplémentation [104].

Azelia africana est une source d'hydrocolloïde industrielle pouvant être exploitée par l'industrie agro-alimentaire [105,106]. Une étude a montré que la gomme d'*A. africana* possède des propriétés liantes comparables à celles de la gomme d'*Acacia* provenant de *Acacia senegal* L. et pourrait être utilisée dans des formulations pharmaceutiques [107]. Cette gomme présente également des propriétés intéressantes dans la préparation des suspensions [108]. Une autre étude a montré que le tronc produisait une gomme (hydrocolloïde naturel) ayant des propriétés physicochimiques qui pourraient être utilisées dans l'industrie, dans la formulation des comprimés [109].

Les tests *in vivo* et *in vitro* d'un extrait éthanolique d'écorces d'*Azelia africana* originaire du Mali, a montré une inhibition de la parasitémie, *in vitro*, (CMI = 1 µg/ml)

sur *Trypanosoma brucei brucei* (STIB 345) et *in vivo* avec une CMI = 100 µg/ml en comparaison avec le témoin l'acéturate de diminazine (CMI = 0,05 µg/ml) [54].

Par ailleurs, des extraits aqueux, acétate d'éthyle et n-butanol préparés à partir d'écorces de tronc ont montré une activité cytotoxique, *in vitro*, sur les cellules cancéreuses du colon de la lignée HCT-116. L'extrait aqueux a montré une grande activité comparativement aux autres extraits avec une CI₅₀ de 23,2 µg/ml. Une activité maximale a été observée sur d'autres cellules cancéreuses lignée PC3 de la prostate et les cellules de cancer de sein MCF-7, avec l'extrait acétate d'éthyle. Les CI₅₀ observés ont été (CI₅₀ = 12,5 µg/ml, 14,5 µg/ml) respectivement comparativement à la doxorubicine (CI₅₀ = 6,6 µg/ml) [99].

1.1.4.4. Ethnopharmacologie

Le bois dur appelé "afzelia" ou "doussié rouge" est recherché pour les constructions extérieures et en particulier pour la marine. Son exsudat est utilisé comme gomme dans les industries pharmaceutiques [107]. Les feuilles sont consommées dans l'alimentation au Nigéria [94].

Au Nigéria, la plante est utilisée pour soigner plusieurs pathologies, à savoir: les feuilles et écorces en décoction sont utilisées en cas de risques d'avortement, les feuilles en décoction contre les menaces de sorcelleries et difficultés de conception, les graines écrasées et mises dans l'eau sont utilisées dans les maux de gorge [100].

Afzelia africana est utilisé au Cameroun dans le département du Ndé pour soigner plusieurs pathologies : les feuilles sont utilisées en décoction dans le traitement des troubles intestinaux, les écorces pour les hémorragies suite à un accouchement, comme aphrodisiaque, antiseptique, contre l'hypertension, les lumbagos et dans les constipations [6].

2. Screening pharmacologique préliminaire

Le screening pharmacologique consiste en la recherche d'extraits bioactifs, qui pourront être sélectionnés pour des études phytochimiques, dans une démarche de fractionnement bioguidé. Cette démarche permet de rechercher les substances naturelles responsables des activités pharmacologiques et de l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels.

A partir des 4 drogues végétales sélectionnées, nous avons préparé 4 extraits à l'aide de solvants de polarité différente.

2.1. Préparation des extraits

Selon la pharmacopée européenne, les extraits sont des préparations liquides (extraits fluides et teintures), ou de consistance semi-solide (extraits mous ou fermes) ou solide (extraits secs), obtenus à partir de drogue végétale, généralement à l'état sec. Ils sont définis par leur procédé de production (état de la drogue végétale, solvant, conditions d'extraction).

Un extrait végétal est obtenu par extraction solide/liquide, éventuellement suivie d'étapes de purification. L'extraction solide-liquide se définit comme une opération de séparation de constituants contenus dans une matrice végétale solide par solubilisation à l'aide d'un solvant. L'extraction peut se faire sur une plante fraîche ou sèche. Avant de commencer le processus, les plantes sont broyées jusqu'à atteindre une granulométrie adaptée à une extraction optimale des constituants à séparer.

2.2. Matériels et méthode

2.2.1. Drogue végétale

Les drogues végétales utilisées sont les écorces de tronc de *Terminalia avicennioides*, *Crossopteryx febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Azelia africana* récoltées au « Projet route Noun », une localité proche de Bangangté chef lieu de département du Ndé situé dans la région de l'Ouest Cameroun.

2.2.2. Préparation des extraits

Les extraits ont été préparés par percolation successivement avec les solvants organiques de polarité croissante : le dichlorométhane, le méthanol et un mélange méthanol/eau

(1/1), à partir de la poudre de plante broyée à l'aide d'un broyeur SM300 RETSCH et de granulométrie 1mm. Le protocole extractif appliqué à l'ensemble des plantes est présenté par la figure 20.

L'extraction a été réalisée par percolation sur 50 g de poudre de plante. La poudre a été mise à macérer avec le solvant correspondant, dans une colonne en verre, équipée d'un robinet, de longueur 50 cm et de diamètre 10 cm, à température ambiante pendant 18 heures. 500 ml de percolat sont collectés pour chaque solvant.

Pour l'extrait dichlorométhane et l'extrait méthanol, le solvant a été évaporé sous pression réduite à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (IKA, RV10 Basic) jusqu'à obtention d'un résidu sec.

L'extrait hydrométhanolique a été concentré sous pression réduite et la phase aqueuse résiduelle a été lyophilisée.

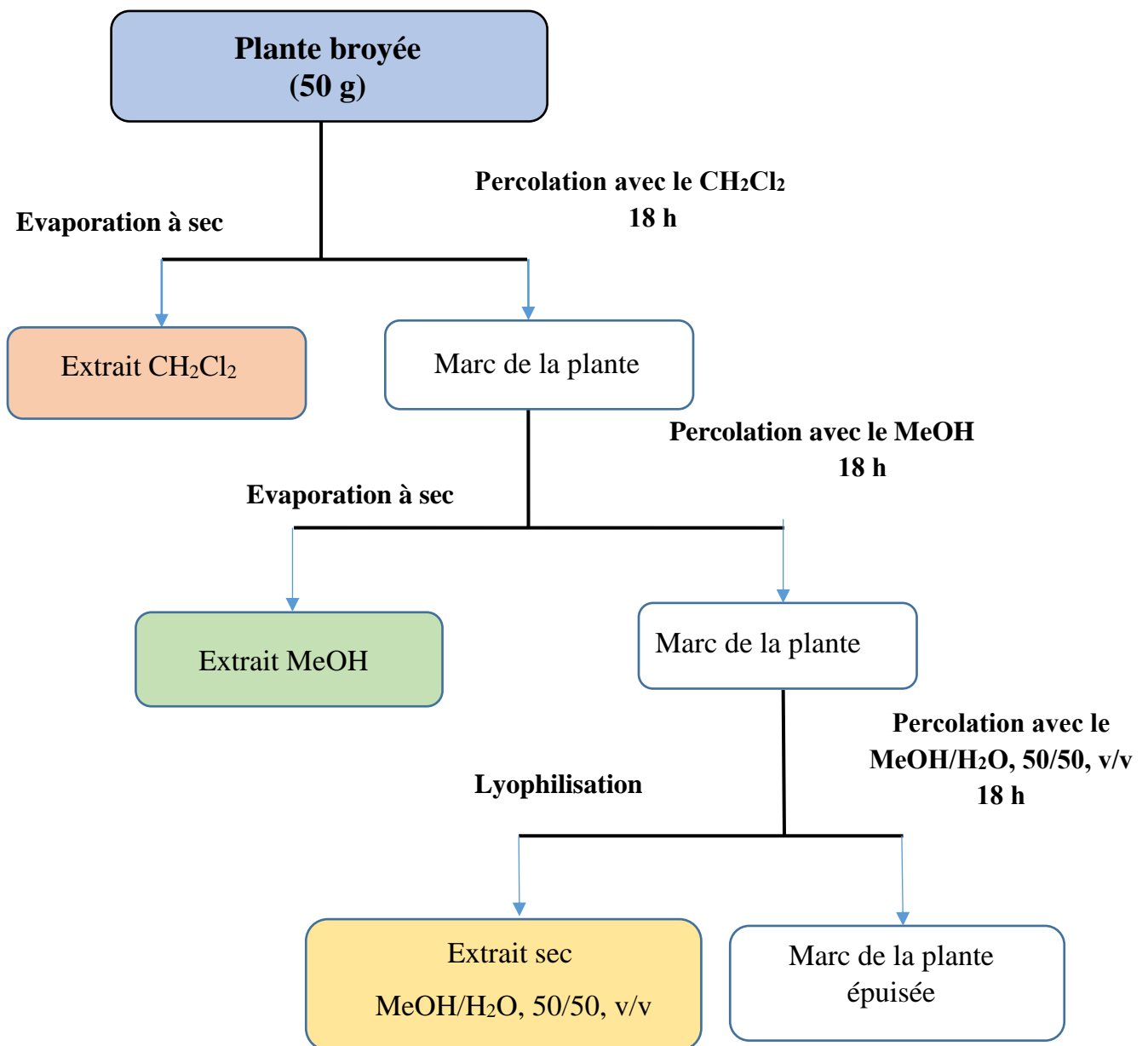


Figure 20 : Protocole de préparation des extraits pour les tests de screening

Par ailleurs, nous avons réalisé une décoction qui est la forme utilisée en médecine traditionnelle. Nous avons prélevé 50 g de drogue végétale pulvérisée à laquelle nous avons ajouté 700 ml d'eau, puis porté à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, nous avons filtré sur du coton et le filtrat recueilli a été lyophilisé (Figure 21).

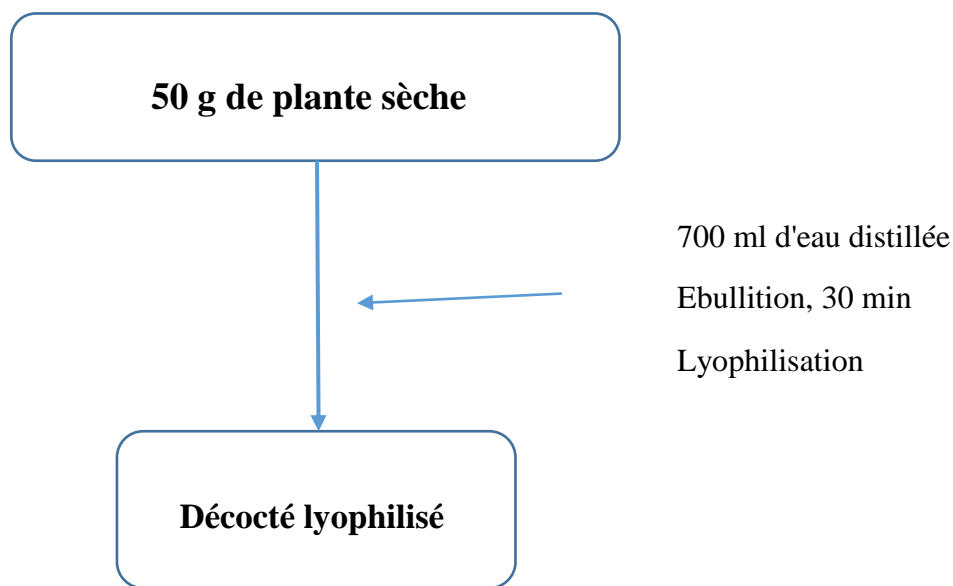


Figure 21 : Extraction par décoction

2.2.3. Rendements d'extraction des extraits obtenus

Nous avons obtenu 4 extraits à partir de 50g de chaque drogue végétale. Les rendements d'extraction sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4: Rendement des extractions

Plante	Extrait	Quantité d'extrait obtenu (en g)	Rendement d'extraction en % (m/m)
<i>T. avicennioides</i>	CH ₂ Cl ₂	0,32	0,64
	MeOH	9,45	18,90
	MeOH/H ₂ O	1,08	2,16
	H ₂ O	7,79	15,59
<i>A. africana</i>	CH ₂ Cl ₂	0,31	0,62
	MeOH	1,88	3,76
	MeOH/H ₂ O	1,23	2,46
	H ₂ O	2,92	5,84
<i>C. febrifuga</i>	CH ₂ Cl ₂	0,12	0,24
	MeOH	2,87	5,75
	MeOH/H ₂ O	1,53	3,07
	H ₂ O	4,14	8,27
<i>V. paradoxa</i>	CH ₂ Cl ₂	0,98	1,96
	MeOH	7,60	15,21
	MeOH/H ₂ O	2,55	5,11
	H ₂ O	5,89	11,78

Légende : CH₂Cl₂ (dichlorométhane) ; MeOH (méthanol) ; MeOH/H₂O (Méthanol/eau),
H₂O (eau).

2.3. Activité antiplasmodiale

Rappelons que le paludisme est une maladie parasitaire provoquée par des parasites du genre *Plasmodium*. Selon l’OMS, cette maladie cause beaucoup de victimes par an dans le monde. Le Cameroun n’étant pas épargné, nous avons choisi de tester systématiquement l’efficacité des plantes sélectionnées, à l’exception de celle dont les études ont déjà été mentionnées dans la littérature (*Terminalia avicennioides* et *Crossopterix febrifuga*).

2.3.1. Matériel et méthodes

2.3.1.1. Matériel

Le matériel végétal utilisé a été les écorces de tronc de *Vitellaria paradoxa* et *Afzelia africana*.

La souche de *Plasmodium falciparum* utilisée a été la souche de parasite K1 (résistante à la fois à la chloroquine et à la pyriméthamine). Elle a été fournie par le MR4 (Malaria Research and Reference Reagent Resource Center). Des globules rouges sains ont servi de matériel biologique pour la dilution du sang parasité. Les parasites ont été mis en culture dans un milieu RPS10, il s’agit d’un milieu RPMI-1640 lyophilisé (Invitrogen) auquel on ajoute 900 ml d’eau ultra pure, du tampon Hepes (6,19 g), du bicarbonate de sodium (1,95 g) de la néomycine 3,2 ml (32 mg/l de RPS 10). A ce milieu de culture, a été ajouté 10 % de sérum humain et l’ensemble a été conservé pendant 4 à 10 jours à 4° C.

2.3.1.2. Méthodes

2.3.1.2.1. Préparation des extraits végétaux

Les extraits utilisés ont été : les extraits dichlorométhane, méthanol, méthanol/eau (50/50) et eau de *Afzelia africana* et *Vitellaria paradoxa*. Les solutions d’extraits (solution mères) ont été préparées à la concentration de 10 mg/ml. Le solvant de dilution utilisé a été le DMSO pour tous les extraits. Dans des tubes de 5 ml stériles, 990 µl de RPS10 est mélangé à 10 µl de produit à tester. Dans une microplaque de 96 puits, on réalise une dilution en cascade à l’aide d’une pipette multicanaux et on obtient un volume final de 125µl.

2.3.1.2.2. Ajustement de la parasitémie

Nous avons travaillé avec la souche K1 de *Plasmodium falciparum* à une parasitémie ajustée à 0,8 %. Le contenu du flacon est transféré dans un tube de 50 ml et centrifugé à 1600 tr/min pendant 5 minutes. Le surnageant est éliminé et le volume du culot est évalué. Un volume égal de milieu RPS 10 est ajouté pour ramener le taux d'hématocrite à 2 %. Ensuite, avec du sang non parasité avec un hématocrite de 50 %, la parasitémie de la culture est ramenée à 0,8 %. Une dilution au 1/12,5 est ensuite réalisée avec du RPS 10 pour avoir un taux d'hématocrite à 4 %. Dans une autre microplaque de 96 puits, 100 µl de suspension de globules rouges parasités à 0,8 % et à hématocrite 4 % sont transférés suivant le même schéma que la dilution précédente. Ensuite, 100 µl du produit à tester sont transférés dans les puits contenant les globules rouges parasités. Le volume final de suspension de globules rouges parasités dans les puits est de 200 µl à parasitémie de 0,8 % et taux d'hématocrite 2 %. Cinq témoins ont été également préparés : un témoin de croissance (sans produit), un témoin négatif : hématies saines pour déterminer le seuil d'auto-fluorescence du Sybr Green I, un témoin positif, témoin Chloroquine (CQ) à 0,2 mM pour la souche K1 et un témoin de linéarité de fluorescence : il correspond à une dilution au demi du témoin de croissance et doit à la lecture au fluorimètre donner une fluorescence de demi par rapport à celle du témoin de croissance. Les cultures sont incubées pendant 72 heures dans une étuve à 37° C, avec 6 % de CO₂, 10% O₂, 84 % de N₂ et un taux d'humidité de 90 %.

2.3.1.2.3. Marquage au Syber-Green I et lecture au luminomètre

Après 72 heures d'incubation, à l'aide d'une pipette multicanaux, 125 µl de chaque puit sont éliminés et 125 µl de PBS sont ajoutés pour laver le sang afin d'éviter toute interférence avec le Sybr Green I. Les plaques sont ensuite agitées à 700 tours/min à l'aide de l'agitateur de plaque pendant 3 minutes. Ensuite, une centrifugation à 1600 tours/min pendant 5 minutes est faite et 125 µl de surnageant sont retirés et on ajoute 125 µl de PBS. Dans une plaque de 96 puits, 15 µl de sang parasité sont transférés dans les puits. Dans chaque puit contenant le sang, 15 µl de Sybr Green I dissous dans le tampon de lyse sont ajoutés. Les plaques sont agitées pendant 30 secondes à 900 tr/min, puis incubées dans une étuve à 37° C, avec 6 % de CO₂, 10% O₂, 84 % de N₂ et un taux

d'humidité de 90 % pendant 15 minutes. L'intensité de la fluorescence est mesurée au luminimètre (Tecan 200 F) à une excitation de 485 nm et une émission 535 nm. Les résultats bruts sont traités pour calculer la CI₅₀ de chaque produit.

- **Calcul de la CI₅₀**

A la moyenne de la fluorescence de chaque produit, on soustrait la moyenne de la fluorescence du témoin négatif, éliminant ainsi l'effet des globules rouges. Ensuite la formule suivante est appliquée pour avoir le pourcentage de viabilité du parasite:

$$\% \text{ viabilité} = \frac{\text{Fluo produit} - \text{Fluo témoin négatif}}{\text{Fluo témoin positif} - \text{Fluo témoin négatif}} \times 100$$

Fluo : fluorescence

Les pourcentages de viabilité sont utilisés pour déterminer la CI₅₀ par une courbe dose-réponse à l'aide du logiciel Table curve 2D.

2.3.1.2.4. Test de cytotoxicité

L'évaluation de la cytotoxicité sur les cellules HepG2 et CHO a été réalisée selon la technique du bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium (MTT) décrite par Mosmann et modifiée par Denizot et Lang en 1986. Elle est basée sur le fait que la chaîne respiratoire et les autres systèmes de transport des électrons réduisent le MTT et les sels de tétrazolium et forment, dans la cellule, des cristaux bleu de formazan non hydrosolubles. Ces cristaux, solubilisés dans le DMSO, sont détectables par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 570 nm.

Les cellules HepG2 et CHO ont étéensemencées en flacons de culture de 75 cm², à une densité de 10⁵ cellules/ml de milieu de culture et maintenues entre 10⁵ et 10⁶ cellules/ml. Le milieu utilisé était du RPMI 1640 (GibcoBRL) complémenté par 10 % de sérum de veau fœtal décomplémenté (SVF, GibcoBRL), 1 % d'une solution de L glutamine/pénicilline/streptomycine (100 U/ml et 100 µg/ml, GibcoBRL). Elles ont été incubées à l'étuve à 37 ° C sous 6 % de CO₂, 84 % de N₂ et 90 % d'humidité. Tous les cinq jours, les cellules ont été comptées sur la cellule de Malassez, puis repiquées par une dilution dans du milieu neuf, en fonction du nombre de cellules évaluées.

Une suspension de 5.10^4 cellules a été répartie dans 96 puits d'une microplaque contenant 100 μ l de milieu RPMI. Après 24 h d'incubation à 37° C (6 % CO₂, 90 % d'humidité), les produits ont été ajoutés et incubés, de nouveau, pendant 72 h. A la fin de l'incubation, le milieu a été aspiré et 10 μ l d'une solution de bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium (5 mg MTT/ml de PBS) ont été ajoutés dans chacun des puits avec 90 μ l de RPMI-1640 dépourvu de sérum de veau foetal. Après 2 heures d'incubation à 37° C, le MTT a été aspiré et 100 μ l de DMSO ont été rajoutés pour dissoudre les cristaux bleus de formazan. Les microplaques ont ensuite été agitées 700 rpm pendant 10 min. L'absorbance a été mesurée à 570 nm, avec un lecteur de plaques (Multiskan EX, Labsystems).

La viabilité cellulaire a été calculée par rapport au pourcentage de cellules vivantes du contrôle DMSO par la formule ci-dessous :

$$\% \text{ Viabilité} = \frac{\text{DO moyenne des cellules traitées}}{\text{DO moyenne des cellules contrôles DMSO}}$$

La CI₅₀ est déterminée à partir de la courbe dose-réponse.

2.3.2. Résultats

Les tests antiplasmodiaux et les tests de cytotoxicité ont été effectués sur les extraits dichlorométhanés, méthanol, hydrométhanol 50/50 et aqueux de *Azelia africana* et *Vitellaria paradoxa*. Le tableau 5 nous présente les résultats obtenus.

Tableau 5: Résultats des tests antipaludiques

Nom de la plante	Extrait/temoins	Concentration testée mg/mL ou mM	Souche K1 (CI ₅₀ µg/ml)	HepG2 CI ₅₀ (µg/ml)
<i>A.africana</i>	CH ₂ CL ₂	5	>25	>25
	MeOH	10	>25	>25
	MeOH/H ₂ O	10	>50	>50
	H ₂ O	10	>50	>50
<i>V. paradoxa</i>	CH ₂ CL ₂	NS	>25	-
	MeOH	10	>25	44,78
	MeOH/H ₂ O	10	>25	>50
	H ₂ O	10	>50	>50
Contrôle positif	Chloroquine	0,2	0,38	-
	Doxorubicine	-	-	0,11

Légende : CH₂CL₂ (dichlorométhane) ; MeOH (méthanol) ; MeOH/H₂O (Méthanol/eau), H₂O (eau), NS = non soluble.

Conclusion

Au terme de ces tests, nous n'avons pas obtenu d'activité antiplasmodiale aux concentrations testés. Aucun extrait ne présente de cytotoxicité sur les cellules hépatiques aux concentrations testées. Nous n'avons pas poursuivi les tests sur cette activité pharmacologique.

2.4. Activité antibactérienne

La concentration Minimale Inhibitrice (CMI), la synergie d'action avec les antibiotiques et l'efflux en temps réel (RTE) ont été les paramètres évalués dans cette partie. Rappelons que :

- La CMI

La CMI d'un composé est la plus faible concentration d'antibiotique, suffisante pour inhiber, *in vitro*, la croissance d'une souche de bactéries.

- La synergie d'action avec les antibiotiques

Il s'agit de l'interaction de deux ou plusieurs médicaments utilisés dans le traitement de la même pathologie, et dont l'effet thérapeutique est égal ou supérieur aux effets additionnés de chacun d'eux, pris isolément. Lorsque l'effet thérapeutique obtenu est égal à la somme des effets de chacun des médicaments pris isolément, on parle de synergie additive, tandis que lorsque cet effet thérapeutique est supérieur, on parle de synergie potentialisatrice. Le terme de potentialisation s'applique lorsque les médicaments ont des modes d'action différents et que l'effet thérapeutique de leur association est supérieur à la somme des effets particuliers de chacun d'eux, pris séparément.

- L'efflux en temps réel (RTE)

L'efflux est un mécanisme par lequel les cellules rejettent à l'extérieur des composés toxiques. L'efflux est un mécanisme de transport actif membranaires assuré par des protéines appelées pompes d'efflux.

L'efflux en temps réel est un test de fluorimétrie qui permet le dosage, *in vitro*, de l'efflux en fonction du temps, sur des cellules pré-chargées avec un substrat de la pompe d'efflux bactérienne AcrAB-Talc.

Plusieurs études structurales suggèrent que le site de reconnaissance de la pompe d'efflux serait une poche de liaison riche en phénylalanines. Les interactions, mises en jeu entre ces acides aminés et des ligands, seraient des interactions hydrophobes ou de type Van Der Waals [110]. C'est pour cette raison qu'un marqueur de fluorescence

lipophile est utilisé. Ce marqueur à la particularité de fluorescer uniquement lorsqu'il est en présence d'un milieu lipophile telle que les membranes cellulaires.

2.4.1. Matériel et méthodes

2.4.1.1. Matériel

Le matériel végétal utilisé est constitué des écorces de tronc de *Terminalia avicenioides*, *Crossopterix fébrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Afzelia africana*.

Les colonies bactériennes utilisées sont des bactéries Gram négatives : deux souches d'*Enterobacter aerogenes* ont été testées : la souche sauvage de référence ATCC13048 et son dérivé CM64 résistant au chloramphénicol qui surexprime la pompe d'efflux AcrAB-TolC.

Ces souches bactériennes ont été cultivées avec un milieu Mueller-Hinton agar (MH₂) à 37 °C et du chloramphénicol (64µg /ml) a été ajouté aux cultures de la souche CM64.

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des antibiotiques et des composés ainsi que la potentialisation des antibiotiques, ont été déterminées en utilisant des microplaques transparentes de 96 puits. Les mesures de l'Efflux en Temps Réel (RTE) quant à elles ont été réalisées sur des microplaques de couleur noire de 96 puits. Chaque extrait a été solubilisé dans du DMSO à la concentration de 25 mg/ml. Une gamme de concentrations de chaque produit a été réalisée par dilutions successives en suivant la réglementation standard de dilution du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

2.4.1.2. Méthodes

2.4.1.2.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice

La culture des bactéries a été effectuée à 37°C dans 3 ml de milieu MH₂ (Mueller Hinton 2), sous agitation à 160 rpm, jusqu'à l'obtention d'une Densité Optique à 600 nm comprise entre 0,5-0,7 [DO₆₀₀=0,5-0,7 UDO/ml (phase exponentielle de croissance bactérienne)]. Une dilution a été réalisée pour avoir une concentration finale en bactéries de 10⁶ UFC/ml (1 UDO/ml = 1.10⁹ CFU/ml). Par la suite, l'inoculum a été mis en contact avec chaque produit à différentes concentrations et incubé à 37°C pendant 18h. La lecture de la DO₆₀₀ a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Tecan Freedom EVO 150) et les valeurs de la CMI ont été déterminées en réalisant une comparaison de chaque puit avec un témoin négatif (puit ne contenant aucune bactérie).

2.4.1.2.2. Synergie d'action avec les antibiotiques chloramphénicol et norfloxacine

La synergie d'action est un phénomène qui consiste à renforcer les effets bénéfiques de certains médicaments comme des antibiotiques par l'utilisation d'un autre produit adjuvant ne possédant pas les mêmes propriétés pharmacologiques.

Ce test a été réalisé en faisant une gamme de concentrations de chaque antibiotique (chloramphénicol et norfloxacine) par dilutions successives, en suivant la réglementation standard de dilution du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

La culture des bactéries a été faite comme précédemment (CMI). L'inoculum a été mis en présence de chaque composé à une concentration fixe correspondant à la CMI divisée par 4 (CMI/4) puis, il a été rajouté à l'antibiotique et incubé à 37°C pendant 18h. Une lecture de la DO₆₀₀ a été réalisée et la nouvelle valeur de la CMI par comparaison de chaque puit avec un témoin négatif (puit ne contenant aucune bactérie, antibiotique ou molécule) a été déterminée

La valeur de la potentialisation se calcule avec la formule suivante :

$$Gain = \frac{CMI_{Antibiotique+produit}}{CMI_{Antibiotique}}$$

Ainsi, si :

- Gain < 1 → effet antagoniste
- Gain = 1 → pas d'effet
- Gain > 1 → effet de synergie (potentialisateur ou additif)

2.4.1.2.3. Mesure de l'Efflux en Temps Réel (RTE)

La culture des bactéries a été effectuée à 37°C dans 20 ml de milieu MH₂. Après une incubation de 24h à 37°C, 10 ml de culture ont été centrifugés pendant 20 min à 3000 rpm à 20°C. Le culot a été ensuite récupéré et lavé avec 10 ml de tampon PPB, puis repris dans le même tampon. La DO₆₀₀ des bactéries a été mesurée et ajustée pour avoir une densité optique de 0,25 UDO/ml (par dilution dans du PPB). Le marqueur de fluorescence lipophile 1,2-dNA (C=32 µM final) et le CCCP (C= 5 µM final) ont été ajoutés par la suite et incubés à 37°C pendant 8h au minimum. Après incubation, le

mélange a été centrifugé, et le culot a été repris par 10 ml de PPB pour éliminer l'excès de chromophore. Pour la suite, 1 µl de produit à tester a été distribué dans les puits (1 concentration par puits) puis, 1 µl de solvant seul dans les derniers puits (témoin positif) et enfin, 99 µl de bactéries ont été ajoutés par puit. La mesure de la fluorescence a été faite en fonction du temps avec un fluorimètre (Tecan Infinite M200).

2.4.2. Résultats

Les tests ont été effectués sur les extraits dichlorométhane, méthanol, méthanol/eau et la décoction des 4 plantes sélectionnées. Le tableau 6 nous présente les résultats obtenus pour les différents paramètres évalués.

Tableau 6 : CMI, Potentialisation d'antibiotiques et RTE des différents extraits.

Plante	Solvant d'extraction	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Potentialisation d'antibiotiques				CI ₅₀ Efflux
		CMI (µg/ml)		Gain d'activité		Gain d'activité		IC ₅₀ RTE (µg/ml)
		ATCC13048	CM64	ATCC13048		CM64		
				NFX	CHL	NFX	CHL	
<i>Azelia africana</i>	H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	182
	MeOH/ H ₂ O	>625	>625	1	1	1	2	9,1
	MeOH	>625	>625	1	1	1	1	10,4
	CH ₂ Cl ₂	>625	>625	1	1	1	1	334
<i>Terminalia avicennioides</i>	H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	10,6
	MeOH/ H ₂ O	>625	>625	1	1	1	2	8,5
	MeOH	>625	>625	1	1	1	1-2	10,4
	CH ₂ Cl ₂	>625	>625	1	1	1	1	X
<i>Vitellaria paradoxa</i>	H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	52,5
	MeOH/ H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	90
	MeOH	>625	>625	1	1	1	1	146
	CH ₂ Cl ₂	>625	>625	1	1	1	2	173
<i>Crossopteryx febrifuga</i>	H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	5,5
	MeOH/ H ₂ O	>625	>625	1	1	1	1	4,2
	MeOH	>625	>625	1	1	1	1	7,2
	CH ₂ Cl ₂	>625	>625	1	1	1	1	366

- CMI sur ATCC13048 : CHL = 8.10³ µg/l et NFX = 0,125.10³ µg/l
- CMI sur CM64 : CHL = 1024-512.10³ µg/l et NFX = 2.10³ µg/l
- CHL = chloramphénicol NFX = norfloxacin
- CM64 : isolat clinique
- ATCC13048 : souche résistante aux antibiotiques

Conclusion :

Les CMI obtenues pour les différents extraits des 4 plantes ne montrent pas d'activité antibactérienne directe aux concentrations testées. Par contre, nous observons une légère potentialisation de l'activité du chloramphénicol pour l'extrait méthanol 50% d'*Azelia africana* et *Terminalia avicennioides* puis l'extrait méthanolique de *Terminalia avicennioides* et enfin l'extrait dichlorométhane de *Vitellaria paradoxa*.

Pour ce qui est de l'efflux, plusieurs extraits ont montré une activité inhibitrice de l'efflux intéressante avec des CI_{50} faibles : ce sont les extraits méthanol 50% et méthanolique d'*Azelia africana*, *Terminalia avicennioides*, la décoction de *T. avicennioides* et enfin la décoction, l'extrait méthanol 50% et méthanol de *Crossopteryx febrifuga*.

2.5. Activité anti-inflammatoire

Le test évalue la capacité d'une substance à inhiber la cascade pro-inflammatoire qui conduit à la production de NO dans les cultures cellulaires.

Le ratio anti-inflammatoire est le rapport entre la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire sur la concentration inhibitrice de la production de NO dans le milieu de culture.

Principe de l'inflammation : il est basé sur la capacité des macrophages de souris immortalisées (RAW- 264.7) à produire une forte réponse inflammatoire lorsqu'ils sont stimulés avec des composés pro-inflammatoires. Les macrophages de souris stimulés par les lipopolysaccharides (LPS) de *E. coli* sont exposés à la substance à tester pendant 24 heures. A la fin de la période d'incubation, la production de NO est évaluée indirectement par la mesure de l'accumulation de nitrite et nitrate qui sont les produits finaux stables de l'oxydation du NO, dans le milieu de culture en utilisant une méthode spectrophotométrique basée sur la réaction de Griess.

2.5.1. Matériel et méthodes

2.5.1.1. Matériel

- **Préparation des extraits à tester**

- Les extraits sont dilués dans du DMSO. Des concentrations de 1, 5 et 10 µg/ml sont préparées
- Le contrôle négatif est le DMSO, 1% (v/v)
- Le contrôle positif est la Dexaméthasone à 0,1, 1, et 10µM

- **Le milieu de culture**

Le milieu complet de culture est le Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM) PAN BIOTECH supplémenté avec de la pénicilline 100 IU/ml et de la streptomycine 100 µg/ml (PAN BIOTECH) avec de 10% de serum de veau activé (PAN BIOTECH), pH 7,2, fraîchement préparé et stocké.

Cellules souches utilisées

Les tests ont été réalisés sur des macrophages de souris immortalisées (lignée cellulaire RAW 264.7, Sigma-Aldrich), à faible nombre de passage (<50).

2.5.1.2. Méthodes

Les cellules RAW 264.7 sont introduites dans les plaques de 96 puits à une concentration de 1.10^5 cellules/ml (200 µl/ puits) et incubées à 37° C (5% CO₂) pendant 24 heures. A la fin de la période d'incubation, le milieu de culture a été décanté et remplacé par 100 µl de milieu contenant les produits à tester aux trois concentrations différentes, ensuite, les cellules ont été incubées pendant une heure. A la fin de cette 2ème période d'incubation, les LPS d'*E. coli* ont été ajoutées au milieu de culture à 1µg/ml et enfin les cellules ont été incubées à 37° C (5% CO₂) pendant 24 heures.

2.5.1.2.1. Evaluation de la libération du NO

La libération de NO a été mesurée dans le surnageant de la culture par la réaction de Griess. 50 µl des surnageants ont été transférés dans les puits d'une plaque de 96 puits, et 50 µl du réactif de Griess modifiés (SIGMA) ont été ajoutés dans chaque puits. Après une période d'incubation de 15 min à température ambiante, la densité optique (DO) de chaque puit a été lue à 540 nm avec un lecteur de fluorescence-luminescence [reader

Infinite M200 Pro(TECAN)]. Les résultats obtenus pour les puits traités avec le produit à tester ont été comparés à ceux des puits témoins non traités (DMSO) et convertis en valeurs de pourcentage.

2.5.1.2.2. Evaluation de la viabilité cellulaire

Parallèlement, pendant la libération du NO, la viabilité cellulaire a été mesurée pour valider l'essai. Le réactif WST-1 vital dye a été utilisé pour mesurer la respiration cellulaire mitochondriale. Le milieu de culture a été clarifié et 50µl de réactif WST-1(dilution 1/10) ont été ajoutés dans chaque puit. Après une période d'incubation de 30 min à 37° C (5% de CO₂), la densité optique (DO) de chaque puit a été lue à 450 nm par un lecteur de fluorescence-luminescence [reader Infinite M200 Pro(TECAN)]. Les résultats obtenus pour les puits traités avec le produit à tester ont été comparés à ceux des puits témoins non traités (DMSO, 100% de viabilité) et convertis en valeurs de pourcentage.

Le calcul de la CI₅₀ a été la suivante :

L'inhibition de la libération de NO et l'inhibition de la viabilité cellulaire ont été exprimées en pourcentage par rapport au témoin négatif :

- Pourcentage de libération du NO = $100 \times (\text{DO moyenne des puits testés} - \text{DO moyenne du blanc}) / \text{DO moyenne du contrôle négatif} - \text{DO moyenne du blanc}$
- Pourcentage de viabilité cellulaire = $100 \times (\text{DO moyenne des puits testés} - \text{DO moyenne du blanc}) / \text{DO moyenne du contrôle négatif} - \text{DO moyenne du blanc}$

Les CI₅₀ NO ont été calculées à l'aide du logiciel Table curve Version 2.0.

Le Ratio anti-inflammatoire a été calculé selon la formule suivante :

Ratio anti-inflammatoire = $\text{CI}_{50} (\text{viabilité cellulaire}) \times 100 / \text{CI}_{50} (\text{la libération de NO})$

2.5.2. Résultats

Les résultats obtenus en présence des extraits à tester ont été comparés à celui du contrôle (dexaméthasone).

Le tableau 7 ci- après nous présente les résultats obtenus pour les extraits suivants décoction, dichlorométhane, méthanolique et hydrométhanolique de *Terminalia avicennioides*, *Crossopteryx febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Azelia africana*.

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des tests anti-inflammatoires

Nom des plantes	Solvant d'extraction	Concentration d'extrait (µg/ml)	Activité anti-inflammatoire	
			Viabilité cellulaire CI ₅₀ (µg/ml)	Inhibition de la production de NO (%)
<i>Crossopterix febrifuga</i>	CH ₂ Cl ₂	0,1	3,1 + 0,6	12,5
		0,5		18,4
		1		21,2
	MeOH	1	27,8 + 2,3	8,1
		5		12,4
		10		15,2
	MeOH/H ₂ O	1	123,6 + 8,4	26,9
		5		31,4
		10		59,1
	H ₂ O	1	100,9 + 12,4	37,3
		5		52,7
		10		72,6
<i>Afzelia africana</i>	CH ₂ Cl ₂	1	155,9 + 13,2	46,5
		5		60,1
		10		100
	MeOH	1	120,6 + 12,9	26,9
		2		34,6
		10		84,4
	MeOH/H ₂ O	1	206,7 + 15,6	14,3
		5		36,2
		10		88,8
	H ₂ O	1	153,6 + 11,4	50,2
		5		67,2
		10		98,6

<i>Terminalia avicennioides</i>	CH₂Cl₂	1	85,6 + 5,6	6,5
		5		14,1
		10		25,4
	MeOH	1	46,6 + 6,1	21,2
		5		26,4
		10		28,1
	MeOH/H₂O	1	143,2 + 8,9	24,5
		5		34,3
		10		86,9
	H₂O	1	152,8 + 10,1	11,5
		5		36,3
		10		89,1
<i>Vitellaria paradoxa</i>	CH₂Cl₂	1	211,6 + 13,4	47,3
		5		67,1
		10		96,9
	MeOH	1	34,3 + 5,1	23,4
		5		34,1
		10		36,8
	MeOH/H₂O	1	65,8 + 6,6	8,6
		5		26,4
		10		41,5
	H₂O	1	26,8 + 2,3	4,3
		5		15,6
		10		18,2

Pour les extraits présentant un pourcentage d'inhibition de la production du NO intéressant, la CI₅₀ et le ratio anti-inflammatoire ont été calculés. Le tableau 8 ci- après présente les résultats.

Tableau 8: Récapitulatif avec CI₅₀ et ratio anti-inflammatoire

Nom des plantes	Solvant d'extraction	Activité anti-inflammatoire		
		Viabilité cellulaire CI ₅₀ (µg/ml)	CI ₅₀ NO (µg/ml)	Ratio
<i>Crossopterix febrifuga</i>	H ₂ O	100,9 + 12,4	4,21	23,96
	MeOH/H ₂ O	123,6 + 8,4	8,26	14,96
<i>Afzelia africana</i>	CH ₂ Cl ₂	155,9 + 13,2	3,35	46,53
	MeOH	120,6 + 12,9	5,31	22,71
	MeOH/H ₂ O	206,7 + 15,6	7,62	27,12
	H ₂ O	153,6 + 11,4	0,98	156,73

<i>Terminalia avicennioides</i>	MeOH/H₂O	143,2 + 8,9	6,69	21,40
	H₂O	152,8 + 10,1	8,26	18,49
<i>Vitellaria paradoxa</i>	CH₂Cl₂	211,6 + 13,4	3,38	62,60
Temoin positif	Dexaméthasone	184,1 ± 18,4 μM	4,0 ± 0,8	45,9

Conclusion :

Au regard de ces résultats, l'extrait hydrométhanolique du *Crossopterix febrifuga*, *Terminalia avicennioides*, des décoctions de *Crossopterix febrifuga* et *Vitellaria paradoxa* puis tous les extraits d'*Azelia africana* montrent une inhibition de la production de NO supérieure à 80%. La spécificité et la sélectivité de la réponse anti-inflammatoire est indiquée par les variations du ratio anti-inflammatoire. Plus le ratio est élevé, plus l'activité anti-inflammatoire est marquée. Ceci est particulièrement vrai pour la décoction d'*Azelia africana*.

En conclusion générale (tableau 9)

Les tests préliminaires effectués sur les quatre plantes sélectionnées ont permis de constater que les extraits de *A. africana* et *V. paradoxa* n'ont pas montré d'activité antiparasitaire sur la souche de *plasmodium falciparum* K1 aux concentrations testées (10 mg/ml) et sont non toxiques. Ces deux plantes ont été testées en raison de leur utilisation sous forme de décoction (écorce) pour soigner la fièvre en médecine traditionnelle dans la région de l'ouest. *C. febrifuga* et *T. avicennioides* ayant déjà fait l'objet d'une évaluation antiparasitaire selon la littérature, n'ont pas été évaluées dans notre étude.

