

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

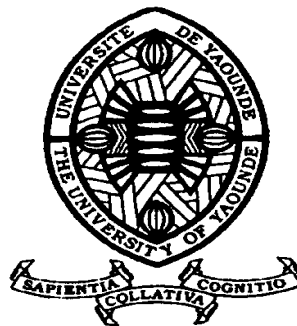
UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET

PHYSIOLOGIE VEGETALES

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF PLANT

BIOLOGY

\*\*\*\*\*

**ETUDES PHYTOCHIMIQUES DE TROIS PLANTES  
MEDICINALES DU TCHAD ORIENTAL EN VUE  
D'UNE APPLICATION COMME BIOPESTICIDES**

THESE

Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Biologie et  
Physiologie Végétales

Par : **Aouadalkarim MOUSSA CHAHAD**  
D.E.A en Biologie des Organismes Végétaux

Sous la direction de  
**Bernard Aloys NKONGMENECK**  
Professeur  
**Marie-Généviève Dijoux-Franca**  
Professeur  
Université Claude Bernard /Lyon I

Année Académique : 2018





DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES  
DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY

ATTESTATION DE CORRECTION

.....

Nous soussignés, membres du Jury de soutenance de la thèse de Doctorat/Ph.D en Biologie des Organismes Végétaux option Botanique-Écologie de l'étudiant AOUADALKARIM MOUSSA CHAHAD, Matricule 99V268, soutenue publiquement le 11 Septembre 2018 sur le sujet «Etudes phytochimiques de trois plantes médicinales du Tchad Oriental en vue d'une application comme biopesticides» attestons que les corrections conformément aux remarques et recommandations du jury lors de la soutenance de la dite thèse de Doctorat/Ph.D ont été effectuées par le candidat.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit./-

YOUMBI Emmanuel  
Professeur

Rapporteurs

Marie-Généviève DIJOUX-FRANCA  
Professeur

ZAPFACK Louis  
Maître de Conférences

Membres

FONKOU Théophile  
Maître de Conférences


NGONKEU MANGAPTCHÉ Eddy Léonard  
Maître de Conférences

Président

BELL Joseph Martin  
Professeur

# LISTE PROTOCOLAIRE

## LISTE PROTOCOLAIRE DE LA FACULTE DES SCIENCES PAR DEPARTEMENT ET PAR GRADE

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>FACULTÉ DES SCIENCES</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>The University of Yaoundé I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>	<b>LIST OF PERMENENT TEACHING STAFF</b>	

ANNÉE ACADÉMIQUE 2017/2018 (Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : Janvier 2018

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : AWONO ONANA Charles, Professeur

**VICE-DOYEN / DPSAA** : DONGO Etienne, Professeur

**VICE-DOYEN / DSSE** : OBEN Julius ENYONG, Professeur

**VICE-DOYEN / DRC** : MBAZE MEVA'A Luc Léonard, Maître de Conférences

**Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche** : ABOSSOLO Monique, Maître de Conférences

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Marie C.F., Maître de Conférences

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	<i>Chef Dpt/FMSB</i>
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	<i>Vice-Doyen DSSE/Coord. CRFD-STG</i>
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	<b>Chef DAF / FS</b>
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	MINKA Samuel	Maître de Conférences	En poste
14	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
15	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
16	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
17	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
18	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
19	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
20	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
21	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
22	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
23	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
24	DJUJKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
25	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste

26	EVEHE BEBANDOUÉ Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
27	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
31	MOFOR née TEUGWA Clautilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
32	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
33	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
34	AKINDEH MBUH NJI	Assistant	En poste
35	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
36	LUNGA Paul KAILAH	Assistant	En poste
37	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
38	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
39	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Assistant	En poste
40	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste
<b>2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)</b>			
1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En poste
3	DJIETO Lordon Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Professeur	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En poste
6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
7	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
13	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>C.S. D.P.E.R</i>
14	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	<i>CT2 MIN. ENERGIE</i>
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
25	DJILOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
26	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
27	JATSA MEGAPTCHÉ Hermine	Chargé de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
29	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
30	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
31	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Chargé de Cours	En poste
32	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
33	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
34	NGOULATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste

35	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
38	NOAH E. O. Vivien	Chargé de Cours	En poste
39	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
40	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
42	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
43	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
44	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
<b>3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)</b>			
1	AMBANG Zachée	Professeur	CDAASR/FSEG-UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
6	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
7	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
8	MALLA Armand William	Maître de Conférences	En poste
9	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Maître de Conférences	<i>Conseiller Technique Recteur Université de Dschang</i>
10	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	<i>CTP-C2D-PSFE2 MINFOF</i>
11	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
12	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Maître de Conférences	En poste
13	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	En poste
16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
18	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste
<b>4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)</b>			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Insp Génér.MINPMEA</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
4	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	<b>Chef de Département</b>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur UN</i>
7	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
10	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UDS</i>

11	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
12	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>S.G. MINESUP/Recteur UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
19	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
20	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
21	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
22	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
23	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
25	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
26	MAKON Thomas Beauger	Chargé de Cours	En poste
27	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
28	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
29	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
30	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
31	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
32	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
33	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
34	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste
<b>5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)</b>			
1	DONGO Etienne	Professeur	<b>Vice-Doyen/ DPSAA</b>
2	GHOLOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Foumban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt. FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Vice- Recteur UBda</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>CD Rectorat</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
17	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
18	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>C.T. UYII</i>
20	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
21	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
22	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
24	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste

25	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
27	NGOMO Orléans	Chargé de Cours	En poste
28	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
29	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
31	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
32	ZONDEGOUMBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
33	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
<b>6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (30)</b>			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	FOTSO Pauline Laure	Professeur	<i>Député à l'Assemblée Nationale</i>
3	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dépt. ENS</i>
4	TCHUENTE Maurice	Professeur	<b>PCA UB</b>
5	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
6	AMINOUE Halilou	Chargé de Cours	En poste
7	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
8	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
12	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
14	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
15	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
16	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
17	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
18	EBELE Serge	Assistant	En poste
19	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
20	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
21	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
25	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
26	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
27	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
28	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste
<b>7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (32)</b>			
1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>DAAC UYI</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoul Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>Chef Division MINESUP</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUEKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	En poste
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste

12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Chargé de Cours	En poste
25	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
26	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
27	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
28	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
29	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
30	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
31	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
<b>8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)</b>			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
2	ETOA François-Xavier	Professeur	<b>Recteur UD/Chef de Département</b>
3	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargé de Cours	En poste
<b>9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)</b>			
1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir. Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt. UN</i>
13	EYEBE FOUA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste



15	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
16	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	En poste
17	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
18	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
19	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
20	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	En poste
21	SAIDOU	Maître de Conférences	En poste
22	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
24	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
25	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
26	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
27	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
28	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste
29	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
30	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
31	MVOGO Alain	Chargé de Cours	En poste
32	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
33	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
34	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
35	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
36	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En poste
37	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
39	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
41	MEL'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
<b>10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (43)</b>			
1	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	<i>Doyen / UN</i>
2	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
3	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
5	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<b>Chef DAASR</b>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Dépt. IMIP/Maroua</i>
8	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	<i>Dir/IUT Bois Mbalmayo</i>
9	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINMIDT</i>
10	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
11	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
12	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
13	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
15	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
17	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Cellule MINTP</i>
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>S.G. MINTP</i>
19	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>Barage Memve'ele</i>
20	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Directeur Projet Barage Memve'ele</i>
21	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>Délégué Régional/MINMIDT</i>

22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
26	LAMILÉN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>CS/LABOGENIE</i>
28	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt. IMIP/Maroua</i>
29	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
30	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	<i>CEA MINRESI</i>
33	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
34	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
35	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
36	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de Cours	<i>CEA MINRESI</i>
37	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Chargé de Cours	En poste
38	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	<i>CS/ MINMIDT</i>
39	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
40	SABABA Elisé	Chargé de Cours	En poste
41	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En poste
42	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	En poste
43	METANG Victor	Assistant	En poste

### Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
<b>BC</b>	5 (1)	11 (4)	17 (9)	7 (3)	<b>40 (17)</b>
<b>BPA</b>	11 (1)	8 (2)	21 (9)	3 (0)	<b>43 (12)</b>
<b>BPV</b>	4 (0)	9 (2)	9 (2)	5 (5)	<b>27 (9)</b>
<b>C.I.</b>	10 (1)	6 (0)	18 (4)	1 (1)	<b>35 (6)</b>
<b>C.O.</b>	9 (0)	11 (3)	12 (3)	2 (0)	<b>34 (6)</b>
<b>IN</b>	4 (1)	1 (0)	9 (0)	14 (2)	<b>28 (3)</b>
<b>MA</b>	3 (0)	4 (0)	20 (1)	4(0)	<b>31 (1)</b>
<b>MB</b>	2 (0)	5 (1)	6 (2)	0 (0)	<b>13 (3)</b>
<b>PH</b>	8 (0)	16 (1)	14 (4)	3 (1)	<b>41 (6)</b>
<b>ST</b>	4 (0)	14 (2)	22 (3)	3 (0)	<b>43 (5)</b>
<b>Total</b>	<b>60 (4)</b>	<b>85 (15)</b>	<b>148 (37)</b>	<b>42 (12)</b>	<b>335 (68)</b>

Soit un total de 335 (68) dont :

- Professeurs	60 (4)
- Maîtres de Conférences	85 (15)
- Chargés de Cours	148 (37)
- Assistants	42 (12)
- ( ) = Nombre de femmes	68

**DEDICACE**

A

LA MÉMOIRE DE

FEU NKONGMENECK BERNARD-ALOYS, AMOUGOU AKOA

ET À

TOUS CEUX QUI, DE L'ÉCOLE TRADITIONNELLE À L'ÉCOLE MODERNE, ONT, AVEC LA PATIENCE ET LA RIGUEUR QUI S'IMPOSENT, CONTRIBUÉ À LA FORMATION SPIRITUELLE ET INTELLECTUELLE DE L'HOMME QUE JE SUIS.

## REMERCIEMENTS

La coopération française, par le biais d'EGIDE, a financé cette étude. Je lui exprime mes vifs remerciements et ma profonde gratitude.

Le Laboratoire de Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie de la Faculté de Pharmacie de Lyon (UMR 5557 CESN Ecologie Microbienne) a servi de cadre à la réalisation de ce travail ; qu'il en soit aussi vivement remercié.

J'exprime mes remerciements et ma gratitude au Professeur Marie-Généviève Dijoux-Franca de l'Université Claude Bernard-Lyon I pour avoir dirigé mes travaux et au Professeur YOUMBI Emmanuel, Chef de Département de Biologie et Physiologie Végétales de l'Université de Yaoundé I, pour avoir accepté, malgré ses lourdes charges, d'être le rapporteur ex-qualité de cette thèse.

Je remercie sincèrement le Professeur Nkongmeneck Bernard Aloys de l'Université de Yaoundé I, de regrettée mémoire, pour avoir guidé mes pas dans la recherche depuis mon second cycle d'études universitaires ; qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mes travaux tout au long de ces années. Ses conseils et ses commentaires m'ont été fort utiles. Que la terre lui soit légère, il restera toujours vivant dans nos cœurs.

Je remercie aussi du fond du cœur Pr. Zapfack Louis, Maître de Conférences de l'Université de Yaoundé I d'avoir eu, malgré ses multiples tâches, l'amabilité de lire cette thèse et y apporter ses remarques qui m'ont permis de l'améliorer.

Je remercie aussi tous les enseignants du Département de Biologie et Physiologie Végétales pour la formation de qualité que j'ai reçue depuis la classe de Maîtrise.

Mes plus vifs remerciements aux Pr. Serge Michalet et Anne-Emmanuelle de Betigny, Maîtres de conférences de l'Université Claude Bernard Lyon I mais aussi à madame Christine Bayet, Ingénieur-Chimiste, pour la disponibilité dont ils ont fait preuve et pour les analyses HPLC/UV/SM/RMN de mes composés.

Je remercie également le Professeur Mahamoud Youssouf Khayal, Directeur Général du Centre National d'Appui à la Recherche (CNAR) de l'Université de Ndjaména, pour son investissement permanent dans la formation des jeunes cadres des institutions de l'enseignement supérieur de notre pays.

J'aimerais également remercier le Professeur Bilong-Bilong Charles-Félix de l'Université de Yaoundé I et le Professeur Issa Youssouf, Secrétaire Général de l'Institut National Supérieur des Sciences et Techniques d'Abéché (INSTA) pour leur aide et pour les discussions enrichissantes dont la contribution n'est pas des moindres dans ce travail.

Mes remerciements vont également à mes amis, les Professeurs Mackaye Hassane Taisso et Bakari Abbo de l'Université de Ndjaména dont l'aide et le soutien ne m'ont jamais fait défaut.

Un très grand merci à monsieur Stéphane Achard et madame Michèle Carrier du Laboratoire de Pharmacognosie et Phytothérapie de l'UMR 5557 pour leur accueil et la chaleur qu'ils m'ont apportée durant tous mes séjours.

Merci aussi à mes amis, DG Ahmat Ismaël Arim, DG Mahamat Adoum Mahamat et mon frère, Dr. Hamit Mahamat Alio pour leurs soutiens multiformes et leur encouragement.

Enfin, pour leur soutien permanent et leur patience durant mes absences, je tiens à remercier de tout cœur mon épouse et mes enfants.

## SOMMAIRE

DEDICACES-----	ix
REMERCIEMENTS -----	x
SOMMAIRE -----	xii
LISTE DES FIGURES -----	xvi
LISTE DES TABLEAUX-----	xviii
LISTE DES ANNEXES -----	xx
LISTE DES ACRONYMES -----	xxi
RESUME -----	xxiii
ABSTRACT-----	..xxv
INTRODUCTION-----	1
PROBLEMATIQUE -----	3
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE -----	5
I.1. <i>Terminalia macroptera</i> (Combretaceae)-----	5
I.1.1. Données botaniques -----	5
I.1.1.1. Classification des Combretaceae -----	5
I.1.1.2. Famille -----	5
I.1.2. Caractéristiques, écologie et distribution de <i>Terminalia macroptera</i> -----	5
I.1.2.1. Caractères systématiques -----	5
I.1.2.2. Ecologie et distribution -----	6
I.1.2.3. Données ethnobotaniques sur <i>Terminalia macroptera</i> -----	6
I.1.2.4. Données chimiques sur <i>Terminalia macroptera</i> -----	7
I.1.2.4.1. Flavonoïdes-----	7
I.1.2.4.2. Terpènes -----	8
I.1.2.4.3. Dérivés phénoliques-----	10
I.1.2.4.4. Dérivés azotés-----	13
I.1.2.5. Données pharmacologiques sur <i>Terminalia macroptera</i> -----	14
I.2. <i>Calotropis procera</i> (Asclepiadaceae) -----	21
I.2.1. Données botaniques -----	21
I.2.1.1. Classification des Asclepiadaceae -----	21
I.2.1.2. Familles -----	21
I.2.2. Caractéristiques, écologie et distribution de <i>Calotropis procera</i> -----	21
I.2.2.1. Caractères systématiques -----	21
I.2.2.2. Ecologie et distribution -----	22
I.2.2.3. Données ethnobotaniques sur <i>Calotropis procera</i> -----	23
I.2.2.4. Données chimiques sur <i>Calotropis procera</i> -----	23
I.2.2.5. Données pharmacologiques sur <i>Calotropis procera</i> -----	32
I.3. <i>Acacia nilotica</i> (Mimosaceae)-----	34

I.3.1. Données botaniques	34
I.3.1.1. Classification des Mimosaceae	34
I.3.1.2. Famille	34
I.3.2. Caractéristiques, écologie et distribution de <i>Acacia nilotica</i>	35
I.3.2.1. Caractères systématiques	35
I.3.2.2. Ecologie et distribution	35
I.3.3. Données ethnobotaniques sur <i>Acacia nilotica</i>	35
I.3.4. Données chimiques sur <i>Acacia nilotica</i> .	36
I.3.5. Données pharmacologiques sur <i>Acacia nilotica</i>	41
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	50
II.1. PRESENTATION DU CADRE DE RECHERCHE	50
II.1.1. Situation géographique du Ouaddaï-Biltine	50
II.1.2. Milieu naturel	50
II.1.2.1. Climat	50
II.1.2.1.1. Zones climatiques	50
II.1.2.1.2. Températures	51
II.1.2.1.3. Vents	51
II.1.2.1.4. Pluviométrie	54
II.1.2.2. Géologie	54
II.1.2.3. Relief	56
II.1.2.4. Hydrographie	56
II.1.2.5. Pédologie et végétation naturelle	58
II.2. METHODES D'ETUDES	60
II.2.1. Etudes phytochimiques	60
II.2.1.1. Matériel biologique utilisé	60
II.2.1.2. Généralités sur les techniques utilisées	61
II.2.1.2.1. Méthodes chromatographiques	61
II.2.1.2.1.1. Chromatographie sur couche mince	61
II.2.1.2.1.2. Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte	62
II.2.1.2.1.3. Chromatographie liquide sous moyenne pression	63
II.2.1.2.1.4. Chromatographie en phase solide	63
II.2.1.2.1.5. Chromatographie liquide sous vide	63
II.2.1.2.1.6. Chromatographie liquide à haute performance	63
II.2.1.2.2. Méthodes spectroscopiques	66
II.2.1.2.2.1. Résonance magnétique nucléaire mnodimensionnelle	66
II.2.1.2.2.2 Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle	66
II.2.2. Etudes biologiques	66

II.2.2.1. Mesure de l'effet répulsif ou attractant des moustiques <i>Culex</i> sp. -----	66
II.2.2.2. Recherche des activités antimicrobiennes -----	69
II.2.2.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits végétaux	69
II.2.2.2.2. Evaluation de l'effet inhibiteur de pompes à efflux -----	.70
II.2.2.3. Recherche des activités antioxydantes -----	71
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION -----	.73
III.1. RESULTATS-----	73
III.1.1. Etude de <i>Terminalia macroptera</i> -----	73
III.1.1.1. Fractionnement, purification et analyses des extraits de <i>Terminalia macroptera</i> ---	73
III.1.1.1.1. Macération de la poudre du bois de tronc <i>Terminalia macroptera</i> -----	73
III.1.1.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique-----	73
III.1.1.1.3. Fractionnement de l'extrait dichlorométhane -----	74
III.1.1.1.4. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle -----	75
III.1.1.1.5. Purification des fractions issues de la phase acétate d'éthyle -----	75
III.1.1.1.6. Analyses en HPLC-UV/DAD-MS/QTOF-----	83
III.1.1.1.6.1. Analyses HPLC-UV-SM des extraits de <i>Terminalia macroptera</i> -----	.84
III.1.1.1.6.1.1. Analyse de la fraction TM 8C -----	84
III.1.1.1.6.1.2. Analyse de la fraction TM 19E-----	89
III.1.1.1.6.1.3. Analyse de la fraction TM 21A -----	92
III.1.1.1.6.1.4. Analyse de la fraction TM 21B-----	94
III.1.1.1.6.1.5. Analyse de la fraction TM 21D -----	98
III.1.1.2. Identification des composés purs de <i>Terminalia macroptera</i> -----	99
III.1.1.2.1. Identification de TM 5A/B -----	99
III.1.1.2.2. Identification de TM 8B -----	100
III.1.1.3. Evaluation des activités biologiques de <i>Terminalia macroptera</i> -----	106
III.1.1.3.1. Evaluation de l'activité répulsive sur <i>Culex</i> sp. -----	106
III.1.1.3.2. Evaluation des activités antimicrobiennes-----	107
III.1.1.3.3. Evaluation des activités antioxydantes-----	107
III.1.2. Etude de <i>Calotropis procera</i> -----	108
III.1.2.1. Fractions résultant de l'extraction de la poudre de bois du tronc-----	108
III.1.2.2. Analyse HPLC-UV-DAD des extraits de <i>Calotropis procera</i> -----	108
III.1.3. Etude de <i>Acacia nilotica</i> -----	110
III.1.3.1. Fractions résultant de l'extraction de la poudre des gousses-----	110
III.1.3.2. Analyse HPLC-UV-SM des extraits de <i>Acacia nilotica</i> -----	110



III.1.3.2.1. Etude de l'extrait méthanolique-----	110
III.1.3.2.2. Etude de l'extrait chloroformique -----	112
III.2. DISCUSSION -----	115
III.2.1. Etude de <i>Terminalia macroptera</i> -----	115
III.2.1.1. Etude chimique -----	115
III.2.1.2. Etude biologique -----	116
III.2.2. Etude de <i>Calotropis procera</i> et <i>Acacia nilotica</i> -----	117
CHAPITRE IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES -----	118
IV.1. CONCLUSION -----	118
IV.2. PERSPECTIVES -----	119
BIBLIOGRAPHIE-----	120
ANNEXES -----	128
PUBLICATION -----	141

## LISTE DES FIGURES

Fig.1. <i>Terminalia macroptera</i> -----	6
Fig.2. Flavonoïdes de <i>Terminalia macroptera</i> -----	8
Fig.3. Terpènes de <i>Terminalia macroptera</i> -----	9
Fig.4. Dérivés phénoliques de <i>Terminalia macroptera</i> -----	11
Fig.5. Alcaloïde terpénique de <i>Terminalia macroptera</i> -----	14
Fig.6. <i>Calotropis procera</i> -----	22
Fig.7. Terpènes de <i>Calotropis procera</i> -----	25
Fig.8. Flavonoïdes de <i>Calotropis procera</i> -----	27
Fig.9. Composés azotés de <i>Calotropis procera</i> -----	31
Fig.10. Potentiel pharmacologique de divers extraits de <i>Calotropis procera</i> -----	34
Fig.11. <i>Acacia nilotica</i> -----	35
Fig.12. Composés phénoliques de <i>Acacia nilotica</i> (1) -----	36
Fig.13. Composés phénoliques de <i>Acacia nilotica</i> (2) -----	37
Fig.14. Découpage administratif du Ouaddaï-Biltine -----	52
Fig.15. Différentes zones climatiques du Ouaddaï-Biltine -----	53
Fig.16. Carte géologique de la région du Ouaddaï-Biltine -----	55
Fig.17. Pédologie et végétation du Ouaddaï-Biltine -----	59
Fig.18. Dispositif expérimental mis en place au Laboratoire International Associé -----	67
Fig.19. Extraction de la poudre du bois de <i>Terminalia macroptera</i> -----	73
Fig. 20. Fractionnement liquide-liquide de l'extrait méthanolique -----	74
Fig.21. Fractionnement de l'extrait AcOEt -----	75
Fig.22. Fractionnement de TM3G -----	76
Fig.23. Fractionnement de TM 3H -----	78
Fig.24. MPLC de la fraction TM 11C -----	79
Fig.25. Fractionnement de la fraction TM31A -----	81
Fig.26. Fractionnement de la fraction TM 31B -----	81
Fig.27. Fractionnement de TM4G et TM4H -----	82
Fig.28. Fractionnement de TM9B -----	83
Fig.29. Chromatogrammes de TM8C (ESI mode positif) -----	84
Fig.30. Spectres UV/Vis des composés a, b, c, et d détectés dans TM8C -----	84
Fig.31. Spectre UV/vis de l'acide ellagique de référence -----	85
Fig.32. Spectres de masse en ESI+ des composés a, b, c, et d détectés dans la fraction TM8C -----	85
Fig.33. Spectre de masse et fragmentation du composé (a) en ESI mode positif -----	86
Fig.34. Spectre de masse et fragmentation du composé (a) en ESI mode négatif -----	86
Fig.35. Structures proposées pour les composés TM8C -----	87
Fig.36. Structure d'un dérivé de stilbène.....	87
Fig. 37. Spectres de masse du composé TM8C(b) -----	88
Fig.38. Structures proposées pour les composés du pic TM8C(b) -----	89
Fig.39. Spectre de masse en ESI mode positif et spectre UV/vis de TM8C(d) -----	89
Fig.40. Chromatogrammes de la fraction TM19E -----	90

Fig.41. Spectres UV et données de la spectrométrie de masse en ESI mode positif des composés majoritaires de TM 19E-----	90
Fig.42. Spectres de masse et données de la spectrométrie de la fragmentation en ESI mode positif du composé majoritaire de TM 19E(b) -----	91
Fig.43. Structures proposés pour les composés issus de la fraction TM19E -----	92
Fig.44. Chromatogrammes de la fraction TM 21A -----	92
Fig.45. Spectres UV et de masse en ESI mode négatif des pics majoritaires de la fraction TM21A.....	93
Fig.46. Structure de l'acide valonéïque dilactone-----	94
Fig.47. Chromatogrammes de la fraction TM21B -----	95
Fig.48. Spectres de masse et UV/Vis des pics majoritaires de TM 21B-----	96
Fig.49. Structures proposées pour le composé TM21B -----	97
Fig.50. Chromatogramme de la fraction TM21C -----	97
Fig.51. Spectres de masse et UV/vis des pics majoritaires de TM 21C -----	98
Fig.52 Chromatogramme de la fraction TM21D.....	98
Fig.53. Spectres de masse et UV/vis des pics majoritaires de TM 21D -----	99
Fig.54. Spectre RMN 1H du composé TM 5A/B -----	100
Fig.55. Structure de l'acide gallique -----	100
Fig.56. Spectre RMN 1H du composé TM 8B -----	101
Fig.57. Spectre RMN 1H du composé TM 8B (agrandissement)-----	102
Fig.58. Spectre de masse en ESI mode positif de TM 8B -----	104
Fig.59. Structure de TM8B.....	104
Fig.60. Spectre RMN 13C du composé TM 8B-----	105
Fig.61. Spectre DEPT 135 du composé TM 8B-----	105
Fig. 62. Activités de TM1C, TM2B et TM2C sur <i>Culex</i> sp. -----	106
Fig.63. Spectres UV/vis des pics a - e des composés majoritaires -----	108
Fig.64. Spectres UV/vis des pics a - e et fragmentation des composés majoritaires-----	109
Fig.65. Chromatogrammes de l'extrait méthanolique des gousses de <i>Acacia nilotica</i> -----	110
Fig.66. Spectres UV/vis des composés de l'extrait méthanolique des gousses de <i>Acacia nilotica</i> -----	110
Fig.67. Spectres de masse des principaux composés de l'extrait méthanolique ACM15A--	111
Fig.68. Chromatogrammes de l'extrait chloroformique des gousses de <i>Acacia nilotica</i> .....	112
Fig.69. Spectres UV/vis des principaux composés de ACM 15B.....	113
Fig.70. Spectres de masse en ESI mode positif des principaux composés de ACM15B.....	114