Les différents extraits des quatre plantes n'ont pas montré d'activité antibactérienne directe aux concentrations testées (max 625 mg/ml) sur deux souches résistantes d'*Enterobacter aerogenes*. Mais par contre, une potentialisation de l'antibiotique chloramphénicol a été observée pour l'extrait MeOH/H₂O de *Afzelia africana*, MeOH/H₂O et MeOH pour *T. avicennioides* et enfin CH₂Cl₂ pour *Vitellaria paradoxa*.

Les tests anti-inflammatoires des quatre plantes montrent que l'extrait hydrométhanolique du *Crossopterix febrifuga*, *Terminalia avicennioides*, les décoctions de *Crossopterix febrifuga* et *Vitellaria paradoxa* puis tous les extraits d'*Afzelia africana* montrent une inhibition de la production de NO supérieure à 80%.

A l'issue de ce screening et compte-tenu des données bibliographiques bien détaillées sur *T. avicennioides*, *C. febrifuga* et *V. paradoxa*, nous avons décidé de retenir *Afzelia africana* en raison de ses propriétés anti-inflammatoires prometteuses et du fait que cette plante était peu étudiée sur le plan phytochimique et pharmacologique.

Tableau 9 : Récapitulatif des tests pharmacologiques effectués sur les 4 plantes sélectionnées

		Extraits	Activités			
			Anti-parsitaire	Anti-bactérienne	Potentialisation	Anti-inflammatoire
Plantes	<i>C. febrifuga</i>	CH ₂ Cl ₂	NT	NA	N	NA
		MeOH				NA
		MeOH/H ₂ O				A
		H ₂ O				A
	<i>T. avicennioides</i>	CH ₂ Cl ₂	NT	NA	N	NA
		MeOH				NA
		MeOH/H ₂ O				A
		H ₂ O				NA
	<i>A. africana</i>	CH ₂ Cl ₂	NA	NA	N	A
		MeOH				A
		MeOH/H ₂ O				A
		H ₂ O				A
	<i>V. Paradoxa</i>	CH ₂ Cl ₂	NA	NA	N	NA
		MeOH				NA
		MeOH/H ₂ O				NA
		H ₂ O				A

Légende :

A : Actif

NA : Non actif

N : Négatif

P : Potentialisation

NT = Non testé

**CHAPITRE V : ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET
PHARMACOLOGIQUE D'*AFZELIA AFRICANA***

1. Etude phytochimique et pharmacologique d'*Afzelia africana*

1.1. Etude Phytochimique d'*Afzelia africana*

Afzelia africana est une plante dont la composition chimique est peu étudiée. Son utilisation en médecine traditionnelle est variée selon les résultats des enquêtes que nous avons menées. *Afzelia africana* soigne les hémorragies post partum, les problèmes d'impuissance. Elle a des propriétés antiseptiques, agit sur la tension artérielle. Elle est également utilisée pour soulager les douleurs lombaires et enfin dans les troubles digestifs (facilitatrice de la digestion). La partie et la forme la plus utilisée est l'écorce en décoction.

1.2. Matériel et Méthodes

1.2.1. Matériel

1.2.1.1. Matériel végétal

La drogue végétale a été récoltée à Bangangté dans le département du Ndé (Cameroun) en novembre 2014, puis séchée à l'abri de la lumière, à température comprise entre $25^{\circ} \leq T^{\circ} \leq 35^{\circ}$. Elle a été identifiée à l'Herbier National de Yaoundé (Cameroun) par un botaniste, le Dr Tchiengue Barthelemy. Elle est référencée sous le numéro 49836/HNC. La drogue végétale est l'écorce du tronc (figure 22).



Ecorce prélevée du tronc
d'*Afzelia africana*

Figure 22 : Matériel végétal d'*Afzelia africana*. Photo prise par Foutse

1.2.1.2. Solvants

Les solvants organiques utilisés pour les extractions et les purifications sont de qualité technique (Carlo Erba): méthanol, dichlorométhane.

Les solvants utilisés pour les analyses par CCM sont de qualité pour analyse (Carlo Erba): méthanol, acétate d'éthyle, acide formique, acide acétique, n-butanol.

Les solvants utilisés pour les analyses par CLHP et chromatographie flash sont de qualité CLHP.

L'eau utilisée pour l'extraction est de l'eau ultra-pure.

1.2.2. Méthodes

1.2.2.1. Méthodes analytiques

1.2.2.1.1. Méthodes de caractérisation par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Les Chromatographies sur Couche Mince des différents extraits et fractions ont été effectuées en utilisant plusieurs phases mobiles. Le support utilisé est une plaque de gel de silice Merck 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium 0,25 mm, 20x20 cm. Les phases mobiles utilisées sont présentées ci-dessous (tableau 10).

Tableau 10 : Systèmes de solvants utilisés pour les CCM

Systèmes	Phases mobiles	Mise en évidence des métabolites secondaires
1	acétate d'éthyle/acide formique/acide acétique/eau (100/11/11/27, v/v/v/v).	Composés polaires tels que polyphénols (acides phénols, flavonoïdes)
2	Partridge n-butanol/acide acétique/eau (40/10/50, v/v/v) (phase supérieure)	Composés polaires tels que saponines
3	toluène/acide formique/méthyléthylcétone (50/10/40, v/v/v).	Composés phénoliques apolaires

Révélateurs

L'acide sulfurique à 20 % (v/v) est un révélateur universel. Il est préparé comme suit: ajouter dans le méthanol, 20 ml d'acide sulfurique concentré dans 80 ml de méthanol. Chauffer la plaque à l'étuve à 110° C pendant 10 minutes.

Le réactif de Neu sert à identifier les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes. Il est préparé comme suit : solution A : solution de 2-aminoéthyl diphénylborate à 1 % (m/v dans le méthanol), solution B : solution de polyéthylène glycol (PEG) 400 à 5 % (m/v) dans l'éthanol. Pulvériser successivement les solutions A et B sur la plaque, une fluorescence est observée sous UV à 366 nm.

1.2.2.1.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

La CLHP analytique est effectuée en utilisant l'appareillage suivant :

- Chromatographe, modèle HP 1200 Agilent
- Pompe quaternaire G1311A
- Dégazeur 1322A
- Injecteur automatique G1329A
- Détecteur à barrettes de diodes G1315B
- Uu four à colonne 1316 A
- Loiciel informatique : Chem Station

1.2.2.2. Méthodes préparatives

1.2.2.2.1. Chromatographie sur colonne ouverte de Séphadex LH

20

La colonne utilisée est une colonne en verre, de 1 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur, équipée d'un robinet, en présence d'un solvant et d'un support Sephadex LH20 (GE Healthcare, ref : 17-0090-01).

1.2.2.2.2. Chromatographie flash

La chromatographie Flash est une technique utilisée pour fractionner un échantillon brut. C'est une technique de séparation très courante car elle est simple et rapide. La pression nécessaire est faible, comprise entre 1 à 2 bars.

- **Chromatographie avec colonne en verre**

La chromatographie sur colonne a été effectuée dans une colonne en verre de longueur 70 cm et de diamètre 4,5 cm, équipée d'un robinet, avec une pression de 1,5 bars en présence de solvant (MeOH, H₂O). Le support utilisé est la polyamide (Polyamid SC 6, Macherey-Nagel, taille des particules 0,07 mm, Ref : 815610.1).

- **Chromatographie automatisée**

L'appareillage utilisé est un combiFlash Rf, (Teledyne Isco). Il est équipé de deux pompes, d'une vanne d'injection, d'un détecteur UV (190 à 360 nm), et d'un collecteur de fractions. Le logiciel utilisé est le CombiFlash Rf. Version 2.0.4. (figure 23).



Figure 23 : Appareil Combiflash automatisé

1.2.2.2.3. Chromatographie liquide haute performance

L'appareillage est un appareil Gilson, modèle PLC 2020 équipé de :

- Deux pompes
- Boucle d'injection (5 mL)
- Détecteur UV-visible 190-700 nm
- Collecteur de fractions
- Logiciel informatique (PLC 2020 Software version 1.0.40.0)

La transposition de l'échelle analytique à l'échelle préparative a été effectuée à l'aide du facteur de scale up (F) calculé selon la formule suivante:

$$F = \frac{\text{Diamètre de la colonne préparative au carré}}{\text{Diamètre de la colonne analytique au carré}}$$

Pour déterminer les conditions chromatographiques de la CLHP préparative à partir des conditions de CLHP analytique, on utilise les formules suivantes :

- Débit CLHP préparative = (facteur de scale up) x débit CLHP analytique
- Volume d'injection de l'échantillon CLHP préparative = (facteur de scale up) x volume d'injection de l'échantillon CLHP analytique.

1.2.2.3. Détermination structurale

La détermination structurale des composés a été réalisée par des techniques spectroscopiques (Spectrométrie de Masse et Résonance Magnétique Nucléaire).

1.2.2.3.1. Spectrométrie de Masse (SM)

L'analyse par spectrométrie de Masse a été réalisée pour confirmer la structure des composés. Toutes les expériences ont été réalisées avec un spectromètre tandem Octopole-Temps-de-Vol (Esquire 2000, Bruker Daltonique S.A., N : SY00 03 02, Wissembourg, France), équipé d'une source d'ionisation electrospray (Z-spray) avec une pression de gaz de nébulisation 20 psi, la désolvatation des ions est assistée par l'arrivée à contre courant d'un gaz de séchage (flux d'azote) chauffé à une température de 300°C. La tension du cône d'extraction varie entre 20 et 69 V, la tension du capillaire IES est comprise entre 3000 et 3500 V. La dissociation induite par collision a été réalisée par introduction d'hélium dans la cellule de collision. L'injection des échantillons a été réalisée à un débit de 3 à 6µl/min.

1.2.2.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres ont été enregistrés sur un Spectromètre Bruker 600 MHz Avance III spectrometer (¹H, 600.13 MHz, ¹³C, 150 MHz). L'appareil est équipé d'une sonde BBFO+ ou TXT et l'aimant de 14,1 teslas. Les spectres ont été enregistrés dans un tube capillaire RMN de 5 mm à 300 K. Les solvants utilisés sont du méthanol deutéré (CD₃OD) ou le chloroforme deutéré (CDCl₃). Les déplacements chimiques, exprimés en δ (ppm), ont été mesurés par rapport au signal du solvant pris comme référence et rapportés au signal du TMS (tétraméthylsilane), les constantes de couplage (J) sont données en Hertz.

- **RMN monodimensionnelle**

RMN du ¹³C : la RMN du ¹³C permet de déterminer le nombre total de carbones et d'attribuer certains signaux caractéristiques d'après les déplacements chimiques.

RMN du ¹H : la RMN du ¹H, apporte des informations d'une part, par les déplacements chimiques et d'autre part, par la multiplicité des signaux et les valeurs des constantes de couplage.

- **RMN bidimensionnelle**

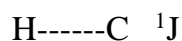
Séquence COSY (Correlation Spectroscopy)

L'expérience COSY permet d'observer les corrélations proton-proton pour lesquels on observe des couplages scalaires entre les protons géminaux 2J H-H et/ou vicinaux 3J H-H.

Le spectre est symétrique, les éléments diagonaux de la matrice de corrélation représentent les déplacements chimiques et les éléments non diagonaux, des taches de corrélation entre les protons couplés.

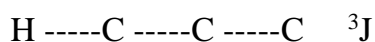
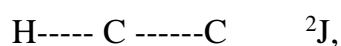
Séquence bidimensionnelle HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Correlation)

Cette séquence utilise les couplages directs 1J carbone-proton, elle permet donc de visualiser les corrélations entre un carbone donné et les protons portés par ce carbone :



Séquence bidimensionnelle HMBC (Heteronuclear Multiple Bound Correlation)

La séquence HMBC permet d'observer des corrélations C-H à longue distance, c'est-à-dire à deux, trois liaisons ou quatre liaisons, permettant d'obtenir indirectement des corrélations proton-carbone et corréler les carbones quaternaires avec les protons du voisinage.



Séquence NOESY :

La séquence NOESY permet d'observer des corrélations proton-proton pour lesquels on observe des couplages couplages dans l'espace.

1.3. Résultats et discussion

1.3.1. Purification de l'extrait MeOH

La sélection de l'extrait MeOH s'est effectuée à la suite de l'analyse par CCM des extraits préparés pour le screening pharmacologiques (Voir Chap IV 2.2.2). Les différents extraits ont été analysés par CCM, avec les systèmes de phase mobile 1 et 2. Les CCM ont été révélées avec le réactif de Neu et H₂SO₄ 20 % respectivement et sont présentées dans la figure 24.

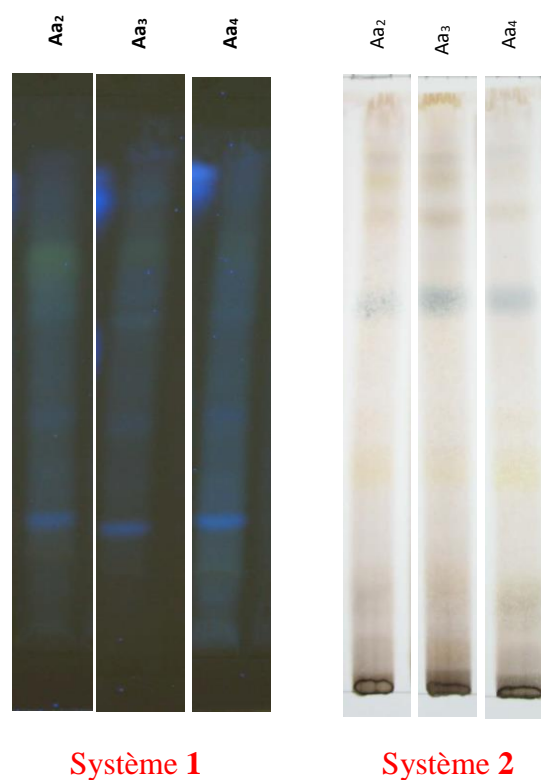


Figure 24: CCM des extraits: eau, méthanol et méthanol/eau d'*Afzelia africana*

Légende :

Aa : *Afzelia africana*

Aa₂ : représente la décoction

Aa₃ : représente l'extrait méthanol

Aa₄ : représente l'extraits méthanol/ eau

En tenant compte seulement des extraits d'*Azelia africana*, l'analyse de cette plaque nous montre :

- pour les extraits Aa₂ et Aa₄, une tache de couleur jaune et de Rf $\approx 0,35$, une tache bleue foncé de Rf $\approx 0,65$ et enfin 3 taches de coloration grisâtre dont les Rf varient entre 0,8 et 0,9.
- pour l'extrait Aa₃, des taches plus intenses aux mêmes Rf que précédemment.

Conclusion : en raison de l'intensité des différentes taches observées par CCM, l'extrait Aa₃ qui correspond à l'extrait MeOH d'*A. africana*, a été choisi pour une étude phytochimique plus approfondie.

1.3.2. Fractionnement préliminaire de l'extrait méthanol d'*Azelia africana*

Pour l'étude phytochimique, nous avons repris la préparation de l'extrait MeOH de manière à disposer d'une quantité suffisante pour le fractionnement (figure 25).

Préparation de l'extrait MeOH

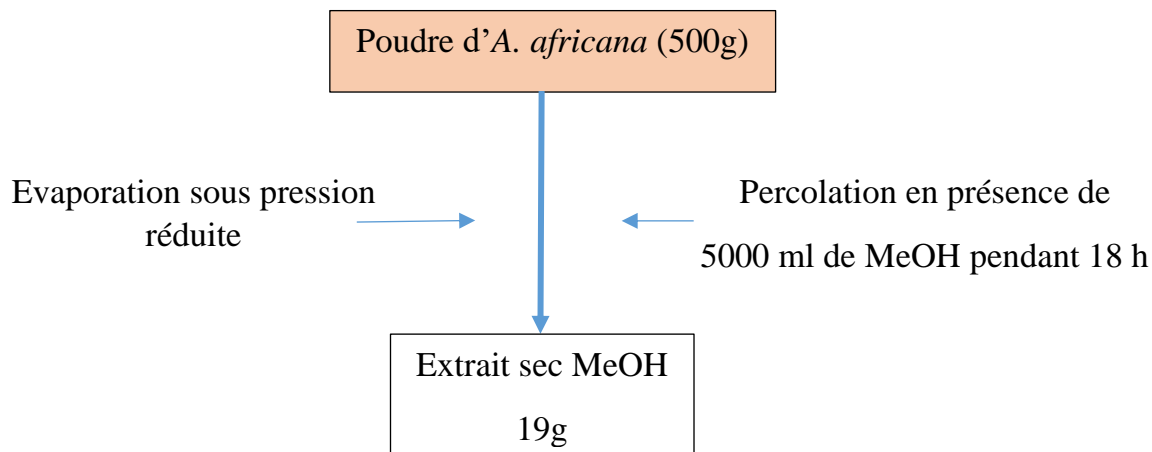


Figure 25: préparation de l'extrait MeOH d'*A. africana*

L'extrait méthanol a été, dans un premier temps, soumis à une extraction liquide/liquide. L'extraction liquide/liquide permet un partage de solutés entre deux solvants non miscibles.

L'extraction liquide/liquide de l'extrait méthanol a été réalisée à partir de 6,25 g et avec l'utilisation successive d'acétate d'éthyle et de n-butanol (BU), pour obtenir un extrait

acétate d'éthyle (AE), n-butanol (BU) et une phase aqueuse résiduelle d'*Azelia africana* (AFPA2). L'étude phytochimique est effectuée sur ces différents extraits obtenus selon le schéma d'extraction suivant (Figure 26).

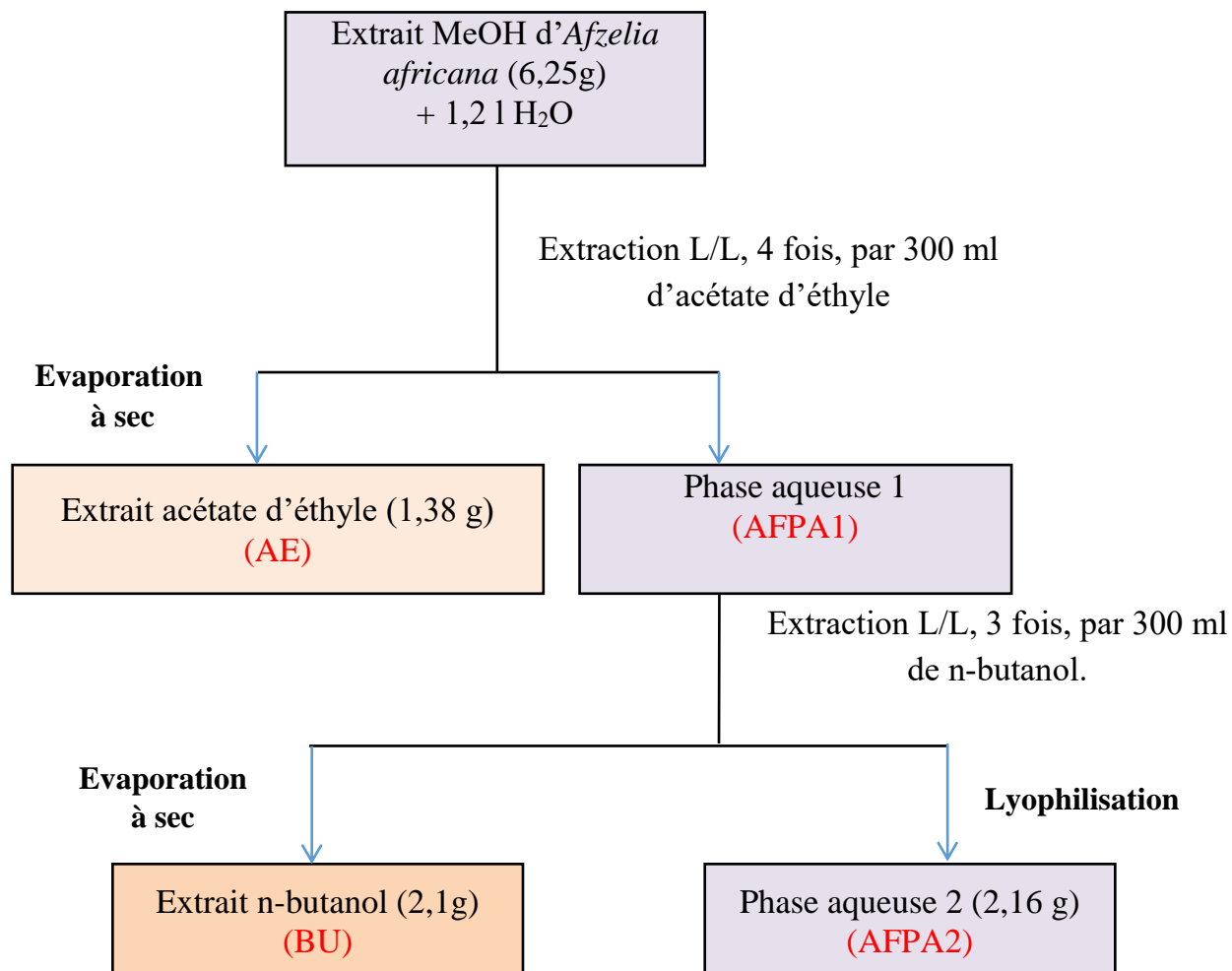


Figure 26 : Extraction Liquide-liquide de l'extrait MeOH d'*Azelia africana*

Rendement d'extraction

Extrait	Masse d'extrait (g)	Rendement (%)
AE	1,38	22,08
BU	2,10	33,60
AFPA2	2,16	34,56

1.3.3. Purification de l'extrait acétate d'éthyle (AE)

1.3.3.1. Purification sur colonne de polyamide

Une première purification a été effectuée avec une colonne de 100 g de polyamide avec 1,38 g d'extrait acétate d'éthyle. Le schéma de purification est présenté dans la figure 27. L'élution a été réalisée en gradient par palier avec des mélanges H₂O/MeOH (80%, 60%, 40%, 20%, 100% et 100% avec de l'acide acétique à 1% v/v). Le volume de collecte était de 20ml et 138 tubes ont été collectés.

A l'issue de ce fractionnement, après regroupement, nous avons obtenu 15 fractions dénomées G1 à G15. Les solvants des différentes fractions ont été éliminés par évaporation sous pression réduite et les phases aqueuses résiduelles ont été lyophilisées.

Après ce regroupement, G2 et G10 ont été purifiées sur Séphadex LH20. Les purifications de ces fractions sont présentées dans la figure 27. Les fractions G3 et G6 ont été purifiées par CLHP préparative (pragraphe 1.3.3.2).

- **Purification de la fraction G2**

La fraction G2 a été purifiée sur colonne de sephadex. 10 mg de la fraction ont été solubilisés dans 1 ml de MeOH, l'élution a été réalisée en mode isocratique avec du MeOH. Le volume de collecte était de 2 ml. 34 sous fractions ont été obtenues puis regroupées. Après regroupement, 7 sous fractions allant de G2-1 à G2-7 ont été obtenues. La fraction G2-4 correspond à un produit pur qui a été identifié par RMN.

- **Purification de la fraction G10**

La fraction G10 a été purifiée sur colonne de séphadex comme précédemment. Nous avons obtenu 30 sous fractions que nous avons regroupées. Après regroupement, 4 sous fractions allant de G10-1 à G10-4 ont été obtenues et la fraction G10-1 qui correspond à un produit pur qui a été identifié par RMN.

Conclusion : A partir de l'extrait acétate d'éthyle, 2 composés ont été isolés et identifiés par RMN : G2-4 et G10-1 (figure 27).

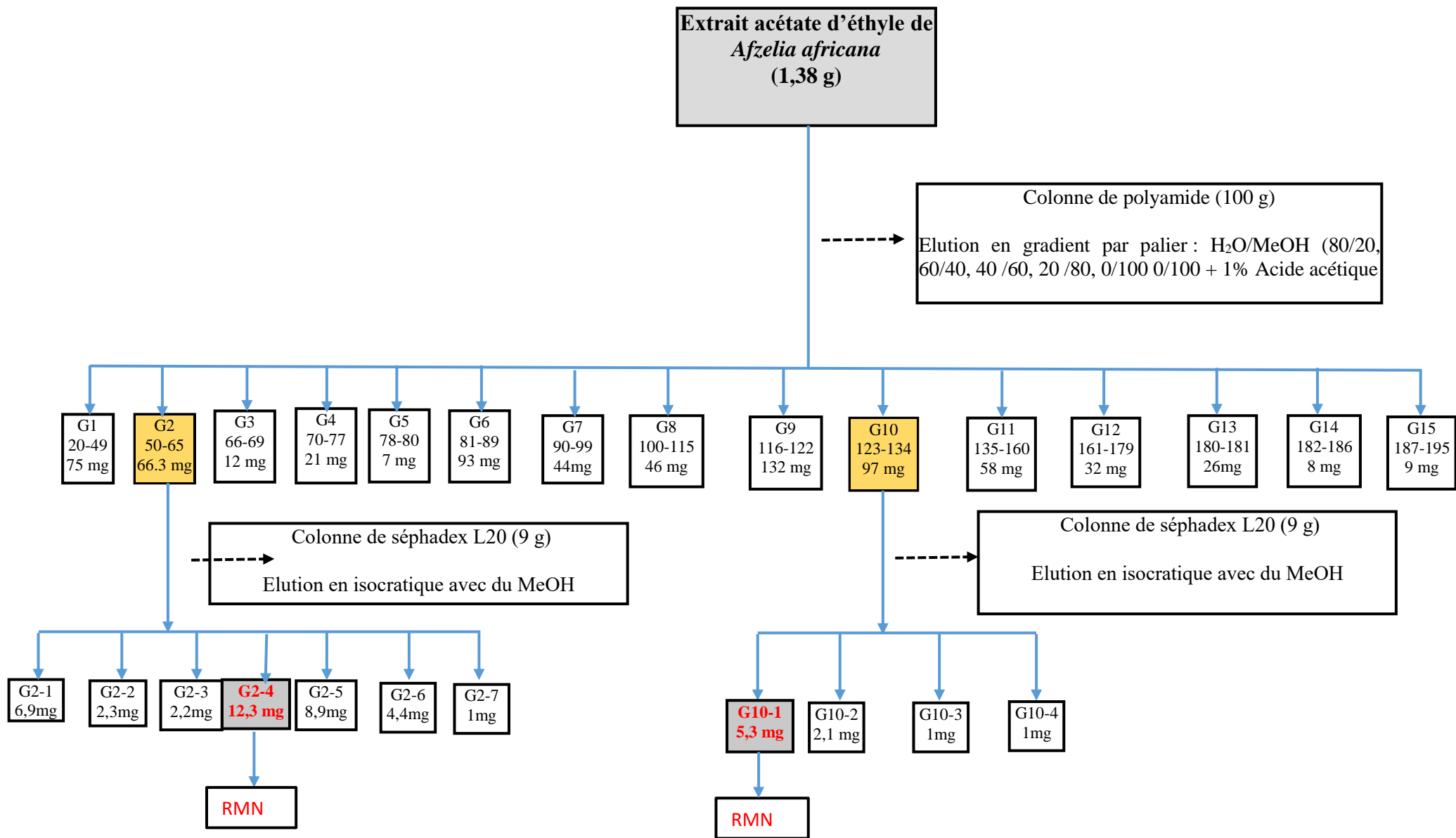


Figure 27 : Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle d'*Afzelia africana*

1.3.3.2. Purification par CLHP préparative

Les fractions G3 et G6 obtenues précédemment ont été purifiées par CLHP préparative. Pour cela, nous avons mis au point des conditions chromatographiques par CLHP analytique que nous avons transposé à l'échelle préparative.

Mise au point des conditions chromatographiques par CLHP analytique :

- Appareillage : chaîne Agilent modèle HP 1200
- Colonne : luna C18, 3 μ m, 150 mm x 4,6 mm, Phenomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en gradient :

Temps (min)	A (%)	B (%)
0	60	40
25	50	50
26	0	100
32	0	100
40	60	40
45	60	40

- Température du four à colonne : 25 °C
- Débit : 0,7 ml/min
- Volume injecté : 20 μ l
- Détection UV : λ = 254 nm et 350 nm
- Durée de l'analyse : 45min

Les deux fractions ont été préparées à la concentration de 1mg/ml de phase mobile (60% A et 40% B). Les solutions ont été filtrées sur 0,45 μ m avant injection. Les profils chromatographiques obtenus pour les fractions G3 et G6 étaient satisfaisants pour permettre la purification de certains composés.

1.3.3.2.1. Profils chromatographiques analytiques des fractions G3 et G6 et transposition à l'échelle préparative

- Fraction G3

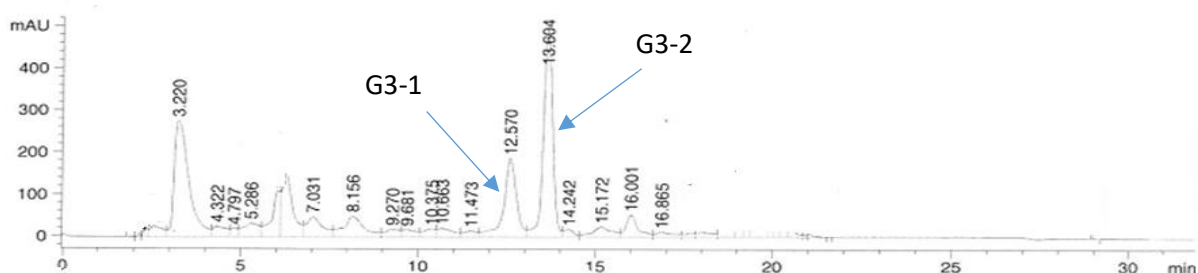


Figure 28 : Chromatogramme de la fraction G3

Sur ce chromatogramme à 254 nm, nous observons deux composés majoritaires qui ont un temps de rétention de 12,57 min et 13,60 min que nous avons nommés respectivement G3-1 et G3-2. Notre objectif est d'isoler ces 2 composés et de les identifier.

➤ **Transposition à l'échelle préparative**

Les conditions analytiques permettent de séparer les deux composés que nous avons purifiés par CLHP préparative. La mise au point des conditions expérimentales a été réalisée en utilisant les formules suivantes.

Facteur de scale up donne $F = (21,2)^2 / (4,60)^2 = 21,24$

Débit avec la colonne préparative = $F \times 0,7 = 21,24 \times 0,7 = 14,868$ que nous avons arrondi à 15 ml / min.

➤ **Séparation par CLHP préparative**

Conditions chromatographiques

- Appareillage : PLC 2020 Gilson
- Colonne : Luna C18, 5 μ m, 150 x 21,2 mm, Phénomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O
solvant B : méthanol
- Gradient d'élution :

Temps (min)	A (%)	B (%)
0	60	40
25	50	50
27	0	100
30	0	100
32	60	40
35	60	40

- Débit : 15 ml/min
- Volume injecté : 2,5 ml
- Détection : $\lambda = 254$ nm et 350 nm
- Durée d'analyse : 35 min
- Solution à purifier : 5mg de G3 ont été solubilisés dans 1ml de la phase mobile H₂O/ MeOH (60/40)

Après injection de la solution à purifier dans les conditions précédemment présentées, nous avons obtenu le profil chromatographique de G3 ci- après par CLHP préparative. Dans ces conditions, G3-1 présente un temps de rétention de 12,7 min et G3-2 a un temps de rétention de 13,9 min.

Après la collecte des fractions, nous avons obtenu 0,7 mg de G3-1 et 0,5 mg pour G3-2 pur.

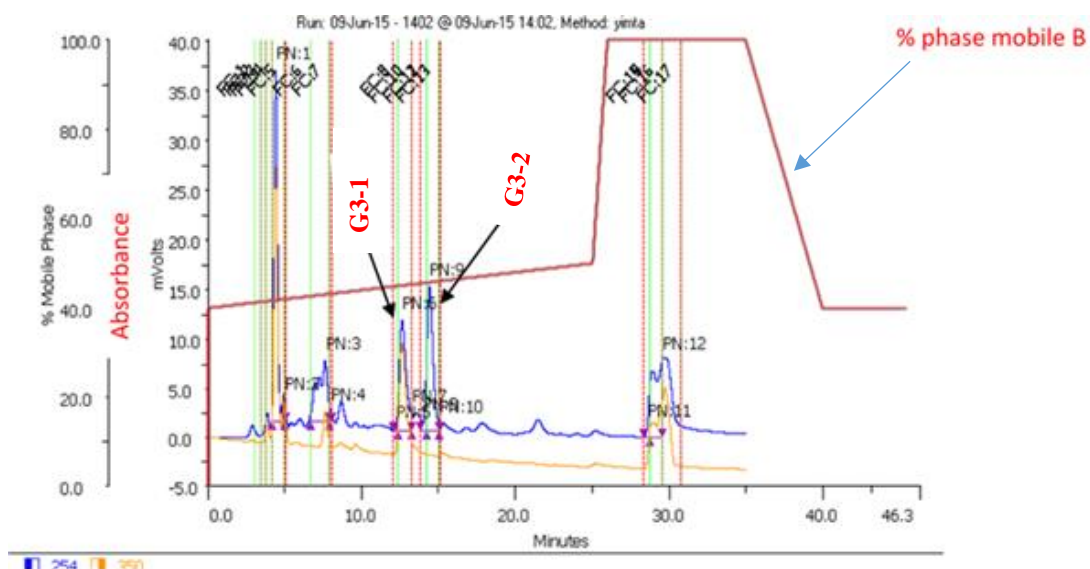


Figure 29 : Chromatogramme de la fraction (G3) obtenue par chromatographie préparative

La pureté des deux composés a été vérifiée par CLHP analytique et les chromatogrammes suivants ont été obtenus :

Composé G3-1: m = 0,7 mg

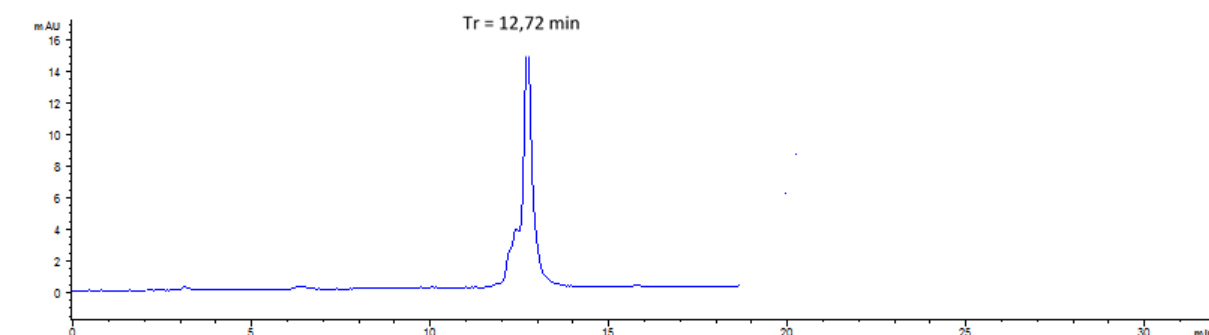


Figure 30: Chromatogramme de G3-1 à 254 nm

Composé G3-2 : m= 0,5 mg

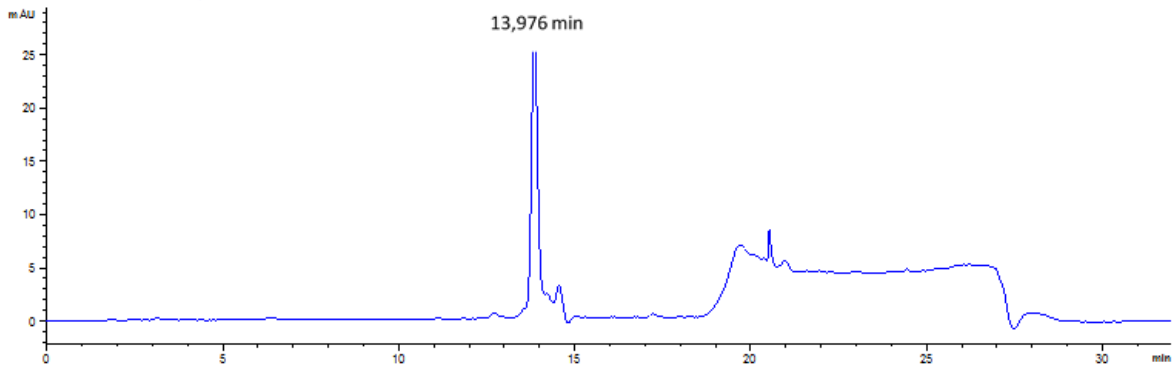


Figure 31 : Chromatogramme de G3-2 à 254 nm

Conclusion : Deux composés ont été isolés G3-1 et G3-2. Le composé G3-2 a été identifié par RMN. L'étude RMN de G3-1 est en cours.

- **Fraction G6**

L'analyse par CLHP analytique de G6, selon les conditions du paragraphe 1.3.3.2.1, montre le chromatogramme ci-dessous (figure 32).

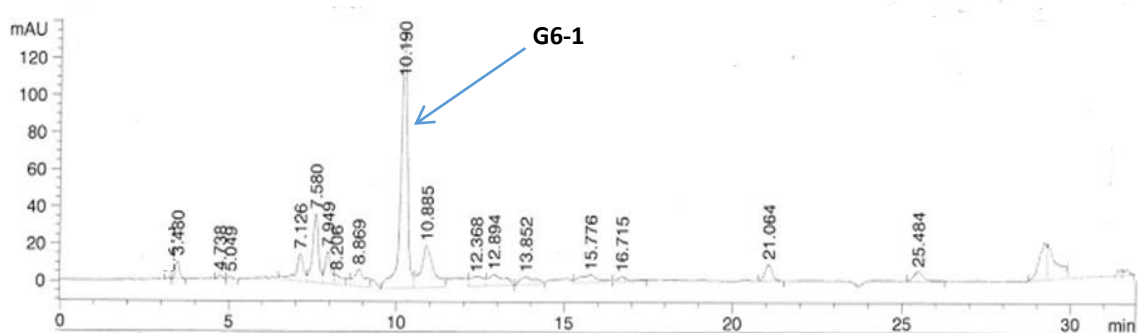


Figure 32 : Chromatogramme de la fraction G6 à 254 nm

Nous observons un composé majoritaire avec un temps de retention de 10,19 min que nous avons nommé G6-1.

➤ Séparation par CLHP préparative de G6

Après transposition à l'échelle préparative selon les conditions (paragraphe 1.3.3.2) nous obtenons le profil chromatographique suivant pour la fraction G6.

Le temps de rétention de G6-1 est de 10,10 min

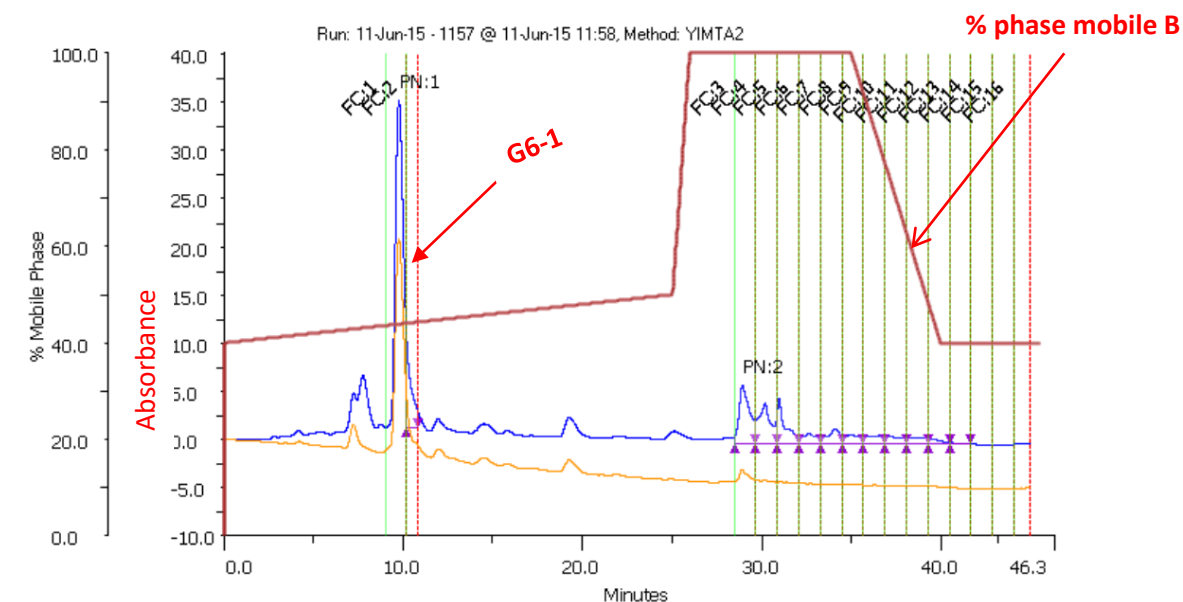


Figure 33 : Chromatogramme de la fraction G6 obtenue par chromatographie préparative

Après le contrôle de la fraction G6-1 par CLHP analytique, nous avons constaté qu'elle n'était pas totalement pure.

Nous avons alors procédé à une deuxième purification en utilisant une élution en mode isocratique avec 60% d'eau et 40% de méthanol pendant 25 min.