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Taux d'utilisation de différentes parties de <i>Terminalia macroptera</i> dans différents districts du Mali -----	7
Tableau II. Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques en milieu solide -----	15
Tableau III. Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques en milieu liquide -----	16
Tableau IV. Concentration inhibitrice minimale des extraits de <i>Terminalia macroptera</i> contre des souches bactériennes de référence-----	17
Tableau V. Extrait de <i>Terminalia macroptera</i> et activités antibiotiques -----	17
Tableau VI. Extrait de <i>Terminalia macroptera</i> et activités antibiotiques contre <i>Vibrio cholerae</i> -----	18
Tableau VII. Activité des extraits racinaires de <i>Terminalia macroptera</i> contre les souches <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> sp. et <i>Shigella</i> sp. -----	18
Tableau VIII. Activités anti- <i>Neisseria gonorrhoeae</i> in vitro des extraits de feuilles de <i>Terminalia macroptera</i> -----	19
Tableau IX. Activités biologiques de quelques composés isolés des écorces de <i>Terminalia macroptera</i> -----	19
Tableau X. IC50 de sept extraits bruts de plantes sur une souche de <i>Plasmodium falciparum</i> résistante à la chloroquine -----	20
Tableau XI. Etude de l'effet antifongique de quelques extraits de plantes contre <i>Fusarium oxysporum</i> -----	32
Tableau XII. Activité inhibitrice de la croissance <i>In vitro</i> de l'extrait racinaire n-hexane sur des souches cancéreuses de référence -----	33
Tableau XIII. Effet des extraits de gousses de <i>Acacia nilotica</i> sur les paramètres biochimiques des lapins diabétiques d'un mois -----	41
Tableau XIV. Activité antioxydante, et activité piègeur de radical libre exprimée selon le pouvoir antiradicalaire -----	42
Tableau XV. Activité antimicrobienne des extraits éthanolique et chloroformique des fruits de <i>Acacia nilotica</i> contre des microorganismes d'isolats cliniques-----	43
Tableau XVI. Activité antimicrobienne de quelques antibiotiques contre des microorganismes isolés-----	44
Tableau XVII. Effet de l'extrait méthanolique brut de <i>Acacia nilotica</i> sur l'éclosion des œufs et le développement larvaire de différents nématodes du groupe des Trichostrongylid, parasites du mouton -----	45
Tableau XVIII. Coefficient de corrélation, Dose Létale 50 et taux de mortalité cumulative de l'extrait à l'acétone et des différentes fractions de <i>Acacia nilotica</i> et ses fractions diverses sur le 4ème stade larvaire de <i>Culex quinquefasciatus</i> -----	45
Tableau XIX. Diagramme de sensibilité de l'extrait éthanolique brut de <i>Acacia nilotica</i> contre différents microorganismes -----	47
Tableau XX. Concentrations minimale inhibitrice, minimale bactéricide et minimale fongicide des extraits éthanoliques bruts de cinq plantes contre des échantillons Multidrug Resistant isolés des infections nosocomiales et acquises et sensibilité des échantillons standards -----	49
Tableau XXI. Appareillage utilisé -----	64
Tableau XXII. Conditions d'analyse utilisées -----	65
Tableau XXIII. Fractions résultant de la VLC de TM 2B -----	75
Tableau XXIV. Fractions résultant de la SPE de TM3G -----	76
Tableau XXV. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4B -----	76

Tableau XXVI. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4C -----	77
Tableau XXVII. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4F -----	77
Tableau XXVIII. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4I -----	77
Tableau XXIX. Fractions résultant du fractionnement liquide-liquide de TM3H -----	78
Tableau XXX. Fractions résultant de la MPLC de TM 11C -----	79
Tableau XXXI. Fractions résultant de la CCM préparative sur TM12D. -----	80
Tableau XXXII. Fractions résultant de la purification de TM 12E -----	80
Tableau XXXIII. Fractions résultant de la purification de TM 12F -----	80
Tableau XXXIV. Fractions résultant du Sephadex de TM 31A -----	81
Tableau XXXV. Fractions résultant du Sephadex de TM 31B -----	82
Tableau XXXVI. Fractions résultant du Sephadex de TM4G et TM4H -----	82
Tableau XXXVII. Fractions résultant du Sephadex de TM9B. -----	83
Tableau XXXVIII. Données RMN 13C de TM8B -----	103
Tableau XXXIX. Effet antibactérien de trois fractions de <i>Terminalia macroptera</i> -----	107
Tableau XL. Effet antiradicalaire de trois fractions de <i>Terminalia macroptera</i> dans le test du DPPH-----	107

## LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Schéma récapitulatif du fractionnement de la phase Acétate d'éthyle de la poudre du bois de tronc de <i>Terminalia macroptera</i> -----	129
ANNEXE 2 : Schéma récapitulatif du fractionnement des produits de 12D issue de la MPLC de 11C -----	130
ANNEXES 3 : Chromatographie liquide sous vide de la fraction 2B-----	131
ANNEXES 4 : Chromatographie en phase solide de la fraction 3G-----	132
ANNEXES 5 : Activité repulsive des fractions de TM1C, TM2B et TM2C sur <i>Culex</i> sp.	133
ANNEXES 6 : Spectres RMN des composés purifiés -----	134
ANNEXES 7 : Lexique botanique-----	138
ANNEXES 8 : Index des noms scientifiques -----	140

## LISTE DES ACRONYMES

ALP	:	Alcaline phosphatase
AcOEt	:	Acétate d'éthyle
ATB	:	Antibiotique
BCAs	:	Biocontrol agents
But OH	:	Butanol
CC	:	Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte
CCM	:	Chromatographie sur couche mince
CFU	:	Colony forming unite
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
COSY	:	Correlated spectroscopy
C/Sephadex	:	Colonne de Sephadex
DBA	:	Diphénylborate d'aminoéthanol
DCM	:	Dichlorométhane
DEPT	:	Distortionless enhancement by polarisation transfer
DMSO	:	Diméthyl sulfoxide
DPPH	:	Radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
EPA	:	Environmental Protection Agency
GBM	:	Glioblastoma
Hex	:	Hexane
HMBC	:	Heteronuclear multiple bonding connectivity
HPLC	:	Chromatographie liquide à haute performance
HRMS	:	Spectrométrie de masse haute résolution
HSQC	:	Heteronuclear single quantum connectivity
IC50	:	Concentration inhibitrice à 50%
IPE	:	Effet inhibiteur de pompes à efflux
Isop OH	:	Isopropanol
J (Hz)	:	Constante de couplage exprimé en hertz
MDR	:	Multidrug Resistant
Me OH	:	Méthanol
MHz	:	Mégahertz
MPLC	:	Chromatographie liquide sous moyenne pression
NSCL	:	Non-Small cell lung
NT	:	Non testé

OGM	:	Organismes génétiquement modifiés
PC-3	:	Prostate cancer cell lines
PEG	:	Polyéthylène glycol
PI	:	Pourcentage d'inhibition
PIPs	:	Plant-incorporated protectants
ppm	:	Partie par million
RMN	:	Résonance magnétique nucléaire
RMN 1H	:	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN 1D	:	RMN monodimensionnel
RMN 13C	:	Résonance magnétique nucléaire du carbone 13
RMN 2D	:	RMN bidimensionnelle
SGOT	:	Serum Glutamate Oxaloacetate
SGPT	:	Serum Pyruvate Transaminase
SiO <sub>2</sub>	:	Silice
SM	:	Spectrométrie de masses
SPE	:	Chromatographie en phase solide
T.M.E.P	:	Tchad Ministère de l'Economie et du Plan
TMS	:	Tétraméthylsilane
UV	:	Spectrophotométrie/rayonnement dans le domaine de l'ultraviolet



## RESUME

L'utilisation des pesticides d'origine synthétique comme celles des molécules antioxydantes de synthèse étant remises en cause en raison des risques de perturbations écologiques d'une part et des risques toxicologiques d'autre part, on se tourne actuellement vers les pesticides naturels et les sources végétales d'antioxydants naturels.

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a pour objectif l'identification des métabolites du bois de tronc de diverses espèces végétales dont *Terminalia macroptera*, *Calotropis procera* et ceux des gousses de *Acacia nilotica* susceptibles d'être utilisés comme biopesticides pour les tester, à terme, sur des parasites ou des phytopathogènes.

L'étude a consisté donc en l'analyse phytochimique de la poudre du bois de tronc de *Terminalia macroptera* (Combretaceae), de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) et de celle des gousses de *Acacia nilotica* (Mimosaceae) afin de découvrir d'éventuelles propriétés biopesticides. Ces plantes ont été sélectionnées à partir d'une enquête ethnopharmacologique menée, au préalable, auprès de 30 tradipraticiens de la région du Ouaddaï (Est du Tchad).

La poudre fine du bois de tronc de *Terminalia macroptera* a été extraite par macération dans le méthanol ; après filtration et évaporation sou-vide, les extraits méthanoliques obtenus ont été regroupés en un seul extrait qui a été utilisé pour les autres phases de l'analyse phytochimique (fractionnement, purification, analyses HPLC-UV-SM, etc.) et a produit tous les composés isolés et identifiés par la suite.

La poudre de l'échantillon de *Calotropis procera* a été extraite successivement dans le méthanol puis le chloroforme pendant par macération et a donné une fraction méthanolique et une fraction chloroformique. Seuls les extraits méthanoliques de *Calotropis procera* ont fait l'objet d'analyses HPLC-UV/DAD.

La poudre de gousses de *Acacia nilotica* a été successivement macérée dans le méthanol puis le chloroforme pour donner un extrait méthanolique et un extrait chloroformique qui ont été tous les deux analysés par HPLC/UV/SM.

Les méthodes d'identification utilisées pour ces analyses sont l'UPLC-UV/DAD-MS/QTOF et la RMN 1D et 2D. Ces analyses qui consiste en une première approche de la composition chimique des parties de ces plantes n'ont pas permis de proposer des structures cohérentes pour *C. procera* et *A. nilotica* qui nécessitent d'autres analyses complémentaires en UHPLC-UV-SM/SM. Cependant, dans *T. macroptera* ces analyses ont permis l'identification de l'acide ellagique, l'acide gallique, l'acide 3,3'-diméthyl ellagique, l'acide 3,3',4-tri-*O*-méthyl ellagique, l'acide galloyl quinique, l'acide 23-*O*-galloyl arjunolique, l'acide C-galloyl ellagique, et l'acide 23-*O*-galloyl terminolique. Ces composés sont pour la plupart des polyphénols dérivés de l'acide gallique ou ellagique. De deux triterpènes identifiés, l'acide 23-

*O*- galloylterminolique est identifié pour la première fois dans le genre sous sa forme d'ester d'acide gallique ; de même les stilbénoides identifiés dans ce travail le sont aussi pour la première fois dans la famille des Combretaceae.

Les activités biologiques de certains extraits de *T. macroptera* ont été évaluées. C'est ainsi que l'évaluation des effets attractants ou repulsifs de certains extraits végétaux sur le moustique *Culex* sp., réalisée dans ce travail a permis de confirmer leur effet repulsif ; les propriétés antibactériennes des extraits végétaux évaluées sur *Staphylococcus aureus* par la méthode de microdilutions ont permis d'étudier l'effet inhibiteur des pompes à efflux (IPE) des extraits végétaux et de montrer que certaines fractions de *T. macroptera* ont un effet bactéricide plus marqué (meilleure CMI) que celui de l'antibiotique de référence, la ciprofloxacine ; l'évaluation du pouvoir antioxydant effectué avec le test du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a permis de montrer que, comparées à un antioxydant de référence, les fractions de *T. macroptera* ont une activité antioxydante équivalente.

Etant données les utilisations traditionnelles très anciennes de ces plantes, il est souhaitable que des travaux complémentaires soient réalisés ultérieurement pour des analyses phytochimiques et biologiques plus approfondies sur *A. nilotica* et *C. procera* mais aussi pour préciser les activités répulsives de *T. macroptera* sur de diverses espèces de moustiques.

Mots clés : acide 23-*O*-galloyl terminolique ; biopesticides ; chromatographie, Ouaddaï ; phytochimie ; spectroscopie ; *Terminalia macroptera* ; *Calotropis procera* ; *Acacia nilotica*.

## ABSTRACT

The use of the pesticides of synthetic origin, that of the antioxydant molecules of synthesis being currently called into question because of the ecological risks of disturbances on the one hand and the toxicological risks on the other hand, one turns to the natural pesticides and the vegetable sources of natural antioxydants. It is in this context that is registered this study which seeks to identify the metabolites of the wood of trunk of *Terminalia macroptera* of *Calotropis procera* and the metabolites of the pods of *Acacia nilotica* likely to be used like biopesticides to test them, in the long term, on parasites or phytopathogenes.

The study thus consisted of the phytochimic analysis of the powder of the wood of trunk of *Terminalia macroptera* (Combretaceae), of *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) and that of the pods of *Acacia nilotica* (Mimosaceae) in order to discover possible properties biopesticides. These plants were selected starting from a carried out ethnopharmacologic survey, as a preliminary, near 30 tradipraticians of the area of Ouaddaï (East of Chad).

The fine powder of the wood of trunk of *Terminalia macroptera* was extracted by maceration in methanol; after filtration and evaporation penny-vacuum, the extracts methanolic obtained were gathered in only one extract which was used for the other phases of the phytochimic analysis (fractionation, purification, analyses HPLC-UV-SM, etc.) and produced all the compounds insulated and identified thereafter.

The powder of the sample of *Calotropis procera* was extracted successively in methanol then chloroform by maceration and gave a methnolic fraction and a chloroformic fraction. Only the extracts methanolic of *Calotropis procera* were the subject of analyses HPLC-UV/DAD.

The powder of pods of *Acacia nilotica* was successively macerated in methanol then chloroform to give an extract methanolic and a chloroformic extract which were both analyzed by HPLC/UV/SM.

The methods of identification used for these analyses are the UPLC-UV/DAD-MS/QTOF and NMR 1D and 2D These analyses which consists of a first approach of the chemical composition of the parts of these plants did not make it possible to propose coherent structures for *Calotropis procera* and *A. nilotica* which require other complementary analyses in UHPLC-UV-SM/SM. However, in *Terminalia macroptera* these analyses allowed the identification of the ellagic acid, the gallic acid, the ellagic acid 3,3' dimethyl, the acid 3,3',4-tri -*O*- ellagic methyl, the quinic acid galloyl, acid 23-*O*- galloyl arjunolic, the ellagic C-galloyl acid, and the acid 23-*O*-galloyl terminolic. These compounds are for the majority of polyphenols derived from the gallic or ellagic acid. Of two identified triterpenes, acid 23-*O*-galloylterminolic is identified for the first time in the kind in its gallic ester shape of acid; in

the same way the stilbenoids identified in this work are it also for the first time in the family of Combretaceae.

The biological activities of certain extracts of *Terminalia macroptera* were evaluated. Thus the evaluation of the attractants effects or repulsifs of certain vegetable extracts on the mosquito *Culex* sp., realized in this work made it possible to confirm their repulsif effect ; the properties antibactériennes of the vegetable extracts evaluated on *Staphylococcus aureus* by the method of microdilutions made it possible to study the inhibiting effect of the pumps with efflux (IPE) of the vegetable extracts and to show that certain fractions of *Terminalia macroptera* have better bactericidal effect (better MIC) than that of antibiotic of reference, the ciprofloxacin ; the evaluation of the antioxydant capacity carried out with the test of the radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) made it possible to show that, compared with an antioxydant of reference, the fractions of *Terminalia macroptera* have an equivalent antioxydant activity.

Being given the very old traditional uses of these plants, it is desirable that complementary work is completed later on for phytochimic and biological analyses thorough on *A. nilotica* and *Calotropis procera* but also to specify the repulsive activities of *Terminalia macroptera* on various species of mosquitos.

Key words : acid 23- *O* - galloyl terminolic ; biopesticides ; chromatography, Ouaddaï ; phytochemistry ; spectroscopy ; *Terminalia macroptera* ; *Calotropis procera* ; *Acacia nilotica*.

## I.1. INTRODUCTION

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a développé une relation intime avec son environnement. Pour se soigner, il a appris à discerner les ressources animales et végétales nécessaires à sa survie. Pour cela, il s'est inspiré des habitudes ou comportement des animaux, de son expérience propre et même de son intelligence.

La transmission du savoir étant orale dans l'antiquité, les connaissances acquises ont été transmises de génération en génération.

Les premiers documents écrits où sont mentionnés les noms des drogues comme l'opium et la jusquiame, *Hyoscyamus niger* (Solanaceae), datent seulement de 4000 ans avant Jésus-Christ. Les civilisations babylonienne, sumérienne et égyptienne accumulent les connaissances empiriques concernant les plantes médicinales et les arabes diffusent ce savoir autour du bassin méditerranéen.

La « théorie des signatures » imaginée par Paracelse qui est basée sur la croyance que l'aspect, la couleur et la saveur de chaque plante indiquent ses propriétés médicinales, a permis en Afrique comme en Europe, un développement important de l'emploi de la pharmacopée traditionnelle. On considère à l'heure actuelle que près de 75 % de la population africaine n'a recours qu'aux plantes qui l'entourent pour se soigner et n'a pas accès aux médicaments dits « modernes ». Cette pharmacopée traditionnelle découverte par les premiers explorateurs de l'Afrique a déjà été introduite dans de nombreux médicaments en Europe. Elle a aussi donné lieu à des grandes découvertes comme la réserpine du *Rauwolfia vomitoria* (Apocynaceae), produit de départ des neurosédatifs. Depuis trente ans, de nombreux travaux ont essayé de vérifier l'action des médicaments traditionnels et leur toxicité. De nombreuses plantes utilisées telles quelles sont aussi efficaces que les médicaments importés par l'Afrique et inconnus par la plus grande partie de la population.

Depuis des décennies, de nombreux chercheurs étudient scientifiquement les plantes médicinales. Certaines utilisations ont été confirmées et les principes actifs isolés. Mais il reste un travail important à faire pour pouvoir mettre sur le marché, parallèlement aux médicaments dits « modernes », des plantes parfaitement analysées sur le plan toxicologique et pharmacologique (Pousset, 1989). C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude qui vise à rechercher les métabolites secondaires de certaines plantes utilisées traditionnellement au Tchad oriental comme répulsives des moustiques et des termites. Le présent travail s'inscrit donc dans la perspective de la valorisation de la pharmacopée traditionnelle du Tchad par l'analyse phytochimique et la recherche de nouvelles molécules susceptibles d'être utilisées pour leurs propriétés pharmacologiques (Pousset, 1989).

*Terminalia macroptera* Guill. Et Perr. (Combretaceae), *Calotropis procera* (Ait.) Ait.F (Asclepiadaceae) et *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex Del. (Mimosaceae) sont des espèces utilisées traditionnellement au Tchad comme répulsive des moustiques, comme anti termite et comme conservateur. Lorsqu'ils sont brûlés, les morceaux de bois du tronc de *Terminalia macroptera* sont réputés au Tchad pour repousser les moustiques. Le bois du tronc de *Calotropis procera* est utilisé dans la construction du toit des maisons afin de repousser les termites, dans les zones où pullulent ceux-ci. Les fruits de *A. nilotica* sont utilisés traditionnellement dans les régions sahéliennes comme au Tchad pour conserver les corps et éviter leur putréfaction.

Peu d'études chimiques ont été entreprises sur le bois du tronc de *T. macroptera* Guill. Et Perr., et seuls des tannins dérivant de l'acide gallique ont été mis en évidence (Conrad et al., 2001 ; Kraus et al., 2002). L'investigation phytochimique du bois de tronc entreprise dans ce travail pourrait donc mener à la purification de métabolites secondaires originaux, qu'il serait intéressant de tester comme agents insecticides et/ou répulsifs d'insectes volants.

Les études phytochimiques réalisées sur les écorces de racines de *C. procera* (Ait.) Ait.F ont révélé la présence d'esters norditerpéniques et de triterpénoïdes pentacycliques (Ansari et al., 2001), ainsi que des dérivés originaux de cardénolides (Van Quaquebeke et al., 2005), mais aucune étude phytochimique du bois de tronc n'a été publiée. D'autre part, de nombreuses propriétés biologiques ont été associées au latex, aux feuilles ou aux écorces de cet arbre, notamment comme antibactérien, insecticide, larvicide, acaricide et antihelminthique (Juncker et al., 2009). Il paraît donc intéressant de rechercher des métabolites secondaires présents dans le bois du tronc qui pourraient expliquer l'utilisation traditionnelle de ce bois et trouver une application dans le contrôle du développement des nuisibles.

Des activités antimicrobiennes des fruits et des feuilles de *A. nilotica* (L.) Willd. Ex Del. (Mimosaceae) sur différents pathogènes ont été publiées (Haj Ali et Yagoub, 2007), y compris sur des organismes MDR (Multidrug Resistant) (Khan et al., 2009). De plus, des activités antioxydantes et anti-quorum sensing des fruits (Singh et al., 2009) et également des activités larvicides des parties aériennes ont été décrites (Chaubal et al., 2005). Les effets antimicrobiens des extraits de fruits n'ont été testés que sur des pathogènes humains, mais il serait intéressant de les tester sur des phytopathogènes bactériens ou fongiques, et également d'évaluer leur pouvoir insecticide et/ou répulsif.

### **I.1.2. Problématique**

Les perturbations écologiques engendrées par l'utilisation non raisonnée des pesticides d'origine synthétique dans les pratiques agricoles depuis le milieu du 20ème siècle, se manifestant principalement par l'émergence de résistances des organismes visés et d'effets nocifs sur les organismes non visés, ont relancé le débat et l'intérêt d'utiliser des « biopesticides » (récemment renommés « biocontrol agents (BCAs) »).

Ces « agents de biocontrôle » sont classifiés selon trois grandes catégories aux Etats-Unis selon l'Environmental Protection Agency (EPA) : les pesticides biochimiques qui contiennent des substances d'origine naturelle pouvant être microbiologiques, fongiques, minérales, végétales ou animales ; les pesticides microbiens dont l'agent actif peut-être un virus, une bactérie, un champignon ou un protozoaire ; les « agents protecteurs incorporés dans les plantes » (plant-incorporated protectants – PIPs), composés extraits de plantes ayant été modifiées génétiquement ([www.epa.gov/pesticides/biopesticides](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides)).

Au niveau Européen, la définition du terme biopesticides est étudiée par le biais du programme REBECA ([www.rebeca.net.de](http://www.rebeca.net.de)) qui propose d'inclure plus largement les organismes vivants (micro-organismes, insectes, mites, nématodes, baculovirus, etc.), les composés chimiques impliqués dans la communication des espèces (phéromones, composés allélopathiques, phytoalexines, etc.) et les extraits végétaux mais excluant les OGM pour lesquels une réglementation spécifique est adoptée.

Depuis 2008, le gouvernement français a mis en place le plan Ecophyto 2018 qui vise à réduire l'usage des pesticides de 50 % sur 10 ans, tout en favorisant entre autre la mise sur le marché de produits alternatifs, et notamment de biocontrôle (axe 2 du plan Ecophyto) (<http://agriculture.gouv.fr/sections/magazine/focus/phyto-2018-plan-pour>).

Dans tous les cas, ces biopesticides ont pour but de contrôler le développement des nuisibles (insectes, mauvaises herbes, phytopathogènes, etc.) et/ou de renforcer la protection des plantes face à ceux-ci. Ils doivent être de nature moins toxiques que les pesticides chimiques, actifs uniquement sur une cible biologique définie, efficaces à faibles quantités et être décomposés rapidement dans l'environnement.

Dans ce contexte, un regain d'intérêt pour les molécules d'origine végétale a été constaté, du fait de leur forte implication dans les relations écologiques plantes-organismes d'une part, avec des activités insecticides, allélopathiques, antimicrobiennes, antifongiques ou nématicides qui font partie des défenses naturelles des plantes (Wink, 2006) ; d'autre part, du fait de leur sélectivité et de leur spécificité d'action sur les cibles biologiques ainsi que de leur faible rémanence dans l'environnement (Philogène et *al.*, 2008 ; Regnault-Roger & Philogène,

2008). Ainsi, de nombreuses études sont menées à l'heure actuelle pour rechercher des pesticides d'origine végétale (Gonzales-Coloma, 2008).

L'objectif général de cette étude est d'identifier les métabolites actifs sur le bois de tronc de *Terminalia macroptera*, de *Calotropis procera* et sur les fruits de *Acacia nilotica* susceptibles d'être utilisés comme biopesticides puis tester leur activité sur des parasites ou des phytopathogènes en vue de les utiliser, à terme, dans l'amélioration de la santé de nos populations.

Ce travail présente, dans le chapitre I, la problématique, les données botaniques, l'écologie, la distribution, les données ethnobotaniques, chimiques et pharmacologiques des espèces étudiées ; dans le chapitre II, le cadre de recherche, le matériel et les méthodes utilisées ; ensuite traite des résultats obtenus dans le chapitre III, les discute puis tire la conclusion et fait des perspectives dans le chapitre IV. Enfin, il donne la bibliographie et présente les schémas de purification, les données spectrales des composés et leurs profils HPLC.

#### **I.1.2.1. Question de recherche**

L'investigation chimique des parties utilisées de ces plantes de notre terroir ne pourrait-elle pas apporter des réponses qui justifieraient les utilisations traditionnelles de ces plantes ?

#### **I.1.2.2. Hypothèses de recherche**

Les hypothèses à vérifier au cours de cette étude sont les suivantes :

1. le screening phytochimique fait sur ces espèces pourrait conduire à la découverte des composés à potentiel antiparasitaire, bactéricide, etc. ;
2. l'extraction, le fractionnement et la purification des composés de ces plantes pourrait permettre d'identifier des métabolites qui expliqueraient l'efficacité de ces espèces quant aux usages qu'on en fait ;
3. les activités biologiques des composés isolés et identifiés de ces plantes qui pourraient être réalisées conduiraient à justifier leur utilisation et contribueraient éventuellement à son amélioration.

Trois objectifs spécifiques ont été définis pour cette thèse, à savoir :

- extraire, fractionner et purifier les composés aux moyens de techniques chromatographiques analytiques et préparatives couplées ou non (CCM, SPE, Chromatographie d'Exclusion, MPLC, HPLC couplées à l'UV, à la SM) ;
- identifier les composés purifiés par techniques spectroscopiques (UV/SM/RMN) ;
- effectuer une purification bio-guidée.



# CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

## I.1. *Terminalia macroptera* (Combretaceae)

### I.1.1. Données botaniques

#### I.1.1.1. Classification des Combretaceae

Les Combretaceae sont une famille des plantes supérieures appartenant à l'ordre des Myrtales, à la classe des Dicotylédones et à l'embranchement des Spermatophytes du règne végétal.

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Combretaceae

#### I.1.1.2. Famille

La famille des Combretaceae comprend près de 600 espèces et 14 à 20 genres.

Les Combretaceae sont des arbres, des arbustes ou souvent des lianes, certains adaptés aux zones arides, largement répandus dans les régions subtropicales à tropicales.

## I.1.2. Caractéristiques, écologie et distribution de *Terminalia macroptera*

### I.1.2.1. Caractères systématiques

Arbre à cime étalée et ouverte (fig.1a). Ecorce profondément crevassée, brun gris ou noirâtre (fig.1d). Tranche brun rouge à l'extérieur, jaunâtre à l'intérieur. Ramilles gris brun, glabres ; écorce subéreuse à partir de la première année.

Feuilles (fig.1b) alternes, étroitement obovales ou elliptiques, 15-35 x 6-16 cm, sommet arrondi ou courtement acuminé ; base atténuée. Pétiole mesurant jusqu'à 2 cm de long, mais feuilles en général sessiles. Feuilles glabres. 2 glandes vers la base de la nervure sur la face inférieure des feuilles.

Nervation saillante, pennée à 15-25 paires de nervures secondaires longeant le bord du limbe. Nervures tertiaires parallèles.

Fleurs blanchâtres, 0,5 cm de large, en racème mesurant jusqu'à 22 cm de long.

Fruits (fig.1c) à 2 ailes, elliptiques ou oblongs, 7-13 x 3- 4,5 cm, glabres. (Geerling, 1988).

### I.1.2.2. Ecologie et distribution

Il pousse dans les mares, les bas-fonds (à leur bord) ou sur les termitières.

Très répandu en Afrique, du Sénégal à l'Ouganda (Maydell, 1992).

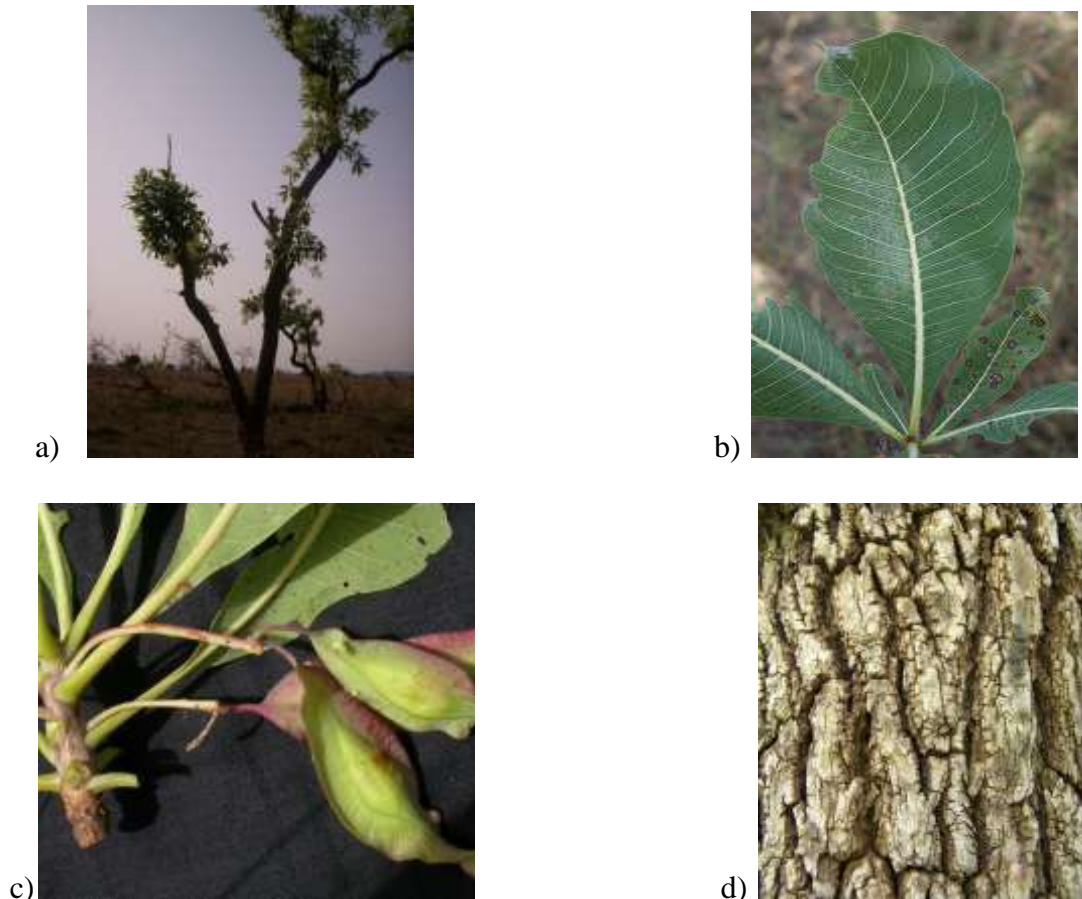


Fig.1. *Terminalia macroptera* (a : plant (cliché Chahad, 2007)); b : feuilles; c : fruit; d : écorce ([http : //fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org), consulté le 5 janvier 2013).

### I.1.2.3. Données ethnobotaniques sur *Terminalia macroptera*

L'infusion des feuilles s'emploie contre les hépatites. Les rameaux en infusion contre la fatigue, les dépressions, la fièvre, la syphilis, ou comme aphrodisiaque. Les feuilles et les racines sont utilisées comme diurétique, contre les maladies de la peau. Les racines pour le traitement des blessures. Les graines contre les migraines. Les galles des fruits contre la dysenterie. La cendre a des emplois cosmétiques (Maydell, op.cit.).

La médecine traditionnelle africaine traite des pathologies diverses par les écorces, les racines et les feuilles de *T. macroptera* (Pham et al., 2011).

Sur une étude réalisée au Sud-ouest de Bamako (Mali), ces auteurs ont évalué les usages médicaux faits par différentes communautés de la zone sur les différentes parties de la plante (tableau I).

Tableau I. Taux d'utilisation de différentes parties de *Terminalia macroptera* dans différents districts du Mali (Pham et al., 2011).

	Siby	Dogonland	Dioïla	Total
Racines	15(50%)	0	12(27%)	27(33%)
Ecorces	6(20%)	3(37%)	19(43%)	28(34%)
Feuilles	8(27%)	1(13%)	6(14%)	15(18%)
Loranthus	0	4(50%)	7(16%)	11(13%)
Fruits	1(3%)	0	0	1(1%)

Au Ouaddaï (Est du Tchad), l'infusion des feuilles de *T. macroptera* est bue à volonté pour traiter l'hépatite et la poudre des racines desséchées est utilisée pour soigner les blessures (Chahad, 2007). Outre les usages médicaux, le bois du tronc de l'espèce est utilisé dans tout le pays contre les moustiques : il est mis à brûler dans un encensoir et la fumée qui s'en dégage chasse les moustiques.

#### **I.1.2.4. Données chimiques sur *Terminalia macroptera***

Plusieurs composés ont été jusqu'à nos jours isolés de différentes parties de l'espèce.

##### **I.1.2.4.1. Flavonoïdes**

Prista et al. ont isolé dès 1962 de l'écorce de *T. macroptera*, un flavonoïde, la quercétine (fig.2a). Un peu plus tard, en 1985, Nongonierma a isolé des fleurs de la même espèce des flavones : l'orientine (fig.2b), l'isorientine (fig.2c) puis le rhamnoglucosyl-3-O-isorhamnétine (fig.2d), le Glu-rham-3-Q (fig.2e) et la rhamnoglucosyl-3-O-quercétine (fig.2f) en 1990.

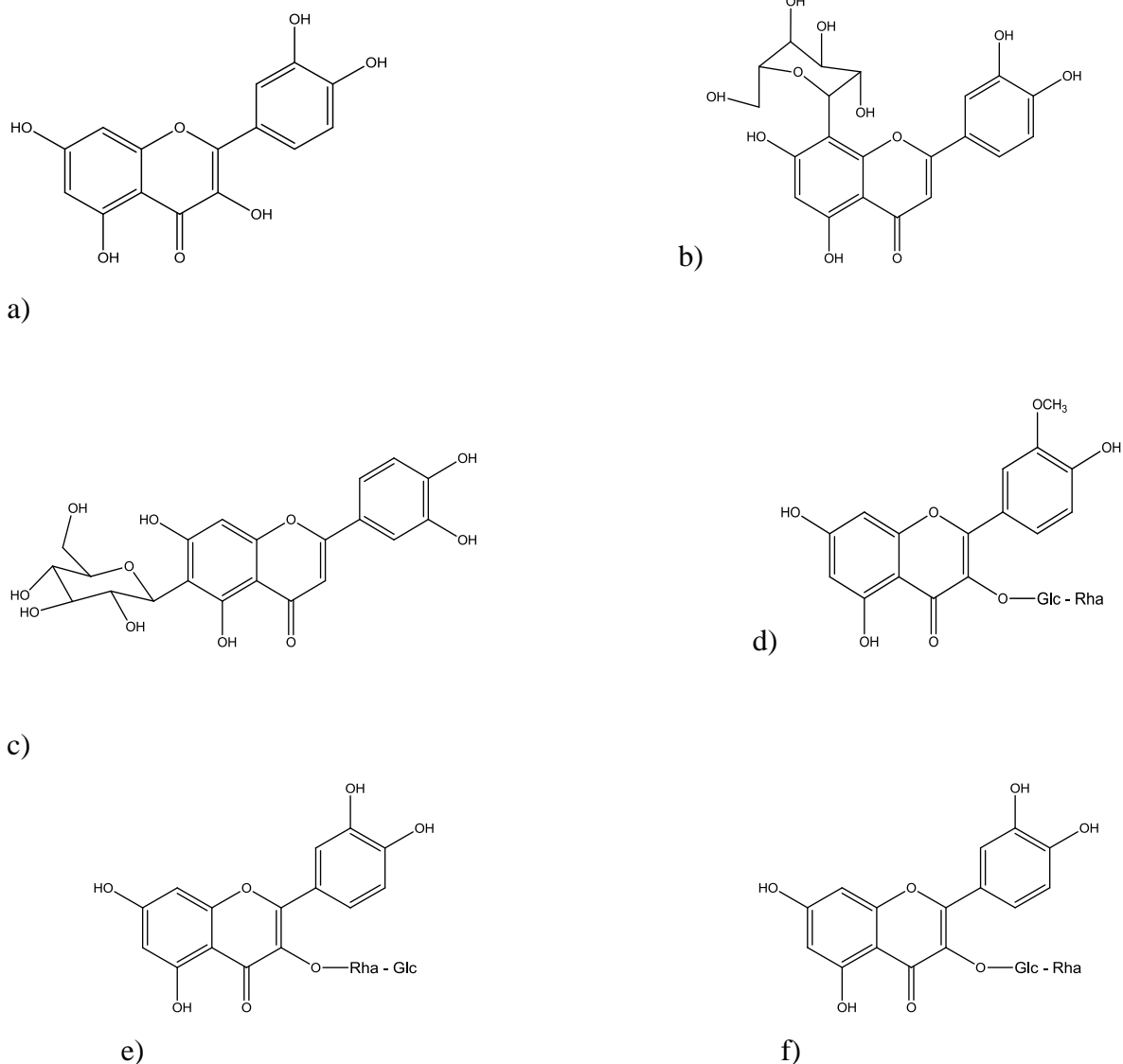


Fig.2. Flavonoïdes de *Terminalia macroptera* (a : Quercétine (écorce ; Prista et *al.*, 1962) ; b : Orientine (fleurs ; Nongonierma, 1985) ; c : Isoorientine (fleurs ; Nongonierma, 1985); d : Rhamnoglucosyl-3-isorhamnétine (fleurs ; Nongonierma, 1990) ; e : Glucorhamnosyl-3-quercétine (fleurs ; Nongonierma,1990) ; f : Rhamnoglucosyl-3-quercétine (fleurs ; Nongonierma, 1990 )).

#### I.1.2.4.2. Terpènes

Conrad et *al.* ont isolé en 1998 des écorces de *T. macroptera*, l'acide arjunique (fig.3a), l'acide 23-galloylarjunolique (fig.3b), l'ester 28-*O*-glucopyranoside de l'acide 23-galloylarjunolique (fig.3c), l'acide terminolique (fig.3d), l'arjungénine (fig.3e), l'arjunglucoside1 (fig.3f), l'acide séricique (fig.3g), et le séricoside (fig.3h).

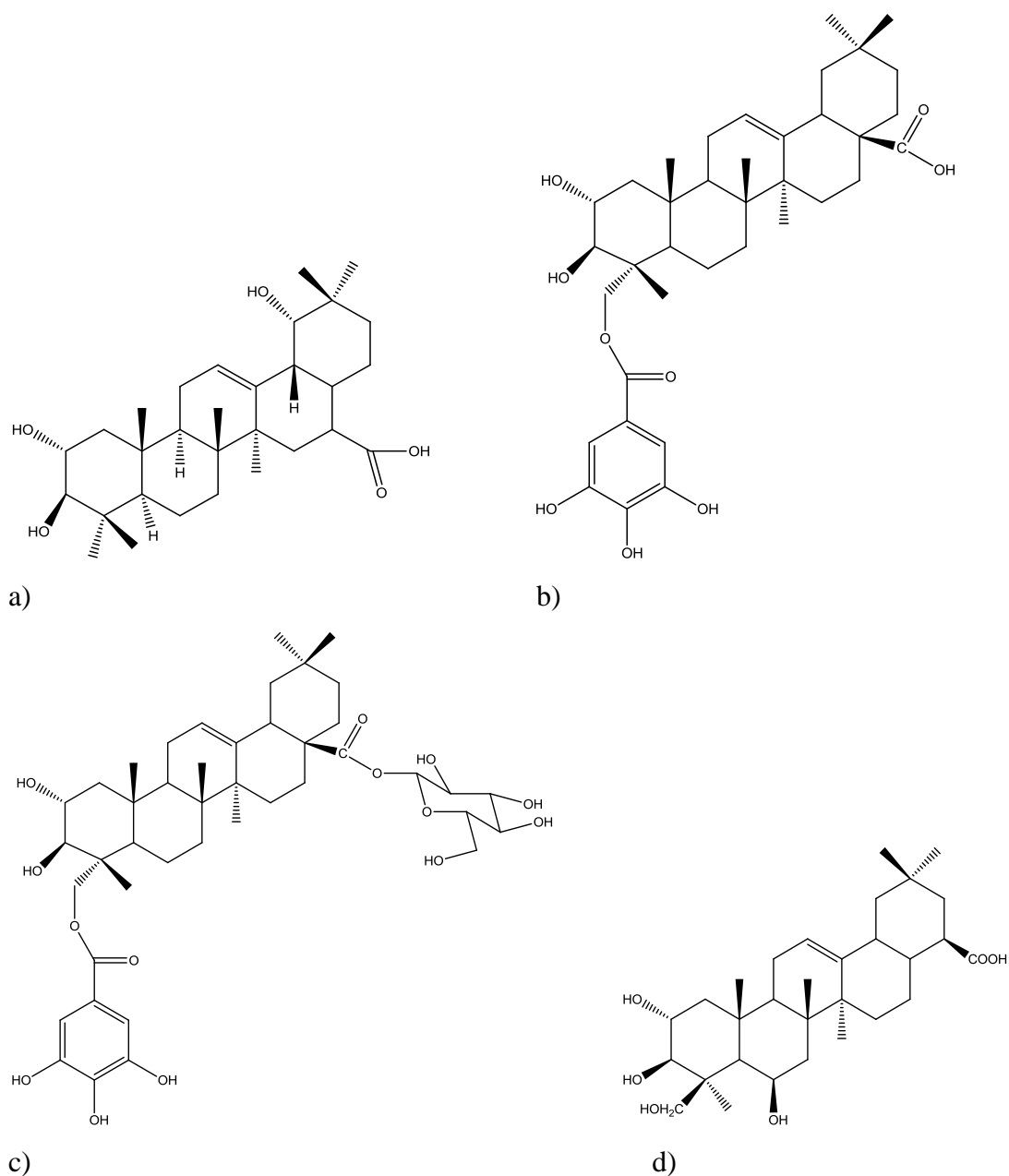


Fig.3. Terpènes de *Terminalia macroptera* isolés des écorces (a : Acide arjunique ; b : Acide 23-*O*-galloylarjunolique ; c : Acide 23-galloyl-28-*O*-glucopyranosyl arjunolique ; d : Acide terminolique ou 6-β- hydroxyarjunolique ; Conrad et *al.*, 1998).

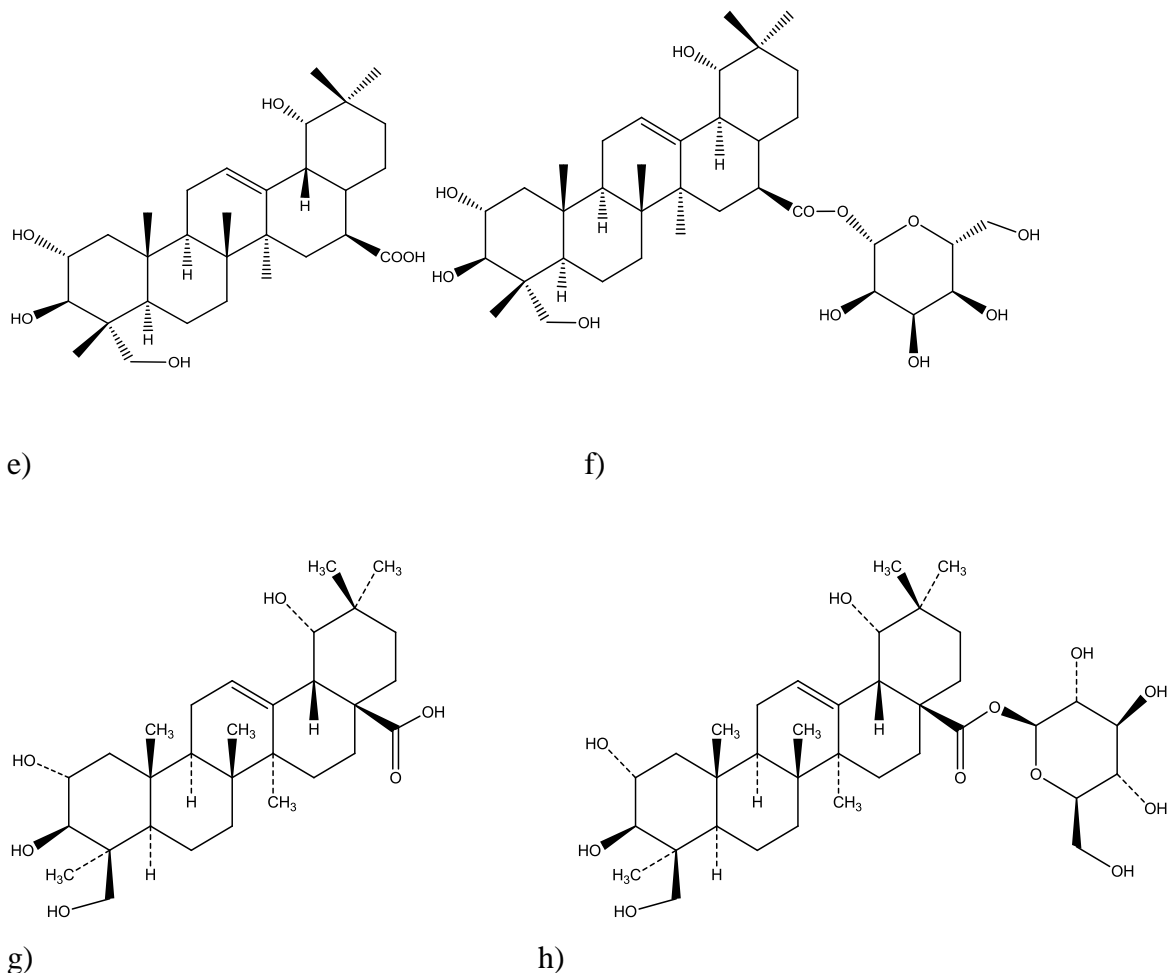


Fig.3. (suite) Terpènes de *Terminalia macroptera* isolés des écorces (e : Arjungenine ; f : Arjunglucoside 1 ; g : Acide séricique ; h : Sérucoside ; Conrad *et al.*, 1998).

#### I.1.2.4.3. Dérivés phénoliques

Des dérivés phénoliques ont été isolés des racines : l'acide ellagique (fig.4a), l'acide 3, 3'-di-*O*-méthyl-ellagique (fig.4b) l'acide 3,4,3',4'-tetra-*O*-méthyl-ellagique (fig.4c), l'acide gallique (fig.4d), la punicalagine (fig.4e), la terchebuline (fig.4f), et la terflavine A(fig.4g) (Silva *et al.*, 2000) ; l'isoterchebulline (fig.4h), la 4,6-*O*-isoterchebuloyl-D-glucoside (fig.4i), le 2,3-*O*-(*S*)-hexahydroxydiphényl-D-glucoside (fig.4k), la punicalagine, la terflavine A, la terflavine B (fig.4.l), la 2-*O*-galloyl-punicaline (fig.4.j), et la puniacorteine (fig.4.m) (Conrad *et al.*,2001) puis l'acide 23-galloylarjunolique et l'isoterchebuline(Kraus *et al.*,2002) des écorces.