Le chromatogramme obtenu par CLHP préparative est présenté ci-après (figure 34) :

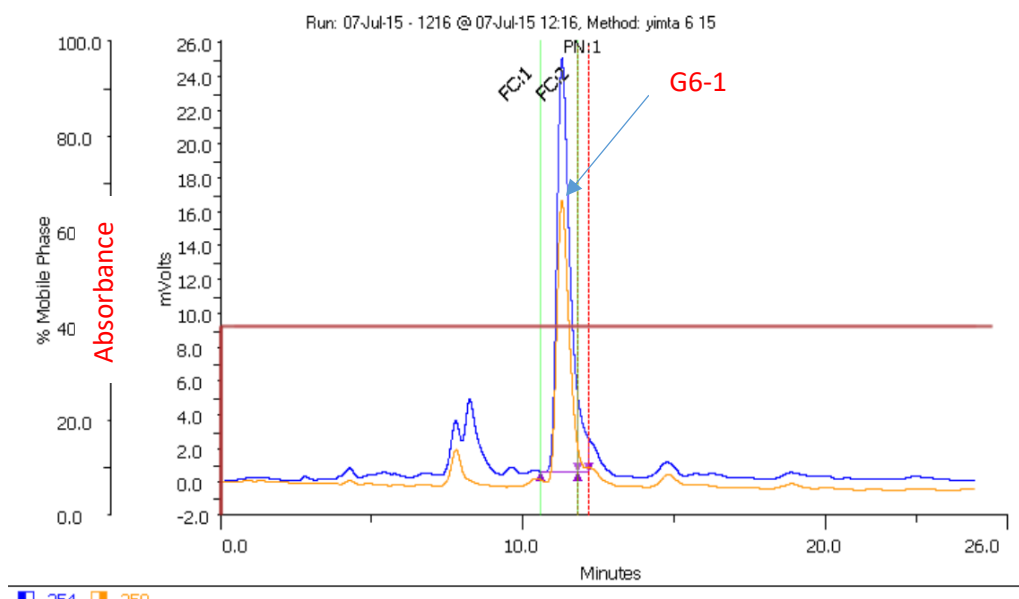


Figure 34 : Chromatogramme de la fraction G6-1 obtenue par chromatographie préparative.

Le contrôle par CLHP analytique nous montre que G6-1 est un mélange de deux composés difficilement séparables comme l'indique le chromatogramme ci-après et qui sont peut être des isomères :

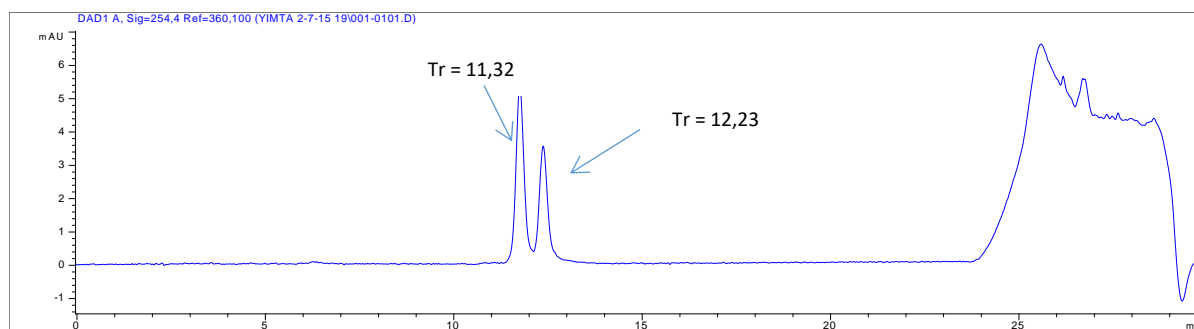


Figure 35 : Chromatogramme de G6-1

G6-1 a été identifié par RMN.

La figure 36 nous présente le schéma récapitulatif pour la purification de l'extrait acétate d'éthyle ainsi que les composés purs isolés.

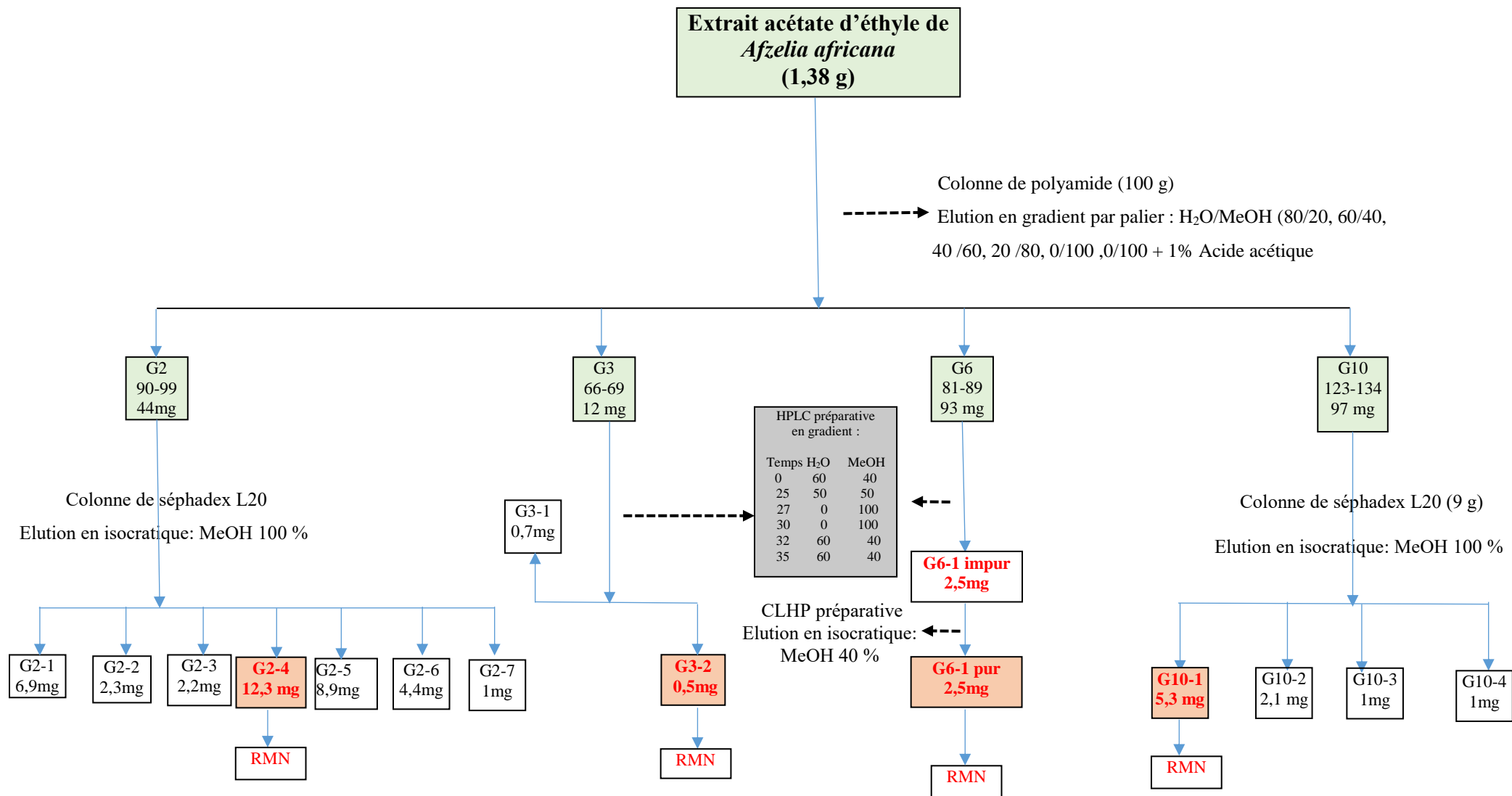


Figure 36 : Schéma récapitulatif des composés isolés à partir de l'extrait acétate d'éthyle d'*A. africana*.

1.3.3.3. Détermination structurale des composés isolés

1.3.3.3.1. Composé G2-4

Le composé G2-4 a été isolé sous forme d'une poudre de couleur jaune. Le spectre de masse montre un ion moléculaire à m/z 451 $[M+H]^+$, correspondant à une masse de 450, compatible avec la formule brute $C_{21}H_{22}O_{11}$ (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif) (figure 37). La structure du composé G2-4 a été déduite des spectres de RMN du proton et des spectres bidimensionnels HSQC et HMBC, les déplacements chimiques des carbones ^{13}C ont été déterminés à partir des spectres HSQC et HMBC (tableau 11). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type Dihydroflavonol. Les données spectrales sont comparables à celles de la littérature [111,112]. Le composé G2-4 correspond à un mélange (50/50) de 2 isomères : le **Dihydrokaempférol 7-O- β -D glucoside** ou **sinensine**, et l'**isosinensine** (figure 38).

Ces composés sont décrits pour la **première fois dans *Azelia africana***.

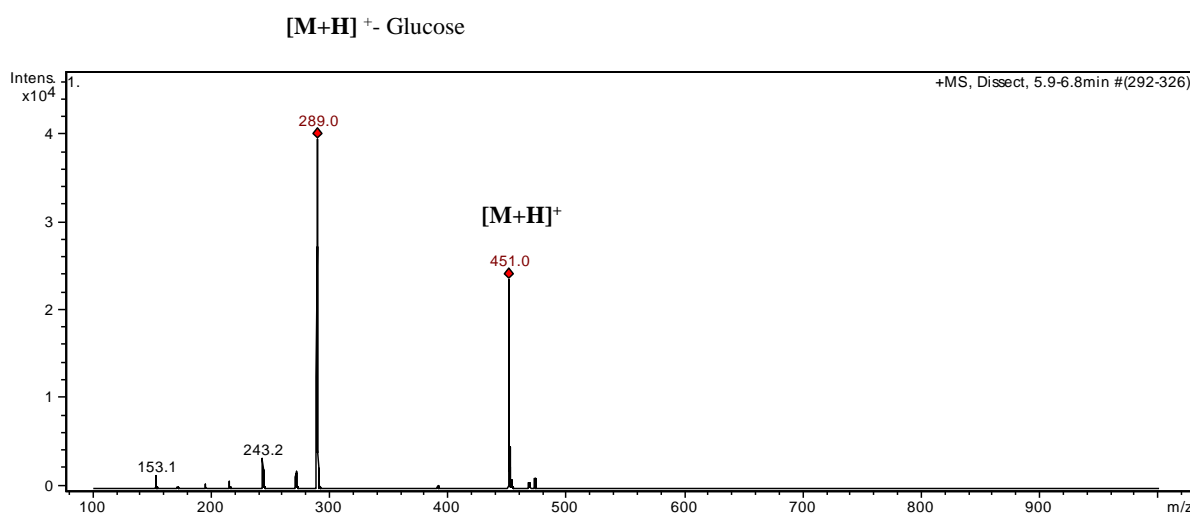


Figure 37: Spectre de masse du composé G2-4

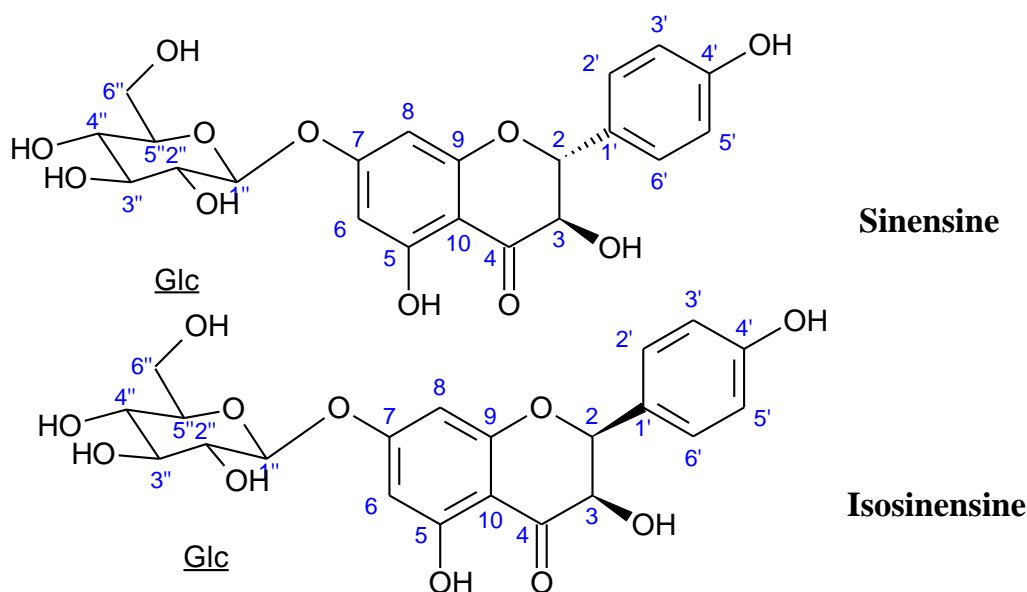


Figure 38: **sinensine et isosinensine**

Tableau 11 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K des deux composés présents dans G2-4, la sinensine, et l'isosinensine [111,112].

Atome	Sinensine		Isosinensine	
	$\delta_{1\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{13\text{C}}$	$\delta_{1\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{13\text{C}}$
2	5,02 ; d (11,8)	85,1	5,39 ; d (2,1)	83,1
3	4,60 ; d (11,8)	73,7	4,22 ; d (2,1)	73,1
4	-	199,5	-	197,2
5	-	164,9	-	164,9
6	6,23 ; d (2,1)	98,3	6,27 ; d (2,1)	97,0
7	-	167,4	-	167,3
8	6,20 ; d (2,1)	97,0	6,21 ; d (2,1)	98,1
9	-	165,4	-	164,1
10	-	103,5	-	103,3
1'	-	129,0	-	128,3
2', 6'	7,36 ; d (8,3)	130,4	7,35 ; d (8,3)	129,8
3', 5'	6,83 ; d (8,3)	116,1	6,79 ; d (8,3)	115,9
4'	-	159,0	-	158,6
Glucose				
1''	4,97 ; d (7,1)	101,1	5,00 ; d (7,1)	101,1
2''	3,45 ; ov	74,7	3,45 ; ov	74,7
3''	3,45 ; ov	77,8	3,45 ; ov	77,8
4''	3,39 ; ov	71,1	3,39 ; ov	71,1
5''	3,45 ; ov	78,0	3,45 ; ov	78,0
6''	3,87 ; ov	62,3	3,87 ; ov	62,3
	3,68 ; ov		3,68 ; ov	

δ en ppm; d : doublet, ov : overlapped, * Inversion possible. $\delta_{13\text{C}}$ déterminé à partir des spectres RMN HSQC et HMBC.

1.3.3.3.2. Composé G3-2

Le composé G3-2 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur marron. La structure du composé G3-2 a été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13, et des spectres bidimensionnels HSQC et HMBC (tableau 12). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un lignane, ses données spectrales correspondent à l'alcool *trans* dihydrodéhydroconiférylique (C₂₀H₂₄O₆), et sont comparables à celles de la littérature [113] (tableau 12, figure 39). Ce lignane est isolé **pour la première fois d'*Afzelia africana***.

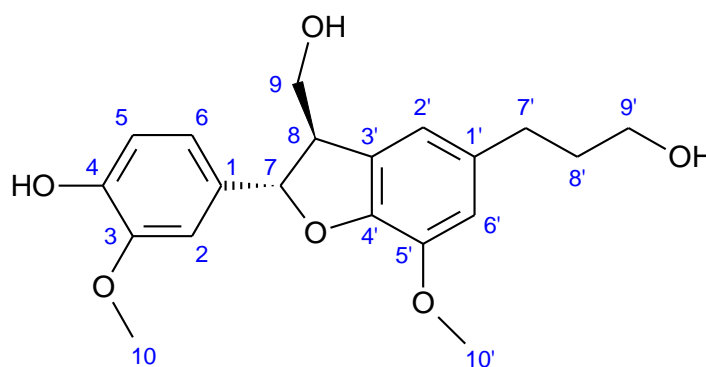


Figure 39 : alcool *trans* dihydrodéhydroconiférylique, G3-2

Tableau 12 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé G3-2, l'alcool *trans*-dihydrodéhydroconiférylique [113].

Atome		
	$\delta^1\text{H}$ (J, Hz)	$\delta^{13}\text{C}$
1	-	134,4
2	6,95 ; d (2,0)	110,2
3	-	149,1
4	-	147,0
5	6,76 ; d (8,1)	115,8
6	6,83 ; ddd (8,1 ; 1,8 ; 0,8)	119,3
7	5,49 ; dbr (6,2)	88,6
8	3,46 ; q (6 ,5)	55,0
9	3,83 ; dd (11,0 ; 5,0) 3,75 ; dd (11,0 ; 7,0)	64,7
10	3,82 ; s	56,1
1'	-	136,6
2'	6,73 ; s	117,7
3'	-	134,5
4'	-	147,2
5'	-	144,9
6'	6,73 ; s	113,8
7'	2,63 ; dd (9,0 ; 7,5	32,6
8'	1,82 ; ddt (9,0 ; 7,5 ; 6,5)	35,5
9'	3,57 ; t (6,5)	62,0
10'	3,86 ; s	56,4

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, (J Hz)

1.3.3.3. Composé G6-1

Le composé G6-1 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur jaune. Sa formule brute de $C_{26}H_{28}O_{13}$, a été déduite de son spectre de masse montrant un ion moléculaire à m/z 459 $[M+H]^+$, correspondant à une masse de 458 (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif) (figure 40).

La structure du composé G6-1 a été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC, et HMBC (tableau 13). Les spectres de RMN montrent des signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type Dihydroflavonol, la **2R,3R-trans-aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-méthylènebutanoate)** (figure 41). Les données spectrales obtenues sont conformes à celles de la littérature [114]. Ce composé a été précédemment décrit dans les écorces d'*Afzelia bella* en 2001 par Binutu, il est décrit pour **la première fois dans *A. africana***.

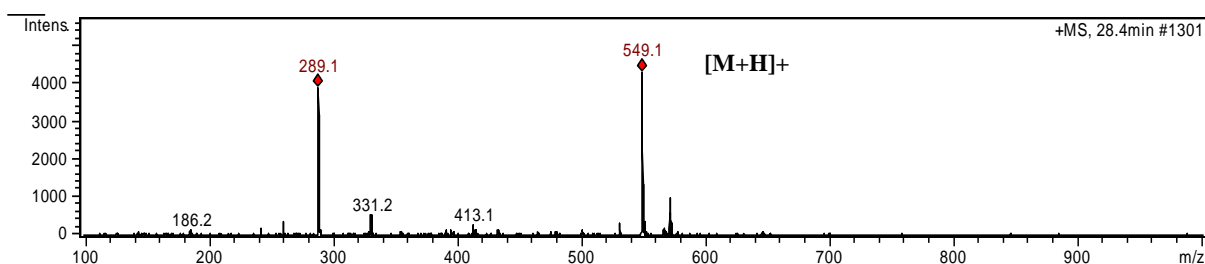


Figure 40: Spectre de masse du composé G6-1

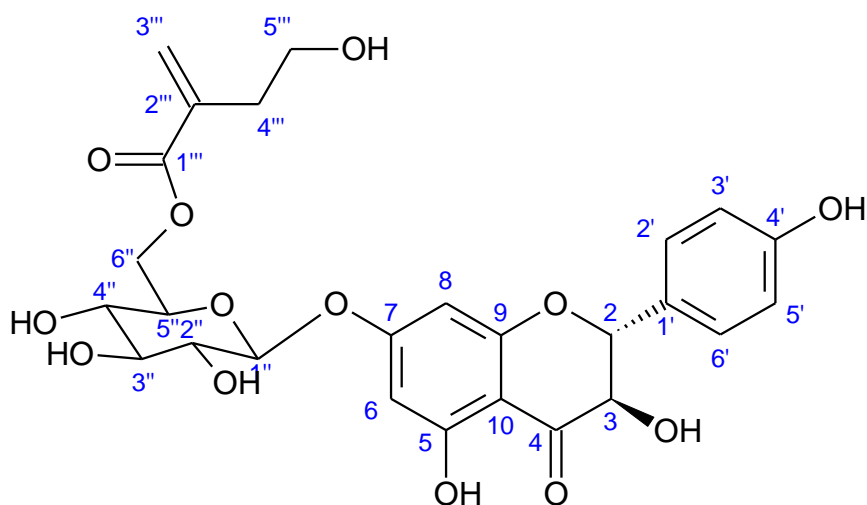


Figure 41: 2R, 3R-trans-aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate) **G6-1**

Tableau 13 : Données RMN ¹H à 600MHz, ¹³C à 150MHz dans le CD₃OD à 300K du composé G6-1, la 2R, 3R-trans-aromadendrine 7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate) [114].

Atome	δ _{1H} (J, Hz)	δ _{13C}
1	-	-
2	5,02 d (11,8)	84,9
3	4,60 ; d (11,8)	73,6
4	-	199,1
5	-	164,1
6	6,20 ; d (2,2)	98,1
7	-	166,9
8	6,20 ; d (2,2)	96,5
9	-	164,1
10	-	103,3
1'	-	129,0
2', 6'	7,38 ; d (8,6)	130,2
3', 5'	6,86 ; d (8,6)	115,9
4'	-	159,1
1''	4,96; d (7,5)	100,9
2''	3,46 ; ov	74,3
3''	3,46 ; ov	77,4
4''	3,32 ; ov	71,4
5''	3,73 ; m	75,4
6''	4,56; dd (12,0; 2,0) 4,15; dd (12,0; 7,8)	65,0
1'''	-	168,0
2'''	-	137,8
3'''	6,19; brq (1,2) 5,39; brq (1,2)	128,2
4'''	2,42; m	36,0
5'''	3,56; t (6,6)	61,2

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz)

1.3.3.3.4. Composé G10-1

Le composé G10-1 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur noire. La structure du composé G10-1 a été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC (tableau 14). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type Dihydroflavonol, le **dihydrokaempferol** (figure 42). Les déplacements chimiques obtenus sont conformes à ceux de la littérature [115]. Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Azelia africana***

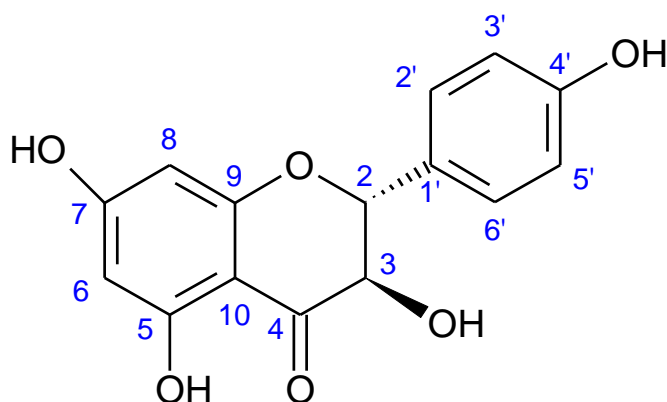


Figure 42 : dihydrokaempférol G10-1

Tableau 14 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé G10-1, le dihydrokaempférol [115].

Atome	δ_{H}	$\delta_{^{13}\text{C}}$
2	4,95 ; d (11,5)	85,9
3	4,51 ; d (11,5)	73,6
4	-	197,8
5	-	163,4
6	5,88 ; brs	97,9
7	-	171,1
8	5,84 ; brs	96,9
9	-	154,4
10	-	101,3
1'	-	129,5
2'	7,35 ; d (8,5)	130,3
3'	6,83 ; d (8,5)	116,1
4'	-	159,2
5'	6,83 ; d (8,5)	116,1
6'	7,35 ; d (8,5)	130,3

Conclusion :

L'extrait acétate d'éthyle nous a permis d'isoler cinq composés : G2-4 (2 composés), G3-2, G6-1 et G10-1.

Les fractions G1, G4, G5, G7, G8, G9, G11, G12, G13, G14, et G15 n'ont pas pu être purifiées en raison des quantités obtenues insuffisantes.

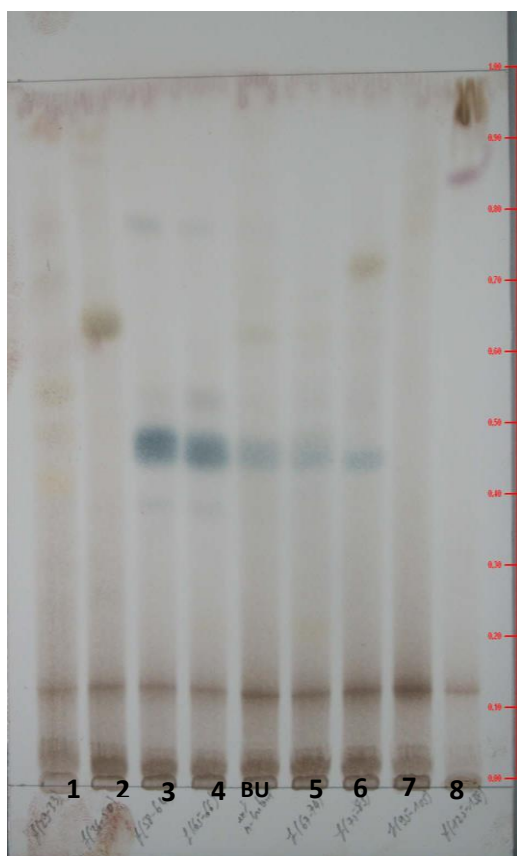
Tableau 15 : Récapitulatif des quantités et des rendements des différentes fractions issues de la chromatographie Flash de l'extrait n-butanol.

Fractions	Masses (mg)	Rendements (%)
A1 : F (29-33)	24,0	1,60
A2 : F (36-50)	107,5	7,17
A3 : F (58-64)	133,3	8,88
A4 : F (65-66)	36,0	2,40
A5 : F (67-74)	100,6	6,70
A6 : F (75-85)	141,4	9,42
A7 : F (95-105)	61,7	4,11
A8 : F (125-138)	54,6	3,64

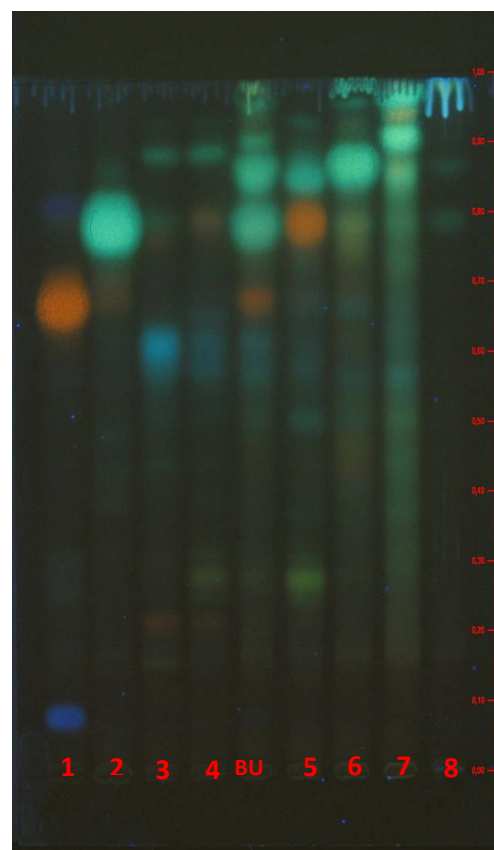
1.3.4.1.2. Analyse des fractions par CCM

Les fractions A1 à A8 ont été analysées par CCM avec la phase mobile 1 (voir paragraphe 1.2.2.1). La révélation a été réalisée avec le réactif de Neu, observation sous UV à 366 nm et révélation avec H₂SO₄ 20% - observation dans le visible.

Les chromatogrammes obtenus sont présentés dans la figure 43.



Observation dans le visible après pulvérisation de H₂SO₄ 20%



Observation à 366nm après pulvérisation du réactif de Neu

Figure 43 : CCM des fractions dans le système (1)

Légende :

1 : A1 = f (29-33)

2 : A2 = f (36-50)

3 : A3 = f (58-64)

4 : A4 = f (65-66)

5 : A5 = f (67-74)

6 : A6 = f (75-85)

7 : A7 = f (95-105)

8 : A8 = f (125-138)

La plaque révélée avec l'acide sulfurique nous montre une tache de couleur bleue dans les fractions 3, 4, 5 et 6 que l'on n'observe pas sur la plaque révélée avec le réactif de Neu. Ces composés appartiennent à une classe chimique différente de ceux observés sur la plaque révélée avec le réactif de Neu, réactif des composés phénoliques en particulier les flavonoïdes.

1.3.4.1.3. Analyse des fractions par CLHP

Conditions chromatographiques

- Appareillage : chaîne Agilent HP 1200
- Colonne : Luna C18, 3 μ m, 150mm x 4,6 mm, Phénoménex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1 % d'acide formique pour HPLC
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en gradient :

Temps (Min)	A%	B %
0	90	10
2	90	10
55	0	100
57	0	100
60	90	10
65	90	10

- Température du four à colonne : 25°C
- Débit : 0,7 ml/min.
- Volume injecté : 20 μ l
- Détection UV : 210, 254 et 350 nm
- Durée de l'analyse : 65 min

Les différentes fractions ont été préparées à la concentration de 1mg/ml de phase mobile (90% A et 10% B). Les solutions ont été filtrées sur 0,45 μ m avant injection.

Trois fractions : A3, A5 et A6, en quantité suffisante et présentant une séparation des différents composés présents, avec ces conditions chromatographiques, ont fait l'objet d'une purification par CLHP préparative.

1.3.4.1.3.1. Purification des fractions A3, A5 et A6

1.3.4.1.3.1.1. Fraction A3

Conditions chromatographiques analytiques :

- Appareillage : chaîne Agilent modèle HP 1200
- Colonne luna C18, 3 μ m, 150 mm x 4,6 mm, Phenomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1% acide formique
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en isocratique : 72% solvant A et 28% solvant B
- Débit : 0,7 ml/min.
- Volume injecté : 20 μ l
- Détection UV : 254 nm et 350 nm
- Durée de l'analyse : 30 min.

Les différentes fractions ont été préparées à la concentration de 1mg/ml de phase mobile (72% A et 28% B). Les solutions ont été filtrées sur 0,45 μ m avant injection.

Le chromatogramme obtenu est le suivant :

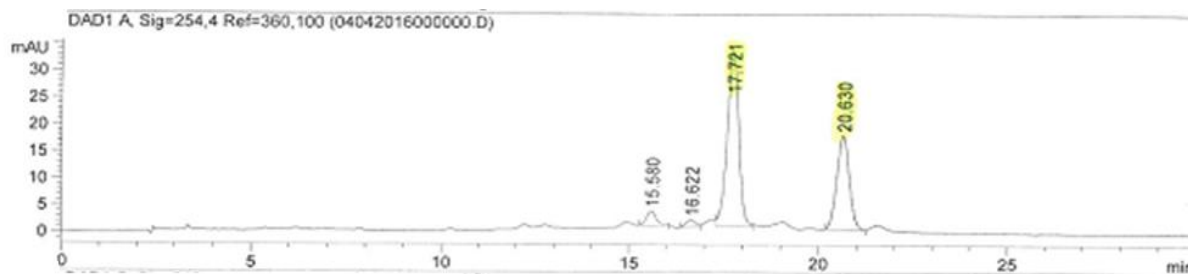


Figure 44 : Chromatogramme de la fraction A3 à 254 nm

Sur ce chromatogramme à 254 nm, nous observons deux composés majoritaires qui ont un temps de rétention de 17,72 min et 20,63 min que nous allons purifier.

Après injection dans les conditions précédemment citées, le chromatogramme suivant montre le profil chromatographique de la fraction A3 en CLHP-préparative :

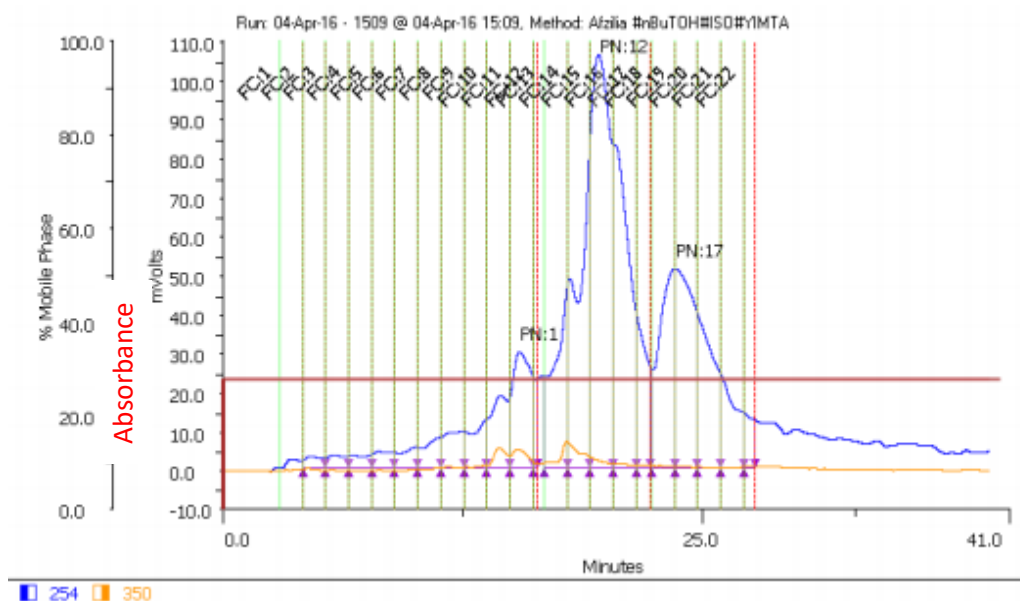
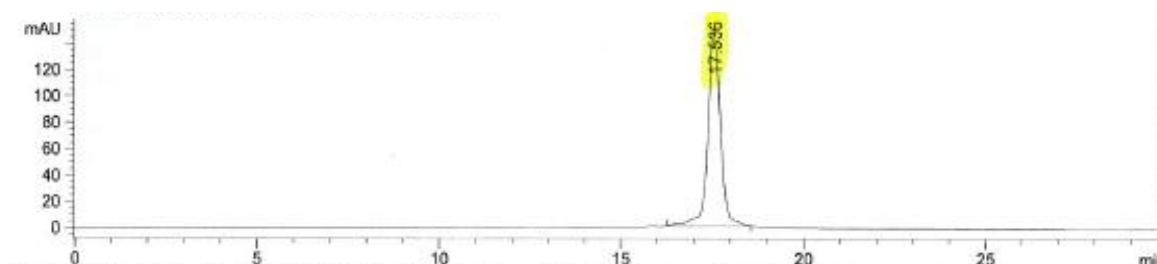


Figure 45 : Profil chromatographique de la fraction A3 obtenue par CLHP préparative

La purification de A3 en CLHP préparative nous a permis d'obtenir 20 fractions nommées F1 à F20 que nous avons regroupées en 4 sous fractions : F(1-14), F15, F18 et F(19-20).

Le contrôle des fractions par CLHP analytique selon les conditions chromatographiques du paragraphe 1.3.4.1.3.1 fraction A3, montre que les fractions F15 et F18 sont des produits purs (figures 46).

- Fraction F15



- Fraction F18

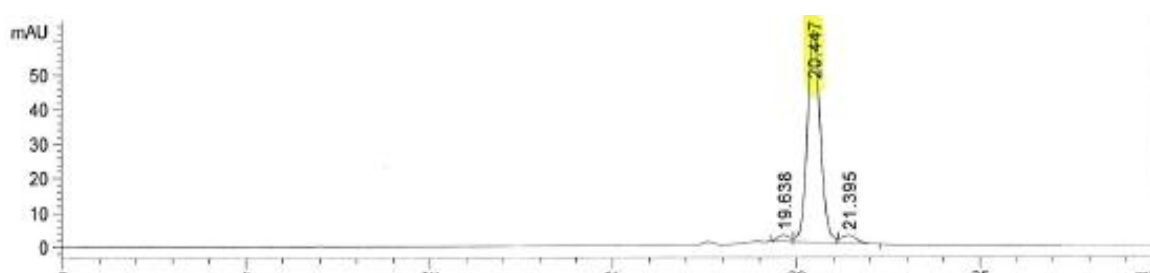


Figure 46 : Chromatogramme des sous fractions F15, F 18 à 254nm

1.3.4.1.3.1.2. Fraction A5 et A6

Pour la purification des fractions A5 et A6, les mêmes conditions que celles retenues pour la purification de la fraction A3 ont été appliquées. Seul le pourcentage des solvants A et B de la phase mobile a varié.

- Pour la fraction A5 : 73% A (eau + 0,1% HCOOH) et 27% B (MeOH)
- Pour la fraction A6 : 70% A (H₂O + 0.1% HCOOH) et 30% B (MeOH).

La purification de la fraction A5 à permis d'obtenir 2 composés purs B18 et B27 et la fraction A6 à permis d'obtenir 1 composé pur C10 que nous avons identifié par RMN.

Conclusion :

A partir de l'extrait n-Butanol, nous obtenons 5 composés purs : F15, F18, B18, B27 et C10. Le schéma de purification de l'extrait n-Butanol est présenté dans la figure 47.

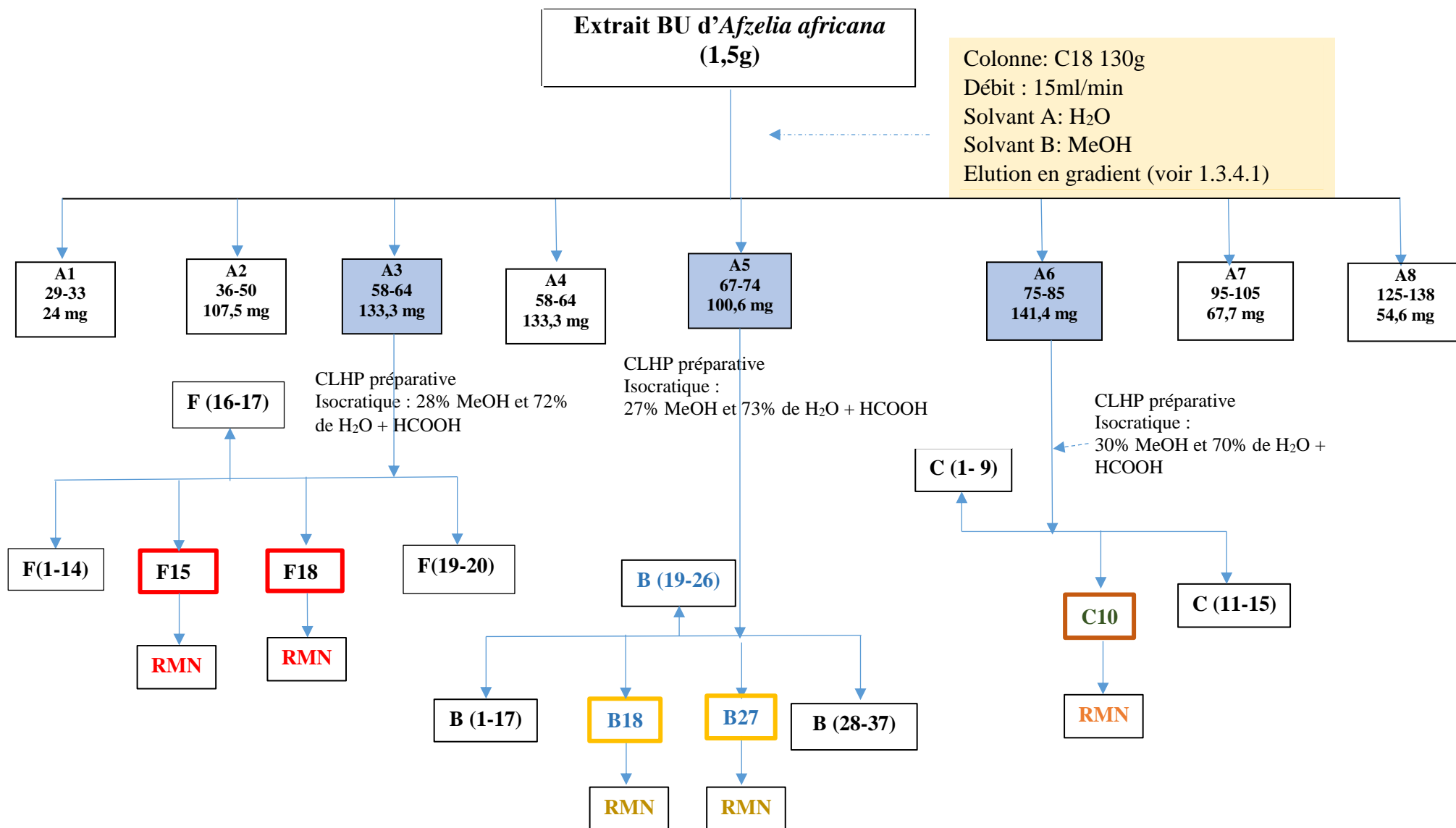


Figure 47 : Schéma de purification des composés F15, F18, B18, B27 et C10

1.3.4.1.4. Détermination de structure des cinq composés

Les différents composés ont été identifiés par comparaison avec les données de la littérature

1.3.4.1.4.1. Le composé F15

Le produit F15 a été isolé sous forme de cristaux blancs. Son spectre de masse montre un ion adduit à m/z 575 $[M+Na]^+$, correspondant à une masse de 552, compatible avec la formule brute $C_{27}H_{36}O_{12}$ (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif, figure 48).

La structure de F15 a été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC, HMBC et NOESY (tableau 16). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un lignane glycosylé, le **lyoniside** et sont en accord avec les données de la littérature [116] (figure 49). Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Afzelia africana***.