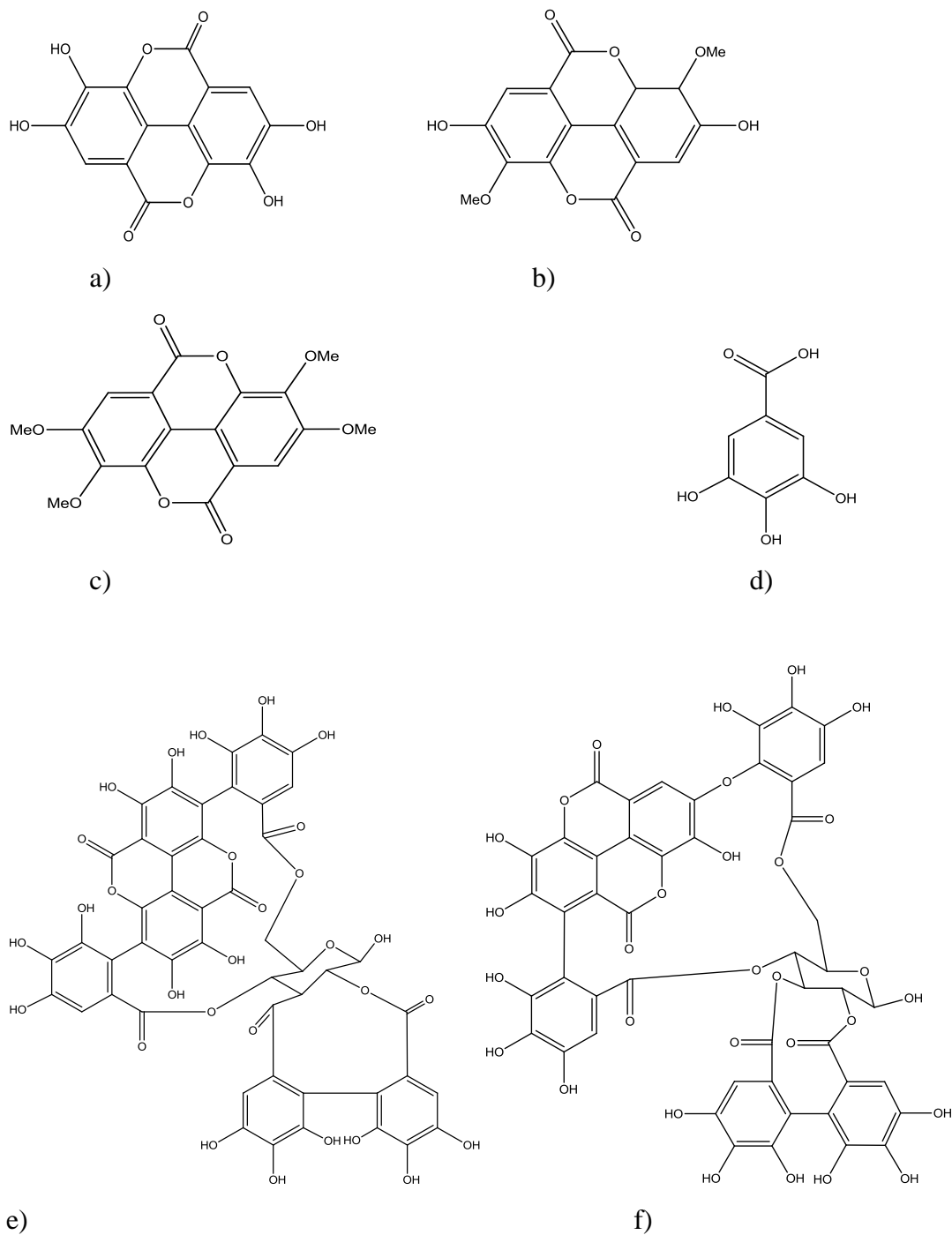


Fig.4. Dérivés phénoliques de *Terminalia macroptera* isolés des racines (a : Acide ellagique; b : Acide 3,3'-di-*O*-methyl-ellagique ; c : Acide 3, 4, 3',4'-tetra-*O*-methyl-ellagique ; d : Acide gallique ; e : Punicalagine ; f : Terchebuline ; Silva et *al.*, 2000).

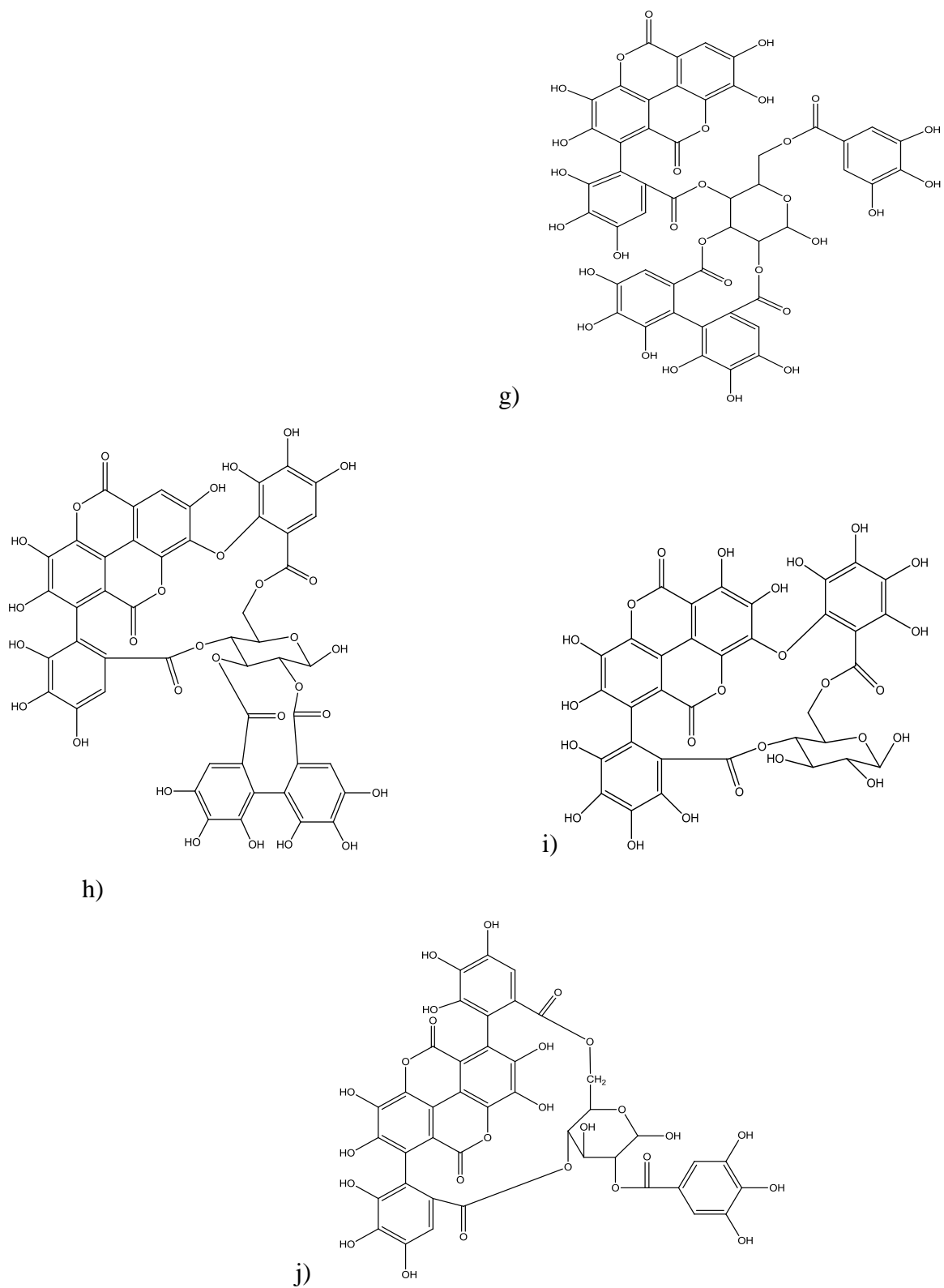


Fig.4. (suite) Dérivés phénoliques de *Terminalia macroptera* isolés des racines (g : Terflavine A (Silva *et al.*, 2000) ; h : Isoterchebuline ; i : 4,6-*O*-isoterchebuloyl-D-glucose ; j : 2-*O*-galloyl-punicaline (Conrad *et al.*,2001)).



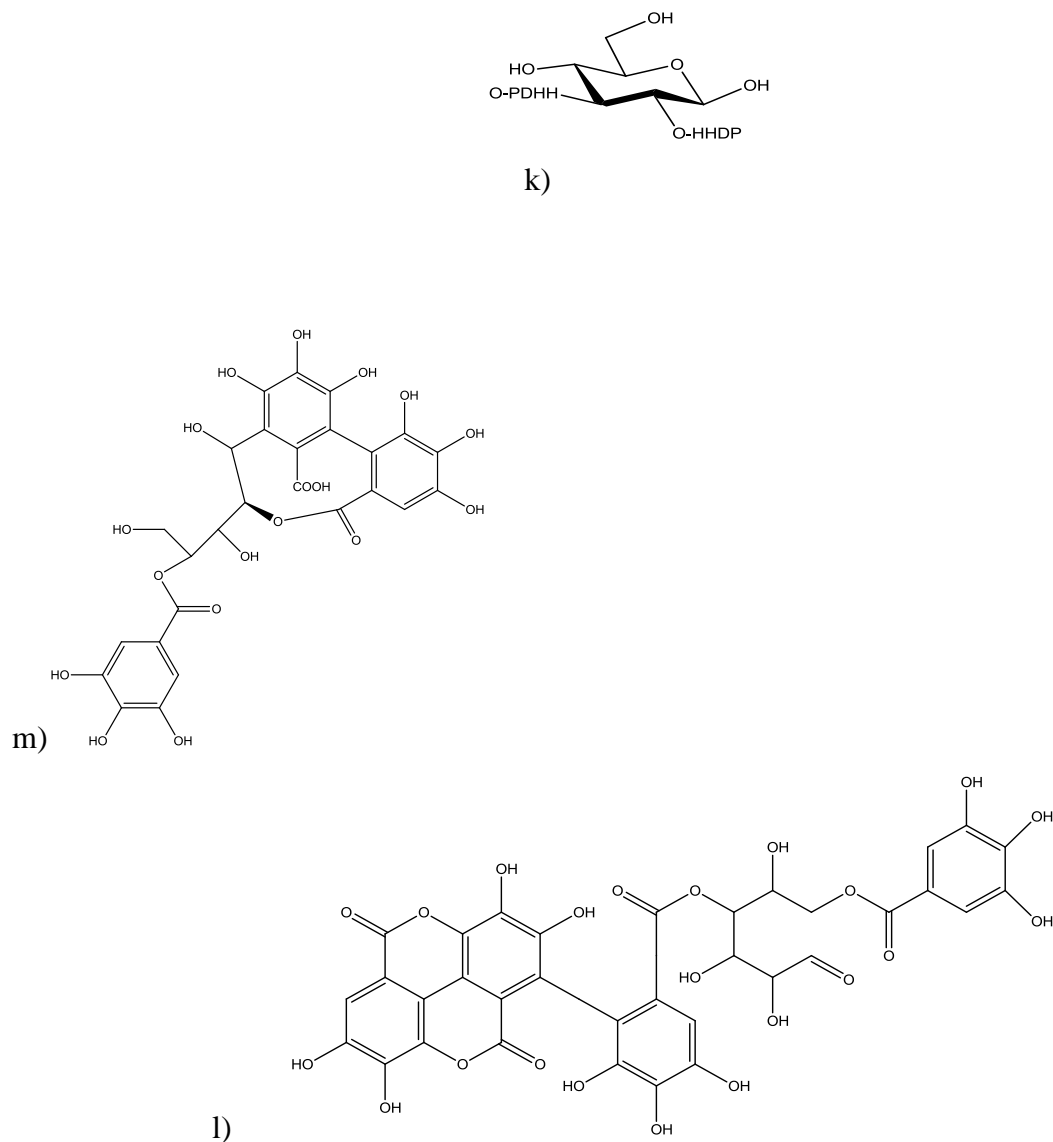


Fig.4. (suite et fin) Dérivés phénoliques de *Terminalia macroptera* isolés des racines (k : 2, 3-*O*-(*S*)-hexahydroxy-diphenoyl-*D*-glucose ; l : Terflavine B ; m : Punicacorteine (Conrad et *al.*, 2001)).

#### I.1.2.4.4. Dérivés azotés

Sanon et *al* (2003) ont isolé un alcaloïde terpénique (fig.5a) des feuilles et des écorces de *T. macroptera*.

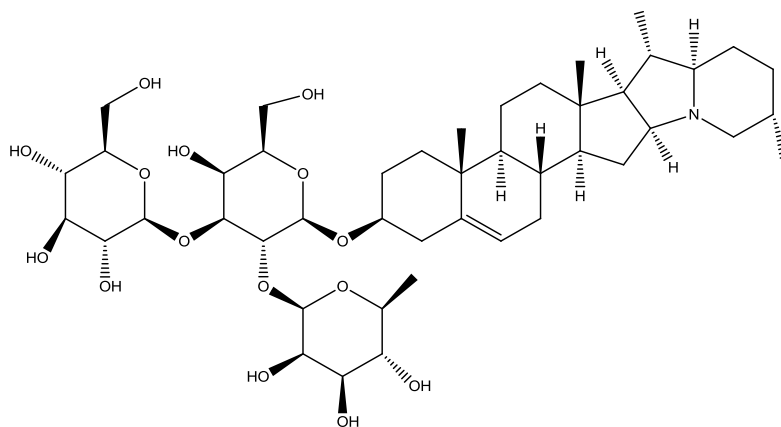


Fig.5. Alcaloïde terpénique de *Terminalia macroptera* isolé des feuilles et des écorces (Sanon et al., 2003)

#### I.1.2.5. Données pharmacologiques sur *Terminalia macroptera*

Différentes activités biologiques ont été répertoriées pour les extraits de *T. macroptera* :

Les extraits racinaires (extraits n°12 tableaux II et III) ont montré des activités antimicrobiennes (tableaux IV à IX) sur *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* (Silva et al., 1996), *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. et *Shigella* sp. (Silva et al., 1997) et les extraits de feuilles une activité antibiotique (tableau X) contre *Neisseria gonorrhoeae* (Silva et al., 2002).

Tableau II. Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques en milieu solide (Silva et al.,1996 ; - : pas d'activité détectée ; NT : non testé ; extrait n°1 : parties aériennes de *Cassia nigricans* (Caesalpiniaceae) ; extrait n°2A : racines de *Cassia podocarpa* (Caesalpiniaceae) ; extrait n°2E : feuilles de *Cassia podocarpa* ; extrait n°3 : rhizomes de *Cochlospermum tinctorium* (Cochlospermaceae) ; extrait n°4 : racines de *Cryptolepis sanguinolenta* (Asclepiadaceae) ; extrait n°5 : racines d'*Elaeis guineensis* (Arecaceae) ; extrait n°6A : racines de *Entada africana* (Mimosaceae) ; extrait n°6C : écorces du tronc d'*Entada africana* ; extrait n°7 : racines de *Gardenia ternifolia* (Rubiaceae) ; extrait n°7H : décoction des racines de *Gardenia ternifolia* ; extrait n°8A : racines de *Guiera senegalensis* (Combretaceae) ; extrait n°8B : parties aériennes de *Guiera senegalensis* ; extrait n°9 : racines de *Hymenocardia acida* (Euphorbiaceae) ; extrait n°10A : racines de *Pavetta oblongifolia* (Rubiaceae) ; extrait n°10D : tiges de *Pavetta oblongifolia* ; extrait n°10E : Feuilles de *Pavetta oblongifolia* ; extrait n°11C : écorces du tronc de *Piliostigma thonningii* (Fabaceae) ; extrait n°11E : feuilles de *Piliostigma thonningii* ; extrait n°12 : racines de *Terminalia macroptera*).

Microorganismes testés	Extraits éthanoliques testés												Zones d'inhibition (mm)						
	1	2A	2E	3	4	5	6A	6C	7	7H	8A	8B	9	10A	10D	10E	11C	11E	12
<i>Campylobacter coli</i>	-	9	14	-	34	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	8	10		29	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	8	-	14	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	10
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	21	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	13	-	8	-	10	-	8	-	NT	-	-	-	-	-	-	13	15	12
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	11	14	-	-	9	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	-	10
<i>Shigella dysenteriae</i>	9	-	-	10	14	-	-	10	-	NT	9	-	-	-	-	9	-	8	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	10	9	9	13	11	11	11	-	14	13	10	-	-	9	-	13	12	20
<i>Streptococcus faecalis</i>	13	12	10	8	19	9	10	11	-	-	12	9	-	9	-	9	12	11	13
<i>Vibrio cholera</i>	17	15	20	12	17	NT	7	13	-	-	13	11	-	-	8	-	12	14	17

Tableau III. Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques en milieu liquide (Silva et al., 1996 ; Extrait n°1 : parties aériennes de *Cassia nigricans* (Caesalpinaceae) ; extrait n°2A : racines de *Cassia podocarpa* (Caesalpinaceae) ; extrait n°2E : feuilles de *Cassia podocarpa* ; extrait n°3 : rhizomes de *Cochlospermum tinctorium* (Cochlospermaceae) ; extrait n°4 : racines de *Cryptolepis sanguinolenta* (Asclepiadaceae) ; extrait n°5 : racines d'*Elaeis guineensis* (Arecaceae) ; extrait n°6A : racines d'*Entada africana* (Mimosaceae) ; extrait n°6C : écorces du tronc d'*Entada africana* ; extrait n°7 : racines de *Gardenia ternifolia* (Rubiaceae) ; extrait n°7H : decoction des racines de *Gardenia ternifolia* ; extrait n°8A : racines de *Guiera senegalensis* (Combretaceae) ; extrait n°8B : parties aériennes de *Guiera senegalensis* ; extrait n°9 : racines de *Hymenocardia acida* (Euphorbiaceae) ; extrait n°10A : racines de *Pavetta oblongifolia* (Rubiaceae) ; extrait n°10D : tiges de *Pavetta oblongifolia* ; extrait n°10E : Feuilles de *Pavetta oblongifolia* ; extrait n°11C : écorces du tronc de *Piliostigma thonningii* (Fabaceae) ; extrait n°11E : feuilles de *Piliostigma thonningii* ; extrait n°12 : racines de *Terminalia macroptera*).

Microorganismes testés	Extraits éthanoliques testés														
	1	2A	2E	3	6A	6C	8A	8B	9	10A	10D	10E	11C	11E	12
	Concentration minimale inhibitrice (mg/ml)														
<i>Candida albicans</i>	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25	>25
<i>Escherichia coli</i>	1,56	6,25	>25	>25	25	12,5	>25	25	25	25	>25	25	>25	25	12,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,25	25	25	>25	>25	1,56	6,25	25	25	25	>25	25	>25	12,5	3,13
<i>Salmonella typhimurium</i>	1,56	6,25	>25	>25	>25	12,5	>25	>25	25	>25	>25	25	>25	25	>25
<i>Shigella dysenteriae</i>	0,78	6,25	25	25	6,25	6,25	0,78	0,78	12,5	25	>25	25	3,13	6,25	0,78
<i>Staphylococcus aureus</i>	<0,39	3,13	1,56	3,13	1,56	<0,39	0,78	1,56	12,5	25	6,25	25	<0,39	1,56	3,13
<i>Streptococcus faecalis</i>	1,56	6,25	>25	6,25	3,13	1,56	1,56	6,25	3,13	>25	6,25	25	0,78	3,13	6,25
<i>Vibrio cholera</i>	0,78	0,78	1,56	1,56	1,56	1,56	0,78	1,56	6,25	1,56	1,56	6,25	0,78	0,78	0,78

Tableau IV. Concentration inhibitrice minimale (CMI) des extraits de *Terminalia macroptera* contre des souches bactériennes de référence (Silva et al., 1997 ; T : extrait éthanolique ; T1 : extrait n-Hexane ; T2 : extrait diéthyléther ; T3 : extrait aqueux ; T4 : fraction aqueuse insoluble ; T5 : fraction aqueuse soluble).

Microorganismes testés	CMI (µg/ml)					
	T	T1	T2	T3	T4	T5
<i>Candida albicans</i>	>10000	>10000	5000	10000	>10000	>10000
<i>Escherichia coli</i>	>10000	>10000	10000	>10000	>10000	10000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5000	>10000	5000	>10000	>10000	2500
<i>Salmonella typhimurium</i>	2500	>10000	2500	>10000	>10000	2500
<i>Shigella dysenteriae</i>	313	>10000	1250	313	1250	313
<i>Staphylococcus aureus</i>	1250	>10000	1250	1250	10000	1250
<i>Streptococcus faecalis</i>	5000	>10000	5000	5000	>10000	10000
<i>Vibrio cholera</i>	≤ 156	5000	625	313	≤ 156	≤ 156

L'extrait éthanolique de *T. macroptera* présente une activité contre toutes les souches étudiées hormis *Candida albicans* et *Escherichia coli* et les plus basses concentrations minimales inhibitrices sont obtenues avec *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera* (tableau IV).

Tableau V. Extrait de *Terminalia macroptera* et activités antibiotiques (CMI, µg/ml) contre *Campylobacter* sp. (test effectué sur 106 souches) (Silva et al., 1997).

Echantillons	CMI 50%	CMI 90%	Intervalle
Extrait de <i>Terminalia macroptera</i>	25	50	6,25-100
Tétracycline	0,195	0,78	< 0,096-50
Erythromicine	0,39	1,56	< 0,096-3,12
Ampicilline	6,25	12,5	0,39625
Streptomycine	1,56	50	0,195- >100
Co-trimoxazole	25	100	6,25-100
Sulfamethoxazole	50	100	1,56-200

La détermination des CMI des extraits racinaires de *T. macroptera* a montré des activités significatives contre *Campylobacter* sp. (Tableau V) ; bien que plus faible que celles de l'ampicilline et de la tétracycline, l'activité anti- *Campylobacter* de ces extraits est plus forte que celle du Sulfamethoxazole et comparable à celle du Co-trimoxazole.

Tableau VI. Extrait de *Terminalia macroptera* et activités antibiotiques (CMI, µg/ml) contre *Vibrio cholerae* (Silva et al., 1997 ; n.t : non testé).

Echantillons	CMI 50 %	CMI 90 %	Intervalle
Extrait de Terminalia macroptera	>800	>800	12,5- >800
Tetracycline	<1,56	6,25	< 1,56-6,25
Erythromicine	n.t	n.t	n.t
Ampicilline	n.t	n.t	n.t
Streptomycine	n.t	n.t	n.t
Co-trimoxazole	n.t	n.t	n.t
Sulfamethoxazole	n.t	n.t	n.t

Ces extraits montrent aussi une certaine activité contre *Shigella* sp. (tableau VII) et *Vibrio cholerae* (tableau IV) même s'ils sont inactifs contre *Escherichia coli* et *Salmonella* sp.

Tableau VII. Activité des extraits racinaires de *Terminalia macroptera* (CMI, µg/ml) contre les souches *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. et *Shigella* sp. (Silva et al., 1997 ; n : nombre des souches testées).

Bacterie	Souches testées(n)	CMI 50%	CMI 90%	Intervalles
<i>Escherichia coli</i>	97	>1600	>1600	800 - > 1600
<i>Salmonella</i> sp.	100	>1600	>1600	> 1600
<i>Shigella</i> sp.	100	800	>1600	200- > 1600

Tableau VIII. Activités anti-*Neisseria gonorrhoeae* in vitro des extraits de feuilles de *Terminalia macroptera* (Silva et al., 2002 ; Tml, extrait de feuilles de *Terminalia macroptera* ; Tml-1, fraction N-hexane ; Tml-2, fraction diéthyl-éther ; Tml-3, fraction acétate d'éthyl ; Tml-4, fraction aqueuse filtrée ; Tml-5, fraction aqueuse précipitée).

Souches <i>N.gonorrhoeae</i>	CMI (µg /ml)					
	Tml	Tml-1	Tml-2	Tml-3	Tml-4	Tml-5
1N	100	100	25	100	200	100
2N	100	100	50	100	200	200
3N	200	100	25	200	400	200
4N	200	200	50	200	400	200
5N	200	100	50	200	400	200
6N	200	200	25	100	400	200
7N	200	200	50	200	200	200
8N	200	100	50	100	200	200
9N	200	100	25	100	400	200

Toutes les fractions présentent des activités contre les différents échantillons étudiés et la fraction la plus active est la fraction diéthyl-éther avec une CMI comprise entre 25 et 50 µg/ml (tableau VIII).

Les extraits de l'écorce ont montré des activités antifongiques, hémolytiques et antihelminthiques (Conrad et al., 1998) (tableau IX).

Tableau IX. Activités biologiques de quelques composés isolés des écorces de *Terminalia macroptera* (Conrad et al., 1998 ; 1 : arjungenine ; 2 : acide séricique ; 3 : acide arjunique ; 4 : acide terminolique ; 5 : acide 23-galloylarjunolique ; 6 : arjunglucoside 1 ; 7 : séricoside ; 8 : ester 28- D- glucopyranoside de l'acide 23-galloylarjunolique. + : +++, très actif ; ++, actif ; + peu actif).

Organismes testés	CMI (µg)*							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Bacillus subtilis</i>	55	2,5	5	5	>>40	>>40	2,5	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5	5	2,5	2,5	2,5	>>40	>>40	10
<i>Cladosporium cucumerinum</i>	10	5	10	20	20	>>40	>>40	>>40
Activité hémolytique	0,6	1,2	0,15	0,3	2,5	20	20	5
<i>Caenorhabditis elegans</i>	+	+	+	+	+++	+	+	+++

1-5 : 50 µg/ml  
6-8 : 100 µg/ml

Des tests antibactériens et antihelminthiques ont été réalisés sur *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* d'une part et *Caenorhabditis elegans* et *Biomphalaria glabrata* d'autre part (Conrad *et al.*, 2001) mais aussi sur *Cladosporium cucumerinum* (Kraus *et al.*, 2002).

Les propriétés antiplasmodiales des feuilles et des écorces (tableau X) ont été évaluées chez *Plasmodium falciparum* (Sanon *et al.*, 2003).

Tableau X. IC<sub>50</sub> de sept extraits bruts de plantes sur une souche de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine (Sanon *et al.*, 2003 ; Contrôle positif : chloroquine (IC<sub>50</sub>= 185 ng/ml)).

Plantes	IC <sub>50</sub> (µg /ml) d'extraits bruts de feuilles et écorces				
	Alcaloïdesbruts	CHCl <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> OH (50%)	H <sub>2</sub> O
<i>Pavetta crassipes</i>	< 4	> 10	> 10	> 10	>500
<i>Cassia siamea</i>	4< IC <sub>50</sub> < 10	> 10	> 10	> 10	23 ,15
<i>Terminalia macroptera</i>	> 10	> 10	> 10	> 10	1
<i>Acanthospermum hispidum</i>	4< IC <sub>50</sub> < 10	> 10	> 10	> 10	64
<i>Crossopteryx febrifuga</i>	4< IC <sub>50</sub> < 10	> 10	> 10	> 10	187
<i>Fadogia agrestis</i>	4< IC <sub>50</sub> < 10	> 10	> 10	> 10	182
<i>Ficus sycomorus</i> (feuilles)	4< IC <sub>50</sub> < 10	> 10	> 10	> 10	430
<i>Ficus sycomorus</i> (écorces)	> 10	> 10	> 10	> 10	63

La meilleure propriété antiparasitaire (IC<sub>50</sub>= 1µg /ml) est présentée ici par l'extrait aqueux de *T. macroptera*.

Zou *et al* (2014) en étudiant l'inhibition de l'α-glucosidase, de la 15-lipoxygénase et de la xanthine oxydase mais aussi l'activité de la DPPH scavenging, l'activité de la fixation du complément des extraits d'écorce de racine, de tige et ceux des feuilles obtenus par extraction à l'eau bouillante et extraction par solvant accélérée dans éthanol (100 %), éthanol/eau (50/50) et eau (100 %) ont montré que la teneur en phénols de tous ces extraits de *T. macroptera* indique la présence des composés riches en inhibiteurs d'enzymes et à forte activité antioxydante ; les extraits obtenus par extraction par solvant accélérée posséderaient le plus grand potentiel d'activité biologique, notamment des activités immunomodulatrices, antioxydantes et inhibitrices d'enzymes comparés aux autres extraits.

En isolant 10 fractions polysaccharidiques des extraits aqueux bruts de racines, d'écorces et de fruits de *T. macroptera*, Zou *et al* (2014) ont montré dans une autre étude que ces extraits possèdent un grand potentiel de l'activité de la fixation du complément qui joue un rôle déterminant dans la défense de l'organisme contre les invasions bactériennes et les infections virales.



## **I.2. *Calotropis procera* (Asclepiadaceae)**

### **I.2.1. Données botaniques**

#### **I.2.1.1. Classification des Asclepiadaceae**

Les Asclépiadaceae sont une famille des plantes supérieures appartenant à l'ordre des Gentianales, à la classe des Dicotylédones et à l'embranchement des Spermaphytes du règne végétal.

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-Classe : Asteridae

Ordre : Gentianales

Famille : Asclepiadaceae

#### **I.2.1.2. Familles**

La famille des Asclépiadaceae regroupe 2000 espèces de Dicotylédones réparties en près de 250 genres.

Il s'agit d'une famille cosmopolite composée en majorité de plantes herbacées, de lianes, d'arbustes mais aussi quelques arbres, parfois à l'aspect cactoïde. On trouve ces espèces dans les régions subtropicales à tropicales avec quelques rares plantes en régions tempérées.

## **I.2.2. Caractéristiques, écologie et distribution de *Calotropis procera***

### **I.2.2.1. Caractères systématiques**

Petit arbre ou arbuste à cime irrégulière et ouverte (fig.6a). Ecorce épaisse, liégeuse, crevassée, brun clair. Tranche jaune. Ramille finement pubescentes, glauques.

Feuilles opposées, obovales ou oblongues, 15-30 × 7-15 cm. Sommet acuminé. Base cordée. Sessile ou presque. Feuilles plus ou moins succulentes, glauques soyeuses pubescentes quand jeunes.

Nervation plus ou moins palmée à la base ; 8-11 paires de nervures secondaires larges mais peu saillantes, se raccordant vers le sommet. Nervures tertiaires peu saillantes, parallèles.

Fleurs vertes et violettes (fig.6b), 2 cm de large, en cymes ombelliformes mesurant jusqu'à 10 cm de large (Geerling, 1988).

Fruits (fig.6c et fig.6d) renflés, subglobuleux, mesurant jusqu'à 10 cm de large.

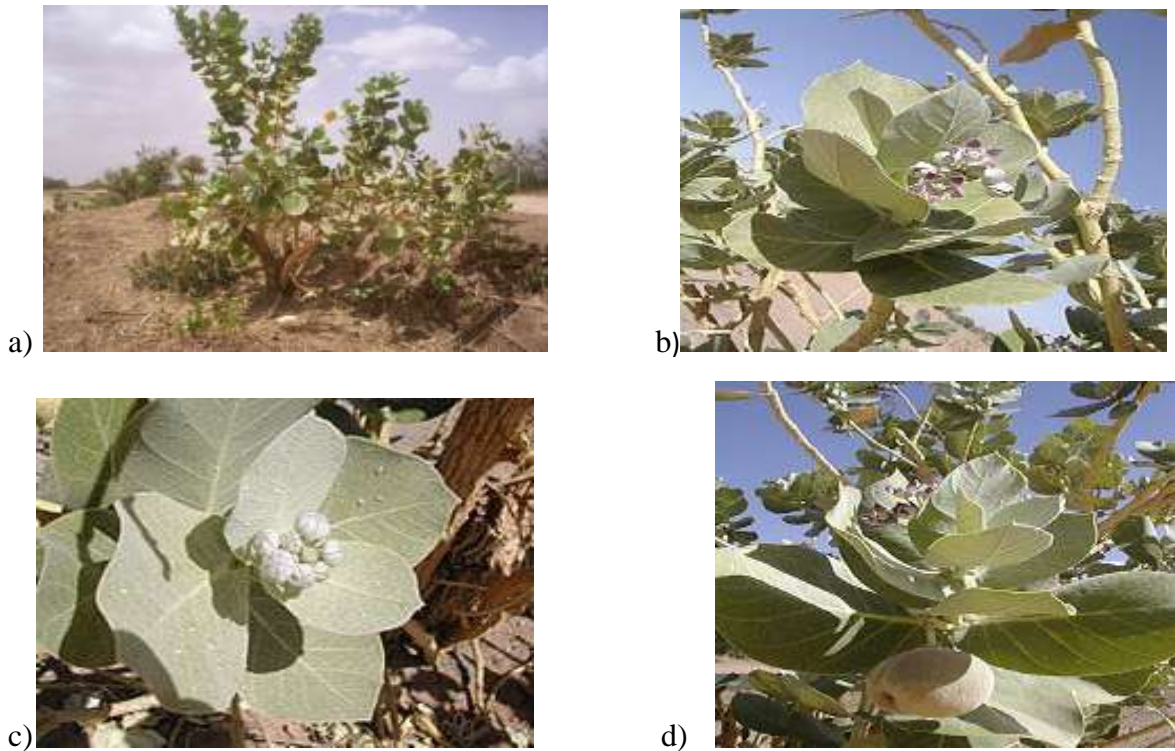


Fig.6. *Calotropis procera* (a : plant de *Calotropis procera* (cliché Chahad, 2007) ; b : fleurs; c et d : fruit mûr ([www.Tela-botanica.org](http://www.Tela-botanica.org) du 21 décembre 2012).

#### **I.2.2.2. Ecologie et distribution**

Cet arbrisseau pousse sur les champs ou jachères. Il est typique des sols fortement dégradés ; près des localités (Maydell, 1989).

L'espèce *Calotropis procera*, appelé encore le pommier de Sodome pousse au nord et au sud du Sahara, mais aussi en Afrique orientale, en Israël, en Arabie saoudite, en Inde, au Pakistan, ainsi que dans plusieurs pays d'Amérique latine. Il est résistant à la sécheresse et tolérant au sel. Ses graines se répandent très rapidement, transportées par le vent et les animaux.

L'arbuste se rencontre fréquemment sur les sols dégradés, en particulier les anciennes cultures et pâtures gagnées par le sable. Floraison surtout pendant la saison sèche. La tradition orale Touareg veut que la présence de cet arbuste signale une ancienne présence humaine enfouie sous les sables et éboulis de roches ([www.Tela-botanica.org](http://www.Tela-botanica.org) du 21 décembre 2012).

### **I.2.2.3. Données ethnobotaniques sur *Calotropis procera***

Toutes les parties de la plante ont des nombreux emplois dans la médecine locale, par exemple contre la lèpre, les vers intestinaux, la syphilis, les rhumes, comme fortifiant stomacal, diurétique et calmant. L'écorce sert aussi d'aphrodisiaque (Maydell, op.cit.).

Il existe diverses utilisations de l'arbre par les populations du Sahel :

- l'écorce et les rameaux pilés permettent de faire cailler le lait ;
- le latex, qui contient de la calotropine, est un dangereux cardiotoxique. Il a été utilisé pour la confection de flèches empoisonnées, mais permet aussi de soigner les plaies des chameaux, ou encore de débarrasser les animaux de leurs tiques. On l'utilise également comme anti vomitif ;
- les chèvres, parfois aussi les moutons, mangent les feuilles desséchées et les fleurs ;
- le bois, à l'épreuve des termites, est utilisé pour la confection de huttes ou de toits. On en fait aussi des flotteurs pour la pêche ou des selles. C'est un combustible apprécié, dont la fumée permet le séchage du poisson ([http : //www.sahara-nature.com/plantes](http://www.sahara-nature.com/plantes) consulté le 7 décembre 2012).

Au Tchad, Les feuilles et les écorces sont utilisées pour la lèpre. Séchées, les feuilles et les écorces sont réduites en poudre puis appliquées sur les plaies du lépreux. Le bois du tronc est utilisé comme poutre pour l'édification des toits de maisons dans les zones où pullulent les termites.

### **I.2.2.4. Données chimiques sur *Calotropis procera***

De nombreux composés sont isolés de *Calotropis procera* ; dès 1968, Chandler et *al.* ont isolé des racines de la plante les quatre digitanols suivants :

- le linéolone (fig.7a)
- l'isolinéolone (fig.7b),
- le benzoyllinéolone (fig.7c),
- le benzoylisolinéolone (fig.7d).

En 1996, Gupta et *al.* ont isolé des mêmes racines quatre nouveaux triterpénoïdes (fig.7e), (fig.7f), (fig.7g), (fig.7h) dont ils élucidèrent les différentes structures. Puis en 1999, Ansari et *al.* ont isolé trois autres triterpènes, le calotropoléanyl ester (fig.7i), les procéroléanol-Aet-B (fig.7j) et (fig.7k), toujours des racines. La même équipe a isolé en 2001 un nouveau norditerpenyl ester (fig.7l) et deux esters triterpéniques pentacycliques (fig.7m et fig.7n).

Al-Rajhy et *al.* ont isolé en 2003 du latex de *C. procera*, un glycoside cardiaque (fig.8a).

En 2005, Van Quaquebeke et *al.* ont identifié dans une analyse d'extrait méthanolique des racines de la même espèce, un nouveau cardénolide, le 2''- oxovoruscharine (fig.8b).

En 2008, Shehab et *al.* ont isolé des fleurs de *C. procera* le méthyl-2-isovaléraldéhyde (fig.8c), l'amyrine (fig.8d), un sitostérol (fig.8e), un glucoside du sitostérol (fig.8f), et deux flavonoïdes, la lutéoléine (fig.8k) et la vitexine (fig.8l)

En 2011, Mishra et *al.* ont isolé et caractérisé, à partir du latex de la plante, deux nouveaux composés (fig.9a et fig.9b).

Nagesh et *al.* ont isolé en 2012 le lupéol (fig.8g), le  $\beta$ -calotropénol (fig.8h) du latex puis le lupéol, le calotropénol, l'acide oléanique (fig.8i), la lutéoléine et l'épicatéchine (fig.8s) de la tige.

Sabrin et *al.* ont isolé en 2012, des racines, le calotropocérol A (fig.8j), le calotropocéryl acétate A (fig.8m), la calotropocérone A (fig.8n), le calotropocéryl acétate B (fig.8o), le pseudotaraxastérol acétate (fig.8p), le taraxastérol (fig.8q), le calotropursényl acétate, le stigmatérol et l'acide (E)- octadéca-én-7-oïque (fig.8r).

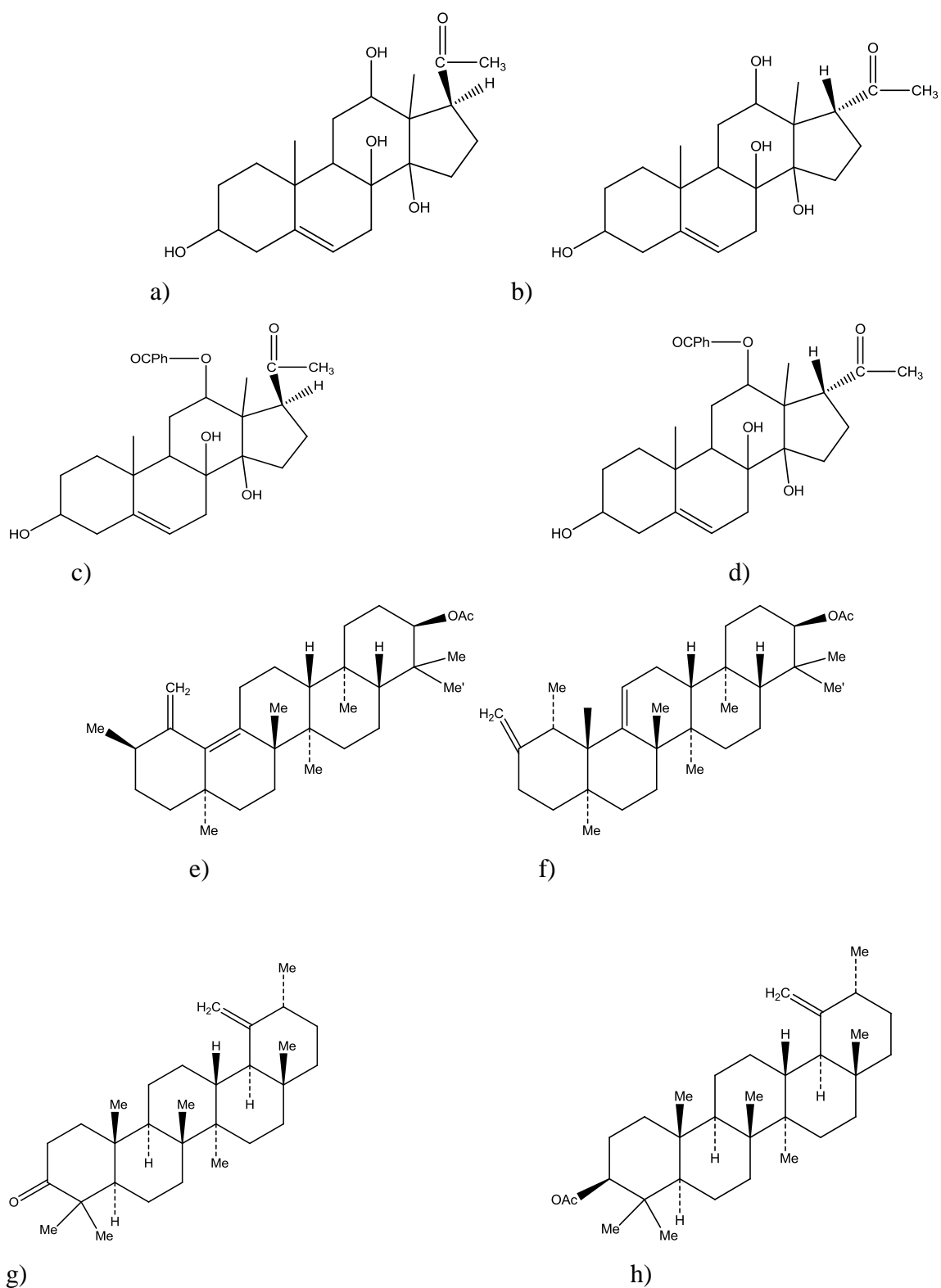


Fig.7. Terpènes de *Calotropis procera* isolés des racines (a : Linéolone ; b : Isolinéolone ; c : Benzoyllinéolone ; d : Benzoylisolinéolone (Chandler et *al.*, 1968) ; e : Ursa-13(18), 19(29)-dien-3a-yl acetate ; f : Calotropursenyl acétate B ; g : 18- Epicalotropenone ; h : Epicalotropenol acétate (Gupta et *al.*, 1996)).

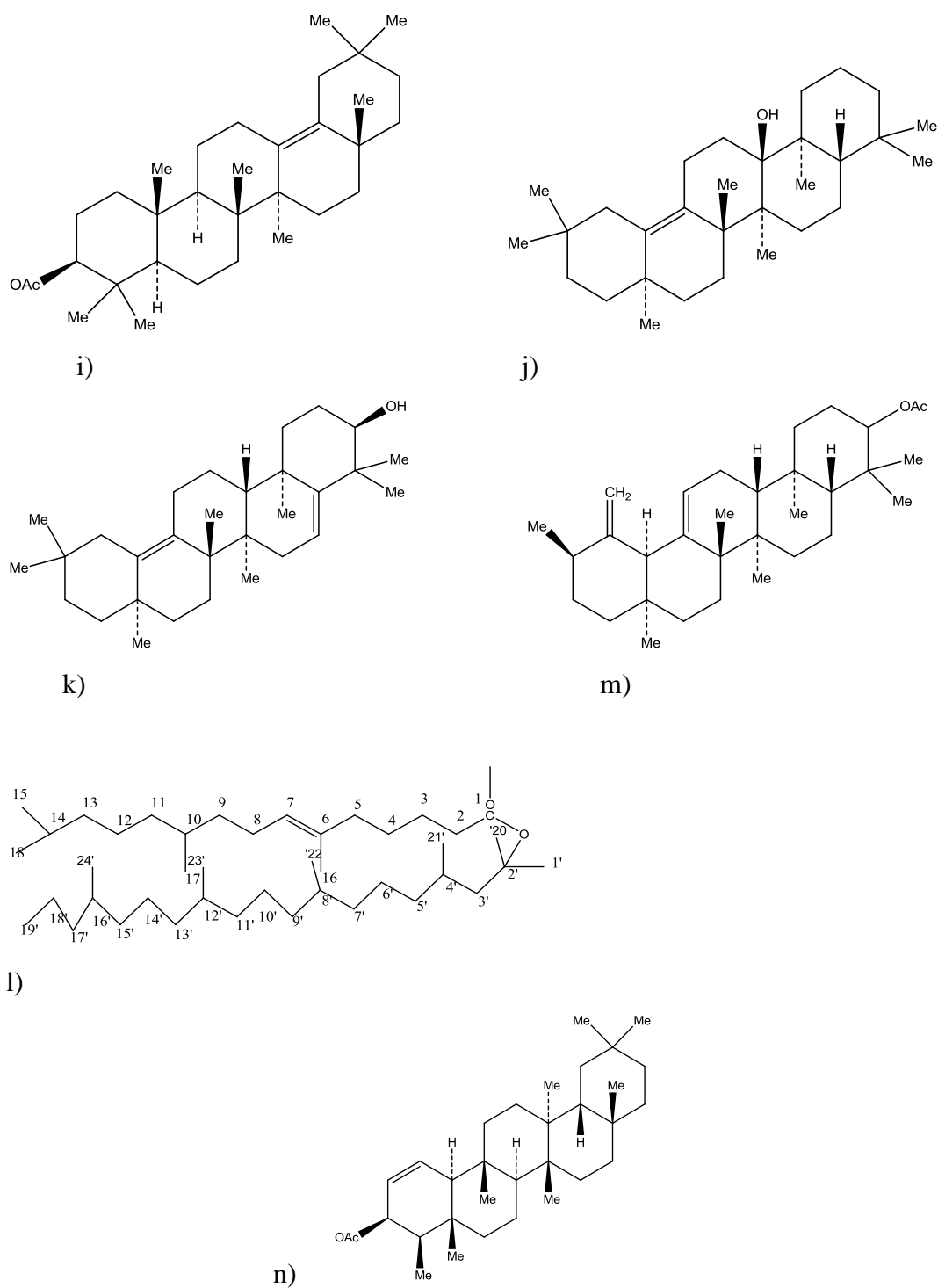


Fig.7. (suite) Terpènes de *Calotropis procera* isolés des racines (i : Calotropoleanyl ester ; j : Proceroleanol-A ; k : Proceroleanol-B (Ansari et al., 1999) ; l : Calotropterpenyl ester ; m : Calotropursenyl acetate ; n : Calotrofriedelenyl acétate (Ansari et al., 2001)).

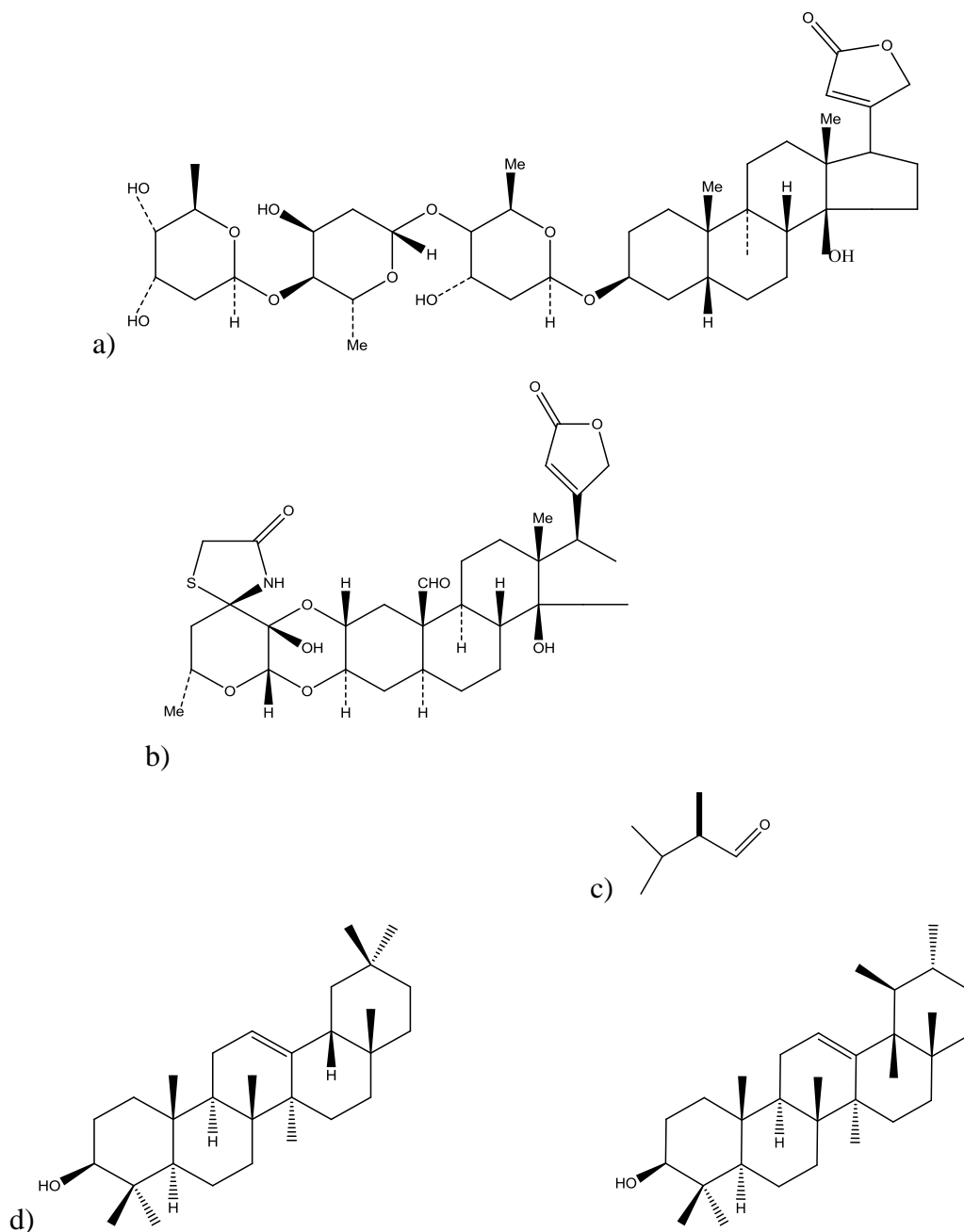


Fig.8. Flavonoïdes de *Calotropis procera* (a : Digitoxine (latex ; Al-Rajhy et al., 2003) ; b : 2''- Oxovoruscharine (racines ; Van Quaquebeke et al., 2005) ; c : 2-Methylisovaleraldehyde (fleurs, Shehab et al., 2008) ; d :  $\alpha$ - Amyrine et  $\beta$ -Amyrine ( fleurs, Shehab et al., 2008 ) de gauche à droite).