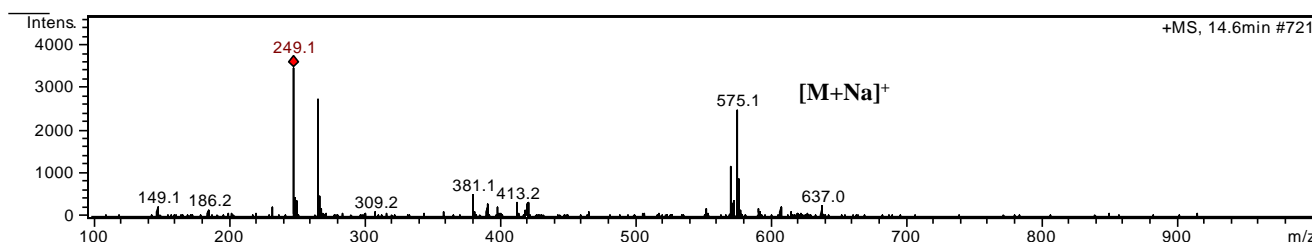


Figure 48 : Spectre de masse du composé F15

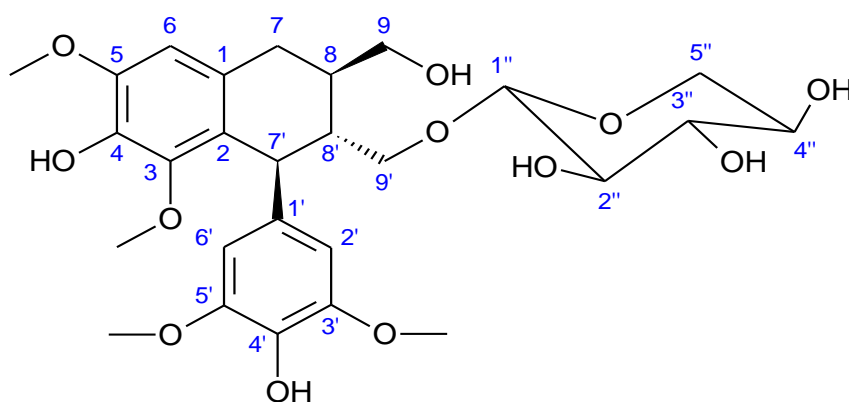


Figure 49 : le lyoniside, F15

Tableau 16 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé F15 **lyoniside**[116]

Atome	δ H1 (J, Hz)	δ C13
1	-	130,1
2	-	126,1
3	-	147,6
4	-	138,9
5	-	148,6
6	6,57 ; s	107,8
7	2,71 ; dd (15,3 ; 4,7) 2,67 ; dd (15,3 ; 11,6)	33,9
8	1,70 ; m	40,4
9	3,65 ; dd (11,0 ; 4,3) 3,55 ; dd (11,0 ; 6,5)	66,0
1'	-	139,4
2', 6'	6,43 ; s	106,9
3', 5'	-	149,0
4'	-	134,4
7'	4,38 ; d (6,6)	43,0
8'	2,05 ; m	46,7
9'	3,84 ; dd (9,8 ; 5,3) 3,58 ; dd (9,8 ; 4,0)	70,9
1''	4,21 ; d (7,6)	105,5
2''	3,22 ; dd (9,0 ; 7,6)	75,0
3''	3,31 ; ov	78,0
4''	3,47 ; ddd (10,4 ; 8,8 ; 5,3)	71,2
5''	3,83 ; dd (11,5 ; 5,3) 3,17 ; dd (11,5 ; 10,4)	67,0
3 OCH ₃	3,33 ; s	60,0
5 OCH ₃	3,85 ; s	56,5
3', 5'	3,75 ; s	56,8

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz).

1.3.4.1.4.2. Composé F18

Le produit F18 a été isolé sous forme de cristaux marrons. . La structure de F18 a été déduite des spectres de RMN du proton, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC, HMBC et NEOSY (tableau 17). Les spectres de RMN de F18 montrent les signaux caractéristiques d'un lignane glucosylé, le **nudiposide** (C₂₇H₃₆O₁₂). Les données spectrales obtenues sont en accord avec celles de la littérature [116] (Figure 50). Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Azelia africana***.

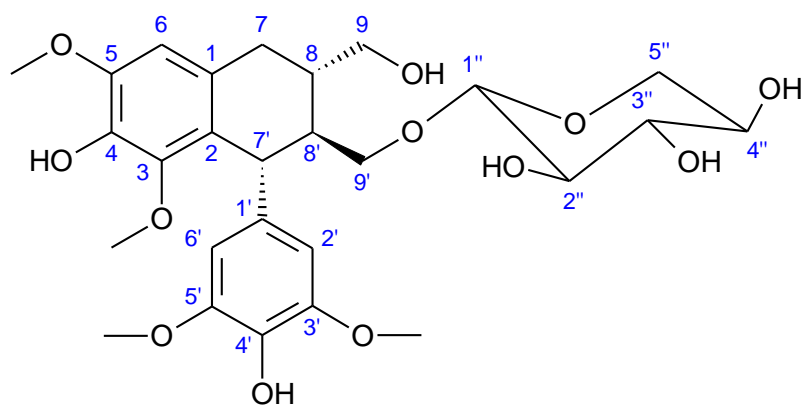


Figure 50 : le nudiposide, F18

Tableau 17 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé F18, **Nudiposide** [116]

Atome	δ H1 (J, Hz)	δ C13
1	-	129,7
2	-	126,1
3	-	147,3
4	-	138,6
5	-	148,4
6	6,57 ; s	107,5
7	2,71 ; dd (15,4 ; 5,5) 2,67 ; dd (15,4 ; 10,4)	33,7
8	1,71 ; m	40,3
9	3,63 ; dd (11,1 ; 4,4) 3,60 ; dd (11,1 ; 6,1)	65,8
1'	-	139,4
2', 6'	6,41 ; s	106,7
3', 5'	-	148,7
4'	-	134,1
7'	4,23 ; d (7,0)	43,1
8'	2,03 ; m	46,6
9'	3,81 ; dd (10,1 ; 4,6) 3,58 ; dd (10,1 ; 4,7)	70,8
1''	4,09 ; d (7,6)	104,7
2''	3,19 ; dd (9,0; 7,7)	74,7
3''	3,27 ; t (9,0)	77,7
4''	3,49 ; ddd (10,6 ; 9,0 ; 5,4)	70,9
5''	3,86 ; dd (11,4 ; 5,4) 3,13 ; dd (11,4 ; 10,6)	66,8
3 OCH ₃	3,30 ; s	59,7
5 OCH ₃	3,86 ; s	56,3
3',5' OCH ₃	3,75 ; s	56,4

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz)

1.3.4.1.4.3. Composé B18

Le produit B18 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur marron. Son spectre de masse montre un ion moléculaire à m/z 741 $[M+H]^+$, correspondant à une masse de 740, compatible avec la formule brute $C_{33}H_{40}O_{19}$ (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif, figure 51). La structure de B18 a ensuite été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13 et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC, HMBC et NOESY (tableau 18). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un flavonol glycosylé, le **Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside** et sont conformes aux données de la littérature [117] (figure 52). Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Azelia africana***

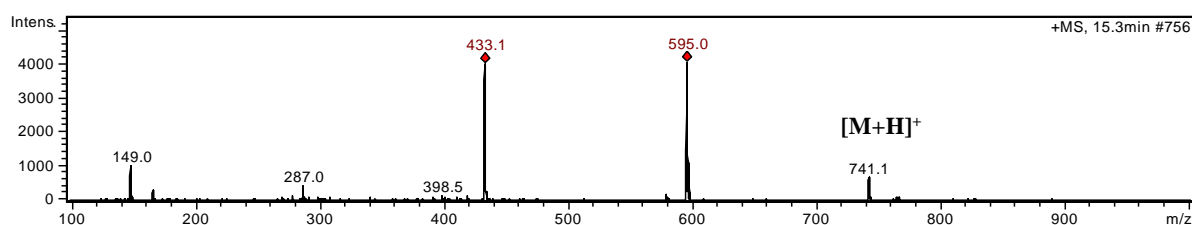


Figure 51 : Spectre de masse du composé B18

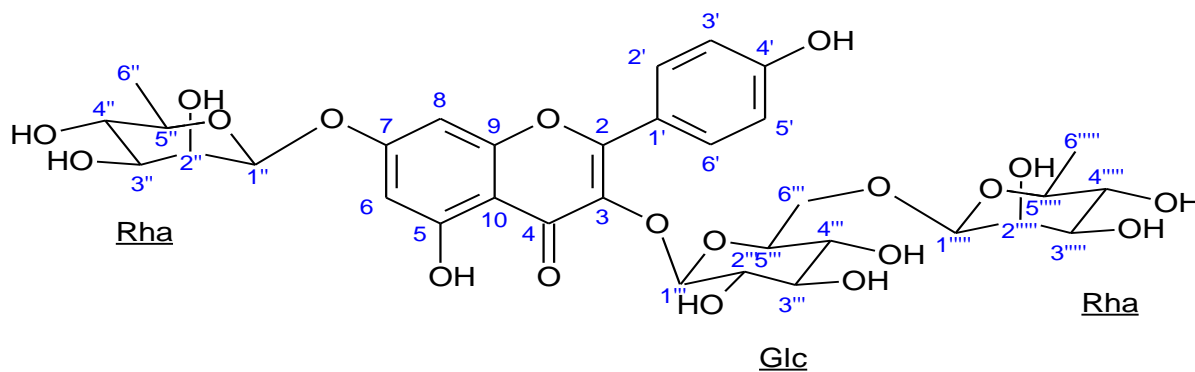


Figure 52 : **Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside, B18**

Tableau 18 : Données RMN ¹H à 600MHz, ¹³C à 150MHz dans le CD₃OD à 300K du composé B18, **Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside** [117]

Atome	δ _{1H} (J, Hz)	δ _{13C}
2	-	159,2
3	-	131,8
4	-	180,0
5	-	163,5
6	6,45 ; d (2,1)	100,5
7	-	163,2
8	6,76 ; d (2,1)	95,4
9	-	158,0
10	-	107,4
1'	-	123,0
2', 6'	8,08 ; d (8,9)	132,1
3', 5'	6,90 ; d (8,9)	116,1
4'	-	161,3
Rham''		
1''	5,56 ; d (1,3)	99,8
2''	4,02 ; ov	71,8
3''	3,82 ; dd (9,1 ; 3,5)	72,1
4''	3,48 ; t (9,2)	73,5
5''	3,58 ; dq (9,3 ; 6,1)	71,4
6''	1,25 ; d (6,1)	18,1
Glc'''		
1'''	5,76 ; d (7,7)	100,2
2'''	3,62 ; dd (9,1 ; 8,0)	80,1
3'''	3,55 ; brt (9,1)	79,0
4'''	3,28 ; dd (9,6 ; 8,7)	71,9
5'''	3,23 ; ddd (9,6 ; 6,1 ; 2,2)	78,6
6'''	3,73 ; dd (12,1 ; 2,2) 3,48 ; dd (12,1 ; 6,1)	62,6
Rham''''		
1''''	5,23 ; d (1,2)	102,7
2''''	4,00 ; ov	72,4
3''''	3,77 ; dd (9,6 ; 3,4)	72,4
4''''	3,34 ; t (9,6)	74,0
5''''	4,03 ; ov (9,3 ; 6,3)	69,9
6''''	0,95 ; d (6,3)	17,5

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz)

1.3.4.1.4.4. Composé B27

Le produit B27 a été isolé sous forme d'un solide amorphe marron. Sa formule brute, $C_{20}H_{22}O_{10}$, a été déduite de son spectre de masse montrant un ion adduit $[M+Na]^+$ à m/z 445, correspondant à une masse de 422 (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif (figure 53). La structure de B27 a été déduite des spectres de RMN du proton, du carbone 13, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC, HMBC et NOESY (tableau 19). Ces spectres montrent les signaux caractéristiques d'un glucoside phénolique, le **Dunnianoside D**; ses données spectrales sont conformes à celles de la littérature rapportées pour *Illicium dunnianum* [118] (Figure 54). Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Afzelia africana***.

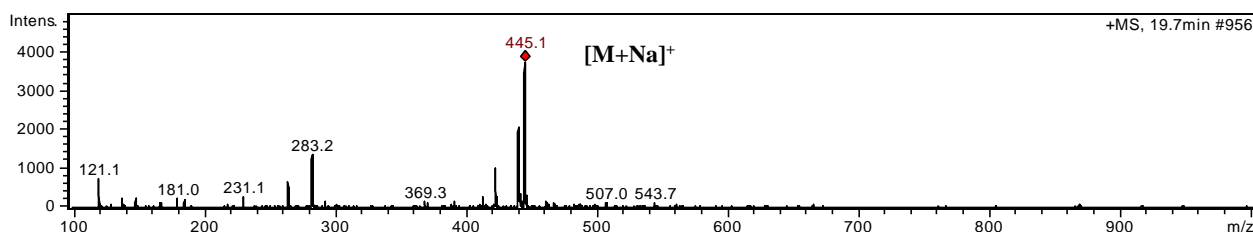


Figure 53 : Spectre de masse du composé, B27

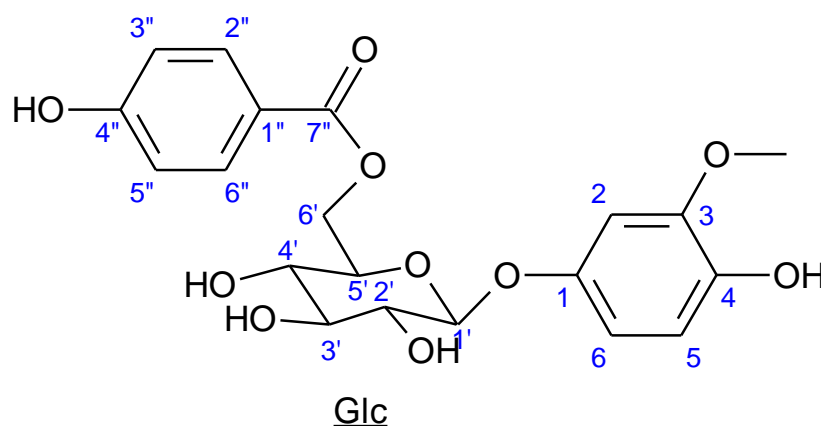


Figure 54 : le Dunnianoside D, B27

Tableau 19 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé B27, **Dunnianoside D**[118]

Atome	δ H1 (J, Hz)	δ C13
1	-	152,6
2	6,71 ; d (2,3)	104,0
3	-	149,1
4	-	143,1
5	6,59 ; d (8,6)	116,0
6	6,57 ; dd (8,6 ; 2,3)	110,1
1'	4,76 ; d (7,6)	103,7
2'	3,45 ; ov	75,0
3'	3,47 ; ov	78,0
4'	3,41 ; ov	72,0
5'	3,72 ; ov	75,6
6'	4,68 ; dd (11,9 ; 2,1)	64,9
	4,35 ; 11,9 ; 7,3)	
1'''	-	122,5
2''', 6'''	7,88 ; d (8,9)	132,8
3''', 5'''	6,84 ; d (8,9)	116,9
4'''	-	163,8

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz)

1.3.4.1.4.5. Composé C10

Le produit C10 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur marron. Sa formule brute, $C_{27}H_{38}O_{12}$, est déduite du spectre de masse obtenu après ionisation par électrospray en mode positif et montrant un ion adduit $[M+Na]^+$ à m/z 577, correspondant à une masse de 554 (figure 55) La structure du composé C10 a été déduite des spectres de RMN du proton et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC, les déplacements chimiques des carbones 13 ont été déterminés à partir des spectres HSQC et HMBC (tableau 20). Les spectres montrent les signaux caractéristiques d'un lignane glycosylé, le **ssioriside** (figure 56). Les données spectrales sont conformes à celles de la littérature.

Ce composé est décrit pour la **première fois dans *Afzelia africana***. et a été isolé pour la première fois des écorces de *Prunus ssiori* et *P. padus* [119].

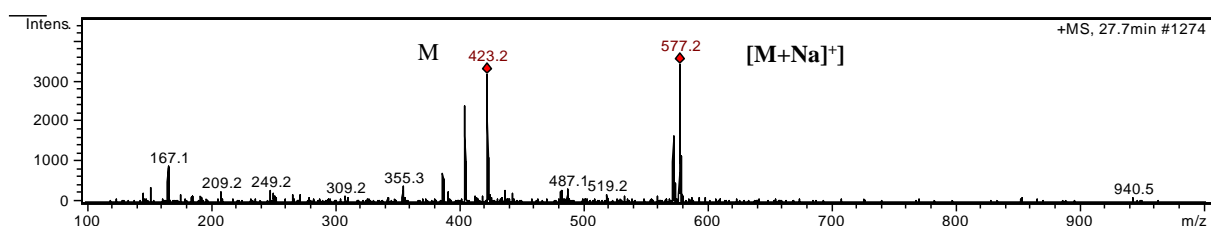


Figure 55 : Spectre de masse du composé C10

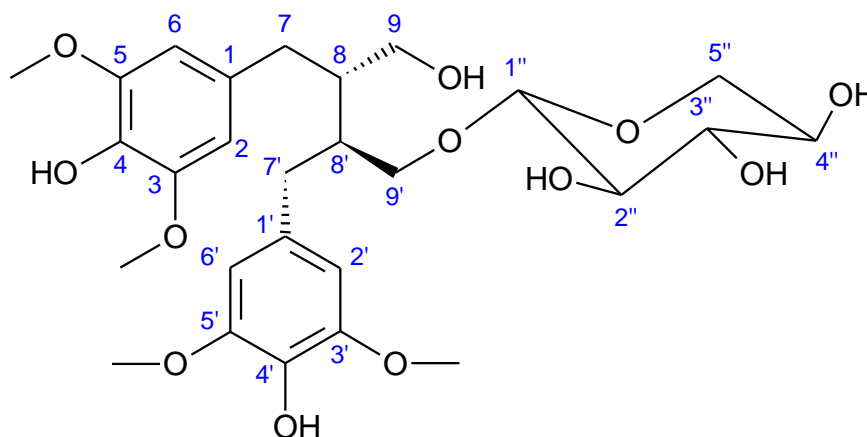


Figure 56 : Ssioriside, C10

Tableau 20 : Données RMN ¹H à 600 MHz, ¹³C à 150 MHz dans le CD3OD à 300K du composé C10, **Ssioriside** [119]

Atome	δ _{1H} (J, Hz)	δ _{13C}
1	-	133,0
2	6,35 ; s	107,0
3	-	148,7
4	-	134,0
5	-	148,7
6	6,35 ; s	107,0
7	2,63 ; dd (13,5 ; 6,8) 2,57 ; dd (11,7 ; 8,6)	35,8
8	1,94 ; m	43,7
9	3,68 ; dd (11,1 ; 5,7) 3,55 ; ov	62,4
10		
1'	-	132,8
2', 6'	6,33 ; s	106,8
3', 5'	-	148,7
4'	-	134,0
7'	2,70 ; dd (13,6; 6,9) 2,53 ; t (13,6)	36,0
8'	2,07 ; m	41,1
9'	3,98 ; dd (9,4 ; 5,7) 3,46 ; ov	70,6
1''	4,19 ; d (7,5)	105,1
2''	3,20 ; dd (9,1; 7,6)	74,8
3''	3,30 ; ov	77,7
4''	3,47 ; ov	71,0
5''	3,85 ; dd (11,5 ; 5,5) 3,18 ; dd (11,4 ; 10,5)	66,8
6''		
3,5 OCH ₃	3,75 ; s	56,3
3',5' OCH ₃	3,75 ; s	56,3

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz)

Conclusion :

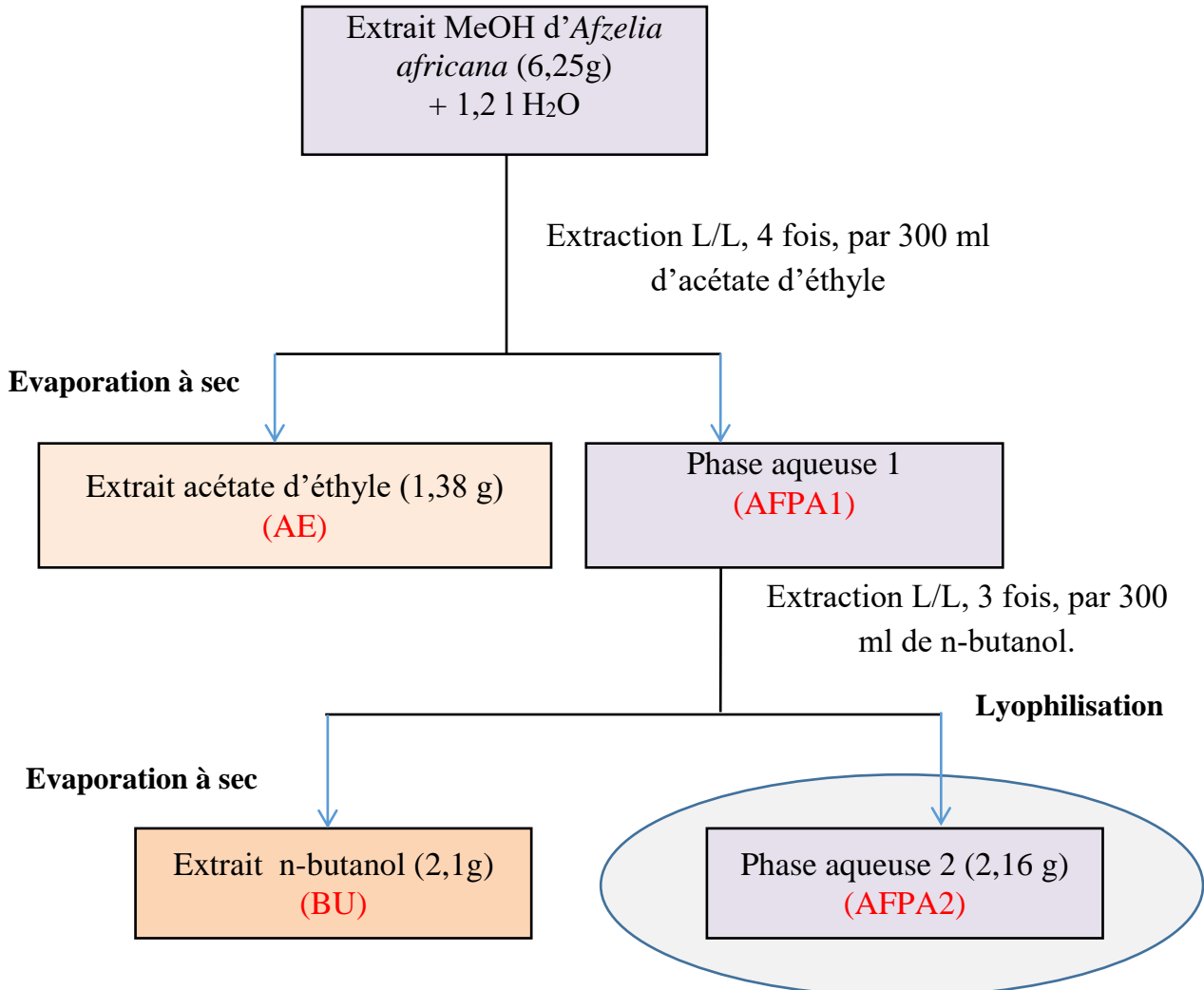
L'extrait n-butanol nous a permis d'isoler 5 molécules : F15, F18, B18, B27, et C10.

Les fractions A1, A4, A7 et A8 n'ont pas été purifiées en raison des quantités obtenues insuffisantes. Pour la fraction A2, les contrôles CCM et CLHP ne présentait pas de profil intéressant.

1.3.5. Purification de la phase aqueuse 2 (AFPA2)

1.3.5.1. Purification par chromatographie Flash

1.3.5.1.1. Rappel du schéma de purification



Extraction liquide-liquide à partir de l'extrait MeOH d'*Afzelia africana*

Conditions chromatographiques

- Appareillage : combiflash RF de Teledyne ISCO
- Colonne RP 18, 30g (Redisep RF, Teledyne ISCO).
- Phase mobile : A = H₂O+1% acide acétique (%)
B = MeOH + 1% acide acétique (%)
- Type d'éluion en gradient

Temps (min)	A %	B%
0	90	10
2	90	10
23	40	60
27	20	80
30	0	100
35	0	100

- Débit : 15 ml/ min
- Dépôt solide : 180 mg + 200 mg de silice RP 18
- Détection UV à 254 nm
- Volume de collecte : 26 ml
- Tubes collectés : 68

1.3.5.1.2. Bilan des fractions obtenues

La purification par chromatographie liquide préparative de 180 mg d'extrait nous a permis de collecter 68 fractions. Après regroupement, nous avons obtenu 12 fractions dénommées D1 à D12.

Les fractions et rendements sont consignés dans le tableau ci après :

Tableau des masses et rendements

Fractions	Masse (mg)	Rendement (%)
D1	3,1	1,80
D2	5,4	3,12
D3	4,3	2,48
D4	13,6	7,86
D5	18,9	10,93
D6	23,1	13,34
D7	6,6	3,81
D8	6,1	3,53
D9	2,5	1,44
D10	0,2	0,12
D11	1,5	0,87
D12	16,9	9,77

Ces fractions ont été analysées par CCM avec la phase mobile 3 (voir paragraphe 1.2.2.1). La révélation a été effectuée avec le réactif de Neu - observation UV à 366 nm et avec H₂SO₄ 20% - observation en visible.

Le schéma de purification est présenté dans la figure 57.

A l'issue de cette étape de purification, nous avons obtenu 3 composés purs : D2, D4 et D11 dont les structures ont été déterminées par RMN.

Le composé D4 a déjà été isolé précédemment, il s'agit de la sinensine et isosinensine.

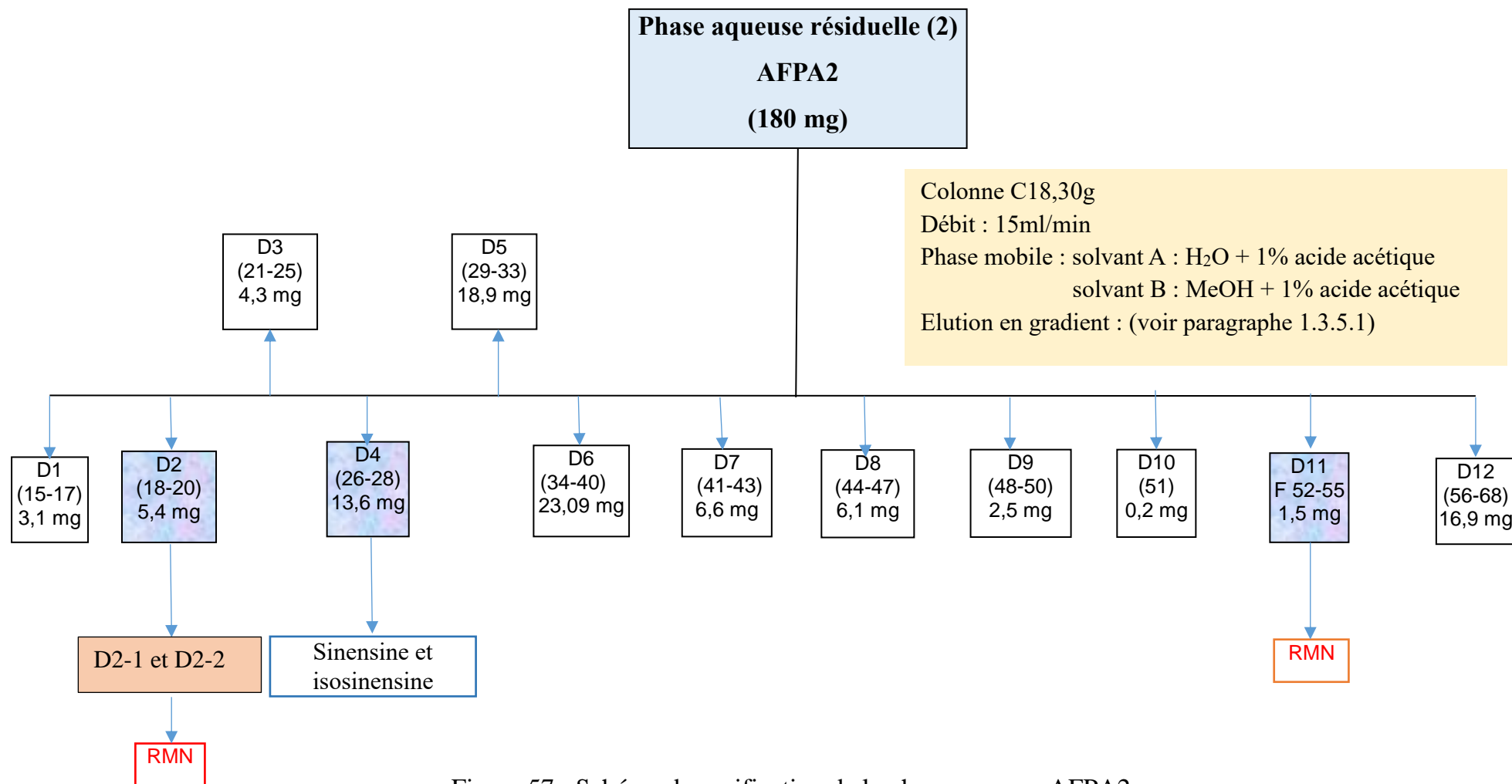


Figure 57 : Schéma de purification de la phase aqueuse AFPA2

1.3.5.2. Détermination de structure des trois composés

1.3.5.2.1. Composé D2

Le composé D2 est un mélange de deux molécules dont les structures ont pu être déterminées par RMN. Nous les avons appelées D2-1 (composé majoritaire) et D2-2 (composé minoritaire).

1.3.5.2.1.1. Composé D2-1

Le composé D2-1, produit majoritaire de D2, représente environ 65% du mélange. Son spectre de masse montre un ion moléculaire à m/z 467 $[M+H]^+$, correspondant à une masse de 466, compatible avec la formule brute $C_{21}H_{22}O_{12}$ (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif (figure 58) La structure de D2-1 a été déduite des spectres de RMN du proton et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC ; les déplacements chimiques des carbones ^{13}C ont été déterminés à partir des spectres HSQC et HMBC. Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type Dihydroflavonol glycosylée, la **Taxifoline-7-O- β -glucoside** (Figure 59) tableau 21). Les données spectrales sont conformes à celles de la littérature [120]. Ce composé est décrit pour la **première fois dans *Afzelia africana***.

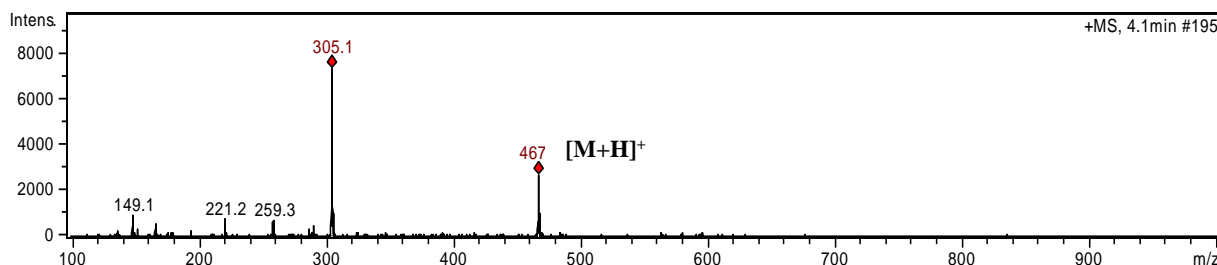


Figure 58 : Spectre de masse du composé D2-1

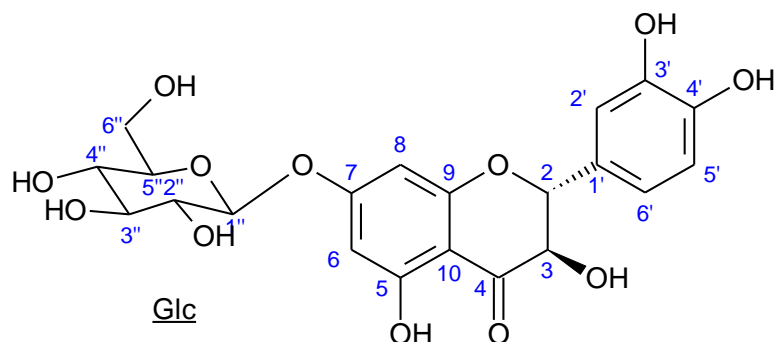


Figure 59 : **Taxifoline-7-O- β -glucoside, D2-1**

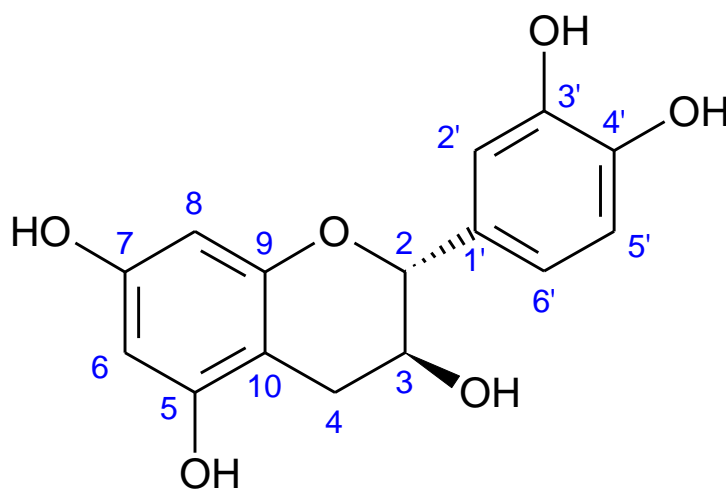
Tableau 21 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D2-1, **Taxifoline-7-O- β -glucoside**[120].

Atome	δ_{H} (J, Hz)	$\delta_{^{13}\text{C}}$
2	4,96 ; d (11,1)	85,3
3	4,57 ; d (11,1)	73,8
4	-	199,2
5	-	164,9
6	6,23 ; d (2,0)	98,3
7	-	167,4
8	6,20 ; d (2,0)	97,0
9	-	164,3
10	-	103,5
1'	-	129,6
2'	6,97 ; brs	116,0
3'	-	146,7
4'	-	147,1
5'	6,80d (8,1)	116,1
6'	6,85 ; dd (8,2, 1,6)	121,0
1''	4,97 ; d (7,7)	101,2
2''	3,45 ; ov	74,6
3''	3,45 ; ov	77,8
4''	3,39 ; brd (8,7)	71,2
5''	3,45 ; ov	78,1
6''	3,87 ; dd (12,1 ; 1,8) 3,68 ; dd (12,1 ; 6,0)	62,2

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped, * Inversion possible. $\delta_{^{13}\text{C}}$ déterminé à partir des spectres RMN HSQC et HMBC.

1.3.5.2.1.2. Composé D2-2

Le composé D2-2, produit minoritaire de D2, représente environ 30% du mélange. La structure de D2-2 a été déduite des spectres de RMN du proton, et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC; les déplacements chimiques des carbones 13 ont été déterminés à partir des spectres HSQC et HMBC (figure 60, tableau 22). Les spectres de RMN montrent les signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type flavan-3-ol, la **Catéchine**. Les données spectrales sont conformes à celles de la littérature [121]. Ce composé est décrit pour la **première fois dans *Azelia africana***.



:

Figure 60 : **Catéchine, D2-2**

Tableau 22 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D2-2, **Catéchine**[121].

Atome	δ_{H} (J, Hz)	$\delta_{13\text{C}}$
2	4,57 ; d (7,6)	82,8
3	3,97 ; ddd (8,2 ; 7,6 ; 5,2)	68,8
4	2,85 ; dd (16,2 ; 5,2) 2,50 ; dd (16,2 ; 8,2)	28,5
5	-	157,0*
6	5,85 ; d (2,2)	95,5*
7	-	157,1*
8	5,93 ; d (2,2)	96,4*
9	-	157,7*
10	-	100,8
1'	-	132,0
2',	6,84 ; d (2,0)	115,3
3',	-	146
4'	-	146
5'	6,76 ; d (8,0)	116,1
6'	6,71 ; dd (8,0 ; 2,0)	120,0
1''		
2''		
3''		
4''		
5''		
6''		

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, ov : overlapped, * Inversion possible. $\delta_{13\text{C}}$ déterminé à partir des spectres RMN HSQC et HMBC.

1.3.5.2.2. Composé D11

Le composé D11 a été isolé sous forme d'un solide amorphe de couleur marron. Sa formule brute, $C_{15}H_{10}O_6$, a été déduite de son spectre de masse montrant un ion moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 287, correspondant à une masse de 286 (spectre réalisé en électrospray et enregistré en mode positif, figure 61). Sa structure a ensuite été déduite des spectres de RMN du proton et des spectres bidimensionnels COSY, HSQC et HMBC; les déplacements chimiques des carbones 13 ont été déterminés à partir des spectres HSQC et HMBC (figure 62, tableau 23). Les spectres de RMN du composé D11 montrent les signaux caractéristiques d'un flavonoïde de type flavone, la **lutéoline**. Les données spectrales obtenues sont conformes à celles de la littérature [122]. Ce composé est isolé pour la **première fois d'*Azelia africana***.

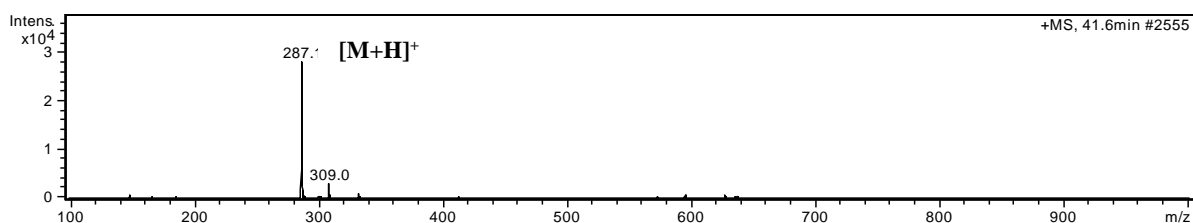


Figure 61 : Spectre de masse du composé D11

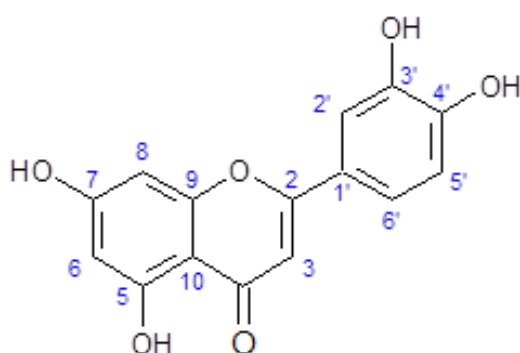


Figure 62 : Lutéoline, D11

Tableau 23 : Données RMN ^1H à 600MHz, ^{13}C à 150MHz dans le CD_3OD à 300K du composé D11, **Lutéoline**[122].

Atome	$\delta_{1\text{H}}$ (J, Hz)	$\delta_{13\text{C}}$
2	-	166,1
3	6,54 ; s	103,5
4	-	183,5
5	-	162,7
6	6,21 d (2,1)	99,9
7	-	165,9
8	6,45 d (2,1)	94,7
9	-	149,1
10	-	104,9
1'	-	123,4
2'	7,38 ; brs	113,8
3'	-	146,7
4'	-	150,7
5'	6,90 ; d (8,3)	116,4
6'	7,39; dd (8,3; 2,2)	120,0

δ en ppm; br : broad, s : singulet, d : doublet, t : triplet, m : multiplet, ov : overlapped (J Hz) .
 $\delta_{13\text{C}}$ déterminé à partir des spectres RMN HSQC et HMBC.

Conclusion :

La phase aqueuse AFPA2 nous a permis de purifier 4 composés : D2-1, D2-2, D4, et D11.

Les fractions D1, D3, D5, D6, D7, D8, D9, D10, et D12 n'ont pas été purifiées en raison de leurs quantités insuffisantes.

Conclusion de l'étude phytochimique d'*Afzelia africana*

L'étude de la composition chimique de l'écorce d'*Afzelia africana* a permis d'isoler 13 molécules décrites pour la première fois dans la plante (tableau 24) .

Parmi ces molécules,

- 8 appartiennent à la classe chimique des flavonoïdes dont 5 dihydroflavonols, 1 flavonol, 1 flavone et 1 flavan-3-ol,
- 1 glucoside phénolique.
- 4 appartiennent à la classe chimique des lignanes et dérivés

Tableau 24 : Récapitulatif des composés isolés, par classe chimique

N°	Composés isolés	Classes chimiques
1	Dihydrokaempférol	Dihydroflavonol
2	Sinensine	
3	Isosinensine	
4	Taxifoline-7-O- β -glucoside	
5	2R,3R-trans-aromadendrine-7-O- β -D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate)	
6	Kaempférol 3-O-néohespéridoside 7-O-rhamnoside	Flavonol
7	Lutéoline	Flavone
8	Catéchine	Flavan-3-ol
9	Dunnianoside D	Glucoside phénolique
10	Lyoniside	Lignane
11	Nudiposide	
12	Ssioriside	
13	Alcool <i>Trans</i> dihydrodéhydroconiférylique	

L'étude phytochimique a été complétée par une étude analytique par CLHP présentée ci-après (paragraphe 1.3.6) afin de mettre au point une méthode permettant d'identifier ces 13 composés dans différents extraits

1.3.6. Etude par CLHP analytique des extraits d'*Azelia africana*

La mise au point analytique par CLHP sera effectuée à partir de l'extrait MeOH. Nous avons choisi de réaliser la mise au point analytique sur cet extrait car c'est celui qui contient le plus de métabolites secondaires et à partir duquel nous avons isolé les 13 composés décrits précédemment. Les conditions retenues seront ensuite appliquées à l'analyse de la décoction.

Plusieurs essais ont été effectués afin d'optimiser la séparation des composés.

1.3.6.1. Mises au point des conditions chromatographiques

Conditions chromatographiques 1

- Appareillage : chaîne Agilent, modèle HP 1200
- Colonne : Kinetex C18, 2,6 µm, 100 x 3mm, Phenomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1% acide formique
solvant B : méthanol RS pour CLHP Elution en gradient

Temps (Min)	A %	B %
0	95	5
2	95	5
58	0	100
60	0	100
62	95	5
65	95	5

- Température du four à colonne : 25°C
- Débit : 0,5 ml/min.
- Volume injecté : 20 µl
- Détection UV : 210, 254 et 350 nm
- Durée de l'analyse : 65min

- Solution à 10mg/ml d'extrait solubilisée dans du méthanol, puis dilution au demi dans la phase mobile (90% A, 5% B). Les solutions ont été filtrées sur 0,45µm avant injection.

Conclusion : Dans ces conditions, la séparation des composés n'est pas satisfaisante. Trois autres essais ont été effectués en faisant varier les conditions du gradient d'élution.