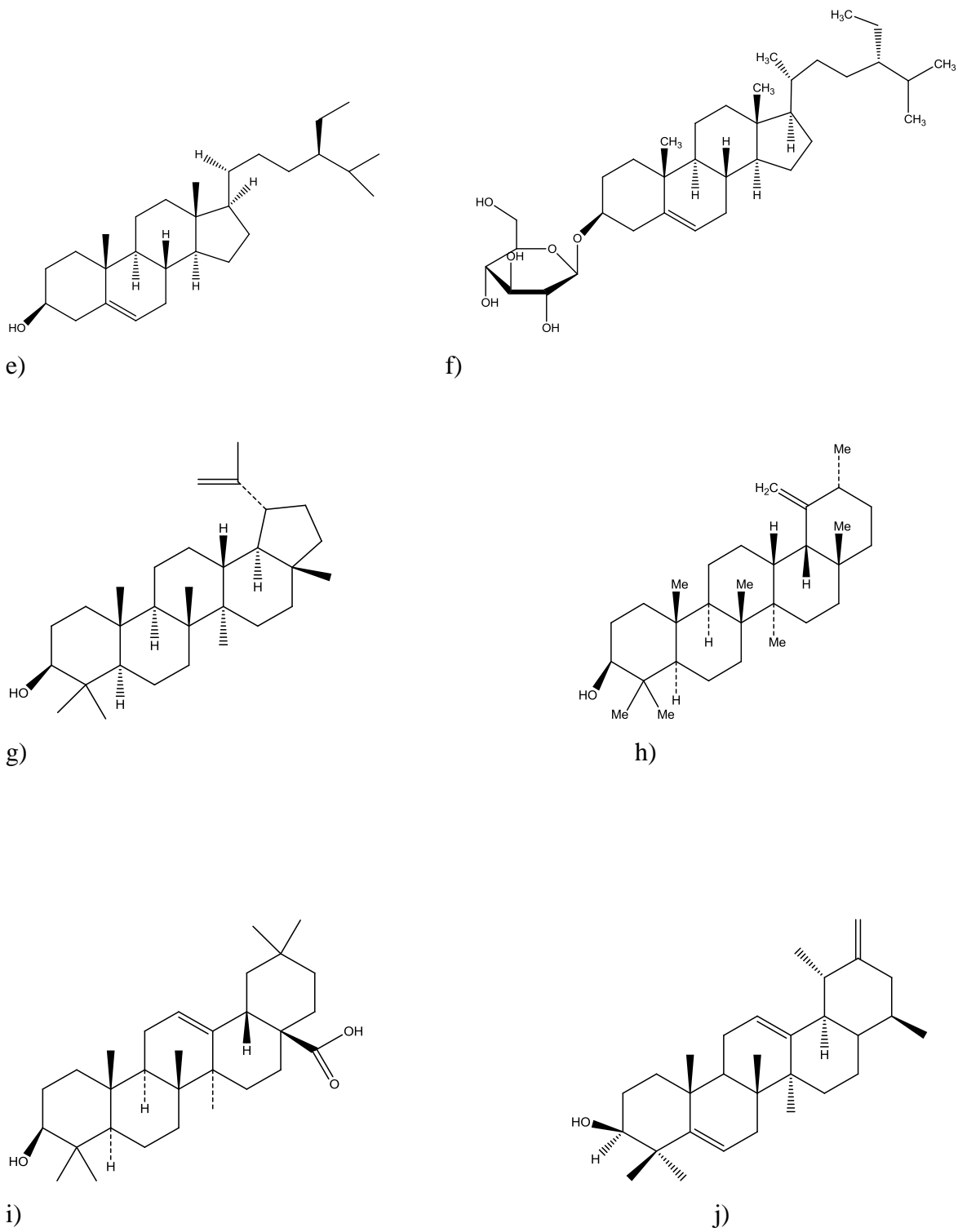


Fig.8. (suite) Flavonoïdes de *Calotropis procera* (e : Sitostérol (fleurs, Shehab et *al.*, 2008) ; f : Sitostérol glucoside (fleurs, Shehab et *al.*, 2008) ; g : Lupéol (latex) ; h :  $\beta$ -calotropénol (latex) ; i : Acide oléanique (tige) (Nagesh et *al.*, 2012) ; j : Calotropocérol A (racines, Sabrin et *al.*, 2012).



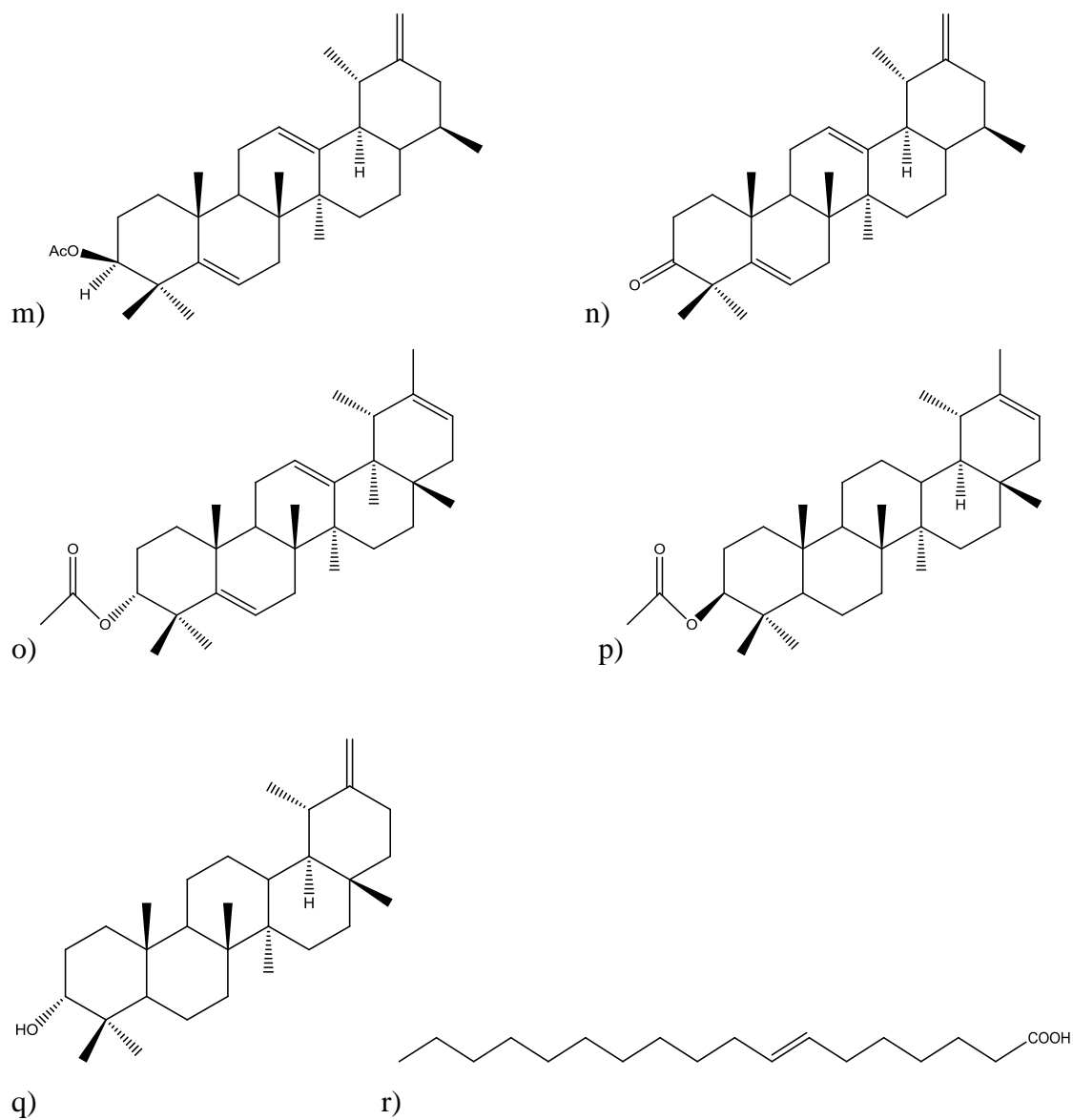


Fig.8. (suite) Flavonoïdes de *Calotropis procera* (m : Calotropoceryl acétate A (racines) ; n : Calotropocérone A (racines) ; o : Calotropocéryll acétate B (racines) ; p : Pseudotaraxastérol acétate (racines) ; q : Taraxastérol (racines) ; r : Acide (E)- octadec-7-énoïque acide(racines) ; (Sabrin et *al.*, 2012) ).

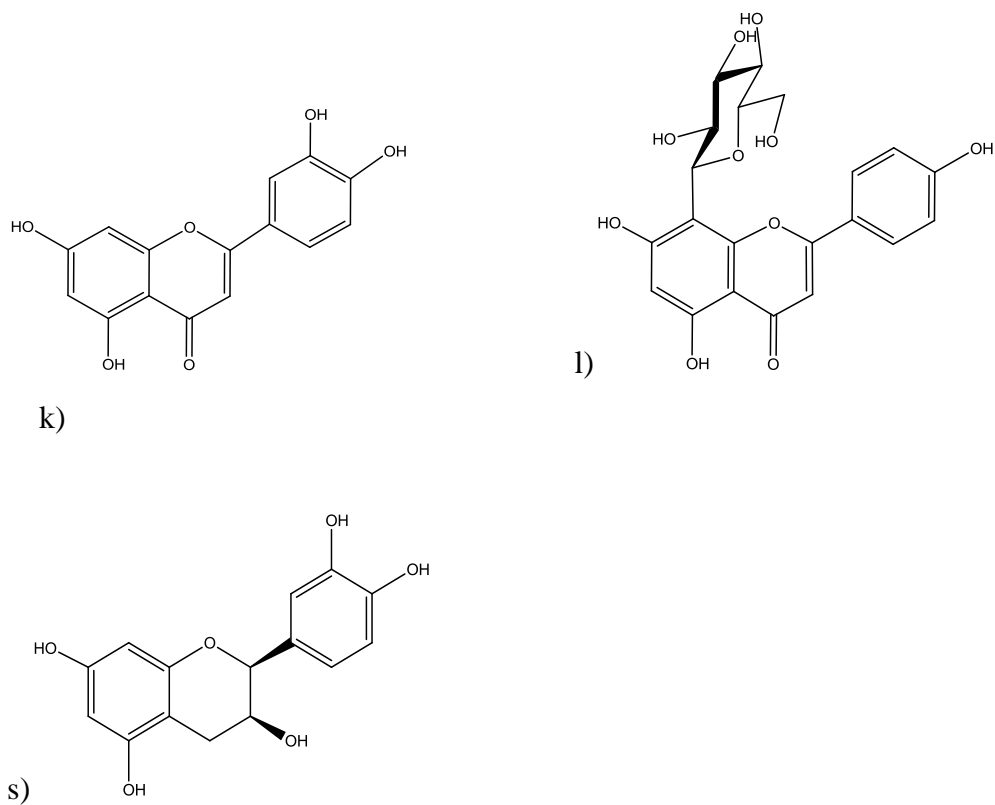


Fig.8. (suite et fin) Flavonoïdes de *Calotropis procera*

(k : Lutéoline (fleurs, Shehab et *al.*, 2008) ; l : Vitexine (fleurs, Shehab et *al.*, 2008) ;  
s : Epicatéchine (tige, Nagesh et *al.*, 2012)).

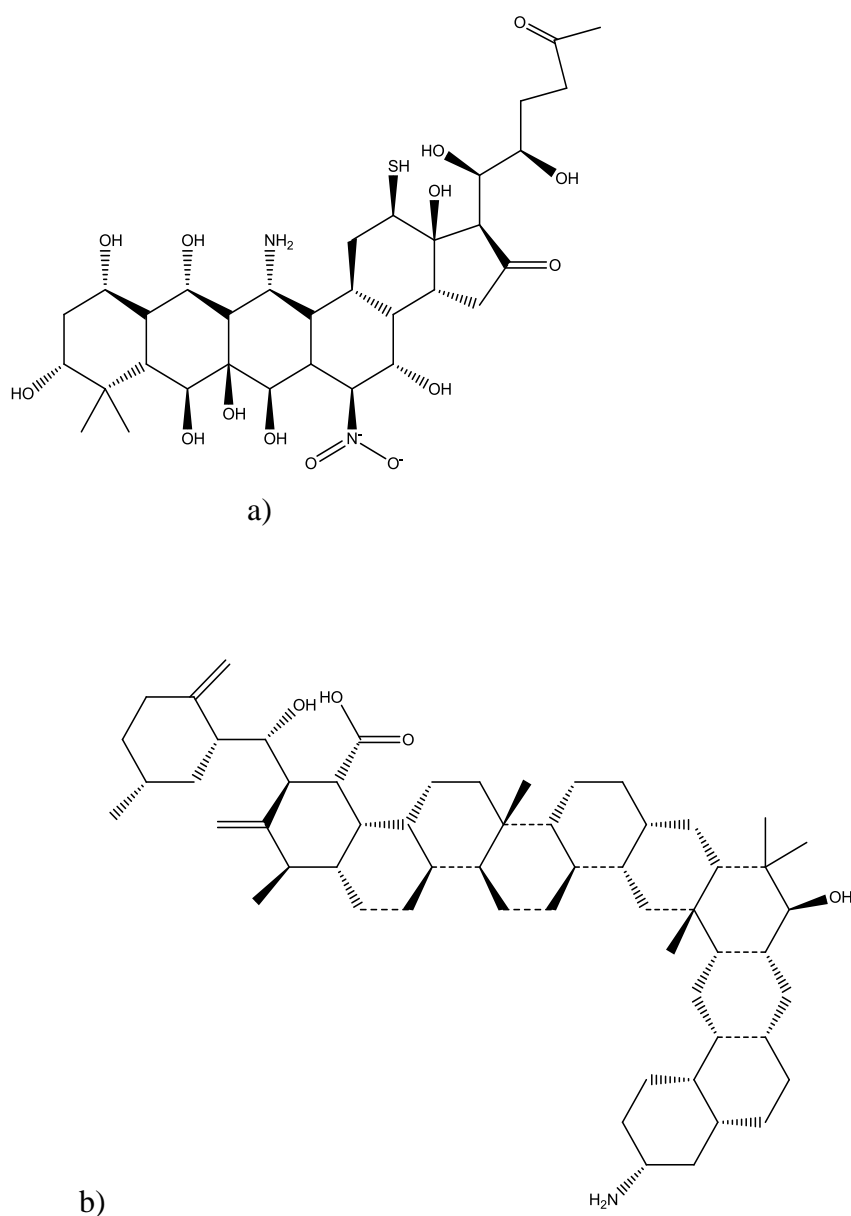


Fig.9. Composés azotés de *Calotropis procera* (a : 13-amino-1-(1,2-dihydroxy-oxohexyl) - 4,6,6a,7,9,11,12,15a-octahydroxy-15-mercapto-8,8-diméthyl-5-nitrodocosahydro-1H indeno[5,4-a] tetracen-2(3H) -one (latex, Mishra et al., 2011) ; b : 16-amino-11-hydroxy-3-(hydroxyl (5-méthyl-2-méthylencyclohexyl) méthyl)-1,6a, 10, 10, 18b-pentaméthyl-2-méthylentetracontahydro-1H-chryseno-[2,1-a]-cyclopenta-[O]pentaphène-4-carboxylic acid (latex, Mishra et al., 2011)).

### I.2.2.5. Données pharmacologiques sur *Calotropis procera*

Différentes activités biologiques ont été présentées par les extraits de *C. procera* :

- les extraits de feuilles (tableau XI) ont montré des activités insecticides et antifongiques (Moursy et al., 1997 ; Sharma et al., 2002 ; Ramos et al., 2007) ainsi que ceux des tiges et feuilles (Rahman et al., 2007) ;

Tableau XI. Etude de l'effet antifongique de quelques extraits de plantes contre *Fusarium oxysporum* (Sharma et al., 2002).

N°	Nom des plantes	Colonie en croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> (mm)		Inhibition de la croissance de <i>F.oxysporum</i> (mm) (%)
		Contrôle (mm)	Interaction (mm)	
1	<i>Datura stramonium</i>	78	21,66	72,23
2	<i>Calotropis procera</i>	78	25	67,94
3	<i>Verbesena enceloides</i>	78	35	55,12
4	<i>Parthenium hysterophorus</i>	78	25,33	67,52
5	<i>Morus alba</i>	78	37,33	52,14
6	<i>Phyllanthus amarus</i>	78	26,66	65,82
7	<i>Eichornea crassipes</i>	78	33	57,69
8	<i>Jatropha curcas</i>	78	30	61,53
9	<i>Ricinus communis</i>	78	25,33	67,52
10	<i>Azadirachta indica</i>	78	29	62,82
11	<i>Tinospora cordifolia</i>	78	26,66	65,82
12	<i>Lawsonia inermis</i>	78	30,33	61,11
13	<i>Adhatoda vesica</i>	78	41	47,43
14	<i>Clerodendron multiflorum</i>	78	44	43,58
15	<i>Catharanthus roseus</i>	78	37	52,56

- les extraits du latex ont montré des activités larvicides chez les insectes (Mishra et al., 2011) et chez les stades larvaires et adultes du tic des dromadaires *Hyalomma dromedarii* (Al-Rajhy et al., 2003) ;
- ceux des fleurs (Shehab et al., 2008) ont montré des activités antifongiques et anti-ulcère ;
- les extraits de la tige ont montré des activités anti-inflammatoires et anti-ulcère (Nagesh et al., 2011) ;
- les extraits des tiges, des feuilles ont montré des activités anticancéreuses (Van Quaquebeke et al., 2005 ; Junker et al., 2009) ;
- les extraits des racines ont montré des activités hépatoprotectives (Chavda et al., 2010) ;
- les extraits n-hexane des racines (tableau XII) ont montré de fortes activités anticancéreuses (Sabrin et al., 2012).

Tableau XII. Activité inhibitrice de la croissance In vitro de l'extrait racinaire n-hexane sur des souches cancéreuses de référence (Sabrin et *al.*, 2012 ; NT= non testé ; NSCL : Non-Small cell lung ; GBM : Glioblastoma ; PC-3 : Prostate cancer cell lines ; l'effet inhibiteur de la croissance de la fraction n-hexane est exprimé en µg/ml).

Echantillons	IC <sub>50</sub> (µM)			
	A549 NSCL	U373 GBM	PC-3 prostate cancer	moyenne
n° Fraction n-hexane*	4	17	25	16 ± 6
1	28	28	52	36 ± 8
2	> 200	> 200	> 200	> 200
3	150	> 200	> 200	> 183
4	> 200	> 200	> 200	> 200
5	> 200	> 200	> 200	> 200
6	NT	NT	NT	NT
7	> 200	> 200	> 200	> 200
8	153	> 200	> 200	> 184
9	> 200	> 200	> 200	> 200
Cisplatine	4	0,4	NT	-
Carboplatine	90	38	> 100	> 64

En étudiant les phénols totaux et les activités antioxydantes des extraits de feuilles, de fleurs, de fruits et du latex de *C. procera* dans MeOH/H<sub>2</sub>O (80 : 20), Gholamshahi et *al.* (2014) ont montré que ces extraits possèdent des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires très importantes (surtout dans les extraits de feuilles : DPPH = 74,31% et IC<sub>50</sub> = 0,18 mg/ml) et une forte activité antiradicalaire des fleurs et du latex.

En comparant leur activité avec un antibiotique standard, l'Amoxicilline en raison de 10µg/ml, Kurbetti et *al.* (2014) ont montré que l'extrait méthanolique des racines de *C. procera* présente une forte activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* due certainement à la présence importante des flavonoïdes et des tannins.

D'une manière générale, les extraits organiques, éthanoliques, méthanoliques et aqueux des fleurs, bourgeons, racines, tiges et feuilles de *C. procera* (fig.10) ont tous présenté un important potentiel pharmacologique (Juncker et *al.*, 2009) ;

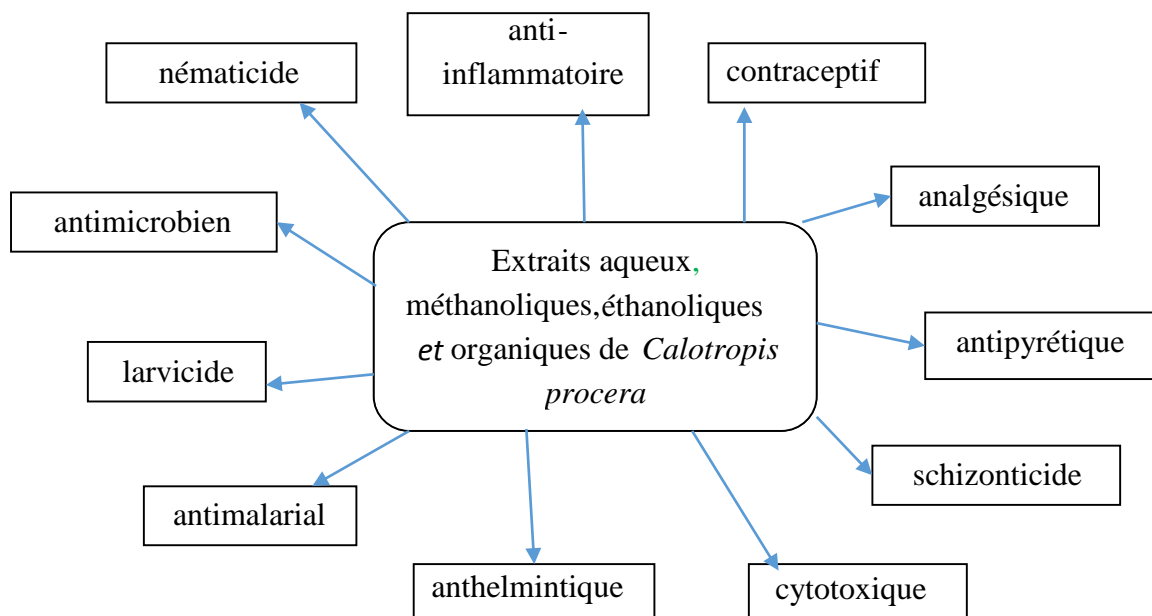


Fig.10. Potentiel pharmacologique de divers extraits de *Calotropis procera* (Junker et al., 2009)

### I.3. *Acacia nilotica* (Mimosaceae)

#### I.3.1. Données botaniques

##### I.3.1.1. Classification des Mimosaceae

Les Mimosaceae sont une famille des plantes supérieures appartenant à l'ordre des Fabales, à la classe des Dicotylédones et à l'embranchement des Spermaphytes du règne végétal.

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiospermae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-Classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Mimosaceae

##### I.3.1.2. Famille

La famille des Mimosaceae, comprend environ 3200 espèces réparties en 50 à 60 genres. La plupart des Mimosaceae sont des plantes ligneuses (*Acacia*) des régions tropicales ou méditerranéennes (*Mimosa*).

### I.3.2. Caractéristiques, écologie et distribution de *Acacia nilotica*

#### I.3.2.1. Caractères systématiques

Arbuste ou arbre à cime assez dense (fig. 11a). Ecorce crevassée, noirâtre. Tranche rouge brun, rayée de noir. Ramilles (presque) glabres ou pubescentes.

Feuilles bipennées, de 4-8 cm de long, ayant 3-6 (-11) paires de pinnules et par pinnule (7-) 10-25 (-30) paires de folioles, de 0,2-0,7 cm de long, glabres ou plus ou moins pubescentes.

Fleurs jaunes, en boule de 1,2-1,5 cm de diamètre.

Fruits : gousses (fig.11b), 10-15 x 1,5-2,0 cm (Geerling, 1988).

#### I.3.2.2. Ecologie et distribution

L'espèce *Acacia nilotica* pousse sur sols profonds sableux limoneux, comme les dunes fossiles ou les champs abandonnés ; dans la zone du Sahel et dans la savane humide voisine, de la côte de l'atlantique jusqu'à l'Afrique orientale, l'Arabie et les Indes (Maydell, 1992).

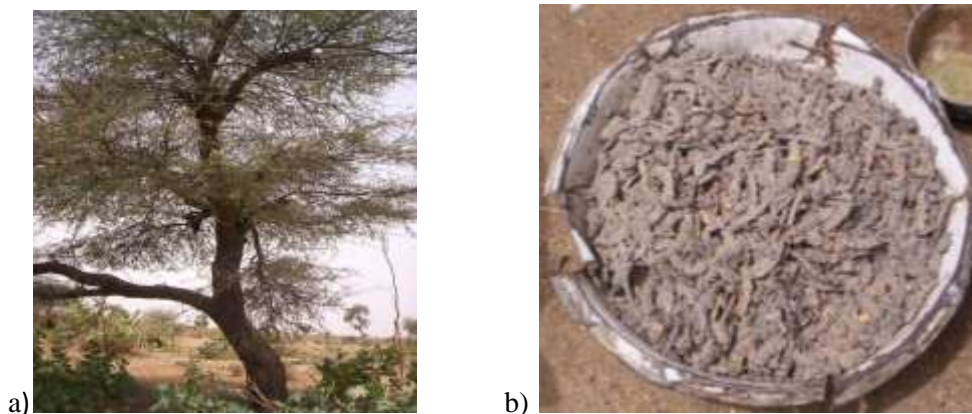


Fig.11. *Acacia nilotica* (a : Plant ; b : fruits secs (clichés Chahad, 2007)).

### I.3.3. Données ethnobotaniques sur *Acacia nilotica*

Les fruits et l'écorce sont utilisés en décoction au Tchad (Chahad, 2007) pour traiter la dysenterie. En outre, la tradition orale rapporte qu'à l'aube du sultanat du Ouaddaï, les soldats morts pendant les razzias sont enveloppés par des nattes pleines de gousses fraîches en attendant que les dépouilles mortelles arrivent, non putréfiées, dans la capitale du royaume pour y être inhumées.

Une solution concentrée de tannins dans l'eau bouillante (à partir des fruits) ajoutée à l'eau des marigots tue les crustacés vecteurs de la bilharziose (Pousset, 1989).

La gomme, les décoctions d'écorce et des gousses (sans graines !) sont employées contre la dysenterie. D'autres remèdes (extraits de racines) agissent contre les maux de dents, le scorbut et diverses inflammations, en particulier les infections de la bouche et de la gorge et les affections oculaires. C'est un astringent (Maydell, op.cit.).