Conditions chromatographiques 2, 3 et 4 :

Nous avons fait varier le pourcentage de solvant B (méthanol) selon les indications et la pente du gradient reportées dans le tableau. Les autres paramètres restant inchangés:

- Elution en gradient

Conditions chromatographiques								
2			3			4		
Temps (Tps) (min)	A %	B %	Tps (min)	A %	B %	Tps (min)	A %	B %
0	90	10	0	90	10	0	85	15
2	90	10	2	90	10	2	85	15
35	45	55	35	50	50	40	45	55
36	40	60	50	10	90	50	20	80
58	10	90	52	90	10	52	20	80
60	10	90	55	90	10	55	85	15
62	90	10				60	85	15
65	90	10						
65 min			55 min			60 min		
Durée								

Au terme de ces essais, nous retenons les conditions chromatographiques 4 qui donnent les meilleurs résultats, cependant la séparation des composés n'est pas totale.

On se propose de tester une autre phase stationnaire, et l'on a utilisé une colonne PFP (Penta-Fluoro-Phenyl) qui est spécifique des composés phénoliques dans les conditions

4 évoquées plus haut. Après cet essai, le profil chromatographique n'est toujours pas satisfaisant.

Nous décidons de changer de colonne et d'utiliser une colonne Luna C18, plus longue que la colonne kinetex C18 PFP et qui par conséquent pourrait améliorer la séparation. Plusieurs essais ont été effectués en faisant varier les % de MeOH initial (t = 0) de 15, 20, 25, 28 et 30%.

Les conditions chromatographiques 5 ont donc été retenues pour la suite de notre travail.

Conditions chromatographiques 5 :

- Appareillage : chaîne Agilent, modèle HP 1200
- Colonne : Luna C18, 3 µm, 150mm x 4,6 mm, Phénomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1 % d'acide formique pour HPLC
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en gradient :

Temps (Min)	A%	B %
0	72	28
2	72	28
40	55	45
50	30	70
52	20	80
55	72	28
60	72	28

- Température du four à colonne : 25°C
- Débit : 0,8 ml/min
- Volume injecté : 20 µl
- Détection UV: 210, 254 et 350 nm
- Durée de l'analyse : 60 min
- Solution à 10mg/ml d'extrait solubilisée dans du méthanol, puis diluée au demi dans la phase mobile (72% A et 28% B) puis les solutions ont été filtrées sur 0,45µm avant injection.

Ces conditions chromatographiques sont satisfaisantes et ont été retenues pour l'analyse de l'extrait MeOH.

1.3.6.2. Résultats

Après injection de l'extrait MeOH, on obtient un profil chromatographique présentant une élution des composés par ordre de polarité croissant.

1.3.6.2.1. Identification des 13 molécules isolées de l'extrait méthanolique d'*Azelia africana*

Dans un premier temps, les 13 composés isolés ont été préparés et injectés individuellement en CLHP dans les conditions chromatographiques 5 (tableau 25)

Tableau 25 : Tableau des composés isolés de l'extrait MeOH d'*A.africana*

N°	Temps de rétention (min)	Molécules
1	4,13	Taxifoline-7-O-β- glucoside
2	5,05	Catéchine
3	6,34	Sinensine
4	6,34	Isosinensine
5	8,43	Alcool <i>Trans</i> déhydrodihydroconiférylique
6	14,72	Lyoniside
7	15,10	Kaempférol-3-O néohespéridoside 7-O-rhamnoside
8	16,23	Nudiposide
9	21,03	Dunnianoside D
10	25,90	Dihydrokaempférol
11	27,64	Ssioriside
12	28,28	2R,3R <i>trans</i> aromadendrine-7-O-β-D-glucofuranose- 6''-(4''' hydroxy-2'''-méthylènebutanoate)
13	48,73	Lutéoline

Dans un deuxième temps, l'extrait MeOH a été injecté dans ces conditions chromatographiques. Le profil chromatographique est présenté dans la figure 64.

Les différents pics ont été identifiés en comparant les temps de rétention et les spectres UV avec ceux obtenus pour chacune des molécules injectées séparément.

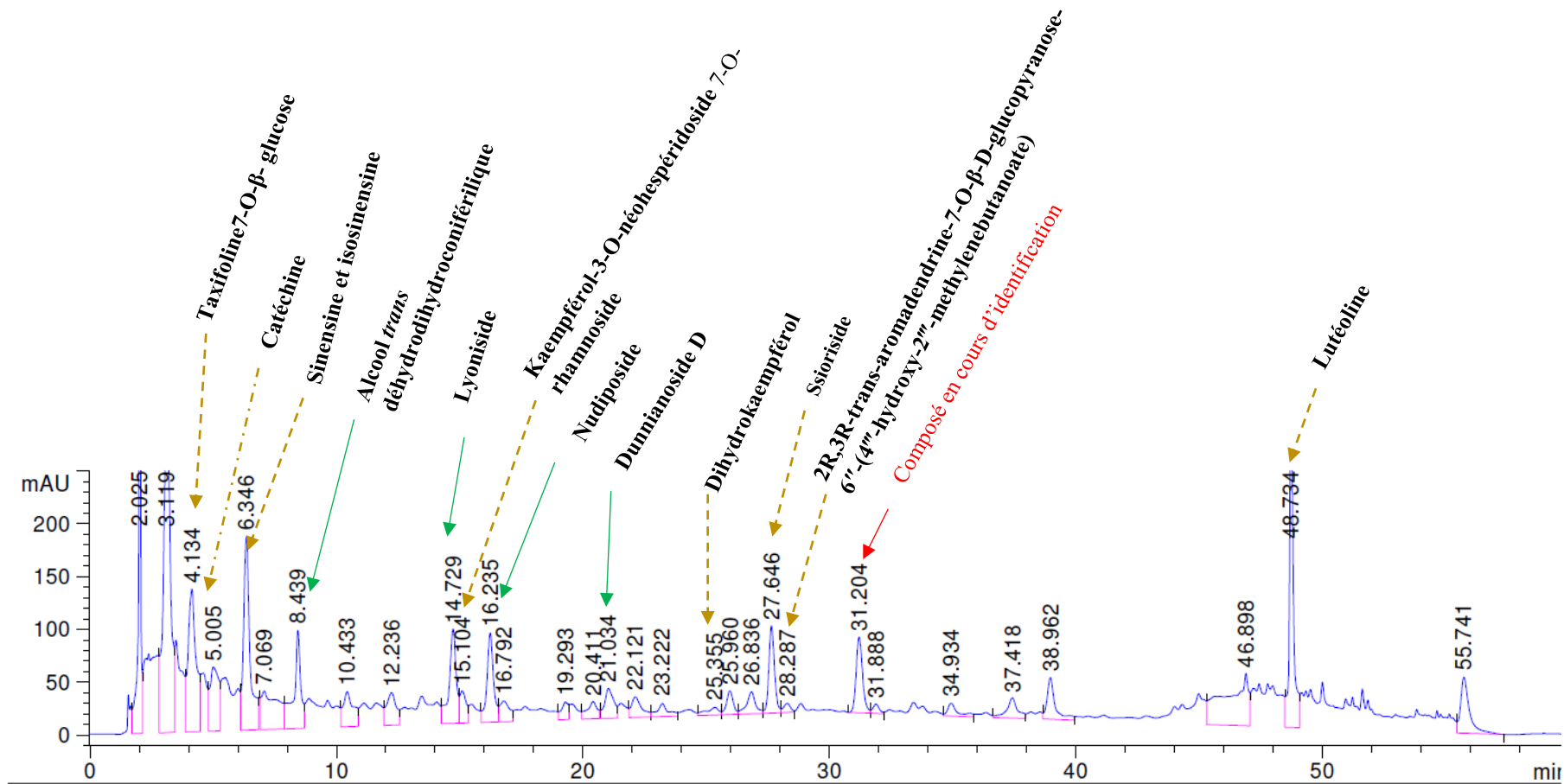
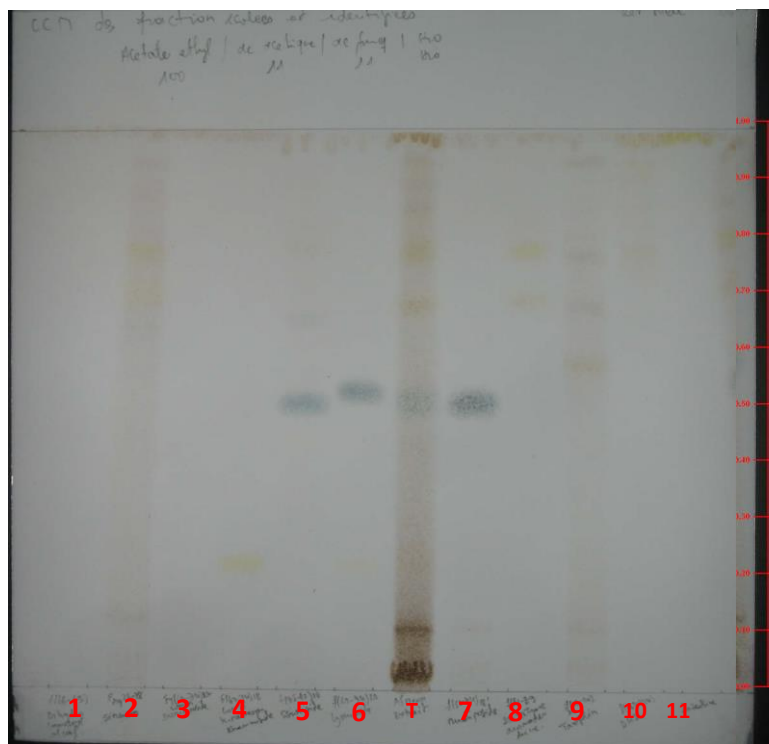


Figure 63 : Chromatogramme de l'extrait MeOH avec les composés isolés

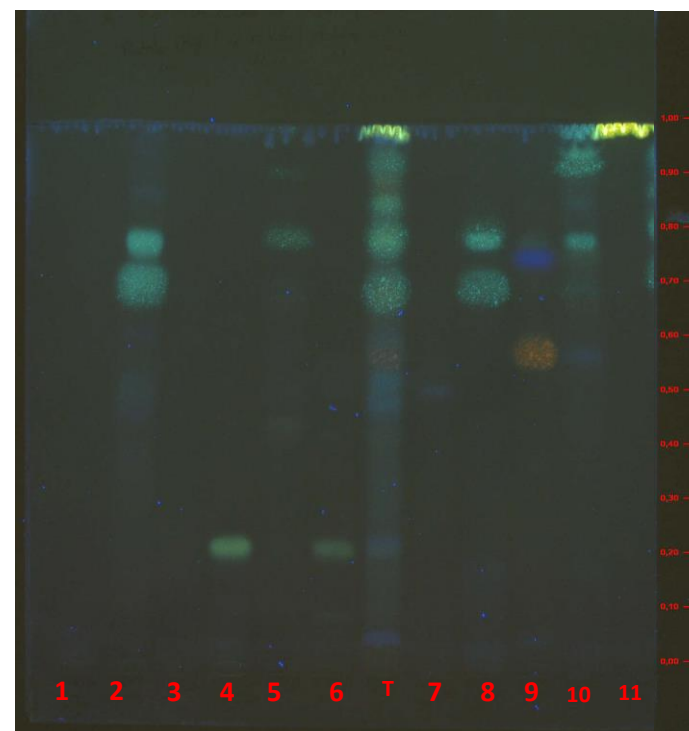
1.3.6.2.2. Etude par Chromatographie sur Couche Mince

Pour compléter l'étude par CLHP analytique, un contrôle des composés isolés par CCM sur plaque de silice a été effectué dans le système 1 (figure 65).

Sur cette plaque de CCM, nous observons, après migration et révélation des plaques, que les composés qui ont été isolés sont identifiés également par CCM et sont reperés dans l'extrait méthanol.



Observation dans le visible après révélation avec H_2SO_4 20%



Observation à 366nm après révélation au réactif de Neu :

Figure 64 : Contrôle des composés isolés de l'extrait MeOH

Légende :

- 1= Alcool *Trans* déhydrodihydroconiférylique
- 2= Kaempférol 7-O- β -D glucoside ou sinensine
- 3= Dunnianoside D
- 4=Kaempférol néohespéridoside 7-O-rhamnoside

- 5= Ssirioside
- 6= Lyoniside
- 7= Nudiposide
- 8= 2R,3R-trans-aromadendrine-7-O- β -D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-methylenebutanoate)

- 9 = Taxifoline-7-O- β glucoside
- 10 = Dihydrokaempférol
- 11= Lutéoline
- T= Extrait MeOH

1.3.6.2.3. Chromatogramme de l'extrait aqueux obtenu par décoction

La méthode analytique développée pour l'extrait MeOH a été appliquée à l'extrait aqueux.

L'extrait aqueux a donc été injecté dans les conditions chromatographiques 5 (voir paragraphe 1.3.7) dans le but d'identifier les composés qu'il contient.

Lors du screening pharmacologique, nous avons mis en évidence une activité anti-inflammatoire, *in vitro*, prometteuse pour cet extrait aqueux obtenu par décoction qui correspond au mode d'utilisation traditionnelle (chapitre IV, paragraphe 2.5.2, tableau 6). Certains des composés identifiés dans l'écorce d'*Azelia africana* et présents dans la décoction sont probablement impliqués dans cette activité (figure 66).

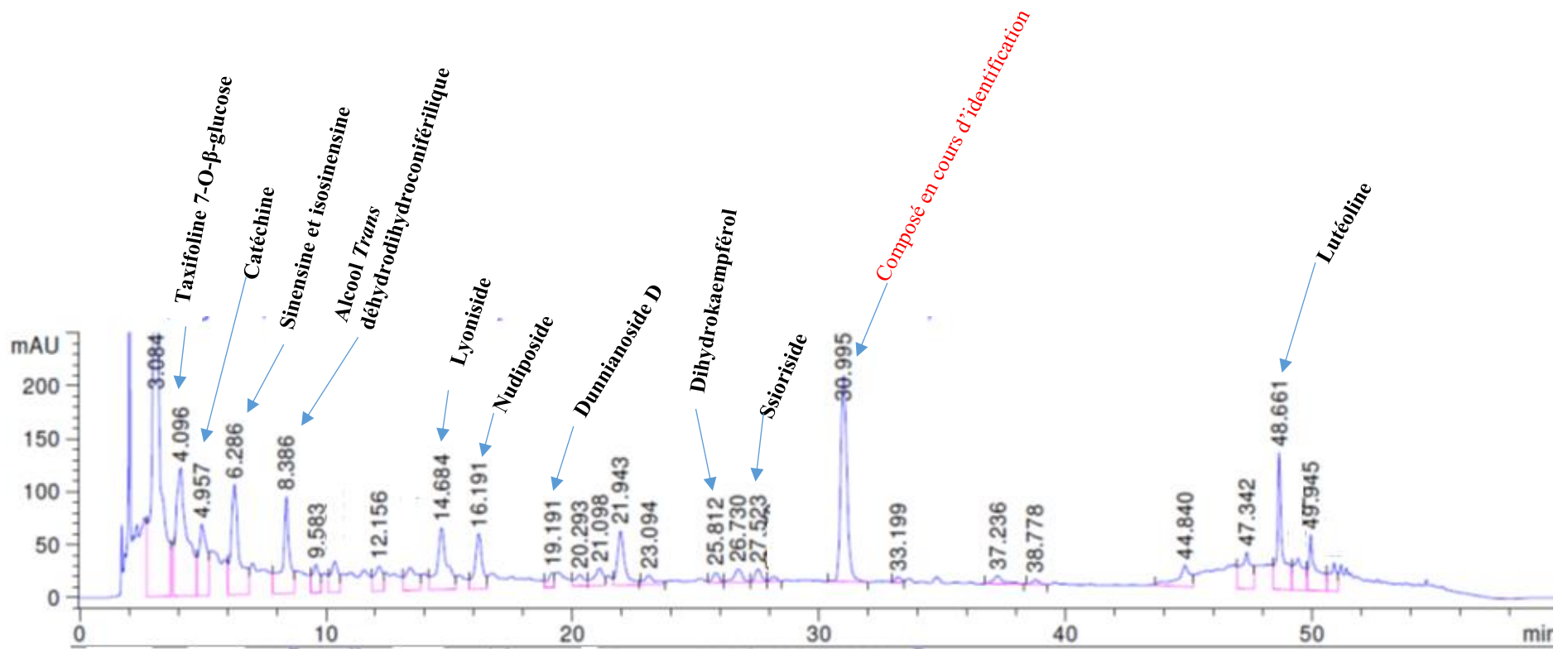


Figure 65 : Chromatogramme de l'extrait aqueux avec les composés isolés

Sur ce chromatogramme, nous pouvons clairement identifier 11 composés isolés précédemment de l'extrait MeOH (tableau 26) (figure 66).

Tableau 26 : Tableau des composés isolés de l'extrait aqueux d'*A. africana*

N°	Temps de rétention (min)	Molécules
1	4,09	Taxifoline 7-O-β-glucose
2	4,95	Catéchine
3	6,28	Sinensine
4	6,28	Isosinensine
5	8,38	Alcool <i>Trans</i> déhydrodihydroconiférylique
6	14,68	Lyoniside
7	16,23	Nudiposide
8	19,19	Dunnianoside D
9	25,80	Dihydrokaempférol
10	27,50	Ssioriside
11	48,66	Lutéoline

Dans cet extrait aqueux, nous avons identifié toutes les molécules isolées à l'exception du kaempférol 3-O néohespéridoside 7-O-rhamnoside et du 2R,3R *trans* aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4''''hydroxy-2''''-méthylènebutanoate). Nous remarquons aussi qu'il y a un composé majoritaire inconnu dans l'extrait aqueux et qui est minoritaire dans l'extrait MeOH. Son temps de rétention est Tr = 30,9 min. Ce composé est en cours d'identification par RMN.

Afin de rechercher et d'identifier les molécules responsables de l'activité anti-inflammatoire de cet extrait obtenu par décoction, nous avons entrepris un fractionnement bioguidé de cet extrait.

1.3.7. Fractionnement bioguidé de l'extrait aqueux d'*Afzelia africana*

Le fractionnement bioguidé est une technique qui permet de rechercher la ou les molécules actives quand une activité est identifiée dans un extrait. Après analyse des résultats du screening pharmacologique des extraits d'*Afzelia africana*, nous avons observé que c'est la décoction qui présente l'activité anti-inflammatoire la plus élevée avec une CI_{50} NO de 0,98 $\mu\text{g/ml}$ et un ratio anti-inflammatoire de 157.

Nous avons procédé à un fractionnement par chromatographie Flash avec les conditions chromatographiques ci-après.

Conditions chromatographiques

- Appareillage : Combiflash RF de Teledyne ISCO
- Colonne RP 18, 130g (Redisep RF, Teledyne ISCO).
- Phase mobile : solvant A = H_2O + 0,1% acide formique
solvant B = MeOH
- Type d'élution en gradient par palier :

Palier	Durée	A %	B %
F1	De 0 à 2 min	100	0
F2	De 2 à 4 min	80	20
F3	De 4 à 6 min	60	40
F4	De 6 à 8 min	40	60
F5	De 8 à 10 min	20	80
F6	De 10 à 12 min	0	100

- Débit : 60 ml/ min
- Dépôt solide : 2g d'extrait+ 3g de silice RP 18

- Détection UV : 254 nm
- Volume de collecte : 20ml / tube (soit 6 tubes pour chaque solvant, 120 ml)
- Tubes collectés : 36

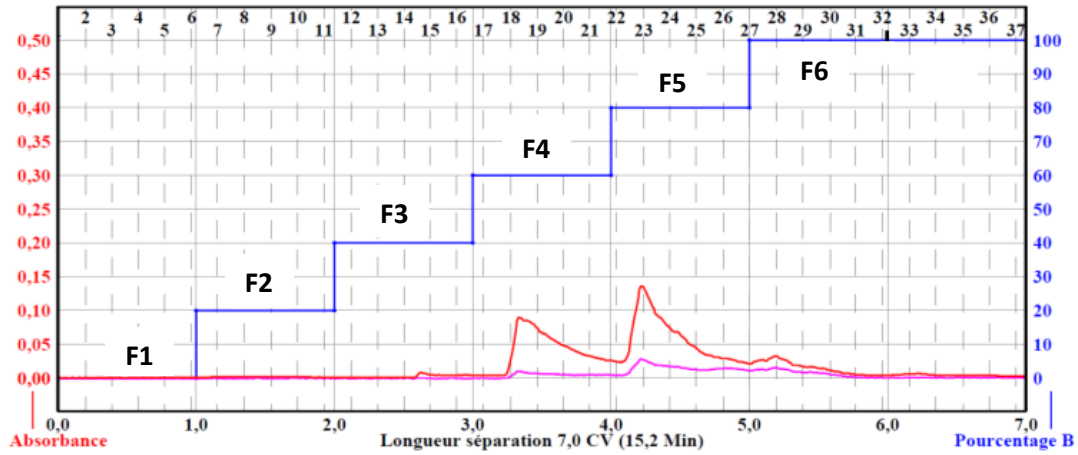


Figure 66 : Chromatographie flash de l'extrait aqueux

Schéma de fractionnement

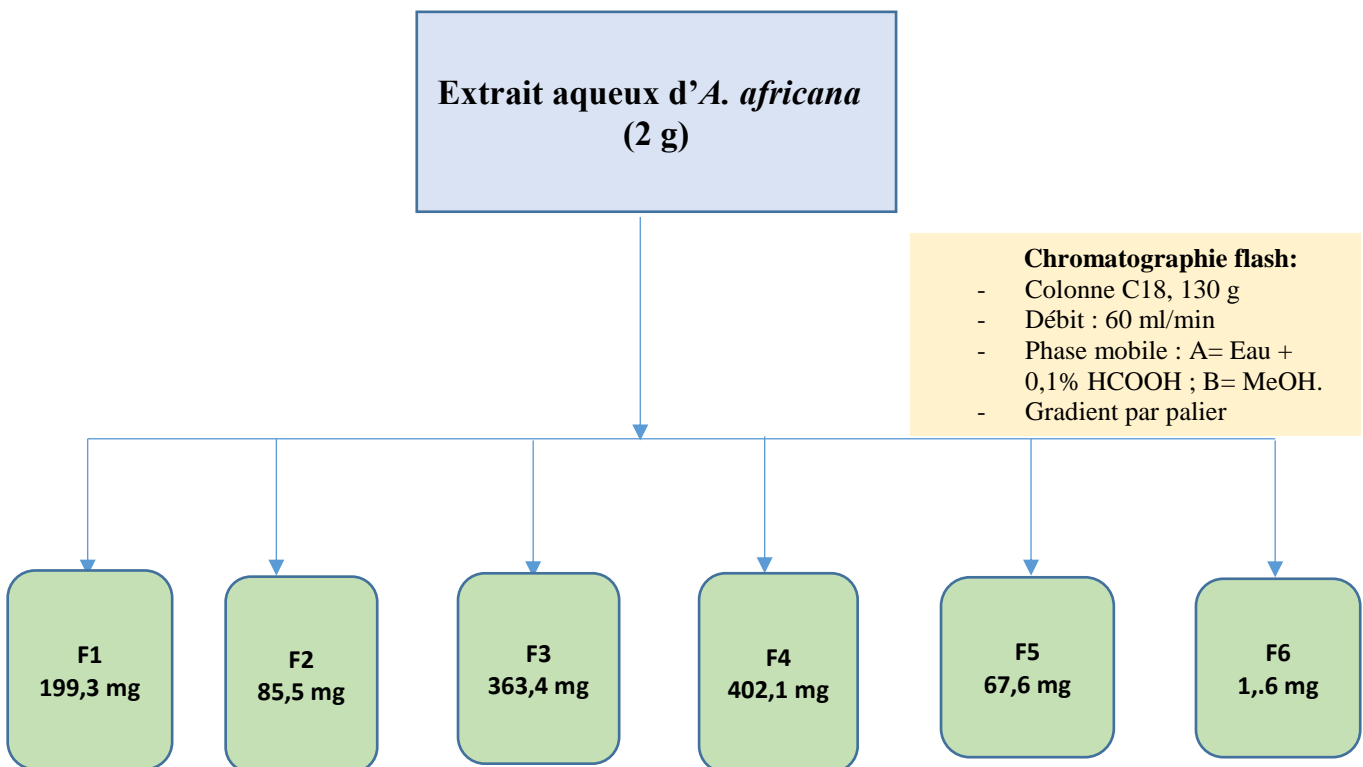


Figure 67 : Schéma du fractionnement de l'extrait aqueux d'*A. africana*.

Les fractions identiques obtenues sont regroupées. Après contrôle par CCM, les quantités et rendements sont calculées.

1.3.7.1. Résultats

Le fractionnement de l'extrait aqueux d'*A. africana* nous a permis d'obtenir 6 fractions en utilisant six solvants de polarité différentes. Les masses obtenues sont regroupées dans le tableau suivant (tableau 27).

1.3.7.1.1. Masses et rendements des fractions obtenues

Tableau 27 : Fractions et rendements obtenus

	Fractions (% MeOH)	Masse (mg)	Rendements (%)
F1	0	199,3	9,1
F2	20	85,5	4,3
F3	40	363,4	18,2
F4	60	402,1	20,1
F5	80	67,6	3,4
F6	100	12,6	0,6

1.3.7.1.2. Analyse des fractions F1 à F6

Pour analyser les fractions obtenues, nous avons dû modifier légèrement les conditions chromatographiques mises au point précédemment, à partir de l'extrait MeOH (paragraphe 1.3.6.1). L'application de cette méthode aux fractions obtenues n'a pas été satisfaisante pour les fractions contenant les composés très polaires dans F1 et F2.

Nous avons utilisé un gradient large et nous avons injecté les composés isolés précédemment avec ce gradient afin d'obtenir leurs temps de rétentions avec ces conditions chromatographiques, nous permettant ainsi d'identifier les composés présents dans les différentes fractions.

1.3.7.1.2.1. CLHP des fractions obtenues

Conditions chromatographiques modifiées :

- Appareillage : chaîne Agilent modèle HP 1200
- Colonne : Luna C18, 3 μm , 150mm x 4,6 mm, Phénomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1 % d'acide formique pour HPLC
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en gradient :

Temps (Min)	A%	B %
0	95	5
2	95	5
58	0	100
60	0	100
62	95	5
65	95	5

- Température du four à colonne : 25°C
- Débit : 0,8 ml/min
- Volume injecté : 20 μl
- Détection UV : 254 et 350 nm
- Durée de l'analyse : 65 min

Solution de 1mg/ml des différentes fractions dans le méthanol, puis dilution au demi dans la phase mobile (95% A et 5% B). Les solutions sont filtrées sur 0,45 μm avant injection.

Chaque fraction a été injectée, les chromatogrammes ont été enregistrés et les molécules présentes ont été identifiées en fonction de leur temps de rétention, et après comparaison avec le profil de l'extrait aqueux.

Tableau 28 : Tableau des molécules isolées précédemment avec leur temps de rétention dans les nouvelles conditions.

N°	Temps de rétention (min)	Molécules
1	16,14	Taxifoline 7-O- β -glucose
2	17,30	Catéchine
3	18,38	Alcool <i>Trans</i> déhydrodihydroconiférylique
4	24,06	Kaempférol 3-O-néohespéridoside 7-O- rhamnoside
5	24,54	Lyoniside
6	24,70	Nudiposide
7	25,29	Dunnianoside D
8	27,91	Dihydrokaempférol 7-O- β -D-glucose
9	28,57	Dihydrokaempférol
10	29,10	Ssioriside
11	51,45	Lutéoline

1.3.7.1.2.2. Chromatogrammes et identification des molécules dans l'extrait de départ et les six fractions

- Chromatogramme de l'extrait aqueux de départ

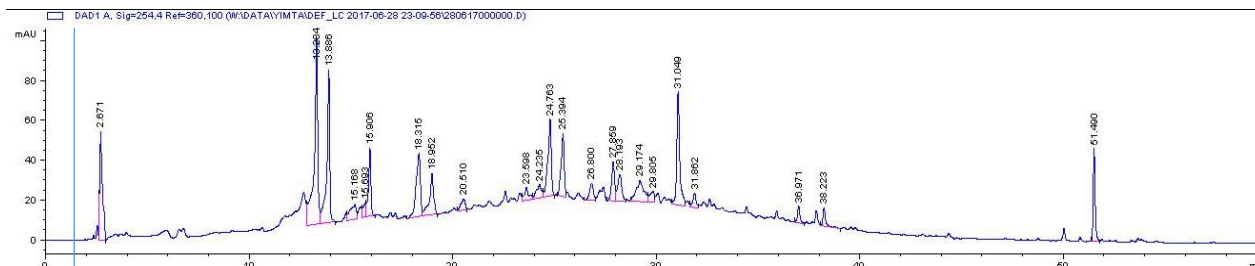


Figure 68 : chromatogramme de l'extrait aqueux de départ

- **Fraction 1**

Cette fraction a été obtenue par élution avec de l'eau. Elle contient les composés les plus polaires notamment des polysaccharides.

- **Fraction 2**

Cette fraction a été obtenue par élution avec un mélange de solvant contenant 20% de méthanol et 80% d'eau.

Sur le chromatogramme obtenu (figure 69), nous pouvons observer deux composés majoritaires avec des temps de rétention de 10,61 et 11,38 min. Leur isolement sont en cours.

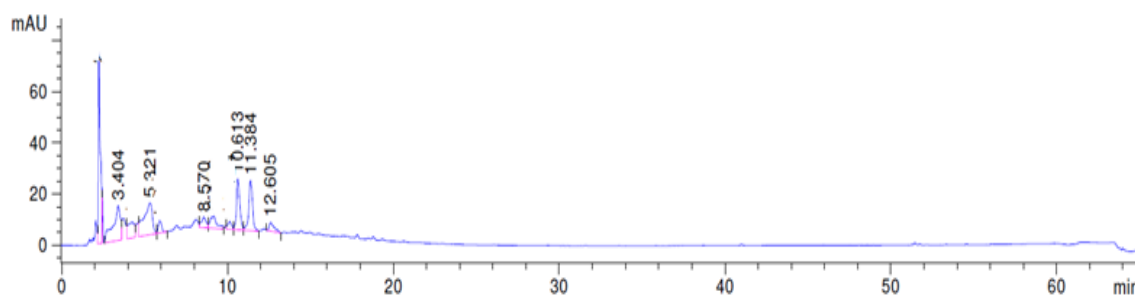


Figure 69 : Chromatogramme de la fraction 2.

- **Fraction 3**

Cette fraction a été obtenue par élution avec un mélange de solvant contenant 40% de méthanol et 60% d'eau. Son chromatogramme (figure 70) présente deux pics majoritaires avec des temps de rétention de 13,37 et 14,12 min que nous n'avons pas isolé dans l'extrait initial. Nous observons également, deux autres composés : un composé de temps de rétention 16,52 min qui peut correspondre à la taxifoline -7-O- β -glucose et un autre composé de Tr 19,40 min non identifié.

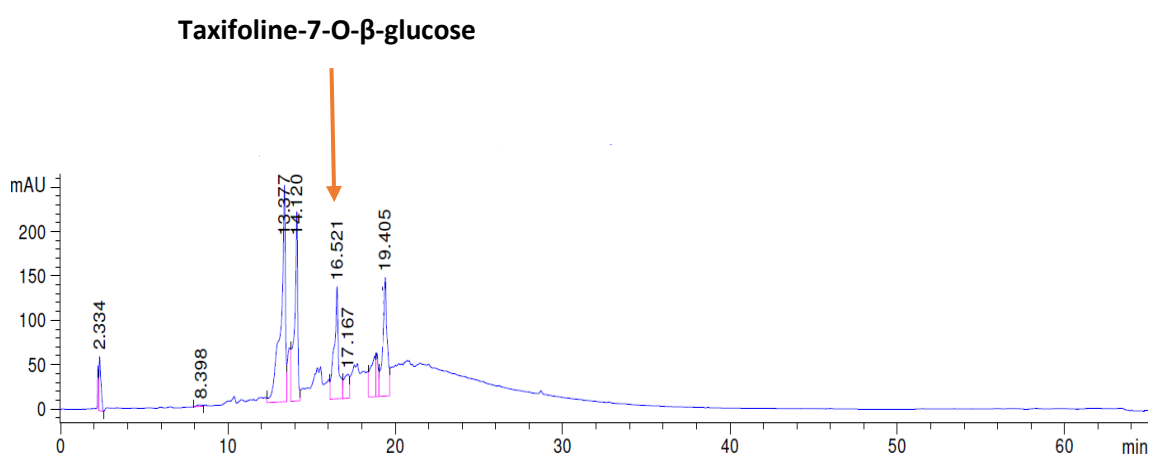


Figure 70 : Chromatogramme de la fraction 3

- **Fraction 4**

Cette fraction a été obtenue par élution avec un mélange de solvant constitué de 60% de MeOH et 40% d'eau. Son chromatogramme (figure 71) présente plusieurs pics parmi lesquels 3 présentent des temps de rétention de 18,43 ; 19,39 et 31,06 min que nous n'avons pas identifiés. En revanche, 3 molécules ont pu être confirmées : le kaempférol 3-O néohespéridoside-7-O-rhamnoside avec un temps de rétention de 24,84 min; le nudiposide avec un temps de rétention de 25,68 min et le dihydrokaempférol 7-O- β -D glucoside avec un temps de rétention de 27,91 min.

Dans cette fraction, on observe un pic très majoritaire avec un temps de rétention de 31,06 min que nous avons isolé.

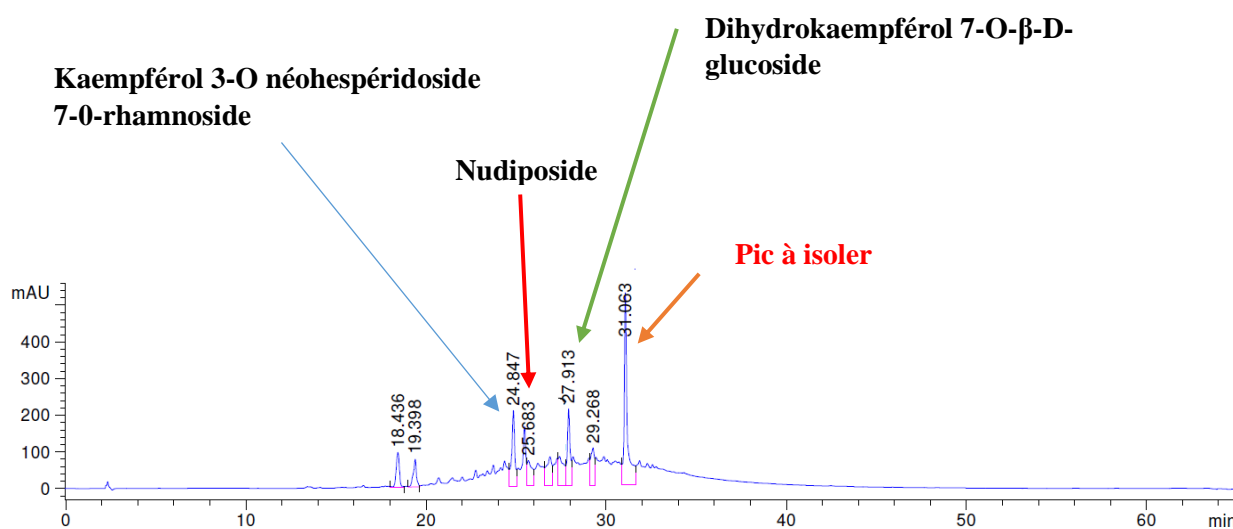


Figure 71 : Chromatogramme de la fraction 4

- **Fraction 5**

La fraction 5 est une fraction obtenue par élution avec un mélange de 80% de MeOH et 20% de H₂O. Ce chromatogramme présente plusieurs pics (figure 72) parmi lesquels nous observons le pic FY31 avec un temps de rétention de 31,13 min qui est majoritaire et que nous avons isolé.

Néanmoins nous avons identifié un composé, le dihydrokaempférol avec un Tr de 28,28 min.

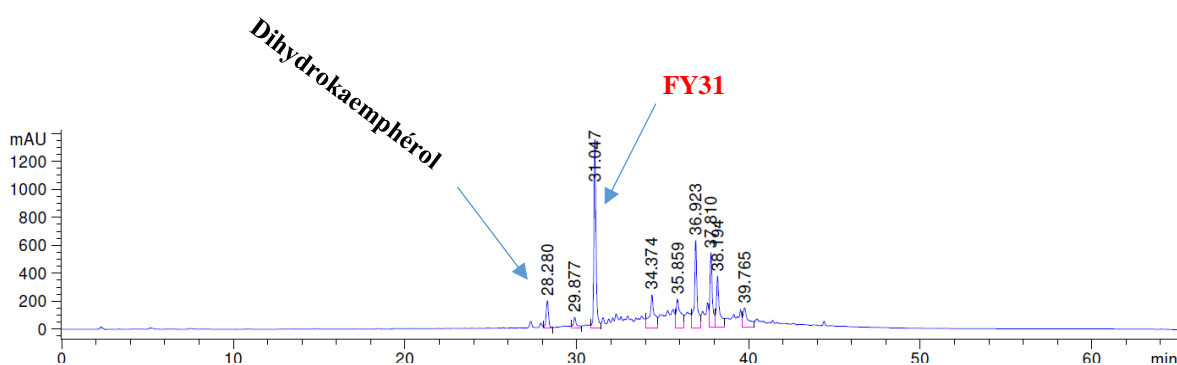


Figure 72 : Chromatogramme de la F5

- **Fraction 6**

Elle correspond à la fraction obtenue par élution par du méthanol. Elle contient les composés moins polaires. Le composé identifié dans cette fraction est la lutéoline avec un Tr de 51,45 min.

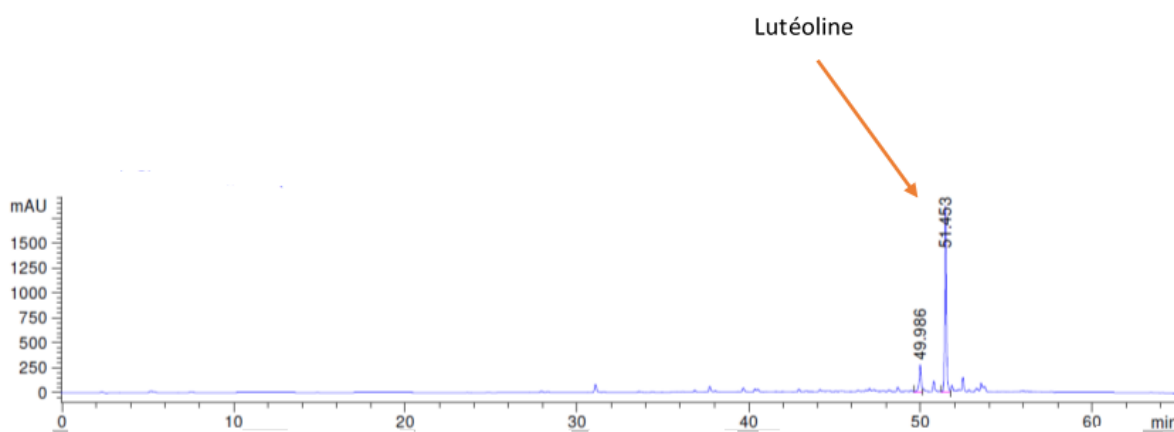


Figure 73 : Chromatogramme de la fraction 6

1.3.7.1.2.3. Purification du composé FY31 de Tr \approx 31min

Conditions analytiques de purification du composé à 31,06 min

- Appareillage : chaîne Agilent modèle HP 1200
- Colonne : Luna C18, 3 μ m, 150mm x 4,6 mm, Phénomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1 % d'acide formique pour HPLC
solvant B : méthanol RS pour CLHP
- Elution en isocratique : 65% A et 35% B
- Température du four à colonne : 25°C
- Débit : 0,8 ml/min
- Volume injecté : 20 μ l
- Détection UV: 254 et 350 nm
- Durée de l'analyse : 40 min

Solution de 1mg/ml de fraction F4 dans le méthanol puis diluée au demi dans la phase mobile (65% A et 35% B) puis les solutions ont été filtrées sur 0,45µm avant injection.

Le chromatogramme de la fraction F4 est présenté ci-après.

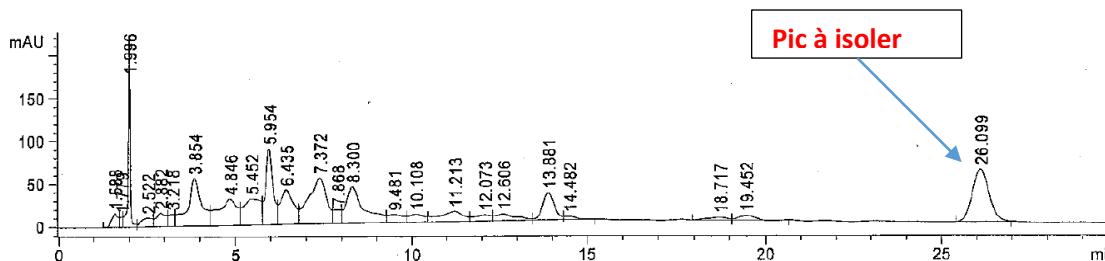


Figure 74 : Chromatogramme de F4 à 254 nm

Par transposition de ces conditions en CLHP préparative, on obtient le débit d'élution suivant :

$$\text{Facteur de scale up donne } F = (21,2)^2 / (4,60)^2 = 21,24$$

$$\text{Débit sur CLHP préparative} = F \times 0,8 = 16,992 = 17 \text{ ml / min}$$

Conditions en CLHP-Préparative

- Appareillage : PLC 2020 Gilson
- Colonne : luna C18, 5 µm, 150 x 21,2 mm, Phenomenex
- Phase mobile : solvant A : H₂O + 0,1 % d'acide formique (v/v) pour HPLC
solvant B : de méthanol RS pour CLHP
- Elution en isocratique : 65% A et 35% B
- Débit : 17 ml/min
- Volume injecté : 2,5 ml
- Détection utilisé : 254 nm et 350 nm
- Durée d'analyse : 40 min

Préparation de l'extrait : 50mg d'extrait dissout dans : 2ml de H₂O + 0,1 % acide formique et 1 ml de MeOH.

Le chromatogramme obtenu après transposition des données analytiques en données préparatives est le suivant :

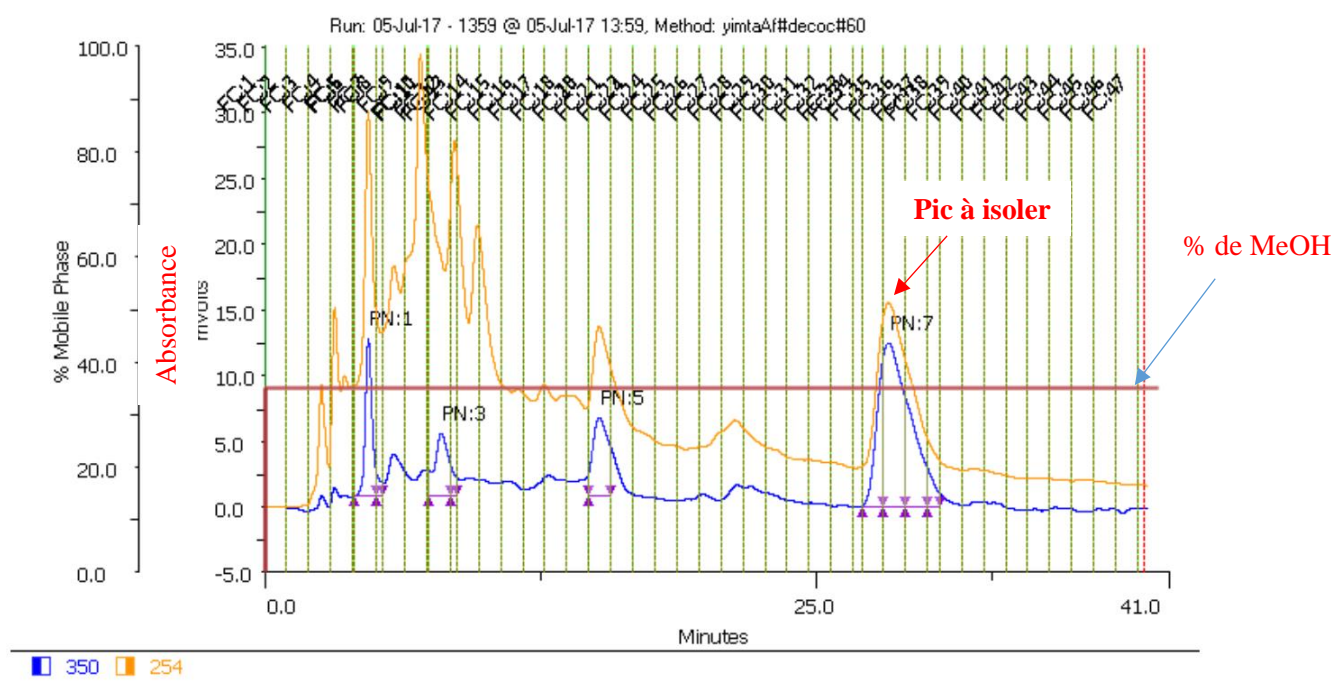


Figure 75 : Chromatogramme de F4 en CLHP préparative

Cette purification nous a permis d'obtenir 37 fractions. Après contrôle des différentes fractions par CLHP analytique, les fractions identiques ont été réunies.

Les masses obtenues et les rendements sont les suivants :

Masse total de F4 = 100 mg

Sous fractions	Masses (mg)	Rendement (%)
Fy1-7 et 5	20	20
Fy 14	5	5
Fy 31	10	10

Conclusion :

Le composé que nous avons nommé **Fy31** est en cours d'identification par RMN

Conclusion :

Le fractionnement bioguidé de l'extrait aqueux a permis d'obtenir 6 fractions. Quelques molécules déjà isolées à partir de l'extrait méthanol ont été identifiées dans chaque fraction.

La fraction 3 a permis d'identifier la taxifoline-7-O- β -glucose.

La fraction 4 a permis d'identifier 4 composés : Kaempférol 3-O- néohespéridoside 7-O-rhamnoside, le nudiposide, dihydrokaempférol 7-O- β -D-glucoside.

La fraction 5 : le dihydrokaempférol et enfin la lutéoline qui est une flavone retrouvée dans la fraction 6.

Dans le cadre du fractionnement bioguidé, nous avons évalué l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des 6 fractions obtenues.

1.3.7.1.2.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des 6 fractions

Matériel et méthode

Les conditions expérimentales pour la réalisation de ces tests sont présentées dans le paragraphe 2.1.4.2.9.5.3.

Les 6 fractions obtenues et quelques composés purs isolés en quantité suffisante ont été testés ; le nudiposide, le dunnianoside D, le kaempférol-néohespéridoside-7-O-rhamnoside, le lyonoside et la lutéoline.

Résultats

Les résultats obtenus ont été comparés à celui du contrôle (dexaméthasone) et sont présentés dans les tableaux 29 et 30.

Les résultats des tests d'activité anti-inflammatoires des fractions (tableau 29) et de quelques molécules isolées sont présentés dans le tableau 30.

Tableau 29 : Activité anti-inflammatoire des fractions obtenues

	Activité anti-inflammatoire		
	CI ₅₀ NO (µg/ml)	Viabilité cellulaire CI ₅₀ (µg/ml)	Ratio anti-inflammatoire
Décoction	0.27 ± 0.09	>100	>370
F1	2,87 ± 5,9	>100	>3
F2	0,11 ± 0,08	>100	>909
F3	4,33 ± 0,94	56,9 ± 8,1	>14
F4	0,93 ± 0,08	>100	>107
F5	1,91 ± 0,41	>100	>52
F6	3,28 ± 1,35	33,9 ± 5,5	>11
Dexaméthasone (référence)	3,89 ± 0,94 µM	184,1 ± 21,3 µM	47,3

Tableau 30 : Activité anti-inflammatoire de quelques molécules

	Activité anti-inflammatoire		
	CI ₅₀ NO (µM)	Viabilité cellulaire CI ₅₀ (µM)	Ratio anti-inflammatoire
Nudiposide	38,6 ± 3,5	>100	>2
Dunnianoside D	47,23 ± 6,1	>100	>2
KR	25,8 ± 8,8	>100	>3
Lyoniside	20,18 ± 3,2	62,2 ± 9,2	3
Lutéoline	0,14±0,1	>100	>71,4
Dexaméthasone (Référence)	3,89 ± 0,9 µM	184,1 ± 21,3 µM	47,3

Légende :

KR : Kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside

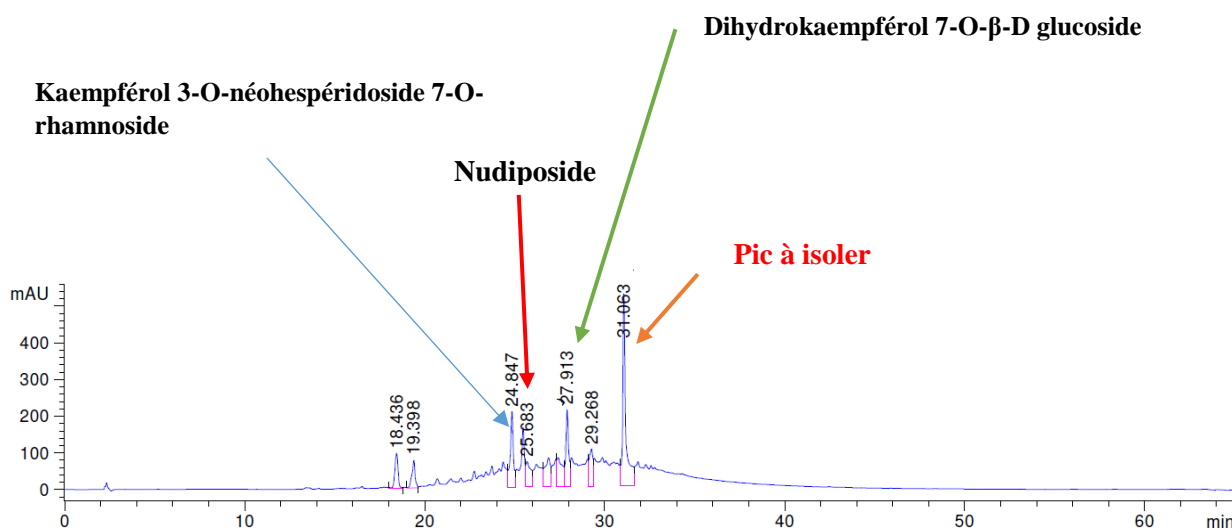
Conclusion :

Les fractions F2, F4 et F5 ont montré une faible toxicité et une activité anti-inflammatoire élevée avec des ratios importants, respectivement de >909 >107 >52 comparativement à la substance de référence, la dexaméthasone (ratio = 47,3).

Fraction 2

La fraction F2 est la plus anti-inflammatoire. Cette fraction contiendrait des composés très polaires. Son activité comparée à celle de l'extrait aqueux de départ et de la dexaméthasone montre qu'elle a un ratio anti-inflammatoire de 909 > 370 pour la décoction > 47,3 pour la dexaméthasone. Elle présente une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de la dexaméthasone et à celle de l'extrait aqueux. Il serait donc intéressant de poursuivre un fractionnement bioguidé sur cette fraction afin d'isoler les composés actifs.

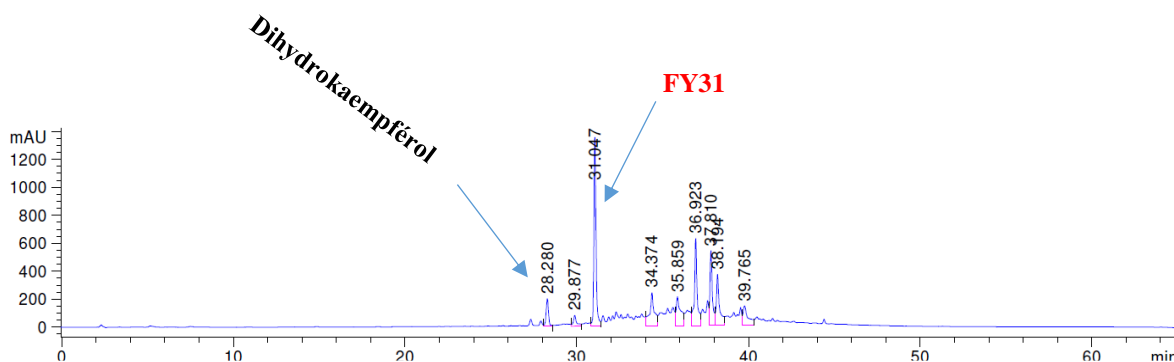
Fraction 4



Chromatogramme de la fraction 4

La fraction F4 contient 3 composés identifiés (le kaempférol 3-O-néohespéridoside 7-O-rhamnoside, le nudiposide, le dihydrokaempférol 7-O-β-D glucoside) parmi lesquels les 2 premiers ont fait l'objet d'une évaluation de l'activité anti-inflammatoire qui s'est révélée décevante. Nous pensons que ces molécules pourraient agir de manière synergique et que d'autres métabolites secondaires pourraient également intervenir dans cette activité. Cette fraction apparaît moins anti-inflammatoire que l'extrait initial (ratio anti-inflammatoire de $107 < 370$ pour la décoction et plus anti-inflammatoire que la dexaméthasone avec un ratio anti-inflammatoire de $107 > 47,3$ pour la dexaméthasone). Ce constat incite donc à poursuivre le fractionnement bioguidé de cette fraction afin de mettre en évidence les molécules responsables de l'activité.

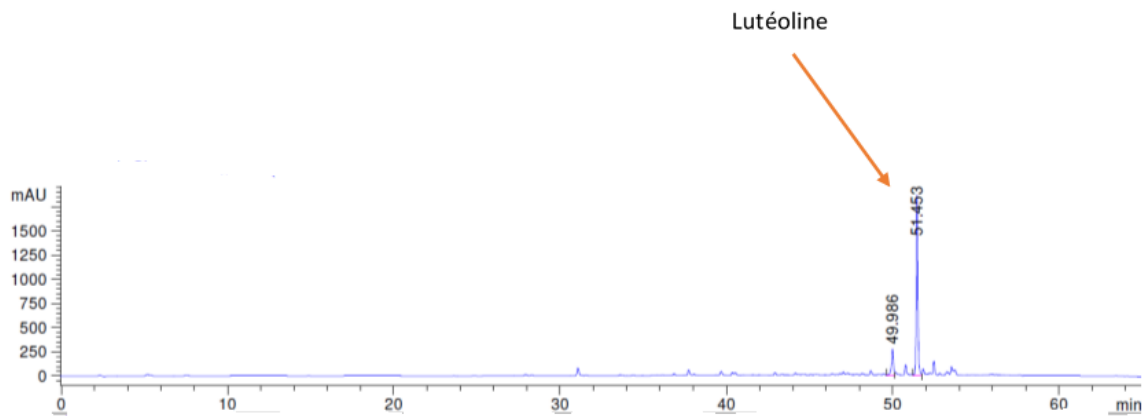
- **Fraction 5**



Chromatogramme de la fraction 5 et les molécules isolées

Dans la fraction 5, nous avons identifié le dihydrokaempférol. On note la présence d'autres composés que nous n'avons pas identifiés d'où la nécessité de poursuivre le fractionnement bioguidé afin de les isoler. L'activité anti-inflammatoire observée pour la fraction 5 pourrait être due à un effet synergique entre les molécules présentes. Le ratio anti-inflammatoire est $52 > 47,3$ pour la dexaméthasone, par contre, elle est moins anti-inflammatoire que l'extrait de départ qui a un ratio anti-inflammatoire de 370.

- **Fraction 6**



Chromatogramme de la fraction 6

Cette fraction n'a pas montré d'activité. Cependant, la lutéoline a présenté une activité anti-inflammatoire, avec un ratio anti-inflammatoire de $71,4 > 47,3$ de la dexaméthasone. Ce résultat peut être expliqué par un effet antagoniste des autres molécules présentes dans cette fraction.

En définitive, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*Azelia africana* étant prometteuse, nous envisageons une possibilité de valorisation. Dans la suite de notre travail, nous amorcerons une formulation préliminaire d'un gel à partir de l'extrait aqueux obtenu par décoction.

**CHAPITRE VI : ESSAIS PRELIMINAIRES DE
FORMULATION D'UN GEL A BASE DE
L'EXTRAIT AQUEUX D'*AFZELIA AFRICANA***

1. Essai de formulation préliminaire d'un gel topique à base de l'extrait aqueux d'*Afzelia africana*

Introduction

Dans l'objectif de proposer une formulation topique à partir du décoté aqueux d'*Afzelia africana*, présenté dans la chapitre V, il s'est avéré nécessaire de définir la dose adéquate à introduire dans la préparation galénique à des fins d'activité anti-inflammatoire. Pour ce faire, des tests pharmacologiques *in vitro* préliminaires pour comparer l'activité anti-inflammatoire ont été réalisés entre l'extrait aqueux d'*Afzelia africana* versus la teinture mère d'*Arnica montana*, dont le gel d'action anti-inflammatoire, est reconnu et est commercialisé, et avec la dexaméthasone, AINS hormone glucocorticoïde de synthèse. Typiquement, le test pharmacologique a consisté à évaluer la concentration inhibitrice de la viabilité cellulaire et la concentration inhibitrice de la production de NO sur 50 % des cellules de macrophages de souris, stimulées par les LPS d' *E. coli* pendant 24 heures, lorsqu'il est au contact de la substance à tester. Les tests sur l'extrait aqueux d'*Afzelia africana* et sur la teinture mère d'*Arnica montana* sont réalisés sur les mêmes cellules, dans les mêmes conditions, et ont permis d'obtenir les résultats mentionnés dans le tableau 31.

L'observation de la CI_{50} d'inhibition de NO des deux extraits montre que l'extrait aqueux est environ 5 fois plus actif que la teinture d'*Arnica montana*. En France, plusieurs gels d'*Arnica* contenant 10% de teinture sont commercialisés et nous proposons de fabriquer un gel contenant 2% d'extrait aqueux pour avoir une efficacité équivalente à celle du gel d'*Arnica* à 10%.

Conclusion : nous proposons la préparation d'un **gel d'*Afzelia africana* à 2%** (2 g d'extrait aqueux d'*Afzelia* pour 100 g de gel)

Tableau 31 : Tests comparatifs d'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux d'*A. africana* versus la teinture mère d'*A. montana* et de la dexaméthazone

Extrait	CI ₅₀ NO (µg/ml)	Viabilité cellulaire CI ₅₀ (µg/ml)	Ratio anti-inflammatoire
<i>Afzelia africana</i> extrait aqueux	0.27 ± 0.09	>100	>370
<i>Arnica montana</i> teinture mère	1.66 ± 0.23	> 50	>30.12
Dexamethasone	4.31 + 1.45 µM	163.22 ± 34.96 µM	37.87

Considérant les résultats de ces tests, il a été proposé que la préparation topique contenant 2% d'un extrait sec d'*Afzelia africana* conviendrait pour une activité anti-inflammatoire.

La forme galénique topique retenue est un hydrogel. L'extrait d'*Afzelia africana* y sera incorporée sous la forme de poudre obtenue par lyophilisation du décocté aqueux de la plante.

1.1. Préparation du lyophilisat d'*Afzelia africana*

La décoction est réalisée à partir de 50 g de drogue végétale pulvérisée, additionnée de 700 ml d'eau purifiée. Le mélange est porté à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, le mélange est filtré sur du coton. Le filtrat est soumis à la lyophilisation dans les conditions suivantes : phase de congélation de -30° C, lyophilisation primaire de -30° C à 20° C et création du vide à 20° C avec une pression de 0,42 mBar, une phase secondaire à + 20°C avec un vide à 0,42 mBar. La durée totale de lyophilisation est de 48 heures.

Il est à noter que 50 g de drogue végétale pulvérisée conduisent à l'obtention 2,92 g d'extrait aqueux, soit un rendement faible de 5,84%. De ce fait, quatre préparations ont été effectuées afin d'obtenir une quantité suffisante d'extrait nécessaire pour les

différents essais galéniques. Les quatre sous-lots de lyophilisat sont ensuite mélangés pour obtenir le lot 005 mis en œuvre dans la formulation.

L'humidité résiduelle du lyophilisat a été mesurée à l'aide de la balance infrarouge Ohaus type MB45 (figure 76). La valeur moyenne de l'humidité résiduelle (deux essais) est de 4%.



Figure 76: Balance infrarouge Ohaus type MB45 pour mesure de l'humidité résiduelle

2. Essais préliminaires de formulation d'un hydrogel à base d'*Afzelia africana*

2.1. Définition générale des gels

Selon la Pharmacopée Européenne, 9^{ème} édition, «les gels sont constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés»[123]. Sur le plan physico-chimique, les gels peuvent être considérés comme un réseau tridimensionnel de macromolécules (agents gélifiants) renfermant des molécules d'eau. On distingue généralement deux types de gels : les gels lipophiles ou les oléogels, constitués généralement de paraffine liquide additionnée de polyéthylène ou d'huiles végétales grasses gélifiées par la silice colloïdale. Les oléogels sont peu utilisés en pharmacie. Les gels hydrophiles ou hydrogels sont des préparations constituées de polymères hydrophiles dispersés dans l'eau purifiée et parfois additionnées d'excipients liquides hydrophiles tels que le glycérol, le propylène glycol ou l'éthanol[124]. Les hydrogels sont très répandus comme formes galéniques à usage cutané, particulièrement du fait de leur facile application sur la peau et de leur lavabilité à l'eau.

Les agents gélifiants des hydrogels peuvent être d'origine naturelle tels que les gommes, les amidons ou d'origine synthétique tels que les dérivés celluloses et les polymères carboxyvinyliques (carbomères). Il est très courant de trouver dans les

formulations des hydrogels deux principales catégories d'additifs : d'une part, les agents humectants tels que le glycérol ou le propylène glycol dont le rôle est de retenir l'eau et d'éviter le craquellement des gels. D'autre part des agents conservateurs antimicrobiens essentiellement dans les préparations multi-doses.

2.2. Formulations d'hydrogels d'*Afzelia africana*

2.2.1. Rationnel de formulation

L'objectif visé est l'élaboration d'un médicament traditionnel amélioré (MTA) de catégorie II selon les critères de l'OMS [3]. Dans ce cadre, la formulation proposée doit être la plus simple possible en termes de composition, de fabrication aisée transposable à petite échelle industrielle. La démarche de formulation consistera, dans un premier temps à proposer une composition qualitative incluant : l'agent gélifiant – le lyophilisat d'*Afzelia africana* – le solvant principal, l'eau purifiée. Si nécessaire, un co-solvant tel que l'éthanol, le propylène glycol ou la glycérine, pourra être utilisé. Dans cette étude préliminaire de formulation, nous discuterons de la faisabilité du gel, mais nous n'aborderons pas les aspects concernant la propriété microbiologique et la conservation des gels. Cependant, nous envisageons dans un travail ultérieur consacré exclusivement à la formulation, d'étudier tous ces aspects en y incluant l'étude pharmacotechnique approfondie du procédé de fabrication et sa transposition d'échelle. L'évaluation biologique des gels sera également envisagée.

2.3. Démarche de formulation : choix des principales composantes de formulation

2.3.1. Choix des agents gélifiants

Le choix des agents gélifiants s'est porté sur deux produits synthétiques :

- un dérivé cellulosique, l'Hydroxy Ethyl Cellulose (HEC), NATROSOL 250 HHX Pharma
- un dérivé de l'acide polyacrylique, le CARBOPOL 980

Ces polymères hydrophiles sont couramment utilisés dans la fabrication de gels pharmaceutiques, en particulier le CARBOPOL qui est l'agent gélifiant de plusieurs spécialités pharmaceutiques comme par exemple NIFLUGEL® (acide niflumique),

KETUM® gel (kétoprofène), FLECTOR® gel (diclofénac). Toutes ces spécialités revendent une activité anti-inflammatoire.

2.3.2. Choix des co-solvants hydrophiles

Les co-solvants hydrophiles participent à l'hydratation du polymère pour permettre sa gélification, mais ils doivent également permettre une solubilisation améliorée du lyophilisat d'*Afzelia africana* dans la préparation. Trois co-solvants ont été testés du fait de leur parfaite miscibilité à l'eau, mais également pour leur appartenance à la classe III des solvants, réputés pour leur bonne tolérance dans les préparations pharmaceutiques : il s'agit du propylène glycol, de la glycérine et de l'éthanol.

2.4. Préparation des gels blancs

Des gels blancs, ne contenant pas de lyophilisat d'*Afzelia africana* ont été fabriqués dans l'optique de choisir le gélifiant le plus adéquat. La nature et les proportions en gélifiant ont été les suivantes :

- Hydroxy Ethyl Cellulose (HEC), NATROSOL 250 HHX Pharma (Ashland, lot G-1260) : gels à 1 – 1,5 – 2 - 2,5 – 3 % (m/m)
- Acide polyacrylique, CARBOPOL 980 (Cooper, lot 13060034) : gels à 0,5 – 1% (m/m)

Fabrication : 100 grammes de gel sont préparés pour chaque proportion de gélifiant. Le solvant utilisé est l'eau purifiée. Pour le NATROSOL 250 HHX Pharma, la poudre blanche est dispersée progressivement dans l'eau purifiée contenue dans un bécher, sous agitation à l'aide d'un agitateur à tige type Heidolph RZR 2041 (figure 77), le gel se forme progressivement. L'agitation est maintenue pendant 30 min environ. Le gel obtenu est conditionné dans un pot en plastique. Pour le CARBOPOL 980, la poudre blanche est dispersée progressivement dans l'eau purifiée contenue dans un bécher sous agitation modérée jusqu'à hydratation totale (de 1 à 2 h). Une solution de soude (0,5 M) est additionnée goutte à goutte dans le bécher jusqu'à formation de la masse gélifiée. En effet, la gélification intervient lorsqu'une partie des acides carboxyliques du CARBOPOL est neutralisée, créant ainsi des résidus COO⁻ responsables de la répulsion et au déroulement des chaînes macromoléculaires. Il y a création d'un réseau tridimensionnel avec incorporation des molécules d'eau dans les

espaces inter-chaînes. Tout ceci se traduit par un gonflement du réseau. Le gel formé est laissé au repos jusqu'à gonflement total (au moins deux heures) avant le conditionnement dans un pot en plastique.



Figure 77 : Agitateur Heidolph RZR 2041 munie d'une pale en forme d'ancre

2.5. Résultats

L'observation macroscopique des préparations montre que les gels de concentrations de 1 à 2% (m/m) de NATROSOL 250 HHX Pharma sont fluides, sans réelle consistance (figure 78 (a)). Les gels à 2,5 et 3% (m/m) sont légèrement consistants, mais pas totalement satisfaisants (figure 78 (b)).



Figure 78 : Gels blancs de Natrozol : (a) à 1- 1,5 et (b) 2% à 2,5 et 3% (m/m)

Les gels de CARBOPOL 980 sont translucides et de consistance convenable. Leur étalement sur la peau est aisé, sans collage et procurent une sensation de fraîcheur (figure 79).



Figure 79 : Gels blanc de CARBOPOL 980 à 0,5 et 1% (m/m)

Ces résultats macroscopiques nous ont conduits à retenir le gel à base de CARBOPOL 980 pour la suite des études de formulation.

2.5.1. Essais de solubilisation du lyophilisat dans l'eau purifiée et dans les co-solvants

Ces essais ont consisté à tester la solubilisation de 100 mg de lyophilisat d'*Azelia africana* (figure 80) dans 40 g de solvant sous agitation mécanique (agitateur magnétique).



Figure 80 : Aspect de la poudre du lyophilisat d'*Azelia africana*

Les résultats obtenus montrent que le lyophilisat est peu soluble dans l'éthanol à 96° et dans le propylène glycol (présence et persistance de précipités). La solubilité est améliorée dans l'eau, mais il subsiste un léger précipité. Dans les proportions utilisées, le glycérol apparaît comme le meilleur solvant du lyophilisat, en effet, macroscopiquement, la solution est d'aspect homogène sans précipité apparent (figure 81). Au vu de ces résultats macroscopiques, le couple Eau-glycérol est retenu comme solvant de formulation du gel.



Figure 81 : Essais de solubilisation du lyophilisat d'*Afzelia africana* dans l'eau, le glycérol, le propylène glycol (PG) et l'éthanol 96°(EtOH).

2.5.2. Préparation de gel à 2% de lyophilisat d'*Afzelia africana*

2.5.2.1. Formule qualitative et quantitative pour 100 g de gel

<i>Composition</i>	<i>Quantité (en g)</i>
Lyophilisat de <i>Afzelia africana</i> (lot 005)	2,00
Carbopol 980 (Cooper, lot 13060034/A)	0,80
Ethylène diamine tétracétique sodique (BASF, lot 148912288QO)	0,04
Solution de NaOH 0,5M	9,00
Glycérol (Cooper, lot 170401197/C)	40,00
Eau purifiée	48,16
Total	100 g

2.5.2.2. Justification de la formule

La concentration de 2% d'*Afzelia africana* est retenue conformément aux tests pharmacologiques comparatifs entre la décoction de plante d'une part et la teinture mère d'*Arnica montana* et la dexaméthasone d'autre part.

Le Carbopol 980 a été choisi pour son habilité à former un gel translucide, de bonne consistance, facile à appliquer et agréable au toucher. Les gels blancs ont montré que des taux de Carbopol de 0,5 et 1% (m/m) conduisaient à des gels satisfaisants. Le gel

à 0,5% est moyennement épais et consistant, alors que le gel à 1% apparaît consistant mais très épais. Pour la préparation du gel actif, nous avons unilatéralement opté pour une valeur intermédiaire de 0,8% (m/m).

La solution de soude (0,5 M) est utilisée pour neutraliser une partie des fonctions COOH des acides carboxyliques du Carbopol pour générer des groupements COO⁻ qui entraînent la répulsion des chaînes macromoléculaires, avec création des espaces dans lesquelles s'engouffrent les molécules d'eau. Tout ceci abouti à un gonflement du réseau formé. Il est important de noter que la neutralisation des acides carboxyliques doit être partielle, de façon à obtenir un gel dont le pH est situé autour de 6. En outre, cette valeur de pH est compatible avec celui de la peau.

L'éthylène diamine tétracétique sodique (EDTA Na) est utilisé comme chélateur de cations. Il est en effet bien établi que les gels à base de Carbopol sont très sensibles au pH, mais également aux cations. En effet, ces derniers peuvent se fixer aux résidus carboxyliques COO⁻ et rompre les répulsions électrostatiques, à l'origine de la gélification. Il s'en suit alors un effondrement du gel formé. La chélation de cations éventuellement présents lors de la fabrication des gels est absolument nécessaire.

Le glycérol est choisi comme co-solvant en raison de sa capacité à dissoudre le lyophilisat d'*Azelia africana*. En outre, le glycérol présente la propriété d'être un agent humectant, capable de retenir l'eau dans le gel et donc de maintenir la stabilité physique de la préparation.

2.5.2.3. Protocole de fabrication du gel actif

Etape 1 : Disperser progressivement à l'aide d'un agitateur à turbine le lyophilisat (2g) dans le glycérol (40 g) et obtenir un mélange homogène, sirupeux, de couleur marron. La vitesse d'agitation doit être fixée de manière à éviter l'incorporation des bulles d'air dans le mélange et la formation de mousse. L'aspect du mélange final, sirupeux et homogène est visible sur la figure 82.

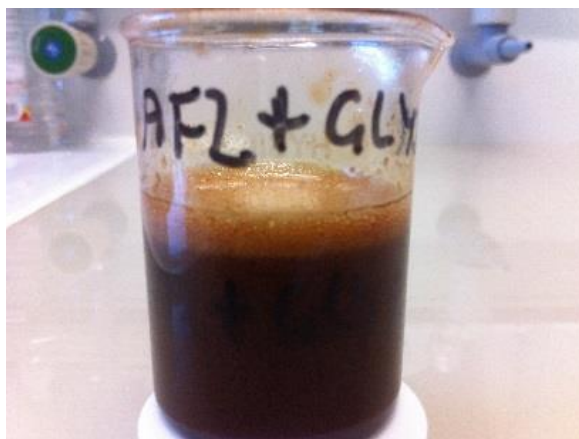


Figure 82 : Solution sirupeuse du lyophilisat d'*Afzelia africana* dans le glycérol

Etape 2 : Introduire l'eau dans un bécher (48,16 g) et placer le récipient sous un agitateur à tige de type Heidolph RZR 2041 muni d'une palle en forme d'ancre. Additionner la poudre blanche d'éthylène diamine tétracétique sodique jusqu'à complète dissolution, puis disperser progressivement le Carbopol 980 (0,8 g), laisser sous agitation lente (40-45 tours/min) jusqu'à hydratation totale de la poudre (pas moins d'une heure). La figure 83 représente l'amorce de l'hydratation du Carbopol 980.



Figure 83 : Hydratation du Carbopol 980 sous agitation modérée

Etape 3 : Additionner progressivement la solution sirupeuse du lyophilisat/glycérol dans la suspension de Carbopol hydraté, sous agitation modérée (40-45 tours/min) (figure 84).

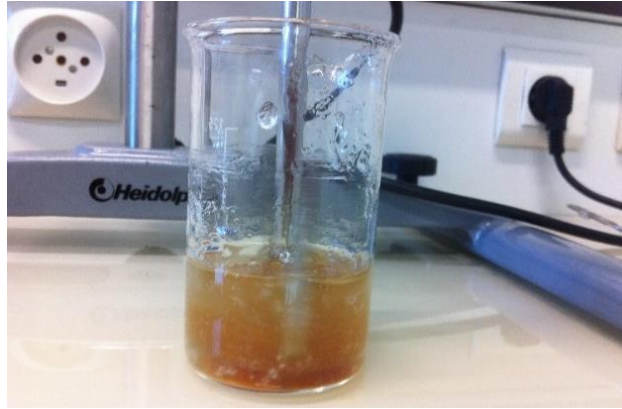


Figure 84 : Aspect du lyophilisat/glycérol + suspension de Carbopol 980 hydraté au début du mélange des deux parties

Après addition totale de la solution sirupeuse, laisser sous agitation modérée pendant 30 minutes.

Etape 4 : neutralisation et formation du gel : toujours sous agitation lente, introduire progressivement la solution de NaOH 0,5 M (9 g) dans le mélange homogène Carbopol 980/solution sirupeuse de *Afzelia africana*. La gélification s’amorce lentement et devient quasiment totale au bout de plusieurs heures (6 à 12 heures). Le gel formé est consistant et d’aspect homogène comme le montre la figure 85. Le pH de la préparation est mesuré à l’aide du pH-mètre, Mettler Toledo, SevenEasy. Le gel final est ensuite laissé au repos (2 à 3 heures) pour mûrissement avant son conditionnement dans un emballage primaire adéquat.



Figure 85 : Aspect final du gel d’*Afzelia africana* à 2%

Le synoptique de la préparation du gel d’*Afzelia africana* est illustrée ci-après (Figure 86).

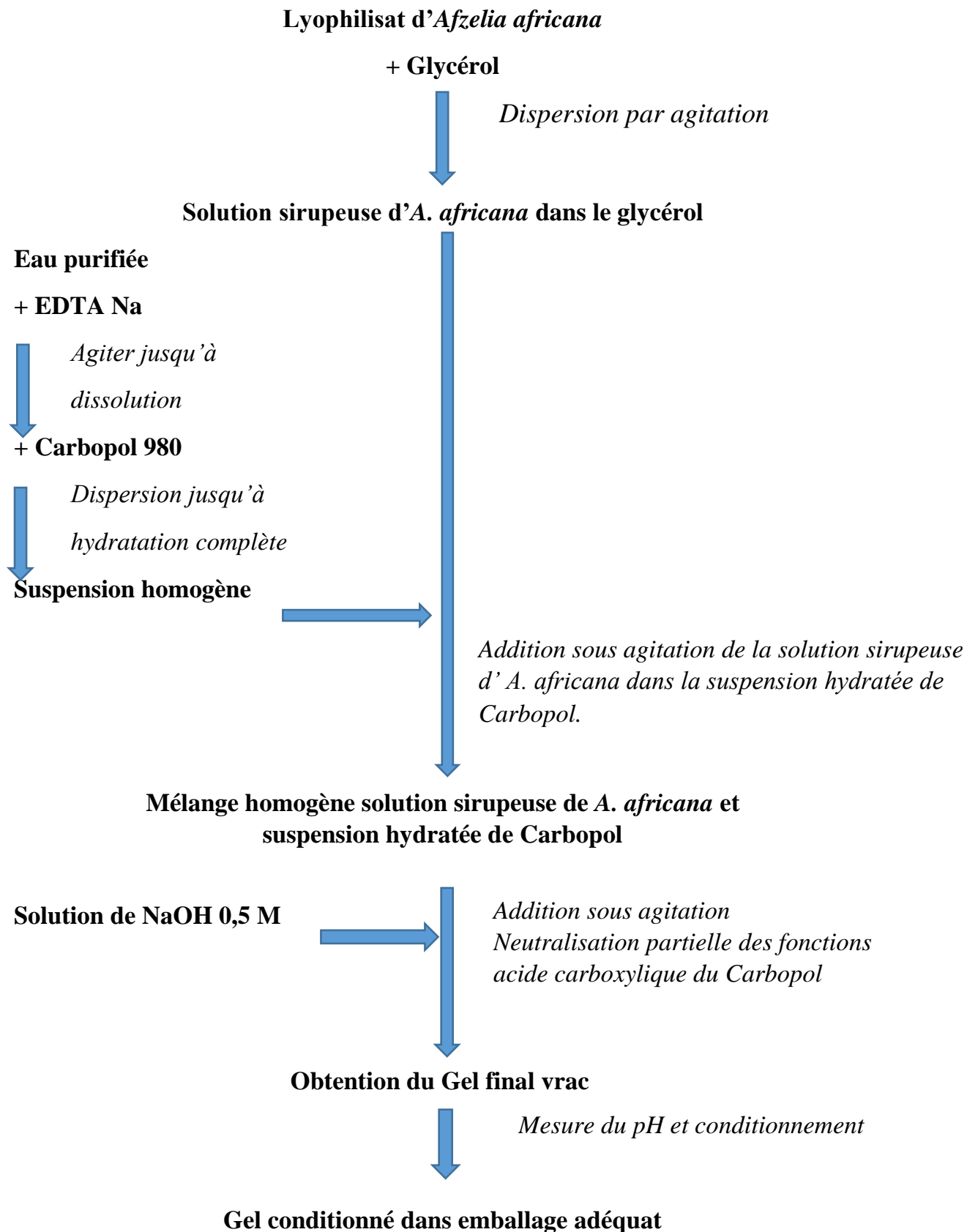


Figure 86 : Synoptique de fabrication du gel d'*A. africana*

2.5.2.4. Analyses macroscopiques du gel obtenu

Le gel est de couleur marron foncée, d'aspect homogène, sans particules solides visibles. Lorsqu'il est réparti et pressé sur une feuille de papier blanche à l'aide d'une spatule, il n'y a pas de traces de particules écrasées visibles. L'observation au microscope optique révèle un aspect relativement homogène, bien que quelques très fines particules, très peu nombreuses, soient décelables. En revanche des bulles d'air emprisonnées dans le gel sont observées, ces dernières sont incorporées par l'agitation au moment de la préparation des gels. Le gel s'étale facilement sur la peau en provoquant une légère sensation de fraîcheur. Après étalement sur la peau, il n'y a pas de sensation de 'collage', en outre le gel est facilement lavable à l'eau. Le pH mesuré est d'environ 5,5 à 6. Le gel est conditionné dans des pots en plastique étiquetés et conservé (figure 87).



Figure 87 : Gel conditionné en pots et étiqueté

Conclusion sur la formulation et la fabrication du gel

Les essais préliminaires de formulation avaient pour objectif de démontrer la faisabilité d'un hydrogel contenant le lyophilisat d'une décoction d'*Azela africana*. Un gel à base de Carbopol 980 contenant 2% de lyophilisat a été préparé avec succès au niveau de la paillasse. La formulation proposée a été volontairement simplifiée, en effet, s'agissant d'une préparation multi-doses, l'incorporation d'un conservateur antimicrobien s'avère indispensable. Une étude de l'activité de conservateur est complexe et nécessite de préparer plusieurs gels à des concentrations différentes en conservateur, puis de les tester selon les prescriptions de la Pharmacopée Européenne. La quantité de lyophilisat disponible au moment des essais de formulation ne

permettait pas une telle étude, ni même la répétabilité de la formule de gel proposée. Cette formulation doit donc être strictement considérée comme un essai préliminaire de faisabilité. Sa réalisation satisfaisante autorise à penser qu'une optimisation et une fabrication substantielle du gel sont envisageables.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail a été entrepris dans l'objectif de valoriser les plantes utilisées en médecine traditionnelle à base de plantes dans l'Ouest Cameroun. Pour atteindre cet objectif, nous avons choisi d'utiliser la démarche ethnopharmacologique. Cette démarche consiste en un travail de terrain, un travail de laboratoire et un retour vers le terrain. Ainsi, notre travail a débuté par une synthèse sur les enquêtes ethnobotaniques réalisées dans la région de l'Ouest Cameroun, puis nous avons réalisé un screening pharmacologique préliminaire sur 4 plantes sélectionnées (*Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa*, *Azelia africana*). Nous avons poursuivi notre travail en sélectionnant *Azelia africana* et en réalisant son étude sur le plan phytochimique, analytique et pharmacologique. Nous avons conclu cette étude par des essais préliminaires de formulation d'un gel à base d'*Azelia africana*.

Le travail de terrain

Il a consisté à réaliser des enquêtes ethnobotaniques dans quatre départements de la région de l'Ouest Cameroun. Ces enquêtes généralistes ont permis de recenser les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Au terme de cette enquête, pour chaque département, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Dans le Ndé, 165 plantes appartenent à 53 familles ont été recensées auprès de 10 tradipraticiens et récoltées dans 7 villages
- Dans la Menoua, 150 plantes appartenent à 52 familles ont été recensées auprès de 15 tradipraticiens et récoltées dans 12 villages
- Dans le Haut-Nkam, 137 plantes appartenant à 55 familles ont été recensées auprès de 12 tradipraticiens et récoltés dans 7 villages
- Dans le Noun 107 plantes répartie dans 48 familles ont été recensées auprès de 18 tradipraticiens et récoltées dans 11 villages.

Les enquêtes effectuées dans le département du Ndé ont fait l'objet d'une publication. Un autre article sur les plantes médicinales et recettes utilisées pour soigner les maladies infectieuses dans les 4 départements de l'Ouest Cameroun a été soumis pour publication.

Mentionnons également que les travaux ont continué dans 4 autres départements (Mifi, Nkoug-Nki, Bamboutos et Haut-plateaux) au cours de 2016-2017 et les informations recueillies méritent d'être valorisées dans un prochain travail.

Les plantes et recettes recueillies sur le terrain pourront permettre la mise en place d'une pharmacopée de l'Ouest Cameroun qui sera mise à la disposition du personnel enseignant, mais également du personnel de santé pour un usage rationnel. Au niveau universitaire, les plantes ayant fait l'objet d'études phytochimiques approfondies seront retenues et pourront servir à la confection d'un herbier et l'élaboration d'ouvrages qui serviront de support pédagogique. Enfin nous continuerons les enquêtes dans d'autres régions afin de participer à l'élaboration une pharmacopée Camerounaise qui s'inscrira dans la pharmacopée Africaine.

Quatre plantes ont été retenues en raison de leur utilisation dans plusieurs villages pour soigner diverses pathologies: *Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Azelia africana*. Ces plantes ont été évaluées au niveau pharmacologique.

Travail de laboratoire

Le travail de laboratoire a consisté à évaluer certaines activités pharmacologiques à partir de quatre extraits (CH₂Cl₂, MeOH, MeOH/H₂O, H₂O) obtenus pour chacune des plantes sélectionnées.