### I.3.4. Données chimiques sur *Acacia nilotica*.

Peu de travaux ont été publiés sur *A. nilotica*. En 2005, Chaubal et *al.* ont isolé des parties aériennes de *A. nilotica*, le D-pinitol ou 3-*O*-méthyl-D-chiro-inositol (fig.12a). Ce composé est connu pour son importance dans la réponse de la plante au stress hydrique. Par ailleurs, le D-pinitol et ses dérivés sont connus également pour les nombreux domaines d'applications en thérapeutique tel que la résistance à l'insuline dans le diabète gras et les complications associées, les pathologies inflammatoires (Chaubal et *al.*, 2005).

Singh et *al* (2009) ont isolé l'acide gallique (fig.4d, I.1.2.4.3), l'acide ellagique (fig.4a, I.1.2.4.3), l'épicatéchine (fig.8s, I.2.2.4) et la rutine (fig.12b) des gousses vertes de *A. nilotica*.

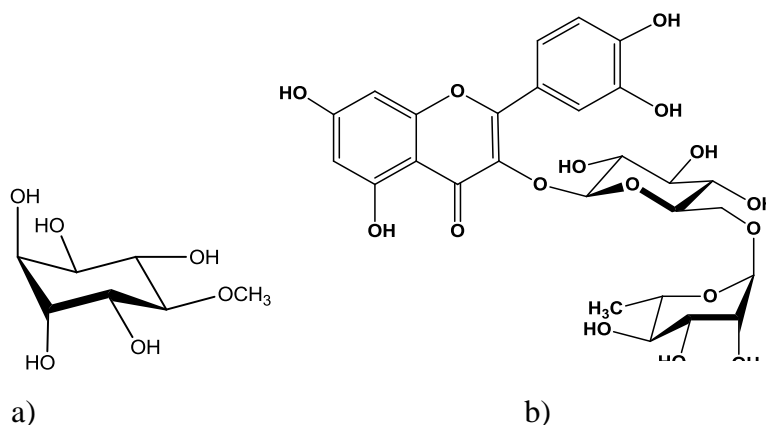


Fig.12. Composés phénoliques de *Acacia nilotica* (1) (a : D-pinitol (parties aériennes, Chaubal et *al.*, 2005) ; b : Rutine (gousses vertes, Singh et *al.*, 2009)).

Une autre étude réalisée par Maldini et *al.* en 2011 a établi le profil chimique par analyse CLHP-ESI-SM d'un extrait EtOH-H<sub>2</sub>O (80 : 20) des gousses de *A. nilotica* ; ce qui a permis de mettre en évidence la présence des composés suivants : le 1,3-di-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (fig.13h), le 1,6-di-*O*-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (fig.13i), l'ester méthylique de l'acide gallique (ou gallate de méthyle) (fig.13j), la 7-galloyl gallocatéchine (fig.13k), le méthyl ester-4-gallate de l'acide gallique (fig.13l) , la 7,3'-digalloyl gallocatéchine (fig.13m), la 7-4'-digalloyl gallocatéchine (f.g.13n), la 7-galloyl catéchine (fig.13o) , la 7-3'-digalloyl catéchine (fig.13p), et la 7,4'-digalloyl catéchine (fig.13q).

L'étude des constituants chimiques des fleurs de *A. nilotica* (El-toumy et *al.*, 2011) a permis l'isolement et la caractérisation de neuf composés dont la catéchine (fig.13c), la 7-*O*-gallate de catéchine (fig.13d), l'acide gallique (fig.4d, I.2.4.3), la 7-*O*- $\beta$ -glucosyl naringénine (fig.13a) , la 3-*O*-[ $\beta$ -glucosyl (2 $\rightarrow$ 1) glucosyl] quercétine (fig.13e), la 3-*O*- $\beta$ -glucosyl quercétine (fig.13f), la 4'-*O*- $\beta$ -glucosyl chalconaringénine (fig.13g), la naringénine (fig.13b) et la quercétine (fig.2a, I.1.2.4.1).



Singh *et al* (2009) ont établi le profil chimique par analyse HPLC ESI-MS d'un extrait MeOH de la poudre d'écorces de *A. nilotica* identifiant ainsi un dérivé de la coumarine, l'ombelliférone (fig.13r). Antérieurement, une analyse phytochimique préliminaire, réalisée sur les écorces, avait mis en évidence la présence de composés volatiles et de tannins (Kubmarawa *et al.*, 2007).

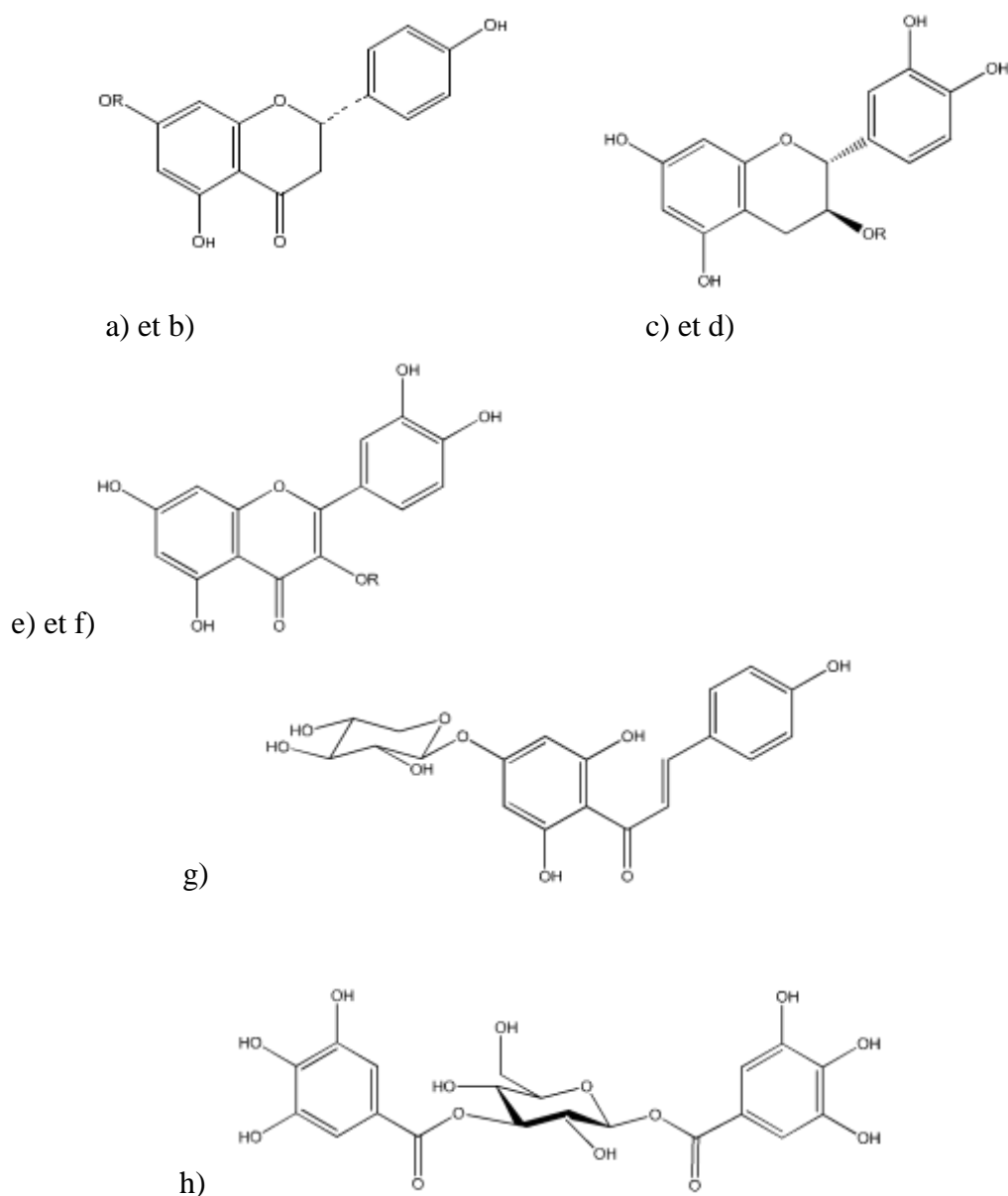
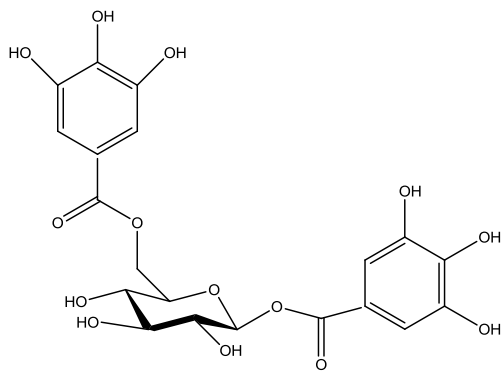
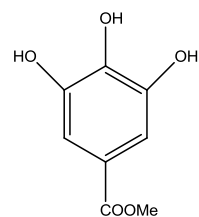


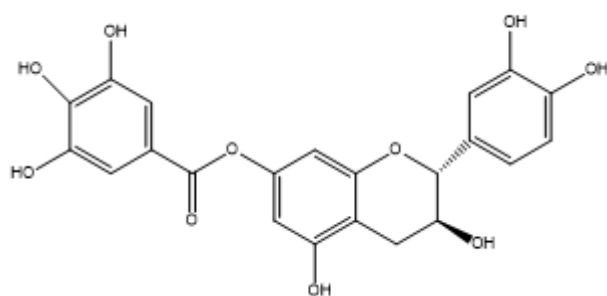
Fig.13. Composés phénoliques de *Acacia. nilotica* (2) (a : Naringénine 7-*O*- $\beta$  – glucopyranoside (R=glucosyl) (fleurs) ; b : Naringénine (R=H) (fleurs) ; c : Catéchine (R=H) (fleurs) ; d : Catéchine-7-*O*-gallate (R= galloyl) (fleurs) ; e : Quercétine-3-*O*- $\beta$ - glucosyl (2-1) glucopyranoside (R= glucosyl (2-1) glucopyranosyl) (fleurs) ; f : 3-*O*- $\beta$ - glucopyranoside(R= glucosyl) (fleurs) ; g : 4'-*O*- $\beta$ -glucosylchalconaringénine (fleurs) (El-toumy *et al.*, 2011) ; h : 1,3-di- *O*-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose (gousses, Maldini *et al.*, 2011)).



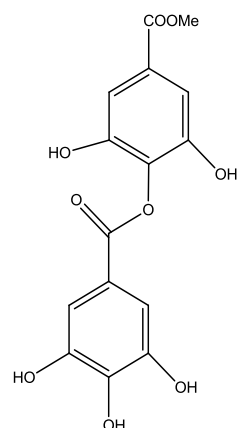
i)



j)



k)



l)

Fig.13. (suite) Composés phénoliques de *Acacia nilotica* (i : 1, 6 di-*O*-galloyl  $\beta$ -D-glucopyranose (gousses) ; j : Gallate de méthyl (gousses) ; k : 7-*O*- galloyl-catéchine (gousses) ; l : 4-*O*-galloyl gallate de méthyl (gousses) (Maldini et al., 2011)).

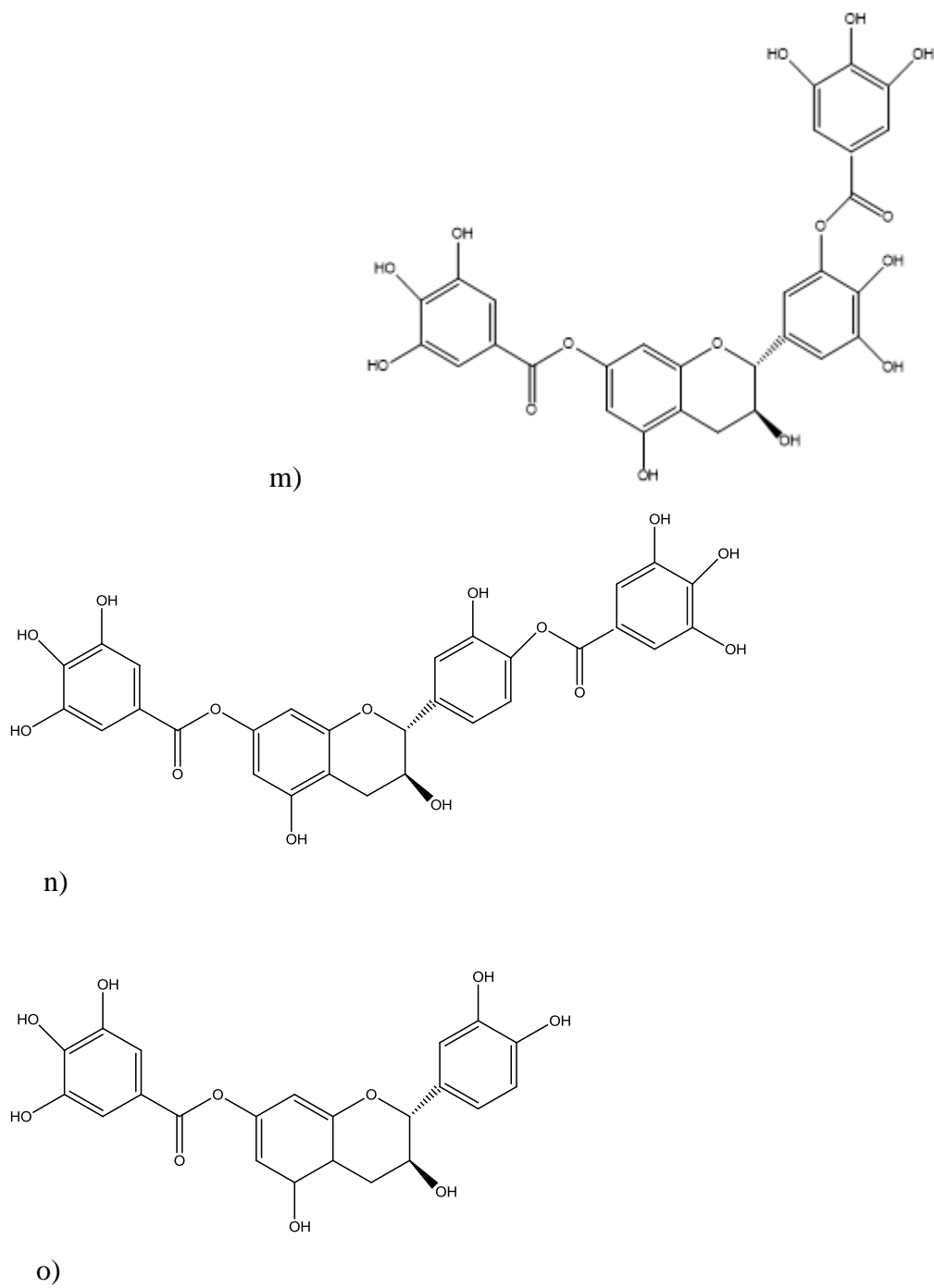
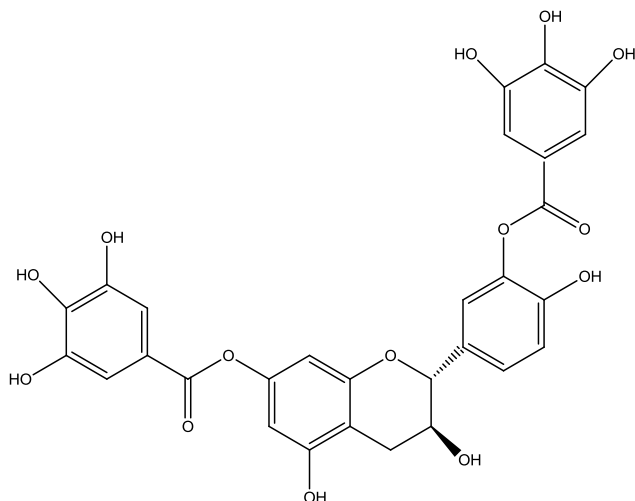
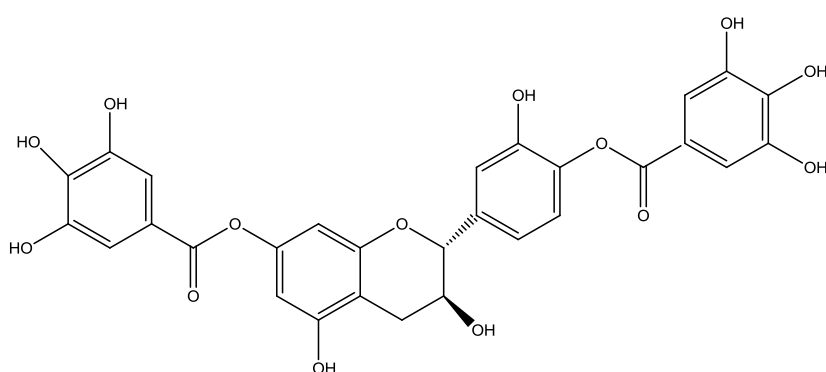


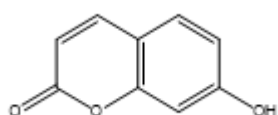
Fig.13. (suite) Composés phénoliques de *Acacia nilotica* (m : 7,3' digalloyl gallo catechine (gousses) ; n : 7,4'-digalloyl catechine (gousses) ; o : Galloyl catechine (gousses) (Maldini et al., 2011)).



p)



q)



r)

Fig.13. (suite et fin) Composés phénoliques de *Acacia nilotica* (p : 7,3'-digalloyl catéchine (gousses) ; q : 7,4'-digalloyl catéchine (gousses) (Maldini et al., 2011) ; r : ombelliférone (écorces, Singh et al., 2009)).

Par ailleurs, d'une manière générale, la chimie du genre *Acacia* a montré l'existence de stérols, de terpénoïdes, de sucres, de flavonoïdes et de tannins dans les extraits CHCl<sub>3</sub> et AcOEt des fleurs (Leela et al., 2012), des composés phénoliques dans les extraits de gousses en général (Salem et al., 2011), mais aussi dans les extraits aqueux (Li et al., 2011) et dans les extraits éthanoliques d'écorces (Tung et al., 2007).

### I.3.5. Données pharmacologiques sur *Acacia nilotica*

Plusieurs propriétés pharmacologiques ont été présentées par les extraits de *Acacia nilotica*. C'est ainsi que les extraits méthanoliques de gousses ont présenté des activités hypoglycémiantes sur des rats diabétiques (Ahmad et al., 2008), des activités antihelminthiques sur des moutons diabétiques (Bachaya et al., 2009)

Les extraits hydroéthanoliques obtenus à partir de jeunes gousses aspermes ont montré des propriétés gastroprotectrices sur les rats (Bansal et al., 2011).

L'étude réalisée par Ahmad et al (2008) a montré que le traitement des lapins diabétiques (diabète de type 2) par l'extrait méthanolique des gousses de *A. nilotica* à des doses de 200 à 400 mg/Kg réduit considérablement leur glycémie (tableau XIII).

Tableau XIII. Effet des extraits de gousses de *Acacia nilotica* sur les paramètres biochimiques des lapins diabétiques d'un mois (Ahmad et al., 2008 ; SGOT : Serum Glutamate Oxaloacetate ; SGPT : Serum Pyruvate Transaminase. Les valeurs a, b, c, d avec différentes lettres dans une même colonne indique une différence significative entre les groupes ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ). Le nombre des lapins dans chaque groupe est égal à 5. Les valeurs sont exprimées avec moyenne  $\pm$ SD. NB : la période expérimentale est de 1 mois pendant lequel les analyses biochimiques des échantillons de sang se font chaque 12 heures).

Groupe	SGOT (IU/l)	SGPT (IU/l)
Normal	153 $\pm$ 15,78a	160,6 $\pm$ 9,58a
Diabétique	306,6 $\pm$ 79,6b	331,6 $\pm$ 45,8b
Traité par l'extrait méthanolique aqueux de <i>A. nilotica</i>		
200 mg/kg	169,8 $\pm$ 11,61ab	199,20 $\pm$ 18,05ab
300 mg/kg	160,3 $\pm$ 9,31c	182,3 $\pm$ 12,35c
400 mg/kg	155,3 $\pm$ 13,3a	172,6 $\pm$ 30,1d

En effet, on remarque qu'une dose de 400 mg/kg permet un retour presque à la normale du taux du SGOT et du SGPT.

Pour Singh et al (2009), l'extrait AcOEt des gousses vertes de *A. nilotica* présenterait un fort potentiel antioxydant *in vivo* et *in vitro* et pourrait de ce fait être utilisé comme additif dans l'industrie alimentaire, comme complément alimentaire ou encore en phytothérapie (tableau XIV).

Tableau XIV. Activité antioxydante (AOA), et activité piégeur de radical libre (FRSA) exprimée selon le pouvoir antiradicalaire (ARP), selon les équivalents acide ascorbique (ASE) et selon la teneur en phénols totaux (TPC) des extraits des gousses vertes de *Acacia nilotica* (Singh et al., 2009 ; UCE : extrait brut non hydrolysé ; HCE : extrait brut hydrolysé ; UEF : fraction AcOEt non hydrolysée ; HEF : fraction AcOEt hydrolysée ; Quercétine : contrôle positif).

Extraits	AOA (%)	ARP	ASE (ml)	TPC [équivalents acide gallique (GAE), mg/g]
UCE	51,92 ± 3,57	27,83 ± 3,12	3,23 ± 1,09	208,31 ± 1,64
HCE	64,26 ± 5,11	46,25 ± 3,96	2,61 ± 0,94	357,74 ± 3,51
UEF	61,03 ± 6,02	31,54 ± 2,93	3,31 ± 0,87	218,52 ± 2,72
HEF	73,57 ± 4,37	54,44 ± 4,78	2,09 ± 0,98	476,95 ± 3,11
UEF (pH 8)	23,72 ± 1,83	1,51 ± 0,71	9,24 ± 2,66	19,22 ± 0,74
HEF (pH 8)	38,55 ± 2,88	4,15 ± 0,94	6,29 ± 2,27	47,29 ± 0,68
UEF (pH 4)	71,00 ± 5,26	59,64 ± 6,22	1,71 ± 0,75	509,53 ± 3,74
HEF (pH 4)	95,54 ± 5,01	250,0 ± 8,83	0,52 ± 0,11	657,0 ± 2,59
Quercétine	69,41 ± 4,25	239,0 ± 6,83	0,59 ± 0,26	–

In vivo, testés sur des rats Wistar, les extraits à l'acétate d'éthyle des gousses vertes ont également présenté des activités anti-oxydantes (Singh et al., 2009).

Parallèlement aux activités antioxydantes, les auteurs ont également évalué les effets sur le quorum sensing sur des bactéries pathogènes pour l'Homme ; les extraits UCE, HCE, UEF et HEF décrits ci-dessus ont été testés à 25 mg/ml à raison de 20 µl/disque sur des boîtesensemencées par *Chromobacterium violaceum* qui produit un pigment facile à quantifier ; on observe alors lors du test la production ou la non- production de violacéine. Les extraits HEF et HCE vont inhiber le quorum sensing et la production de violacéine sans inhiber la croissance bactérienne, ce qui conforte l'hypothèse d'une action inhibitrice du signal du quorum sensing. L'analyse chimique en HPLC-SM a montré que HEF (PH= 4) produit une plus haute teneur en phénols totaux avec comme composés majoritaires l'acide gallique (105 mg/g), l'épicatéchine (85 mg/g) et les gallotannins (62 mg/g).

Haj Ali et al (2007) ont montré l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques ou chloroformiques des fruits de *A. nilotica* contre différentes souches bactériennes testées avec la méthode des disques sur boîtes de Pétri. *Staphylococcus aureus* a montré la plus grande zone d'inhibition (29 mm) avec l'extrait éthanolique ; zone qui diminue graduellement avec la diminution de la concentration de l'extrait : 23 mm à 6,7 %, 11 mm à 5 %, 6,5 et 4,5 mm aux concentrations de 3 % et 1,7 %, respectivement. L'extrait chloroformique a montré de plus petites zones d'inhibition, 18 mm à la concentration de 13 % et de 15 à 5 mm aux concentrations de 6,7 à 5 % respectivement. L'extrait chloroformique a montré les plus petites zones

d'inhibition, 18 mm à la concentration 13 % et 15 à 5mm aux concentrations 6,7 % à 5 % respectivement. Il n'y a plus d'effet antibactérien à partir de 3 % et 1,7 % d'extrait chloroformique (tableau XV).

Les extraits éthanoliques aux concentrations de 13 %, 6,7 % et 5 % et les extraits chloroformiques aux concentrations de 13 % et 6,7 % ont montré de grandes zones d'inhibition quand ils sont comparés avec tous les antibiotiques de référence testés contre *S. aureus* et *E. coli*. Les extraits éthanolique et chloroformique à 13% ont montré de grandes zones d'inhibition avec *Klebsiella pneumoniae* en comparaison avec tous les antibiotiques testés. L'extrait chloroformique à 13 % a montré une zone d'inhibition avec *Proteus vulgaris* qui est comparable aux zones d'inhibition présentées aussi bien par Cefolaxima (30 µg) que Co-Trimoxazole (25 µg).