Des tests préliminaires basés sur l'activité anti-inflammatoire, antibactérienne et antipaludique ont été réliés. Ces activités ont été choisies en fonction des pathologies pour lesquelles ces plantes sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

Activité antipaludique

Les extraits méthanol, méthanol 50%, dichlorométhane et la décoction d'*Azelia africana* et *Vitellaria paradoxa* ont montré qu'il n'y avait pas d'activité aux doses testées (10 mg/ml). Les deux autres plantes (*Crossopterix febrifuga*, *Terminalia avicennioides*) possèdent une activité antipaludique largement documentée et publiée dans les journaux scientifiques, nous n'avons donc pas réévalué cette activité au cours de notre thèse.

Activité antibactérienne :

La détermination de la CMI montre qu'il n'y a pas d'activité antibactérienne directe aux concentrations testées sur des souches d'*Enterobacter aerogenes* résistantes aux ATB, quels que soient les extraits et les plantes. Par contre, nous observons une légère potentialisation du chloramphénicol pour l'extrait méthanol 50% d'*Azelia africana* et *Terminalia avicennioides*, pour l'extrait méthanolique de *Terminalia avicennioides* et pour l'extrait dichlorométhane de *Vitellaria paradoxa*. Par ailleurs, ces résultats sont en accord avec ceux de Magassouba en 2007 qui n'a pas trouvé d'activité antibactérienne *in vitro* avec un extrait méthanol de l'écorce du tronc de *Crossopteryx febrifuga* sur d'autres souches bactériennes : *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* [73]. Cependant, nous prévoyons de tester les extraits sur d'autres souches bactériennes responsables de maladies infectieuses.

En ce qui concerne l'efflux en temps réel, quelques extraits ont montré une activité inhibitrice intéressante avec des CI_{50} variant de 4,2 à 10,4 $\mu\text{g/ml}$: ce sont les extraits méthanol 50% et méthanol d'*Azelia africana*, *Terminalia avicennioides*, l'extrait aqueux de *T. avicennioides* et enfin l'extrait aqueux, l'extrait méthanol 50% et méthanol de *Crossopteryx febrifuga*. Ce test nécessite d'être poursuivi car cette action sur les pompes d'efflux intervient dans les cas de résistances aux antibiotiques et semble donc pertinent.

Activité anti-inflammatoire :

L'extrait méthanol 50% et l'extrait aqueux de *Crossopteryx febrifuga* ont montré une inhibition respectivement de 72% et 59% à une concentration de 10 $\mu\text{g/ml}$. *Terminalia avicennioides* et *Vitellaria paradoxa* ont montré respectivement une inhibition de la production de NO de 89% pour l'extrait hydrométhanolique, 86% pour l'extrait aqueux. De même, tous les extraits d'*Azelia africana* ont montré une inhibition de la production du NO supérieure à 80%.

Ces résultats préliminaires prometteurs nous ont guidé sur le choix d'*Azelia africana* pour des études phytochimique et pharmacologique approfondies.

L'étude phytochimique a permis d'isoler 13 molécules, tous ces composés ont été isolés pour la première fois dans cette plante. Se sont :

- quatre lignanes : lyoniside et nudiposide, ssioriside, alcool *trans* dihydrodéhydroconiférylique
- neuf flavonoïdes et dérivés phénoliques : le kaempférol-néohespéridoside-7-O-rhamnoside, le 2R, 3R *trans* aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-méthylènebutanoate), la taxifoline-7-O-β-glucoside, dihydrokaempférol, la catéchine, la lutéoline, la sinensine, l'isosinensine, le dunnianoside D, un glucoside phénolique.

Nous avons ainsi contribué à la connaissance de la composition en métabolites secondaires d'*A. africana*, alors que les travaux antérieurs décrivent l'isolement de métabolites primaires tels que les glucides, les acides aminés ou les acides gras qui interviennent généralement dans le métabolisme de base des plantes.

D'autres composés isolés sont en cours d'identification. La recherche d'autres métabolites, en particulier minoritaires pourrait être poursuivie.

Les tests effectués sur les composés purs (dunnianoside D, nudiposide, lyoniside, lutéoline, kaempférol 3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside) isolés n'ont montré aucune activité anti-inflammatoire sauf pour la lutéoline. Ces composés sont présents dans l'extrait aqueux ce qui signifierait que l'activité fortement anti-inflammatoire de l'extrait aqueux serait due à l'effet de synergie entre les molécules présentes. D'autre part, le fractionnement bioguidé de l'extrait aqueux obtenu par décoction a été entrepris afin d'identifier les composés impliqués dans cette activité anti-inflammatoire. Les tests d'activité réalisés sur les fractions obtenues nous ont montré une forte inhibition de NO pour les fractions F2, F4 et F5. Dans chaque fraction, nous avons pu identifier quelques molécules qui pourraient être responsables de l'activité.

La fraction F2 qui présente un ratio anti-inflammatoire de $909 > 370$ pour l'extrait de départ $> 47,3$ pour la dexaméthasone est la plus intéressante car on observe une augmentation de l'activité anti-inflammatoire par rapport à l'extrait avant

fractionnement. Il serait donc intéressant de poursuivre le fractionnement de cette fraction jusqu'à l'isolement des molécules responsables de cette activité.

La fraction F4 présente un ratio anti-inflammatoire de $107 < 370$ pour l'extrait initial et supérieur à celle de la substance de référence, la dexaméthasone. Cette fraction 4 contient le kaempférol-3-O-néohespéridoside-7-O-rhamnoside, le nudiposide, le dihydrokaempférol-7-O- β -D glucoside et d'autres composés qui méritent d'être isolés.

Bien qu'ayant une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de la molécule de référence, nous remarquons une perte d'activité comparativement à l'extrait de départ ce qui confirme a priori l'effet synergique entre les différentes molécules isolées.

La fraction F5 présente également un ratio anti-inflammatoire de $52 < 370$ celle de l'extrait de départ et de la référence ce qui signifie que l'activité anti-inflammatoire de cette fraction, tout comme celle de la fraction 4 provient des effets de synergie entre les molécules. Une purification de cette fraction serait nécessaire pour isoler toutes les molécules impliquées dans l'activité.

Ces résultats prometteurs sur *Afzelia africana* nous ont encouragé à envisager la mise au point d'une préparation à visée anti-inflammatoire par voie externe.

Retour vers le terrain

Afin de valoriser les résultats phytochimiques et pharmacologiques obtenus avec *Afzelia africana*, nous avons entrepris un essai préliminaire de mise en forme galénique de l'extrait aqueux, pour une application par voie locale, s'intégrant ainsi dans une démarche de retour vers le terrain.

Nous avons développé avec succès la formulation d'un hydrogel à base de Carbopol 980 contenant 2% de poudre lyophilisée d'un extrait aqueux obtenu par décoction à partir des écorces d'*A. africana*. L'exploitation ultérieure de ces essais préliminaires devrait permettre de s'orienter vers la proposition d'un médicament traditionnel amélioré de catégorie II selon l'OMS. Ces tests préliminaires sur l'extrait seront complétés par les tests de toxicité notamment de phototoxicité et de génotoxicité.

Concernant la formulation d'un hydrogel à base de Carbopol et contenant 2% d'un lyophilisat d'*Azelaia africana*, plusieurs axes de travail sont à envisager. La répétabilité de la formulation proposée est à démontrer, les contrôles physico-chimiques et pharmaceutiques adéquats doivent être effectués, des tests physiques tels que la rhéologie des gels sont indispensables pour la caractérisation de ce type de forme galénique. Un point important va concerner l'établissement de la propreté microbiologique des gels. La possibilité d'introduction de conservateurs antimicrobiens sera réalisée conformément aux recommandations de la Pharmacopée Européenne. Il sera également opportun d'envisager une évaluation biologique des gels, *in vivo*, chez l'animal. En fonction des résultats obtenus, des essais cliniques limités après autorisation du comité d'éthique ad hoc pourraient être proposés. Enfin, des essais de transposition d'échelle de la formulation finale retenue seront entrepris dans l'objectif de mettre à la disposition des populations et des personnels de santé un médicament traditionnel amélioré pour la prise en charge des pathologies à composante inflammatoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S. Augustino, P. Gillah, Medicinal plants in urban districts of Tanzania: plants, gender roles and sustainable use, *Int. For. Rev.* 7 (2005) 44–58.
- [2] C. Ladoh-Yemeda, T. Vandi, S. Dibong, E. Mpondo Mpondo, J. Wansi, J. Betti, F. Choula, D. Ndongo, M. Tomedi Eyango, Étude ethnobotanique des plantes médicinales commercialisées dans les marchés de la ville de Douala, Cameroun, *J. Appl. Biosci.* 99 (2016) 9450. doi:10.4314/jab.v99i1.11.
- [3] OMS, Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève. (2002) 78P.
- [4] J. Fleurentin, B. Weniger, G. Bourdy, Traditions thérapeutiques et médecine de demain: les enjeux de l’ethnopharmacologie, Ouest-France, Rennes, 2011.
- [5] J. Betti, A. Gueri, Usages traditionnels des plantes médicinales et traitement des maux de dos dans la réserve de biosphère du Dja/Cameroun. In *history of health and diseases: Living and curing old age in the world/Old age in the world*, (2002a).
- [6] Y. Foutse, Contribution à l’étude ethnopharmacologique dans le département du Ndé, Thesis in pharmacy, Université des Montagnes, 2009.
- [7] Y. Nzoussa, Contribution à l’étude ethno-pharmacologique dans le département du Noun, Doctorat degree thesis in Pharmacy, Université des Montagnes, 2014.
- [8] J. Mapi, Contribution à l’étude ethnobotanique et analyses chimiques de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Nkongsamba (Moungo)., Thèse de Doctorat 3ème cycle, Université de Yaoundé, 1988.
- [9] T. Mbenkum, Duncan, Final report to the world wide fund for nature. Survey, U.K, 1989.
- [10] J.-M. Essono, Le Cameroun et ses langues, Cameroun 2001-Polit. Lang. Économie Santé. (2001) 61–87.
- [11] INS, Présentation du Cameroun -Institut National de la statistique du Cameroun, (2010). <http://www.statistics-cameroon.org/manager>. (accessed October 5, 2017).
- [12] Le pluralisme religieux dans la production des villes ouest-africaines — Géoconfluences, (n.d.). <http://geoconfluences.ens-lyon.fr/informations-scientifiques/dossiers-thematiques/fait-religieux-et-construction-de-l-espace/articles-scientifiques/le-pluralisme-religieux-dans-la-production-des-villes-ouest-africaines> (accessed October 16, 2017).
- [13] G.M. Ze, Insécurité linguistique et appropriation du français en contexte plurilingue, Editions L’Harmattan, 2009.
- [14] E.A. Anchimbe, Language policy and identity construction: the dynamics of Cameroon’s multilingualism, John Benjamins Publishing, 2013.
- [15] P. Tchawa, Le Cameroun : une « Afrique en miniature » ?, *Cah. D’Outre-Mer.* 65 (2012) 319–338. doi:10.4000/com.6640.
- [16] V. Djoufack, B. Fontaine, N. Martiny, M. Tsalefac, Climatic and demographic determinants of vegetation cover in northern Cameroon, *Int. J. Remote Sens.* 33 (2012) 6904–6926. doi:10.1080/01431161.2012.693968.

- [17] Cameroun • Fiche pays • PopulationData.net, (n.d.). <https://www.populationdata.net/pays/cameroun/> (accessed October 12, 2017).
- [18] Blog, Découverte du Cameroun » Le Cameroun, (2010). <http://cameroun.unblog.fr/test-camer/> (accessed September 18, 2017).
- [19] Décret, Décret portant organisation administrative de la republique du Cameroun, 2008.
- [20] ouest_carte.jpg (Image JPEG, 1024 × 610 pixels) - Redimensionnée (0%), n.d. http://www.editions2015.com/cameroun/images/cartes/ouest_carte.jpg (accessed October 16, 2017).
- [21] J. Champaud, Villes et campagnes du Cameroun de l'Ouest, IRD Editions, 1983.
- [22] O. Testa, Les Bamilékés, groupe ethnique du Cameroun, 2011.
- [23] A. Tchewo, Bangangté et sa région : Histoire et société, 1916-1970, mémoire pour l'obtention du DIPES II, 1988.
- [24] Rapport, RAPPORT REGIONAL DE PROGRES DES OBJECTIFS DU MILLENAIRE POUR LE DEVELOPPEMENT, Cameroun, 2010.
- [25] B. Holmstedt, J.. Bruhn, Ethnopharmacology-a challenge., J Ethnopharmacol. (1983) 251–256.
- [26] R. Sanogo, F. Traoré, A. Djimdé, D. Lassana, A. Maiga, D. Diallo, O. Doumbo, Formulation de sirops antipaludiques à base d'extraits de *Argemone mexicana*, Pharmacopée Médecine Tradit. Afr. 16 (2012). <http://publication.lecames.org/index.php/pharm/article/view/22> (accessed August 11, 2017).
- [27] J. Fleurentin, G. Balansard, L'interêt de l'ethnopharmacologie dans le domaine des plantes médicinales, Med Trop. (2002) 23–28.
- [28] CE-FAO, Données statistiques des produits forestiers non-ligneux du Cameroun., 1999.
- [29] Y.. Nzoussa, Contribution à l'étude ethnopharmacologique dans le département du Noun (Cameroun), Thesis in pharmacy, Université des Montagnes, 2014.
- [30] A. Sofowora, Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, Karthala ; Académie suisse des sciences naturelles, Paris : Berne, 2010.
- [31] E.M. Etoa, Tradipraticiens : La médecine traditionnelle se met en règle, Cameroun Trib. (2007).
- [32] L. Fodzo, Psychiatrie en Afrique: l'expérience Camerounaise, Paris [u.a.] L'Harmattan, 1997.
- [33] L. Noah Manga, Pratique des relations du travail au Cameroun: par l'exemple et les chiffres, Harmattan, Paris, 2010.
- [34] I. Gueye, Les normes de la bioéthique et l'Afrique, Harmattan, Paris, 2012.
- [35] F. Nguimatsia, J. Boutsie, F. Baril, M. Amoros, L. Girre, Les médicaments des pygmées Baka du Cameroun: moeurs thérapeutiques, maladies et inventaire des plantes médicinales, Fitoterapia. 69 (1998) 29–40.
- [36] R. Letouzey, Manuel de botanique forestière. Afrique tropicale. Tome 1 : botanique générale. Tome 2A : familles (1ère partie). Tome 2B : familles (2è partie), (1982). <http://agritrop.cirad.fr/322992/> (accessed May 29, 2017).
- [37] B. Satabi, R. Sanogo, Pasqual, The antitussive activity of *Guiera senegalensis* J.F.Gmel (Combretaceae), Phytother. Res. (1998) 132–134.

- [38] J. Hutchinson, J. Dalziel, H. VM, Flora of west tropical Africa., 2nd ed., Millbank, London, 1954.
- [39] F. Baba-Moussa, K. Akpagana, P. Bouchet, Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine, *J. Ethnopharmacol.* 66 (1999) 335–338.
- [40] K.O. Akinyemi, U.E. Mendie, S.T. Smith, A.O. Oyefolu, A.O. Coker, Screening of Some Medicinal Plants Used in South-West Nigerian Traditional Medicine for Anti- Salmonella typhi Activity, *J. Herb. Pharmacother.* 5 (2005a) 45–60. doi:10.1080/J157v05n01_06.
- [41] D. Kubmarawa, G.A. Ajoku, N.M. Enwerem, D.A. Okorie, Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of 50 medicinal plants from Nigeria, *Afr. J. Biotechnol.* 6 (2007). <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57755> (accessed October 6, 2017).
- [42] K.M. Witabouna, K.A. Kagoyire, West African Plants and Related Phytocompounds with Anti-Multidrug-Resistance Activity, in: I. Ahmad, F. Aqil (Eds.), *New Strateg. Combat. Bact. Infect.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2008: pp. 137–164. doi:10.1002/9783527622931.ch6.
- [43] A. Salau, M. Yakubu, A. Oladiji, Cytotoxic activity of aqueous extracts of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides* root barks against Ehrlich Ascites Carcinoma cells, *Indian J. Pharmacol.* 45 (2013) 381. doi:10.4103/0253-7613.115023.
- [44] A. Mann, K. Ibrahim, A. O. Oyewale, J. O. Amupitan, M. O. Fatope, J. I. Okogun, Isolation and Elucidation of Three Triterpenoids and Its Antimycobacterial Activity of *Terminalia Avicennioides*, *Am. J. Org. Chem.* 2 (2012) 14–20. doi:10.5923/j.ajoc.20120202.03.
- [45] M.N. Shuaibu, K. Pandey, P.A. Wuyep, T. Yanagi, K. Hirayama, A. Ichinose, T. Tanaka, I. Kouno, Castalagin from *Anogeissus leiocarpus* mediates the killing of Leishmania in vitro, *Parasitol. Res.* 103 (2008a) 1333–1338. doi:10.1007/s00436-008-1137-7.
- [46] L.P. Ouattara, S. Sanon, V. Mahiou-Leddet, A. Gansané, B. Baghdikian, A. Traoré, I. Nébié, A.S. Traoré, N. Azas, E. Ollivier, S.B. Sirima, In vitro antiplasmodial activity of some medicinal plants of Burkina Faso, *Parasitol. Res.* 113 (2014) 405–416. doi:10.1007/s00436-013-3669-8.
- [47] S.A. Malcolm, E.A. Sofowora, Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituent plants, *Lloydia.* 32 (1969) 512–517.
- [48] A. Mann, Y. Yahaya, A. Bansa, F. John, Phytochemical and antimicrobial activity of *Terminalia avicennioides* extracts against some bacteria pathogens associated with patients suffering from complicated respiratory tract diseases, *J. Med. Plants Res.* 2 (2008) 094–097.
- [49] K. Akinsinde, D. Olukoya, Vibriocidal activities of some local herbs, *J. Diarrhoeal Dis. Res.* (1995) 127–129.
- [50] K.O. Akinyemi, O. Oladapo, C.E. Okwara, C.C. Ibe, K.A. Fasare, Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus*

- activity, BMC Complement. Altern. Med. 5 (2005b). doi:10.1186/1472-6882-5-6.
- [51] A. Mann, O.S.. Ajiboso, S. Ajeigbe, M. Gbate, S. Isaiah, Evaluation of the wound healing activity of ethanol extract of *Terminalia avicennioides* root bark on two wound models in rats., Int. J. Med. Aromat. Plants. (2011) 95–100.
- [52] F. Yimta, M. Raymond Si, N. Francois, N. Guy Sedar, T. Jean de Di, K. Jules Roge, Antibacterial Activity of Methanol Extracts and Fractions from *Kalanchoe crenata*, *Terminalia avicennioides* and *Sarcocephalus latifolius*, Pharmacologia. 5 (2014) 199–204. doi:10.5567/pharmacologia.2014.199.204.
- [53] B.. Iwalokum, G. Gbenle, T. Adewole, K. Akinsinde, Shigellocidal Properties of Three Nigerian Medicinal Plants: *Ocimum gratissimum*, *Terminalia avicennioides*, and *Momordica balsamina*, J. Health Popul. Nutr. (2001) 331–335.
- [54] N. Bizimana, U. Tietjen, K.-H. Zessin, D. Diallo, C. Djibril, M.F. Melzig, P.-H. Clausen, Evaluation of medicinal plants from Mali for their in vitro and in vivo trypanocidal activity, J. Ethnopharmacol. 103 (2006) 350–356. doi:10.1016/j.jep.2005.08.023.
- [55] 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. doi:10.1007/s00436-013-3530-0.
- [56] M.N. Shuaibu, P.T.A. Wuyep, T. Yanagi, K. Hirayama, A. Ichinose, T. Tanaka, I. Kouno, Trypanocidal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides*, Parasitol. Res. 102 (2008b) 697–703. doi:10.1007/s00436-007-0815-1.
- [57] S.E. Atawodi, D.A. Ameh, S. Ibrahim, J.N. Andrew, H.C. Nzelibé, E.O. Onyike, K.M. Anigo, E.A. Abu, D.B. James, G.C. Njoku, others, Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria, J. Ethnopharmacol. 79 (2002) 279–282.
- [58] M.M. Suleiman, S. Yusuf, E.L. Amaechi, Effect of Crude Methanol Extract of *Terminalia avicennioides* in Normal Gastric/Histamine-Induced HCl Secretions in Rats, J. Herbs Spices Med. Plants. 12 (2008) 29–37. doi:10.1300/J044v12n04_03.
- [59] A.L. Abdullahi, M.O. Agho, S. Amos, K.S. Gamaniel, C. Wambebe, Antidiarrhoeal activity of the aqueous extract of *Terminalia avicennioides* roots, Phytother. Res. 15 (2001) 431–434. doi:10.1002/ptr.860.
- [60] A. Mann, J.O. Amupitan, A.O. Oyewale, J.I. Okogun, K. Ibrahim, Antibacterial activity of terpenoidal fractions from *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides* against community acquired infections, Afr. J. Pharm. Pharmacol. 3 (2009) 022–025.
- [61] O.M. Akanbi, In vivo Study of Antiplasmodial Activity of *Terminalia avicennioides* and Its Effect on Lipid Profile and Oxidative Stress in Mice Infected with *Plasmodium berghei*., (2013). <http://imsear.li.mahidol.ac.th/handle/123456789/162937> (accessed October 5, 2017).

- [62] T. Bulus, S.E. Atawodi, M. Mamman, Acute toxicity effect of the aqueous extract of *Terminalia avicennioides* on white albino rats, *Sci. World J.* 6 (2011) 1–4.
- [63] C. Orwa, A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, S. Anthony, *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*. World Agroforestry Centre, Kenya, 2009.
- [64] A. Clemens, J. Erdelmeier, A. Douglas, R. Norman, farnsworth Program, for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences and Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy, College of Pharmacy University of Illinois at Chicago, Chicago - Clemens A., J. Erdelmeier, A. Douglas Kinghorn* And Norman R, *J. Chromatogr.* (1987) 345–349.
- [65] F. Tomás-Barberán, K. Hostettmann, A Cytotoxic Triterpenoid and Flavonoids from *Crossopteryx febrifuga*, *Planta Med.* 54 (1988) 266–267. doi:10.1055/s-2006-962425.
- [66] P. Foresta, O. Ghirardi, B. Gabetta, A. Cristoni, Triterpene saponins having anti-inflammatory, mucolytic and antiedemic activities, process for the preparation thereof and pharmaceutical compositions containing them, *Eur Pat Appl.* (1988).
- [67] P. Gariboldi, L. Verotta, B. Gabetta, Saponins from *Crossopteryx febrifuga*. *Phytochemistry.* 29 (1990) 2393–2752.
- [68] B. Babady, T. Ngalamulume, A. Kilonda, S. Toppet, F. Compernelle, G. Hoornaert, An ursadienedioic acid glycoside from *Crossopteryx febrifuga*- Babady-Bila; Ngalamulume, Tshiamuene; Kilonda, Amuri; Toppet, Suzanne; Compernelle, Frans; Hoornaert, Georges., 30 (1992) 3069–3072.
- [69] M. Sutovská, S. Fraňová, L. Prísežňáková, G. Nosáľová, A. Togola, D. Diallo, B.S. Paulsen, P. Capek, Antitussive activity of polysaccharides isolated from the Malian medicinal plants, *Int. J. Biol. Macromol.* 44 (2009) 236–239. doi:10.1016/j.ijbiomac.2008.12.013.
- [70] R. Sanogo, G. Crisafi, M. Germano, R. De Pasquale, G. Bisignano, Evaluation of Malian Traditional Medicines: Screening for Antimicrobial Activity, *Phytother. Res.* (1998) 5154–5156.
- [71] L. Tona, R. Cimanga, K. Kambu, J. Totte, L. Pieters, A.. Vlietinck, Phytochemical screening and in vitro antiamoebic activity of extracts from some antidiarrhoeal medicinal plants used in Kinshasa, Democratic Republic of Congo., *Recent Prog. Med. Plants.* (2009) 209–224.
- [72] L. Tona, K. Kambu, N. Ngimbi, K. Mesia, O. Penge, M. Lusakibanza, K. Cimanga, T. De Bruyne, S. Apers, J. Totte, others, Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo, *Phytomedicine.* 7 (2000) 31–38.
- [73] F.B. Magassouba, A. Diallo, M. Kouyaté, F. Mara, O. Mara, O. Bangoura, A. Camara, S. Traoré, A.K. Diallo, M. Zaoro, K. Lamah, S. Diallo, G. Camara, S. Traoré, A. Kéita, M.K. Camara, R. Barry, S. Kéita, K. Oularé, M.S. Barry, M. Donzo, K. Camara, K. Toté, D.V. Berghe, J. Totté, L. Pieters, A.J. Vlietinck, A.M. Baldé, Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine, *J. Ethnopharmacol.* 114 (2007) 44–53. doi:10.1016/j.jep.2007.07.009.

- [74] Halilu M.E, Antimicrobial and Preliminary Phytochemical studies of Methanol Extract of Root Bark of *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae), *J. Appl. Pharm. Sci.* (2012). doi:10.7324/JAPS.2012.21212.
- [75] S. Sanon, E. Ollivier, N. Azas, V. Mahiou, M. Gasquet, C.T. Ouattara, I. Nebie, A.S. Traore, F. Esposito, G. Balansard, P. Timon-David, F. Fumoux, Ethnobotanical survey and in vitro antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso, *J. Ethnopharmacol.* 86 (2003) 143–147.
- [76] O. Jansen, L. Angenot, M. Tits, J.P. Nicolas, P. De Mol, J.-B. Nikiéma, M. Frédérick, Evaluation of 13 selected medicinal plants from Burkina Faso for their antiplasmodial properties, *J. Ethnopharmacol.* 130 (2010) 143–150. doi:10.1016/j.jep.2010.04.032.
- [77] T.. Elufioye, J.. Agbedahunsi, Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice in vivo, *J. Ethnopharmacol.* 93 (2004) 167–171. doi:10.1016/j.jep.2004.01.009.
- [78] A. Maiga, K.E. Malterud, D. Diallo, B.S. Paulsen, Antioxidant and 15-lipoxygenase inhibitory activities of the Malian medicinal plants *Diospyros abyssinica* (Hiern) F. White (Ebenaceae), *Lannea velutina* A. Rich (Anacardiaceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel) Benth. (Rubiaceae), *J. Ethnopharmacol.* 104 (2006) 132–137. doi:10.1016/j.jep.2005.08.063.
- [79] S.O. Adeola, T.A. Yahaya, B. Hafsatu, N.A. Chinwe, E.C. Maryjane, I. Sunday, N.M. Adanna, Gastro-protective effect of *Crossopteryx febrifuga* in Wistar rats, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med. AJTCAM.* 8 (2011) 300–306.
- [80] S.O. Adeola, T.A. Yahaya, B. Hafsatu, N.A. Chinwe, M.C. Ezeonu, S. Igwe, M.A. Ndukuba, Gastro-protective effect of *Crossopteryx febrifuga* in Wistar rats, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 8 (2011). <https://www.ajol.info/index.php/ajtcam/article/view/65293> (accessed October 15, 2017).
- [81] R. Sanogo, A. Keita, R. De Pasquale, Pharmacognosie et pharmacodynamie de plantes utilisées en médecine traditionnelle au Mali, (2002).
- [82] L. Tona, K. Kambu, N. Ngimbi, K. Mesia, O. Penge, M. Lusakibanza, K. Cimanga, T. De Bruyne, S. Apers, J. Totte, others, Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo, *Phytomedicine.* 7 (2000) 31–38.
- [83] W.M. Koné, K.K. Atindehou, T. Dossahoua, B. Betschart, Anthelmintic Activity of Medicinal Plants Used in Northern Côte d’Ivoire Against Intestinal Helminthiasis, *Pharm. Biol.* 43 (2005) 72–78. doi:10.1080/13880200590903408.
- [84] M.S. Traore, M.A. Baldé, M.S.T. Diallo, E.S. Baldé, S. Diané, A. Camara, A. Diallo, A. Balde, A. Keita, S.M. Keita, K. Oularé, F.B. Magassouba, I. Diakité, A. Diallo, L. Pieters, A.M. Baldé, Ethnobotanical survey on medicinal plants used by Guinean traditional healers in the treatment of malaria, *J. Ethnopharmacol.* 150 (2013) 1145–1153. doi:10.1016/j.jep.2013.10.048.
- [85] I.G. Ndukwe, J.O. Amupitan, Y. Isah, K.S. Adegoke, Phytochemical and antimicrobial screening of the crude extracts from the root, stem bark and leaves of *Vitellaria paradoxa* (GAERTN. F), *Afr. J. Biotechnol.* 6 (2007).

- <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/57827/46195> (accessed October 15, 2017).
- [86] A.T. Mbaveng, R. Hamm, V. Kuete, 19-Harmful and protective effects of terpenoids from African medicinal plants, *Toxicol. Surv. Afr. Med. Plants Oxf. Elsevier*. (2014) 557–576.
- [87] M. Garba, A. Kabir, Y. Garba, M. Yusuf, M. Inuwa, B. Lekene, O. Ibrahim, L. Hafsa, Comparative Studies of Therapeutic Effect of Leaves, Stem Bark and Root Bark Extracts of *Afzelia africana* (Smith) in Mice Challenged with *Trypanosoma brucei brucei*, *Br. J. Med. Med. Res.* 13 (2016) 1–14. doi:10.9734/BJMMR/2016/23033.
- [88] M.S. Owolabi, P. Paudel, W.N. Setzer, L. Lajide, Volatile Components from the Stem Bark of *Vitellaria paradoxa*, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* 15 (2012) 531–533.
- [89] S. Aboaba, A. Akande, G. Flamini, Chemical Composition and Toxicity of Essential Oil of *Vitellaria paradoxa* (C.F. Gaertn.) from Nigeria, *J. Essent. Oil Bear. Plants.* 17 (2014) 126–130. doi:10.1080/0972060X.2014.884757.
- [90] A. Nikiema, D. Pasternak, D. Fatondji, D. Senbeto, J. Ndjeunga, L. Woltering, S. Abdoussalam, Fruit trees for the Sudano-Sahel region of West Africa, *Chron. Hortic.* 48 (2008) 24–29.
- [91] C. Obafemi, S. Okeniyi, T. Ogunbinu, T. Olomala, J. Bangbose, Chromatographic analysis and antifungal activities of essential oil constituents obtained from *Vitellaria paradoxa*, *Res. J. Appl. Sci.* 1 (n.d.) 132–135.
- [92] A.M. El-Mahmood, J.H. Doughari, N. Ladan, Antimicrobial screening of stem bark extracts of *Vitellaria paradoxa* against some enteric pathogenic microorganisms, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2 (2008) 089–094.
- [93] A.T. Mbaveng, V. Kuete, B.M. Mapunya, V.P. Beng, A.E. Nkengfack, J.J.M. Meyer, N. Lall, Evaluation of four Cameroonian medicinal plants for anticancer, antigonorrhoeal and antireverse transcriptase activities, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 32 (2011) 162–167.
- [94] P.O. Ajah, F.N. Madubuike, The proximate composition of some tropical legume seeds grown in two states in Nigeria, *Food Chem.* 59 (1997) 361–365.
- [95] O. Njoku, U. Obioma, E. Frank, Investigation on some nutritional and toxicological properties of *Afzelia africana* and *Detarium microcarpum* seed oil, 138 (1999) 165–168.
- [96] Y. Ren, D.R. Picout, P.R. Ellis, S.B. Ross-Murphy, J.S.G. Reid, A novel xyloglucan from seeds of *Afzelia africana* Se. Pers. extraction, characterization, and conformational properties, *Carbohydr. Res.* 340 (2005) 997–1005. doi:10.1016/j.carres.2005.01.012.
- [97] Y. Ren, D.R. Picout, P.R. Ellis, S.B. Ross-Murphy, Solution Properties of the Xyloglucan Polymer from *Afzelia africana*, *Biomacromolecules.* 5 (2004) 2384–2391. doi:10.1021/bm049678n.
- [98] O.U. Igwe, C. Friday, Volatile constituents of hydrocolloids isolated from *Afzelia africana* and *Detarium microcarpum* seeds, *Chem. Int.* 3 (2017) 286–291.

- [99] A.E. Alyaa, A.A. Mona, A. Bakree, Phytochemical screening, antimicrobial and cytotoxicity of different extracts of *Afzelia africana* bark, *IJPSR*. 3 (2015) 49–58.
- [100] O. Olajide, O. Fadimu, P. Osaguona, M. Saliman, Ethnobotanical and phytochemical studies of some selected species of leguminosae of northern Nigeria; A study of Borgu local government area, Niger state. Nigeria, *Int. J. Sci. Nat.* 4 (2013) p546.
- [101] O. Aiyegoro, A. Adewusi, S. Oyedemi, D. Akinpelu, A. Okoh, Interactions of Antibiotics and Methanolic Crude Extracts of *Afzelia Africana* (Smith.) Against Drug Resistance Bacterial Isolates, *Int. J. Mol. Sci.* 12 (2011) 4477–4487. doi:10.3390/ijms12074477.
- [102] S. Oyedemi, E. Adewusi, D. Akinpelu, Antidiabetic and haematological effect of aqueous extract of stem bark of *Afzelia africana* (Smith) on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 1 (2011) 353–358. doi:10.1016/S2221-1691(11)60079-8.
- [103] R.I. Odo, I.U. Asuzu, P.E. Aba, The Antidiabetic Activities of the Methanolic Root Bark Extract of *Afzelia africana* in Alloxan-Induced Diabetic Mice, *J. Complement. Integr. Med.* 9 (2012). doi:10.1515/1553-3840.1649.
- [104] M.C. Nwosu, U.M. Odenigbo, U.C. Odenigbo, The hypolipidemic effects of *Afzelia africana* in type II diabetic patients in Nigeria, *West Afr. J. Med.* 25 (2006) 105–109.
- [105] P.O. Ajah, F.N. Madubuike, The proximate composition of some tropical legume seeds grown in two states in Nigeria, *Food Chem.* 59 (1997) 361–365.
- [106] L.M. Nwokocha, P.A. Williams, Evaluating the potential of Nigerian plants as a source of industrial hydrocolloids, *Gums Stab. Food Ind.* 16 (2012) 27–44.
- [107] E.C. Ibezim, M. Khanna, S. Singh, C.E. Uzuegbunam, *Afzelia africana* seed gum: potential binder for tablet formulations, *J. Phytomedicine Ther.* 11 (2006).
- [108] O. Okorie, C.N.E. Ibezim, N. Nwachukwu, Evaluation of Suspending Properties of a Natural Hydrocolloid Gum from *Afzelia africana*, *J. Pharm. Res.* 10 (2011) 112–115.
- [109] E. Martins, I. Omoyeme, I. Christiana, S. Ofoefule, K. Olobayo, Isolation, characterization and compaction properties of *Afzelia africana* gum exudates in hydrochlorothiazide tablet formulations, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 3 (2009) 265–272.
- [110] J.A. Bohnert, B. Karamian, H. Nikaido, Optimized Nile Red efflux assay of AcrAB-TolC multidrug efflux system shows competition between substrates, *Antimicrob. Agents Chemother.* 54 (2010) 3770–3775.
- [111] B. Ahmed, T. Howirinity, J. Moussa, K. Tahir, Isolation, antihypertensive activity and structure activity relationship of flavonoids from three medicinal plants., *Indian J. Chem.* 44B (2005) 400–404.
- [112] L. Yeap Foo, J.J. Karchesy, Polyphenolic glycosides from Douglas fir inner bark, *Phytochemistry.* 28 (1989) 1237–1240. doi:10.1016/0031-9422(89)80217-1.

- [113] Y. Fukuyama, M. Nakahara, M. Hiroyuki, K. Mitsuaki, Two new benzofuran-type lignans from the wood of *Viburnum awabuki*., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 44 (1996) 1418–1420.
- [114] O.A. Binutu, G.A. Cordell, Constituents of *Afzelia bella* stem bark, Phytochemistry. 56 (2001) 827–830. doi:10.1016/S0031-9422(01)00006-1.
- [115] D. Lee, K.P. Bhat, H.H. Fong, J. Farnsworth, J. Pezzuto, A. Kinghorn, Aromatase Inhibitors from *Broussonetia papyrifera*., J Nat Prod. 64 (2001) 1286–1293.
- [116] G. Dad, A. Corbani, P. Manitto, G. Speranza, L. Lunazzi, Lignan Glycosides from the Heartwood of European Oak *Quercus petraea*, J. Nat. Prod. 52 (1989) 1327–1330. doi:10.1021/np50066a025.
- [117] L. Kerhoas, D. Aouak, A. Cingöz, J.-M. Routaboul, L. Lepiniec, J. Einhorn, N. Birlirakis, Structural Characterization of the Major Flavonoid Glycosides from *Arabidopsis thaliana* Seeds, J. Agric. Food Chem. 54 (2006) 6603–6612. doi:10.1021/jf061043n.
- [118] J. Bai, Z.-F. Fang, H. Chen, S.-S. Yu, D. Zhang, H.-L. Wei, S.-G. Ma, Y. Li, J. Qu, S. Xu, J.-H. Ren, F. Zhao, N. Zhao, J.-H. Liu, Antioxidant phenolic glycosides from the roots of *Illicium dunnianum*, Carbohydr. Res. 361 (2012) 206–211. doi:10.1016/j.carres.2012.08.017.
- [119] K. Yoshinari, Y. Sashida, H. Shimomura, Two new lignan xylosides from the barks of *Prunus ssiori* and *Prunus padus*., Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 37 (1989) 3301–3303. doi:10.1248/cpb.37.3301.
- [120] D.-Y. Lee, S. Shrestha, W.D. Seo, M.-H. Lee, T.-S. Jeong, J.H. Cho, Y.C. Song, H.W. Kang, Y.-D. Rho, N.-I. Baek, Structural and Quantitative Analysis of Antioxidant and Low-Density Lipoprotein-Antioxidant Flavonoids from the Grains of Sugary Rice, J. Med. Food. 15 (2012) 399–405. doi:10.1089/jmf.2011.1905.
- [121] Y. Lu, L. Yeap Foo, The polyphenol constituents of grape pomace, Food Chem. 65 (1999) 1–8. doi:10.1016/S0308-8146(98)00245-3.
- [122] Y. Park, B.-H. Moon, E. Lee, Y. Lee, Y. Yoon, J.-H. Ahn, Y. Lim, ¹H and ¹³C-NMR data of hydroxyflavone derivatives, Magn. Reson. Chem. 45 (2007) 674–679. doi:10.1002/mrc.2010.
- [123] Pharmacopée européenne 9e Edition | EDQM - Direction européenne de la qualité du médicament, (n.d.). <https://www.edqm.eu/fr/Pharmacopee-europeenne-9e-Edition> (accessed October 18, 2017).
- [124] P. Wehrlé, Pharmacie galénique : Formes appliquées sur la peau, Maloine, Wehrlé pascal, Paris, 2012.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Cycle du paludisme

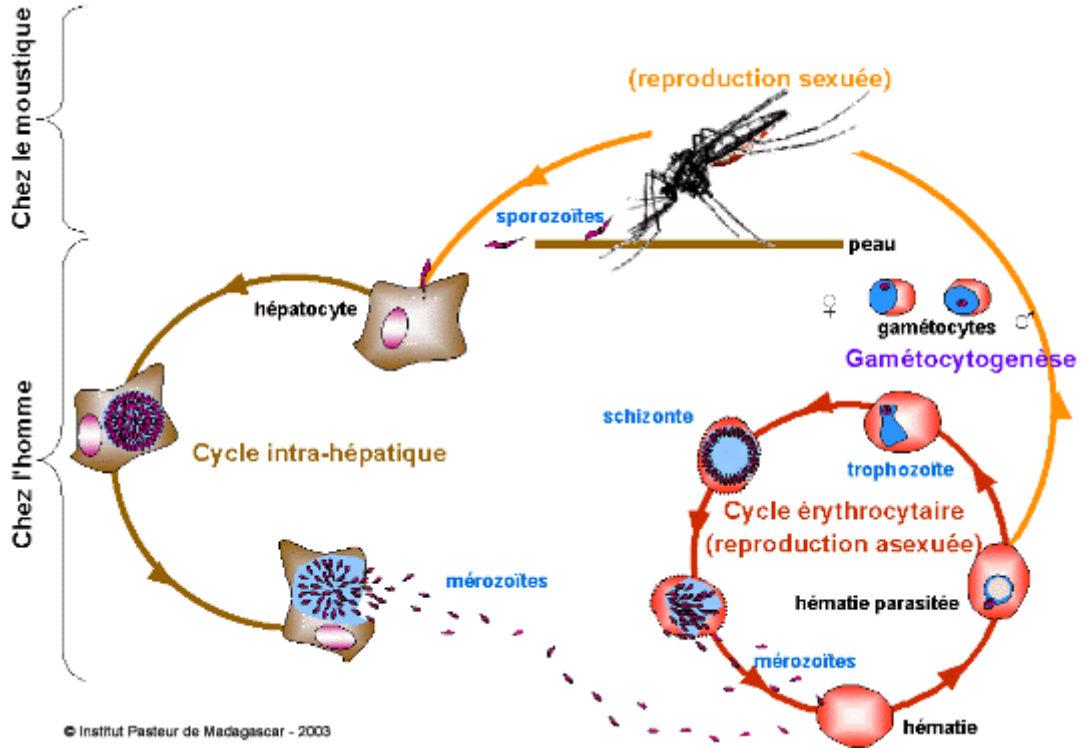


Figure 88 : Cycle du paludisme

ANNEXE 2 : Fiche d'enquête ethnobotanique

N° : _____

- 1- Date :-----
- 2- Nom du guérisseur-----
- 3- Localité du guérisseur et situation précise-----
- 4- Nom Vernaculaire de la plante:-----
- 5- Nom scientifique et famille de la plante:-----
- 6- Lieu précis de récolte:-----
- 7- Nom du district:-----
- 8- Nom du groupement-----
- 9- Description botanique-----
- 10-Nom de la maladie et symptômes:-----
- 11-Indications thérapeutiques:-----
- 12-Partie de la plante utilisée (racines, écorces, feuilles, plante entière) -----
- 13-Conditions de récolte (manière, l'heure, saison):-----
- 14-Répartition et géographique de la plante:-----
- 15-Renseignements écologiques (l'espèce est – elle abondante dans son habitat ?)

- 16- Qui fait la récolte ?-----
- 17-La plante est t'elle cultivée ou naturelle ?-----
- 18-La plante est –elle conservée avant utilisation ?-----
- 19-Si oui comment est-elle conservée ?-----
- 20-La plante a-t-elle déjà fait l'objet d'une étude ? Oui Non
- 21-Si oui Constituants Chimiques trouvés ?-----
- 22-Si oui propriétés pharmacologiques trouvées : -----
- 23-La plante est –elle toxique ?-----
- 24-Préparation du médicament tel que l'indique le guérisseur:-----
- 25-La préparation est-elle associée à certaines matières ? :-----
- 26-Pendant combien de temps le médicament est-il conservé ?-----
- 27-Voie d'administration du médicament:-----

- 28-Posologie (quantité exacte):-----
- 29-Durée du traitement:-----
- 30-Ajoute t-il (ou elle) certains Médicaments pendant le traitement ? -----
- 31-Ajoute t-il (ou elle) les rites pendant le traitement ?-----
- 32-Contres indications:-----
- 33-Effets indésirables:-----
- 34-Signes de guéris---:-----
- 35-Action pharmacologique attendue de la plante:-----
- 36-L'espèce est-elle en voie de disparition?:-----
- 37-Si oui proposition de conservation:-----

ANNEXE 3 : Quelques plantes médicinales



Ecorce d'*Afzelia africana*

Photo prise par Foutse à Bangangté



Fruit d' *A africana*

Photo prise au Museum de Paris



Réculte des racines de *carica papaya* L

Photo prise par Foutse dans le Noun

RESUME

Des enquêtes ethnobotaniques généralistes réalisées de 2009 à 2014, dans quatre départements de la région de l'ouest Cameroun, ont permis de recenser les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Une méthode a permis de faire la collecte des données : L'évolution sur le terrain.

En définitive, 561 plantes ont été recensées dans 37 villages auprès de 55 tradipraticiens.

Parmi les plantes recensées, quatre ont été sélectionnées : *Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* et *Afzelia africana* en raison de leur utilisation, sous forme de décoction, comme antiparasitaire, antibactérien et anti-inflammatoire.

L'évaluation de plusieurs activités pharmacologiques a été effectuée dans une démarche de fractionnement bioguidé. La préparation des extraits a été réalisée à partir des écorces du tronc des plantes sélectionnées en présence de solvants de polarité croissante (dichlorométhane, méthanol et méthanol/eau).

Aucune activité antipaludique n'a été mise en évidence sur la souche K1 aux concentrations testées (10mg/ml) quelle que soit la plante.

Aucune activité antibactérienne n'a été observée sur les souches résistantes d'*Enterobacter aerogenes*, aux concentrations testées (625 µg/ml). Cependant, nous avons observé une potentialisation avec les antibiotiques (chloramphenicol) pour l'extrait hydrométhanolique d' *A. africana*, hydrométhanolique et méthanolique de *T. avicennioides* et dichlorométhane de *V. paradoxa*.

Une activité anti-inflammatoire *in vitro* a été observée pour les extraits hydrométhanoliques et les décoctions de *C. febrifuga*, *T. avicennioides* et *V. paradoxa* avec une inhibition de la production de NO de plus de 60 % à 10µg/ml. Tous les extraits d'*A. africana*, ont montré une inhibition significative de la production de NO > 80% mettant en évidence une activité anti-inflammatoire élevée.

A partir de ces résultats et compte tenu du manque de données phytochimiques, *Afzelia africana* a été retenue pour la suite de notre travail.

A partir de l'extrait méthanol d'*A. africana*, 13 composés ont été isolés et identifiés :

- quatre lignanes : lyoniside, nudiposide ssioriside et alcool *trans* dihydrodéhydroconiférylique
- neuf flavonoïdes et dérivés : le dihydrokaempférol, le kaempférol-néohespéridoside-7-O-rhamnoside, le 2R,3R-trans-aromadendrine-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-méthylènebutanoate), la taxifoline-7-O-β-D-glucoside, la sinensine, l'isosinensine, la lutéoline, la catéchine et le dunnianoside D, glucoside phénolique.

Tous ces composés sont isolés pour la première fois dans l'écorce du tronc d'*Azelia africana*.

Du fait de l'activité anti-inflammatoire élevée de la décoction (forme utilisée en médecine traditionnelle), un fractionnement bioguidé a été envisagé. Toutes les fractions obtenues ont montré une inhibition de la production de NO. L'étude phytochimique de la fraction la plus active avec une CI₅₀ de 0,11 µg/ml est en cours.

Au vue de ces résultats prometteurs, une valorisation de la décoction a été envisagée avec le développement d'un gel à visée anti-inflammatoire pour application par voie locale.

Mots clés : Médecine traditionnelle au Cameroun, *Azelia africana*, lignanes, flavonoïdes, activité anti-inflammatoire.

ABSTRACT

Ethnobotanical surveys were carried out from 2009 to 2014, in four divisions located in the western region of Cameroon. The surveys allowed the identification of plants used in traditional medicine. One method was used to collect the data. The evolution on the ground. Finally 561 plants were collected in 37 villages from 55 traditional healers.

Among the plants listed, four were selected: *Terminalia avicennioides*, *Crossopterix febrifuga*, *Vitellaria paradoxa* and *Afzelia africana* because of their use, in the form of decoction, as antiparasitic, antibacterial and anti-inflammatory.

The evaluation of several pharmacological activities was carried out in a bioguided fractionation approach. The extracts were prepared from the stem bark of selected plants in the presence of solvents of increasing polarity (dichloromethane, methanol and methanol / water).

No antimalarial activity was demonstrated on the K1 strain at the tested concentrations (10mg/ml) for all extracts.

No antibacterial activity was observed on the resistant strains of *Enterobacter aerogenes* at the concentrations tested (625µg/ml). On the other hand, we observed a potentiation with antibiotics (chloramphenicol) for the hydromethanolic extract of *A. africana*, hydromethanolic and methanolic of *T. avicennioides* and dichloromethane of *V. paradoxa*

Anti-inflammatory activity was observed for hydromethanolic extracts and decoctions of *C. febrifuga*, *T. avicennioides* and *V. paradoxa* with inhibition of NO production more than 60% at 10 µg/ml. All extracts of *A. africana* showed significant inhibition of NO production > 80%, indicating a high anti-inflammatory activity.

On the basis of these results and given the fact that few studies had been carried out, *Afzelia africana* was chosen for the further work. From the methanol extract of *A. africana*, 13 compounds have been isolated and identified:

- Four lignans: lyoniside, nudiposide, ssiorisid and : *trans* -dihydrodehydroconiferyl alcohol.
- Nine flavonoids and derivatives: dihydrokaempferol, kaempferol-neohesperidoside-7-O rhamnoside, 2R,3R-trans-aromadendrin-7-O-β-D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''-méthylènebutanoate), taxifolin-7-O-β-D-glucoside, sinensine, isosinensine, luteolin, catechin and dunnianoside D.

All these compounds are isolated for the first time in the stem bark of *Azelia africana*. Due to the high anti-inflammatory activity of the decoction (a form used in traditional medicine), bioguided fractionation was conducted. All fractions obtained showed an inhibition of the NO production, including a very active fraction with an IC₅₀ of 0.11 µg/ml whose study is in progress.

In view of these promising results, an initial development of the decoction was considered with the development of an anti-inflammatory gel for local application.

Keywords: Traditional medicine in Cameroon, *Azelia africana*, lignans, flavonoids, anti-inflammatory activity.

ENQUETE ETHNOBOTANIQUE DANS LE DEPARTEMENT DU NDE (CAMEROUN)

**YIMTA FOUTSE¹, T. MBENKUM¹, F. NGUIMATSIA¹,
A. PENGE²**

1 Faculté de Pharmacie, Université des Montagnes, Bangangté, Cameroun

2 Faculté des Sciences, Département de Chimie Médicinale,
Laboratoire de Pharmacognosie, Université de Kinshasa

RESUME

Ce travail a porté sur l'enquête ethnobotanique de la flore médicinale du Ndé, elle a pour objectif le recensement des plantes médicinales du département auprès des tradipraticiens afin de reconstituer sa flore médicinale.

L'enquête a eu lieu dans sept villages du département situé dans la province de l'ouest-Cameroun. Au terme de cette dernière, 167 plantes ont été recensées et identifiées puis regroupées en groupe thérapeutiques.

ABSTRACT

This work focused on the investigation ethnobotany of medicinal flora of Ndé, it seeks the identification of medicinal plants of department from the tradipraticiens to replenish its medicinal flora. The investigation took place in seven villages of the department located in the province of western Cameroon.

At the end of the latter, 167 plants have identified and then grouped into therapy groups.

Mots clés: *Enquête ethnobotanique, Collecte, Identification, Plantes médicinales, Ndé.*

INTRODUCTION

Les plantes médicinales utilisées dans le traitement de diverses maladies sont connues depuis la haute antiquité.

Avec la baisse drastique du pouvoir d'achat et le coût élevé des soins de santé, les populations des pays en voie de développement en général et du Cameroun en particulier se tournent de plus en plus vers la médecine traditionnelle qui donne quelques résultats satisfaisants.

A cet effet l'étude des plantes médicinales de notre pharmacopée présente un grand intérêt pour la fabrication des Médicaments traditionnels Améliorés (MTA) qui ont l'avantage d'être moins toxiques et peu onéreux.

Méthodologie de l'enquête :

- Contact avec tradipraticiens sur le terrain afin d'obtenir les informations sur les plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le Ndé.
- Confrontation des données ethnobotaniques du terrain avec les données bibliographiques.

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Pathologies du système nerveux	Polyscias fulva J.R et G Forst	Apiacées / Aralioidées	Ecorces
	Grewia venusta Fresen	Malvacées / Tilioidées	Feuilles
	Chromolaena odorata (L) R. King & H. Robinson	Astéracées	Feuilles
	Chlorophytum macropylallum Aschens	Anthéricacées	Feuilles
Convulsion	Ipomoea pyrophylla lim	Convolvulacées	Feuilles
	Brucea antidyenterica Mill	Simaroubacées + Astéracées (Enf)	Feuilles -/-
	Spilanthes filifolius (Schum. Et Thonn) Adams	Astéracées	Feuilles
	Chromolaena odorata (L) R. King & H. Robinson	Astéracées	Feuilles
Insomnie sévère	Cinnamomum verum J. Presl	Lauracées	Feuilles
Hallucinogène	Mangifera indica L	Anacardiacées	Feuilles
	Mucuna pruriens (L.) DC	Fabacées / Faboïdées	Racines
Epilepsie	Rumex abyssinica Jacq	Polygonacées	Rhizomes
	Bridelia ferruginea (Hochst) Bailon	Euphorbiacées	Racines
	Cussonia nigerica Hocht. Ex A. Rich	Apiacées / Aralioidées	Feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Pathologie Cardiovasculaires	Vernonia amygdalina Del	* Astéracées	Jeunes Feuilles
	Globimetula sp	Loranthacées	Feuilles sèches
	Afzella africana Smith ex Pers	Fabacées / caesalpinoidées	Ecorce
	Clausena anisata (Willd.) Hook.f.ex Benth	Rutacées + Loranthacées	Feuilles -/-
Hypertension artérielle	Globimetula sp	Loranthacées	Feuilles
	Globimetula sp	Loranthacées +	Feuilles
	Annona muricata L	Annonacées	Noyaux
	Persea americana Mill	Lauracées	Noyaux
	Allium sativum L	+ Liliacées	Bulbes
	Zingiber officinale Rose	+ Zingibéracées	Rhizomes
	Cymbopogon citratus (DC.) Stapf	+ Poacées	Feuilles
	Citrus aurantium L.	+ Rutacées	Fruits
Hypotension	Hymenocardia acida Tul.	Hymenocar-diacées	feuilles
	Oxalis corniculata L	Oxalidées	Plantes entières
Palpitation	Crassocephalum bialrae S.Moore	Astéracées	Plantes entières
	Piper umbrellatum Linn	Pipéracées	Feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Maladies métaboliques	Annona muricata L.	Annonacées	Feuilles
	Bidens pilosa Linn.	Astéracées	Feuilles
	Clausena anisata (willd.) hook.f.ex Benth	Rutacées	feuilles
	Persea americana Mill	Lauracées	Noyaux
	Allium sativum L	Liliacées	Bulbes
	Zingiber officinale Rosc	Zingibéracées	Rhizomes
	Cymbopogon citratus (DC) Stapf	Poacées	Feuilles
	Citrus aurantium L.	Rutacées	Fruits
	Vigna unguiculata (Linn)	Fabacées / Faboïdées	Pulpe de Haricot, fleurs
	Zea mays L. Tristemma mauritanum J.F. gmel	Poacées Mélastomatacées	Feuilles
Goutte	Mangifera indica L	Anacardiées	Ecorces
	Grewia venusta Fresen	Malvacées / Tilioidées	Ecorces

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de plante utili:
Pathologies digestives	Ageratum conyzoides L.	Asteracées	Ecorces
	Alchornea cordifolia Muell.Arg	Euphorbiacées	Feuilles
	Combretum paniculatum vent.	Combretacées	Feuilles
	Drymaria cordata Linn	Caryophyllacées	Tiges rampantes et feuilles
	Conyza sumatrensis (Retz) E. Walker	Astéracées	Feuilles
	Jatropha curcas L	Euphorbiacées	Graines
	Hibiscus rosa sinensis Linn	Malvacées/ Malvoïdées	Feuilles
	Nephrolepis biserrata (SW) Schott	Nephrolepidacées	Feuilles
	Oxalis corniculata L	Oxalidées	Plantes entières
	Solanum aculeastrum (CH) wright Biller	Solanacées	Fruits
Parasites intestinaux	Spermaceomonticola Mildbr	Rubiacées	feuilles
	Annona senegalensis Pers.Subsp.oulotrich a le Thomas	Annonacées	Racines
	Chenopodium ambrosioides L	Chénopodiacées	Jeunes Feuilles
	Carica papaya L	Brassicacées /	Graines
	Mangifera indica L	caricoïdées + Anacardiées	Racines feuilles
	Tithonia diversifolia (Hems!)	Astéracées	Racines

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Téniase	Allium sativum L.	Liliacées	Bulbes
	Alchornea cordifolia Muél. Arg.	Euphorbiacées	Feuilles Fraises
Dysentéries amibiennes	Euphorbia hirta Linn.	Euphorbiacées	Plante entière
	Euphorbia prostata Ait.	Euphorbiacées	Plante entière
	Euphorbia hirta Linn.	Euphorbiacées	Feuilles
	Conyza sumatrensis (Retz) E. Walker	Astéracées	Feuilles
	Ficus exasperata Vahl	Moracées	Feuilles
	Harungana madagascariensis Lam ex. Poir.	Hypéricacées	Feuilles
	Hibiscus asper hook. f.	Malvacées/ Malvoïdées	Plante entière
	Hibiscus asper hook. f.	Malvacées/ Malvoïdées	Feuilles et tiges
	Emilia coccinea (Sims) G. Don	Astéracées	
	Maytenis (Lam.) Exell	Celastracées	Racines
Pathologies digestives	Melinis minutiflora Beauv.	Poacées	Plante entière
	Paulinia pinnata L.	Sapindacées	Jeunes feuilles
Douleur de l'estomac (ulcère gastrique)	Paulinia pinnata L.	Sapindacées	Feuilles
	Psidium guajava L.	Myrtacées	Graines
	Aframomum melegueta Ridl.	Zingibéracées	
	Pennisetum purpureum Schumacher	Poacées	Feuilles
	Phyllanthus muellerianus (O.Ktze) Exell	Euphorbiacées	Feuilles
	Piper umbellatum Linn.	Pipéracées	Feuilles
	Psidium guajava L.	Myrtacées	Jeunes feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Diarrhées Chroniques	Annona senegalensis Pers. Subsp. outricha le Thomas	Annonacées	Ecorces
	Bridelia ferruginea Benth.	Euphorbiacées	Ecorces
	Desmodium hirtum GOP.	Fabacées / Faboidées	Racines
	Psidium guajava L.	Myrtacées	Feuilles
	Raphia mebulensis ou Raphia farinifera Gaerth.	Arecacées	Jeune pousse
	Hibiscus rosa sinensis Linn.	Malvacées/ Malvoïdées	Feuilles
	Terminalia avicenioides Guill. Et Perr.	Combretacées	Racines
	Tristemma camerunense Juss.	Mélastomatacées	Feuilles
	Ficus exasperata Vahl	Moracées	Feuilles
	Harungana madagascariensis Lam ex. Poir.	Hypéricacées	Ecorces
Hémorroïdes	Kalanchoe crinata (Andr) Haw	Crasaulacées / Scolopériacées	Feuilles
	Mangifera indica L.	Anacardiacées	Ecorces
	Nicotiana tabacum Linn.	Solanacées	Feuilles
	Adansonia digitata L.	Malvacées/ Bombacoidées	Ecorces
	Oxalis corymbosa D.C.	Oxalidées	Plante entière
	Terminalia avicenioides Guill. et Perr.	Combretacées	Racines
	Annona senegalensis Pers. Subsp. outricha le Thomas	Annonacées	Ecorces
	Alzelta africana smith ex pers.	Fabacées/ Faboidées	Ecorces
	Grewia venusta Fresen.	Malvacées / Tilioidées	Ecorces
	Ricinus communis L.	Euphorbiacées	Graines

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée	
Trouble abdominal	<i>Azella africana</i> smith ex pers	Fabacées/ Caesalpinioïdées	Ecorces	
	<i>Hymenocardia acida</i> Tul	Hyménocardiaceées	Bois	
	<i>Murdania simplex</i> (Vahl)	Commélinacées	Feuilles	
	<i>Ocimum gratissimum</i> Linn	Lamiacées	Feuilles	
	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (O.Ktze) Excell	Euphorbiacées	Racines	
	<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiacées	Graines	
	<i>Sarcocephalus latipholius</i> (Smith) Bruce	Rubiacées	Fruits	
	<i>Triumfetta cordifolia</i> A. Rich	Malvacées / Tilioidées	Feuilles	
	Cholagogue (insuffisance hépatique)	<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G.Don	Astéracées	Feuilles
		<i>Ptilostigma reticulatum</i> (DC) Hochst	Fabacées/ Caesalpinioïdées	Fruits
Ascite	<i>Ptilostigma reticulatum</i> (DC) Hochst	Fabacées / Caesalpinioïdées	Racines	
	<i>Vitellaria paradoxa</i> Gaerthn. f	Sapotacées	Racines	
Hépatite virale	<i>Lophira lanceolata</i> Van Tiegh. ex Keay	Ochnacées	Ecorces	
	<i>Asystasia gangetica</i> T Anders	Acanthacées	Feuilles et tiges	
Rate	<i>Crinum glaucum</i> A. Chev	Amaryllidacées	Feuilles	
	<i>Euphorbia hirta</i> Linn	Euphorbiacées	Plante entière	

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée	
Pathologies gynéco-obstétricales	<i>Aspilia africana</i> (C.D) Adams	Astéracées	Feuilles	
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées	Feuilles	
	<i>Azella africana</i> Smith ex pers	Fabacées/Caesalpinioïdées	Ecorces	
	<i>Crassocephalum bialfrae</i> S.Moore	Astéracées	Plante entière	
	Accouchement	<i>Crassocephalum bougheyannum</i> Moench	Astéracées +	Feuilles
		<i>Paullinia pinnata</i> L. Commelina bengalensis L.	Sapindacées Commélinacées	Feuilles
	Règles pathologiques	<i>Chromolaena odorata</i> (L) R. King & H. Robinson	Astéracées	Bz
		<i>Grewia venusta</i> Fresen	Malvacées / Tilioidées	Racines
		<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées +	Feuilles
		<i>Hibiscus asper</i> hook.f +	Malvacées / Malvoïdées +	Feuilles
<i>Brillantaisia lanium</i> (Nees) Benth		Acanthacées	Feuilles	
<i>Sida rhombifolia</i> Linn		Malvacées/Malvoïdées	Feuilles	
<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don		Astéracées	Feuilles	
<i>Eriocoelum Kerstingii</i> Gilg ex Engl		Sapindacées	Ecorces	
<i>Harungana madagascariensis</i> Lam ex Poir		Hypéricacées	Racines	
<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw		Crassulacées	Feuilles	

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Grossesse	Hibiscus asper Hook.f	Malvacées/Malvoïdées	Feuilles
	Impatiens burtonii Hook.f	Balsaminacées	Plantes entières
	Murdania simplex (vahl) Brenan	Commelinacées	Feuilles
	Sida rhombifolia Linn	Malvacées/Malvoïdées	Feuilles
	Tristemma hirtum P. Beauv	Mélastomatacées	Feuilles
	Triumfetta cordifolia A. Rich	Malvacées/Tilioidées	Feuilles
	Anthocleista liebrechtsiana De Wild	Loganiacées	Ecorces
	Anthocleista schweinfurthii Gilg	Loganiacées	Ecorces
	Anthocleista liebrechtsiana de Wild + Maesopsis eminii Engl	Loganiacées + Rhamnacées	Ecorces
	Bridelia micrantha (Hochst) Baillon	Euphobiacées	Veilles écorces
stérilité féminine	Erticoelum kerstingii (Gilg ex Engl)	Sapindacées	Ecorces
	Gouania longipetala Hemsl	Rhamnacées	Racines
	Impatiens niamniemensis Gilg	Basalmiacées	Feuilles
	Sansevieria longiflora ferandopensis Thunb + Dracaena arborea vand. ex L.	Liliacées + Dracaenacées	Feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Stérilité féminine	Solanum aculeastrum (CH) Wright Blier	Solanacées	Fruit
	Melothria punctata (thimb) Coga + Ipomoea heterotricha F. Didr	Curcubitacées + convolvulacées	Feuilles tiges
	Urea gravenenthi Egl + Ipomoea pyrophila Linn	Urticacées + concolulacées	Feuilles tiges
	Trilemma hirtum P. Beauv	Mélastomatacées.	Feuilles
	Musa sp + Eremomastax speciosa (Hochst) + Crassocephalum bifrag S. Moore + Piper umbrellatum Linn	Musacées + Acanthacées + Astéracées + Pipéracées	Fruits Feuilles Feuilles Feuilles
	Tragia benthami Bak	Euphobiacées	Feuilles
	Cymbopogon citratus (DC) Stapf	Poacées	Plante entière Feuilles
	Maytenus senegalensis (Lam.) Exell	Celastracées	Ecorces et feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
athologie génito urinaires	<i>Azelaia africana</i> Smith ex pers	Fabacées/Caesalpinoïdées	Ecorces
	<i>Desmodium velutinum</i> (Willd.) DC	Fabacées/Faboïdées	Racines
	<i>Euphorbia heterophylla</i> Linn +	Euphorbiacées + Fabacées/Faboïdées	Plante entière, Graines
	<i>Arachis hypogaea</i> L.	Fabacées	Ecorces
	<i>Ficus exasperata</i> Vahl.	Moracées	Ecorces
	<i>Gouania longipetala</i> Hemsl.	Rhamnacées	Racines
	<i>Hymenocardia acida</i> Tul	Hyménocardiacées	Feuilles
	<i>Maytenus senegalensis</i> (Lam.) Exell	Celastracées	Racines
	<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC	Fabacées/Faboïdées	Fruits
	<i>Anthochlisis</i> <i>hebrechtiana</i> De Wild +	Leguminales	Ecorces
Stérilité masculine	<i>Massopsis emini</i> Engl	Rhamnacées	Feuilles
	<i>Sansevieria longiflora</i>	Liliacées	
	<i>Férandopensis</i> Thunb +	Dracaenacées	
	<i>Dracaena arborea</i> vand ex L.		
	<i>Urea graveolens</i> Engl +	Urticacées	Feuilles et tiges
	<i>Ipomoea pyrophila</i> Linn	Convolvulacées	
<i>Hibiscus asper</i> Hook.f +	Malvacées/Malvoïdées	Feuilles et tiges	
<i>Costus afer</i> Ker Gawl	Costacées		

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Prostatite	<i>Musa</i> sp +	Musacées +	Fruits
	<i>Eremomastax speciosa</i> (Hochst) +	Acanthacées +	Feuilles
	<i>Crassocephalum bialfrae</i> S.Moore +	Astéracées +	Feuilles
	<i>Piper umbrellatum</i> L.	Pipéracées	Feuilles
Néphrite	<i>Bidens pilosa</i> Linn	Astéracées	Feuilles
	<i>Eriocaulum kersingii</i> Gig ex Engl	Sapindacées	Feuilles
	<i>Guarea</i> sp	Méliacées	Ecorces
	<i>Solanum aculeastrum</i> (CH) Wright Biller	Solanacées	Fruits
Diurétiques	<i>Paulinia pinnata</i> L	Sapindacées	Feuilles
	<i>Trena orientalis</i> (Linn) Blume	Ulmacées	Feuilles
Pathologie cutanées	<i>Alesea vera</i> L.	Alcécées	Feuilles
	<i>Cyathula prostrata</i> L.	Amaranthacées	Feuilles
Mycose	<i>Jatropha curoca</i> L.	Euphorbiacées	Feuilles, séves, Ecorces
	<i>Solanum nigrum</i> L.	Solanacées	Feuilles, fruits
	<i>Euphorbia hirta</i> Linn	Euphorbiacées	Plante entière
	<i>Eremomastax speciosa</i> (Hochst)	Acanthacées	Feuilles
	<i>Bridelia ferruginea</i> Benth	Euphorbiacées	Ecorces
	<i>Annona senegalensis</i> Pers. Subsp. <i>oulotricha</i> le Thomas	Annonacées	Feuilles
	<i>Paullinia pinnata</i> L.	Sapindacées	Feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Lésure cutanée	Emilia coccinea (Sims) G. Don	Asteracées	Feuilles
	Curcubitifera maxima Duch. + Dacryodes edulis Vahl	Curcubitacées + Burseracées	Feuilles
Teigne	Tithonia diversifolia (Hemsl)	Asteracées	Feuilles
Furoncle	Spilanthes filicaulis (Schum. Et Thonn) Adams + Myalenus senegalensis (Lam.) Excell	Asteracées	Plante entière
Filarioses	Garcinia kola Linn + Lantana camara L	Clusiacées + Verbenacées	Ecorces
Pathologies rhumatismales	Alchornea cordifolia Muell. Arg	Euphorbiacées	Jeunes Feuilles
	Conyza sumatrensis (Retz) E Walker	Asteracées	Feuilles
Blessures	Azela africana Smith ex pers Fresen	Fabacées/Caesalpinoidées	Ecorces
	Grewia venusta	Malvacées/Tilioidées	Feuilles
	Jatropha Curcas L	Euphorbiacées	Sève
	Paullinia pinnata L	Sapindacées	Feuilles
	Polygonum aviculare L.	Polygonacées	Plantes Entières
	Phyllanthus muellerianus (O.Ktze) Excell	Euphorbiacées	Racines
	Pilosigma reticulatum (DC) Hochst	Fabacées/Caesalpinoidées	Fruits
	Vernonia amygdalina Del	Asteracées	Feuilles

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Grandes plaies	Ageratum conyzoides Linn + Pennisetum purpureum Schmach. + Aspilia africana (Pers) Adams	Asteracées + Poacées + Asteracées	Feuilles + Fruits + Feuilles
	Aspilia africana (Pers) Adams	Asteracées	Feuilles
	Euphorbia lateriflora Shum. et Lam	Euphorbiacées	Feuilles et tiges
Fractures	Brilliantaisia cf owaritensis P. Beauv	Acanthacées	Feuilles
	Murdania simplex (Vahl) Brenan	Commelinacées	Tiges et feuilles
Rhumatisme	Eriopogon keratingii Gilg Ex Engl	Sapindacées	Ecorces
	Pilosigma reticulatum (DC) Hochst	Fabacées/Caesalpinoidées	Feuilles
Ulcères	Maytenus senegalensis (Lam.) Exell	Celastracées	Ecorces
	Erythrophloeum suaveolens Guill et Perr	Fabacées/Caesalpinoidées	Ecorces
Éléphantiasie	Dracaena arborea Vand. ex L.	Dracaenacées	Ecorces

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Toxiques	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Astéracées	Feuilles
	<i>Bridelia ferruginea</i> Benth.	Euphorbiacées	Racines et rameaux
	<i>Harungana madagascariensis</i> Lam ex poir	Hypericacées	Racines
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées	Feuilles
	<i>Vernonia glabra</i> Vaitke	Astéracées	Feuilles
Contre les infections	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam	Convolvulacées	Feuilles
	<i>Erythrophloeum suaveolens</i> Guill et per	Fabacées/Caesalpinioïdées	Ecorces
Pathologies générales	<i>Acanthospermum hispidum</i> DC	Astéracées	Feuilles
	<i>Bidens pilosa</i> Linn.	Astéracées	Feuilles
Fatigue musculaire	<i>Aloe vera</i> L.	Aloacées	Feuilles
	<i>Citrus aurantium</i> (Christm) Swingle	Rutacées	Fruits
Purification du sang	Alcool		
	<i>Eremomastax speciosa</i> (hochst)	Acanthacées	Feuilles
Anémie	<i>Alchornea cordifolia</i> Muell. Arg	Euphorbiacées	Feuilles Sèches,
	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Euphorbiacées	Feuilles
	<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC	Fabacées/Faboidées	Feuilles
	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (O.Ktze) Excell	Euphorbiacées	Feuilles
	<i>Persea americana</i> Mill	Lauracées	Feuilles

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Fortifiants	<i>Maytenus senegalensis</i> (Lam.) Excell	Celastracées	Racine
	<i>Lippia chevalieri</i> Maldenke	Verbenacées	Feuille
	<i>Combretum paniculatum</i> Vent.	Combretacées	Feuille
Fortifiants	<i>Setaria barbara</i> Lam + <i>Costus afer</i> Ker Gawl + <i>Urea gravemonthii</i> Ergl	Poacées + Costacées + Urticacées	Feuille
	<i>Azela Africana</i> Smith ex pers	Fabacées/Caesalpinioïdées	Ecorce
Lombago	<i>Grewia venusta</i> Fresen.	Malvacées/Tilioidées	Racines
	<i>Pavonia pinnata</i> L.	Sapindacées	Racines
Paralyse	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (O.Ktze) Excell	Euphorbiacées	Ecorces
	<i>Syzygium guineense</i> var	Myrtacées	Ecorces et feuilles
	<i>Guineense</i> (Willd) DC		
	<i>Smilax anceps</i> Willd.	Smilacacées	Rameaux
Mousson Affections ORL	<i>Pennisetum purpureum</i> Schumacher	Poacées	Feuilles
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées	Feuilles
Rhume	<i>Pilosigma reticulatum</i> (DC) Hochst	Fabacées/Caesalpinioïdées	Feuilles
	<i>Spilanthes filicaulis</i> (Schum et Thonn) Adams + <i>Allium sativum</i> L + <i>Aframomum melegueta</i> + <i>Zingiber officinale</i> Rosc	Astéracées + Liliacées + Zingibéracées + Zingibéracées	Feuilles
Asthme	<i>Allium sativum</i> L + <i>Aframomum melegueta</i> + <i>Zingiber officinale</i> Rosc	Liliacées + Zingibéracées + Zingibéracées	Gousses Grains Rhizomes

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Epistaxie	<i>Allophylus africanus</i> P. Beauv	Sapindacées	Ecorces
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées	Feuilles
Otile	<i>Polygonum aviculare</i> L	Polygonacées	Feuilles
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Hew	Crassulacées	Feuilles
Toux respiratoire	<i>Centella asiatica</i> linn.	Apiacées	Feuilles
	<i>Melinis temmissina</i> Staff	Poacées	Feuilles
Hocquet	<i>Euphorbia lateriflora</i> Schum et <i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Euphorbiacées	Feuilles et tiges
	<i>Conyza sumatrensis</i> (Retz) E. Walker	Crassulacées	Feuilles
Toux	<i>Emilia coccinea</i> (Sims) G. Don	Astéracées	Feuilles
	<i>Mangifera indica</i> L + <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook	Anacardiaceées + Myrtacées	Ecorces + Feuilles
Toux	<i>Oxalis corymbosa</i> D. C.	Oxalidées	Plante entière
	<i>Drymaria cordata</i> Linn	Caryophyllacées	Plante entière
Toux	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (O. Ktze) Excoill	Euphorbiacées	Ecorces
	<i>Terminalia avicenioides</i> Guill. Et Per	Combretacées	Feuilles
Toux	<i>Tragia benthami</i> Bak + <i>Ficus exasperata</i> Vahl + <i>Aspilia africana</i> (Pers) Adams	Euphorbiacées + Moracées + Astéracées	Feuilles

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties plantaires utilisées
Angine	<i>Alchomea cordiflora</i> Muell. Arg	Euphorbiacées	Feuille Bourge
	<i>Alchomea laxiflora</i> (Benth) + <i>Alchomea cordifolia</i> Muell. Arg	Euphorbiacées + Euphorbiacées	
Sinusite	<i>Alchomea cordifolia</i> Muell. Arg + <i>Trema orientalis</i> (Linn) Blume	Euphorbiacées + Ulmacées	Feuille Frac. de Ecorce
	<i>Kalanchoe crenata</i> (Andr) Haw	Crassulacées	Feuille
Amygdalite	<i>Phyllanthus muellerianus</i> (O. Ktze) Excoill	Euphorbiacées	Ecorce
	<i>Trema orientalis</i> (Linn) Blume	Ulmacées	Ecorces
Bronchite	<i>Alchomea laxiflora</i> (Benth) Pax et K Hoffm + <i>Combretum hispidum</i> L	Euphorbiacées + Verbenacées	Feuilles + Feuilles
	<i>Cinnam plauzum</i> A. Chev	Amygdaliacées	Feuilles
Pathologie infantile	<i>Pilosella reticulatum</i> (DC) Hochst	Fabacées/Caesalpin oidées	Feuilles
	<i>Alchomea laxiflora</i> (Benth) Pax et K Hoffm + <i>Ageratum conyzoides</i> Linn	Euphorbiacées + Astéracées	Feuilles + Feuilles
Kwachiorkor	<i>Polyscias fulv</i> J.R et G Forst	Araliacées	Vieilles Ecorces
	<i>Vernonia glabra</i> Vaitke	Astéracées	Feuilles
Poliomyélite	<i>Pilosella reticulatum</i> + <i>Melinis temmissina</i> Staff + <i>Pennisetum purpureum</i> Schumacher	Fabacées/Caesalpi noidées + Poacées + Poacées	Rameaux + Plantes Entières

Groupes thérapeutiques	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Alsies due à la polyomyélite	Carica papaya L. + Dracaena distealecia Linn	Brassicacées/Caricotidées + Dracaenacées	Feuilles Racines
Enfant qui sursaute	Oxalis corniculata Linn + Drymaria cordata Linn	Oxalidacées + Caryophyllacées	Feuilles
Autres pathologies			
Cauchemar	Ageratum conyzoides Linn	Astéracées	Jeunes feuilles
Mal chance	Albizia adianthifolia Schumacher et Thonn	Fabacées/Mimosoidées	Ecorces
Voyance	Ageratum conyzoides Linn	Astéracées	Feuilles
Jaunisse	Bidens pilosa Linn + Carica papaya L. + Cucurbita maxima Duch + Cofea sp + Ficus exasperata Vahl	Astéracées + Brassicacées/Caricotidées + Cucurbitacées + Rubiacées + Moracées	Feuilles Feuilles Feuilles Feuilles Feuilles
	Ipomoea alba Linn, H. Heine	Convolvulacées	Feuilles

Groupes thérapeutiques	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Typhoïde	Bidens pilosa Linn + Carica papaya L.	Astéracées + Brassicacées/Caricotidées + Cucurbitacées	Feuilles Feuilles
	Cucurbita maxima Duch + Cofea sp + Ficus exasperata Vahl	Rubiacées + Moracées	Feuilles
	Emilia coccinea (Sims) + G. Don	Astéracées	Feuilles
	Bidens pilosa Linn + Costus afer Ker Gawl + Ananas comosus Merr. + Cinchona sp ou Albo vera L. + Citrus aurantifolia (Christm) + Swegia + Cymbopogon citratus (DC) + Stapl	Astéracées + Costacées + Broméliacées + Rubiacées ou Alcacées + Rutacées + Poacées	Feuilles Feuilles Fruits Ecorces Feuilles Fruits Feuilles
	Bidens pilosa Linn + Lantana camara L.	Astéracées + Verbenacées	Plantes entières ; Feuilles
	Bidens pilosa Linn + Mangifera indica L. + Eucalyptus citriodora (Hook)	Astéracées + Anacardiacées + Myrtacées	Feuilles Ecorces Feuilles

Groupe thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties de la plante utilisée
Pathologies parasitaires	Ageratum conyzoides Linn	Astéracées	Feuilles
	Bidens pilosa Linn	Astéracées	Feuilles
	Sarcocephalus Latiphiolus (Smith) Bruce	Rubiacées	Ecorces
	Vitellana paradoxa Gaerthn. J	Sapotacées	Feuilles
	Lophira lanceolata Van Tiegh. ex Keay	Ochnacées	Ecorces
Fièvre	Trema orientalis (Linn.) Blume	Ulmacées	Ecorces
	Rauwolfia vomitoria Ait.	Apocynacées/Apocynoïdées	
	Grewia venusta Fresen	Malvacées/Tiliacées	Fruits
Paludisme	Grewia venusta Fresen	Malvacées/Tiliacées	Fruits
	Paulinia pinnata L.	Sepintacées	Racines
	Combretum paniculatum Vent	Combretacées	Feuilles
	Combretum glutinosum Perr. ex DC	Combretacées	
	Vernonia amygdalina Del	Astéracées	Feuilles
	Cytopogon citratus (DC) Stapf	Poacées	
	Citrus aurantium L.	Rutacées	
	Alcornea cordifolia Muell. Arg	Euphorbiacées	Feuilles Fraîches
	Rauwolfia vomitoria Ait	Apocynacées	Ecorces et Feuilles

Groupe Thérapeutique	Noms scientifiques des espèces végétales	Familles	Parties plante
Ictère	Phyllanthus muellerianus (O.Ktze) Excell	Euphorbiacées	Racine
	Amorpha senegalensis Pers. Subsp. outoitrcha le Thomas	Annonacées	Ecorce
	Smilax anceps Willd	Smilacées	Ecorce
	Alchornea cordifolia Muell. Arg	Euphorbiacées	Racine
Jaunisse	Bidens pilosa Linn	Astéracées	Feuille
	Clerodendrum sp	Verbenacées	
Pathologie infectieuses et vénériennes	Mucuna pruriens (L.) DC	Fabacées/Faboidées	Racine
	Aloe vera L	Aloacées	Feuilles
	Ehretia laetevirens Linn	Astéracées	Feuilles et tiges
	Cissus aralioides (Malw ex Bak) sarcocephalus latiphiolus (Smith) Bruce	Vitacées	Fruits
	Birtella Ferrugina Benth	Rubiacées	
	Ptilostigma reticulatum (DC) Hochst	Fabacées/Coesalpinhoïdées	Racines, Racineaux
	Smilax anceps Willd	Smilacées	Racines
	Costus afer Ker Gawl	Costacées	Racines
	Sida rhombifolia Linn	Malvacées/Malvoïdées	Feuilles

les familles majoritaires ont été la famille des Astéracées et Euphorbiacées. Ceci ne vient que confirmer les travaux effectués par la commission scientifique et de la recherche de l'Unité Africaine [2][3].

La médecine traditionnelle dans le Ndé est beaucoup plus axée dans le traitement à base de feuilles, écorces, racines ceci le plus souvent accompagnée d'incantations et rites. Les plantes dont on utilise les feuilles ont facilement récoltées contrairement aux écorces qui sont en majorités récoltés dans les forêts de Yabassi situé au sud du département du Ndé et revendue dans le Ndé [4]. Ces parties de plantes sont aussi bien utilisées dans les autres pays africains [5] et même dans d'autres régions du Cameroun telle que la région de l'Est où on trouve les pygmées. Baka [6].

Ce travail vient compléter celui qui avait été par l'Union Africaine dans l'étude floristique du Cameroun et du Ndé en particulier.

CONCLUSION

Notre flore est d'une richesse incontestable à voir le nombre de plante recensé dans sept villages du Ndé; ces plantes devraient nous être utile dans le soin de santé primaire et par conséquent permettre la fabrication des Médicaments Traditionnels Améliorés (TMA).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADJANOHOUN J., ABOUBAKAR N, et al Traditional medicine and pharmacopeta contribution to ethnobotanical and Floristic studies in Cameroon. CNPMS, Porto-Novo, Benin; 1996
2. ADJANOHOUN J. et al, contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger, agence de coopération culturelle et technique. 2^{ème} édition ; 1985
3. ADJANOHOUN.J., AKE. A et al. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali ; agence de coopération culturelles et techniques. 4^{ème} édition ; 1985
4. ADJANOHOUN.J., AKE. A, EYME. J et al. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice (Iles Maurice et Rodrigues). Agence de coopération culturelles et technique ; 1983.
5. BANNERMAN. R et al : Médecine traditionnelle et ouverture des soins de santé O.M.S. ; 1983.
6. DUCAN. W., MBENKUM. F.: Final report to the world wide fund for nature. Survey, U.K; 1989.
7. NGUIMATSA. F., BOUSTIE. J et al: Les médicaments des pygmées Baka du Cameroun: Mœurs thérapeutiques, maladies et inventaires des plantes médicinales. FITOTERAPIA Volume LXIX, N°1, 1998.
8. POUSET. J: Plantes médicinales Africaines utilisation pratique : Ellipses, 1989 tome 1. P 93-94.