Les extraits de fruit de *A. nilotica* seraient donc des inhibiteurs efficaces de la croissance bactérienne (tableaux XV et XVII). En effet l'extrait éthanolique présente une activité comparable à celle de la tétracycline sur *S. aureus* (4,5 mm à 1,7 % contre 5 mm à 30 µg, respectivement). De même sur *E. coli*, les effets de cet extrait (1,7 %) sont comparables à ceux des différents antibiotiques de référence.

Tableau XV. Activité antimicrobienne des extraits éthanolique et chloroformique des fruits de *Acacia nilotica* contre des microorganismes d'isolats clinique (Haj Ali et al., 2007; R= résistant).

Bactéries	Zone d'inhibition (mm) de l'extrait éthanol (conc. %)					Zone d'inhibition (mm) de l'extrait chloroforme (conc. %)				
	13 %	6,7 %	5 %	3%	1,7 %	13 %	6,7%	5 %	3 %	1,7%
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	23,5	11	6,5	4,5	18	15	5	0	OR
<i>E.coli</i>	25	22	18	10	9	18	12	8	5	OR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	10	OR	OR	OR	13	5	OR	OR	OR
<i>Proteus vulgaris</i>	10	8	6	2	1R	12	6	4	OR	OR
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	14	12	6	4	15	10	4	OR	OR

Tableau XVI. Activité antimicrobienne de quelques antibiotiques contre des microorganismes isolés (Haj Ali et *al.*, 2007 ; R= résistant ; ND= non déterminé).

Antibiotique (conc.)	Zones d'inhibition (mm)				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Tetracycline (30µg)	5	5	6	7	7
Cefotaxime (30 µg)	6	8	9	12	0R
Ciprofloxacine (5µg)	9	11	12	7	7
Perfloxacine (5µg)	9	8	8	8	4
Ampicilline (20µg)	5	3	4	6	0R
Co-Trimoxazole (25µg)	9	9	12	12	0R
Ceftriazone (30µg)	8	9	8	9	11
Gentamicine (10 µg)	8	6	6	7	7
Amikacine (10 µg)	5	6	5	6	6
Chloramphenicol (30 µg)	7	9	8	15	6
Piperamphenicol (100 µg)	ND	6	9	11	11
Ofloxacine (10 µg)	10	9	8	9	10

Bachaya et *al* (2009) ont montré que l'extrait méthanolique brut des fruits de *A. nilotica* à une dose de 3g/kg a de très bons effets inhibiteurs sur le développement larvaire et l'éclosion des œufs de différents nématodes du groupe des Trichostrongylid, parasites du mouton (tableau XVII). L'extrait méthanolique présente une DL 50 (dose létale) inférieure sur le développement larvaire.



Tableau XVII. Effet de l'extrait méthanolique brut de *Acacia nilotica* (fruits) sur l'éclosion des œufs et le développement larvaire, en comparaison avec un témoin (Bachaya et al., 2009 ; DL50 : Concentration létale 50).

	DL50 (µg/ml)	Régression de valeurs et corrélation de régression
Test d'éclosion des oeufs		
<i>Acacia nilotica</i>	512,86	$y = -0,0009x + 6,0931$ R2 = 0,7884
Oxfendazole	0,114	$y = -0,7712x + 5,4081$ R2 = 0,8871
Test du développement larvaire		
<i>Acacia nilotica</i>	194,98	$y = -0,0018x + 58223$ R2 = 0,9290
Levamisole	0,347	$y = -1,0634x + 6,0671$ R2 = 0,9264

L'étude des parties aériennes de la plante (tableau XVIII) a permis aussi de révéler des activités biologiques de l'extrait à l'acétone et des différentes fractions sur les larves de moustiques (Chaubal et al., 2005)

Tableau XVIII. Coefficient de corrélation, DL50 et taux de mortalité cumulative de l'extrait à l'acétone et des différentes fractions de *A. nilotica* et ses fractions diverses sur le 4ème stade larvaire de *Culex quinquefasciatus* (Chaubal et al., 2005 ; une moyenne de 20 essais est prise pour chaque concentration ; 1- phase acetone ; 2- phase acétate d'éthyl/ether pétrole ; 3- phase acétate d'éthyl ; 4- phase acétate d'éthyl/éthanol ; 5- phase aqueuse résiduelle ; 6- partie soluble dans l'acétone de l'extrait éthanol).

Fractions	% de mortalité cumulative en ppm					LD50 ±SD	Coeffi- cient de corrélât ion	Concentr ation du D-pinitol [%]
	500	250	200	100	50			
1	100±0,00	70±1,66	60±1,92	30±1,45	20±1,25	126±1,8	0,94	19,59
2	80±1,92	75±1,35	70±1,66	50±2,61	30±1,45	100±1,6	0,98	20,55
3	95±1,35	70±1,66	60±1,92	40±2,51	20±1,25	120±1,8	0,94	10,75
4	100±0,00	90±1,45	80±1,92	60±1,92	40±2,51	73±2	0,98	14,81
5	100±0,00	100±0,0	90±1,45	70±1,66	40±2,51	59±2,2	0,95	23,14
6	100±0,00	90±1,45	60±1,92	40±2,51	20±1,25	110±1,9	0,96	18,84
D-pinitol pûr						188±1,4	0,99	100

Cette activité a été rapprochée de la présence de D-pinitol dans certaines fractions. La fraction la plus riche présente la meilleure DL50. Cependant la concentration n'est que de 23 %.

D'autres composés sont sans doute impliqués dans l'activité car le D-pinitol pur a une DL50 bien supérieure (188 ! par rapport à 59)

Des résultats similaires ont été obtenus sur les stades larvaires de *Aedes aegypti* ; là aussi la fraction 5 est la plus active.

Les extraits méthanoliques des écorces ont montré des activités antioxydantes *in vitro* (Singh et al., 2010) tout comme les extraits éthanoliques et aqueux d'écorce et de gousses vertes de *A. nilotica* (Singh et al., 2009 ; Sultana et al., 2009 ; Maldini et al., 2011).

Les colorants naturels à base d'écorces de *A. nilotica* (Gupta et al., 2004) ainsi que ceux à base de feuilles ont présenté des activités antimicrobiennes contre divers microorganismes pathogènes (Khan et al., 2009). En effet, l'extrait éthanolique des feuilles de *A. nilotica*, testé sur des souches pathogènes a présenté les plus faibles CMI (tableau XIX).

Tableau XIX. Diagramme de sensibilité de l'extrait éthanolique brut de *Acacia nilotica* contre différents microorganismes (Khan et al., 2009 ; (-) : pas d'inhibition ; + : 5-15 mm ; (++) : 16-25 mm ; (+++) : 26-35 mm ; (++++) : > 40 mm ; \*les valeurs entre parenthèses indiquent le nombre d'organismes isolés du total d'organismes testés ; a) et c) = isolés de l'infection nosocomiale ; b) et d) = isolé de l'infection acquise ; NB : des souches ATCC de bactéries Gram-négatives, Gram-positive et des espèces de levures étaient utilisées comme souches-contrôle pour la sensibilité de différentes souches).

Souches microbiennes	<i>Acacia nilotica</i> *	<i>Terminalia arjuna</i> *	<i>Eucalyptus globulis</i> *	<i>Syzygium aromaticum</i> *	<i>Cennamum zeylanicum</i> *
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC-700610	+++	+++	++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-29213	+++	+++	++	+++	+++
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC-29212	++	++	+	++	+++
<i>Streptococcus bovis</i> ATCC-9809	++	++	+	+++	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC-27853	+++	-	-	+++	+++
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC-13311	++++	-	-	+++	+++
<i>Escherichia coli</i> ATCC-25922	+++	-	-	++	++
<i>Candida albicans</i> ATCC-10231	+++	-	-	++++	++++
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC-700603	++	-	-	+	++
<i>E.coli</i> [10]a)	++(10/10)	-(10/10)	-(10/10)	+(10/10)	++(10/10)
	-(1/16)			-(1/16)	-(1/16)
<i>E.coli</i> [10]b)	+(1/16)	-(16/16)	-(16/16)	+(5/16)	+(13/16)
	++(14/16)			++(10/16)	++(2/16)
				++(3/16)	
<i>Candida albicans</i> [18]c)	++(18/18)	-(18/18)	-(18/18)	+++ (12/18)	++++ (18/18)
				++++ (3/18)	
<i>K.pneumonia</i> [14]d)	+(9/14)	-(14/14)	-(14/14)	+(12/14)	++(14/14)
	++(5/14)			++(2/14)	

Tous les extraits de plantes ont montré une activité antimicrobienne contre au moins quatre des souches testés (tableau XIX). Mais les extraits de *Acacia nilotica*, *Cennamum zeylanicum* et *Syzygium aromaticum* dans cette étude ont montré la plus forte activité contre tous les microorganismes étudiés.

*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus bovis* et *Streptococcus mutans* étaient les plus sensibles à tous les extraits de plantes testés. Par contre, les souches *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* se sont révélées être sensibles seulement aux extraits de *A. nilotica*, *C. zeylanicum* et *S. aromaticum*.

Parmi les bactéries à Gram-négatives testées, *K. pneumoniae* s'est révélée être la plus sensible tandis que *S. typhimurium* était la bactérie la plus résistante. Dans le cas des bactéries à Gram-positive, *E. faecalis* est la plus sensible tandis que *S. aureus* est la souche la plus résistante.

*C. albicans* s'est révélé très sensible à l'action de *A. nilotica* (CMI 4,9 µg/ml) suivie de *C. zeylanicum* et *S. aromaticum* où les plus basses CMI étaient de 19,5 µg/ml et 156 µg/ml, respectivement (tableau XX).

Tableau XX. Concentrations minimale inhibitrice (CMI), minimale bactéricide (CMB) et minimale fongicide (CMF) des extraits éthanoliques bruts de cinq plantes contre des échantillons MDR isolés des infections nosocomiales et acquises et sensibilité des échantillons standards (Khan et al., 2009 ; a) et c) = isolés de l'infection nosocomiale ; b) et d) = isolés de l'infection acquise ; \*les valeurs entre parenthèses indiquent le nombre d'organismes isolés du total d'organismes testés ; - : pas d'activité à la concentration de l'extrait testé).

Microorganismes	CMI (µg/ml) et CMB/CMF (µg/ml) d'extraits éthanoliques bruts de cinq plantes									
	<i>A. nilotica</i> *		<i>T. arjuna</i>		<i>E. globulis</i>		<i>S. aromaticum</i>		<i>C. zeylanicum</i>	
	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF
<i>S. mutans</i> ATCC-700610	78	313	1560	3130	3130	6250	390	780	195	390
<i>S. aureus</i> ATCC-29213	39	78	780	1560	6250	12500	780	1560	390	1560
<i>E. faecalis</i> ATCC-29212	9,75	78	1560	3130	3130	12500	195	1560	97,5	1560
<i>S. bovis</i> ATCC-9809	39	78	1560	3130	3130	12500	780	1560	195	390
<i>P. aeruginosa</i> ATCC-27853	39	39	-	-	-	-	390	1560	390	1560
<i>S. typhimurium</i> ATCC-13311	9,75	39	-	-	-	-	1560	1560	1560	3130
<i>E. coli</i> ATCC-25922	19,5	39	-	-	-	-	780	1560	390	1560
<i>C. albicans</i> ATCC-10231	4,9	19,5	-	-	-	-	156	156	19,5	78
<i>K. pneumoniae</i> ATCC-700603	9,75	78	-	-	-	-	390	6250	195	3130
<i>E. coli</i> [10]a)	156 313	313 (3/10) 625(7/10)	-	-	-	-	6250	12500 (10/10)	3130 6250	6250(7/10) 12500(3/10)
<i>E. coli</i> [10]b)	19,5 39	39 (3/16) 156 (13/16)	-	-	-	-	390 1560	1560(2/16) 3130(14/16)	195 780	1560(11/16) 3130(5/16)
<i>C. albicans</i> [18]c)	9,5 39	39 (9/18) 78 (9/18)	-	-	-	-	390 780	780(3/18) 31/30(15/18)	780	1560 (18/18)
<i>K. pneumoniae</i> [14]d)	156 313	313(11/14) 1250 (3/14)	-	-	-	-	780 1560	1560(4/14) 3130(10/14)	390 780	1560(11/14) 31/30(3/14)

Parmi les cinq plantes étudiées, les extraits éthanoliques bruts de *A. nilotica*, *C. zeylanicum* et *S. aromaticum* montreraient une bonne activité antimicrobienne contre les souches MDR résistantes de *K. pneumoniae*, *E. coli* et *C. albicans* isolées des infections nosocomiales et acquises (tableaux XIX et XX) et l'extrait de *A. nilotica* serait le plus actif contre les microorganismes isolés (CMI comprise entre 4,9 et 313 µg/ml).

## **CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES**

### **II.1. PRESENTATION DU CADRE DE RECHERCHE**

#### **II.1.1. Situation géographique du Ouaddaï-Biltine**

La région du Ouaddaï-Biltine (fig.14) est située à l'Est du Tchad. Elle est limitée au Nord par la préfecture du Borkou-Ennedi-Tibesti (B.E.T), au Sud par la République Centrafricaine et la préfecture du Salamat, à l'Est par le Soudan et à l'Ouest par les préfectures du Batha et du Guéra. Elle couvre une superficie de 123090 km<sup>2</sup>.

#### **II.1.2. Milieu naturel**

Les données du milieu naturel définissent le cadre de vie de la population et les facteurs déterminant son développement socio-économique.

##### **II.1.2.1. Climat**

Située entre les latitudes 11° et 16° Nord, la région du Ouaddaï-Biltine a un climat sahélien. Elle est plus précisément sous l'influence du climat intertropical avec une saison sèche et une saison pluvieuse. Le régime de ces deux saisons est défini par les fluctuations entre les masses d'air sec du Nord (l'harmattan) et les masses d'air humide maritime du Sud-ouest (la mousson). Ainsi donc, la présence du front intertropical (FIT) dans une zone amène la pluie et son absence traduit la rareté de celle-ci. La pluviométrie annuelle au Ouaddaï-Biltine est comprise entre 200 mm au Nord et 950 mm au Sud.

##### **II.1.2.1.1. Zones climatiques**

On distingue dans la région du Ouaddaï-Biltine trois principales zones climatiques qui correspondent géographiquement aux isohyètes orientées Ouest-Est (fig.15) :

- la zone à climat saharien au nord avec moins de 200 mm de pluies ;
- la zone à climat sahélo-saharien au centre avec 200 à 500 mm de pluies ;
- la zone à climat sahélo-soudanien au Sud avec 500 à 950 mm de pluies.

A partir de la pluviométrie qui détermine avec d'autres éléments du milieu naturel, les potentialités agropastorales et par conséquent la capacité de charge humaine d'un biotope, on peut distinguer plusieurs sous-ensembles homogènes dans le Ouaddaï-Biltine (fig.15) :

- la zone 1 qui correspond à la partie nord de la préfecture de Biltine dont la pluviométrie dépasse rarement 200 mm ;
- la zone 2 qui est située entre le Sud de la ligne Biltine-Iriba et le Nord de la ligne Abougoudam-Traore-plateau de Guelafara. Sa pluviométrie est aléatoire et varie de 300 à 400 mm ;

- la zone 3 qui est confinée entre la zone 2 et la ligne Am-dam/Abdi-Hilleket. La pluviométrie y est assez bonne mais très variable : 300 à 400 mm ;
- la zone 4 qui correspond à la partie Sud du Ouaddaï. Dans cette partie, la pluviométrie est supérieure à 500 mm et permet une bonne production agricole.

#### **II.1.2.1.2. Températures**

La température atmosphérique est variable en fonction des périodes. En saison froide, c'est-à-dire de décembre à février, les températures journalières sont comprises entre 16 °C et 35 °C. En saison sèche (en avril) elles sont comprises entre 25 °C et 41 °C. En saison des pluies (en août) ces températures baissent et varient entre 21 °C et 31 °C. La moyenne annuelle à Abéché est d'environ 28 °C, le maximum absolu étant de 49 °C.

#### **II.1.2.1.3. Vents**

La région du Ouaddaï-Biltine est sous l'influence de deux vents dominants. De novembre à mars, l'harmattan qui est un vent sec orienté NE vers SO, souffle presque en permanence et soulève de la poussière et du sable. Il dessèche considérablement la nature. De mai à septembre, la mousson orientée du SO vers NE souffle dans notre région d'étude. Ce vent apporte les nuages chargés d'humidité. La succession de ces deux types de vents est assez régulière au cours de l'année.

L'évaporation potentielle varie entre 2100 mm et 3000 mm (Anonyme, 1998).

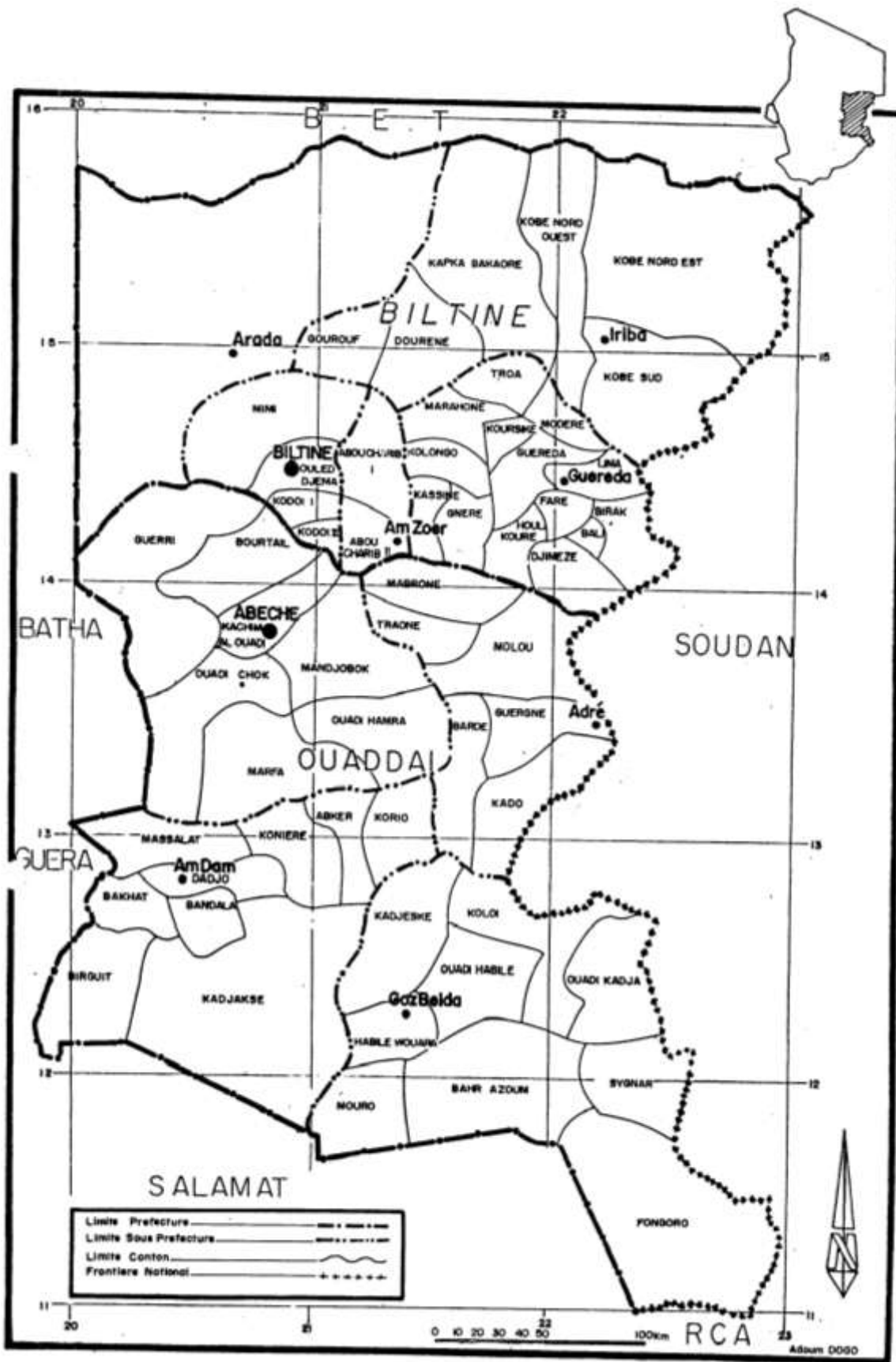


Fig.14. Découpage administratif du Ouaddaï-Biltine (Anonyme, 1998)



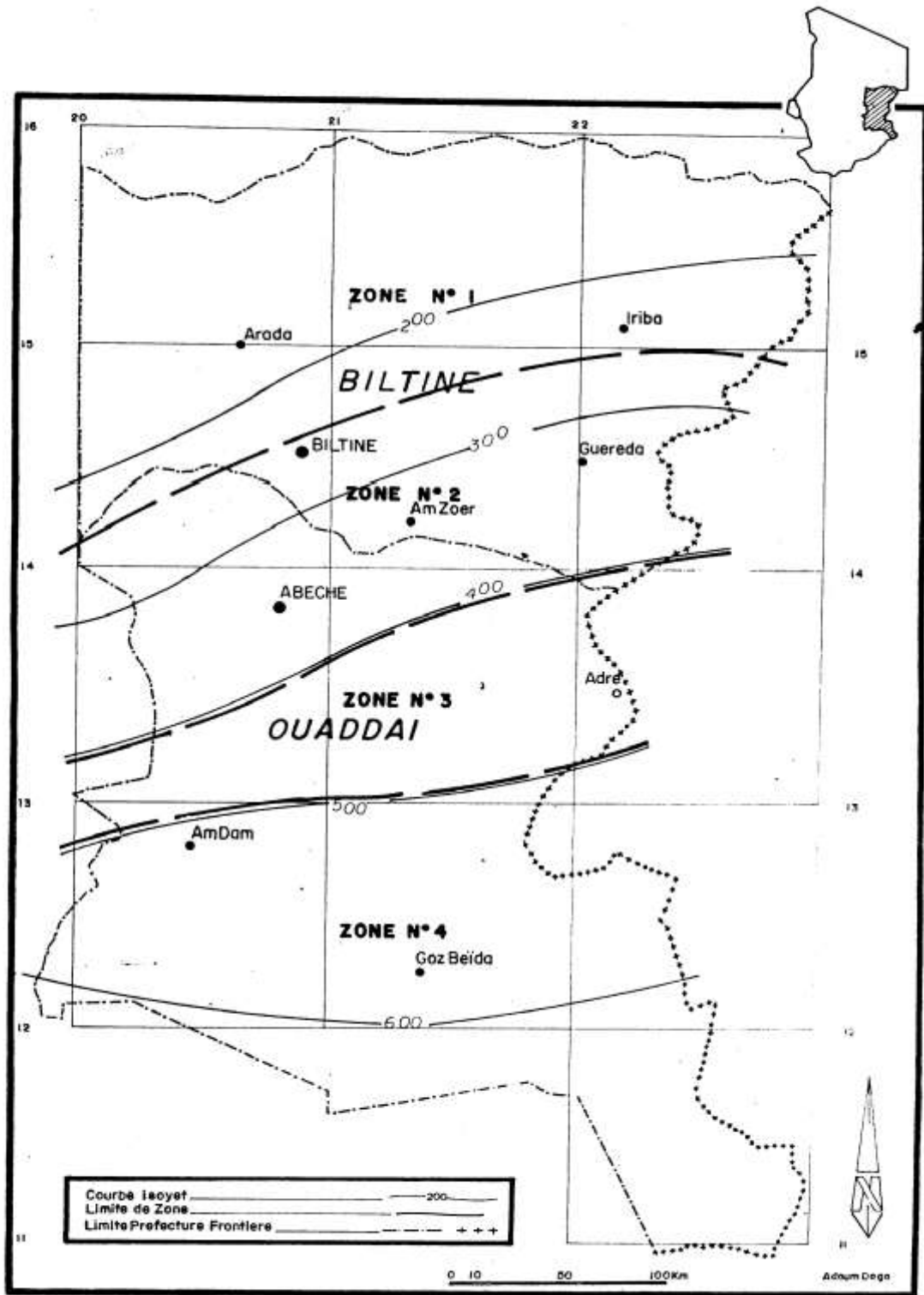


Fig.15. Différentes zones climatiques du Ouaddai-Biltine (Anonyme, 1998).

#### **II.1.2.1.4. Pluviométrie**

Dans le Ouaddaï-Biltine, la saison des pluies s'étale de mai à septembre. Toutefois, l'essentiel des précipitations se concentre sur les mois de juillet et août. La pluviométrie se caractérise par son irrégularité d'une année à une autre et par sa tendance à une diminution au cours des dernières décennies (Anonyme, 1998).

De plus, comme dans tous les pays du Sahel, succèdent aux sécheresses des pluies torrentielles, réparties sur une durée très courte, entraînant une forte érosion des sols et des berges des ouadis.

Le Ouaddaï-Biltine connaît non seulement une répartition pluviométrique mensuelle mais aussi une grande irrégularité annuelle.

Les relevés pluviométriques de chaque station de notre région d'étude, sur une période de 10 ans, mettent en évidence cette fluctuation. Pour Abéché par exemple, les écarts vont de 145 mm en 1987 (concernant 25 jours) à 518 mm (concernant 56 jours) dans l'année suivante.

#### **II.1.2.2. Géologie**

Le soubassement géologique du Ouaddaï-Biltine (fig.16) est presque entièrement formé de granite du socle précambrien, un ensemble métamorphique plissé, migmatique et traversé par des intrusions (Anonyme, op.cit.).

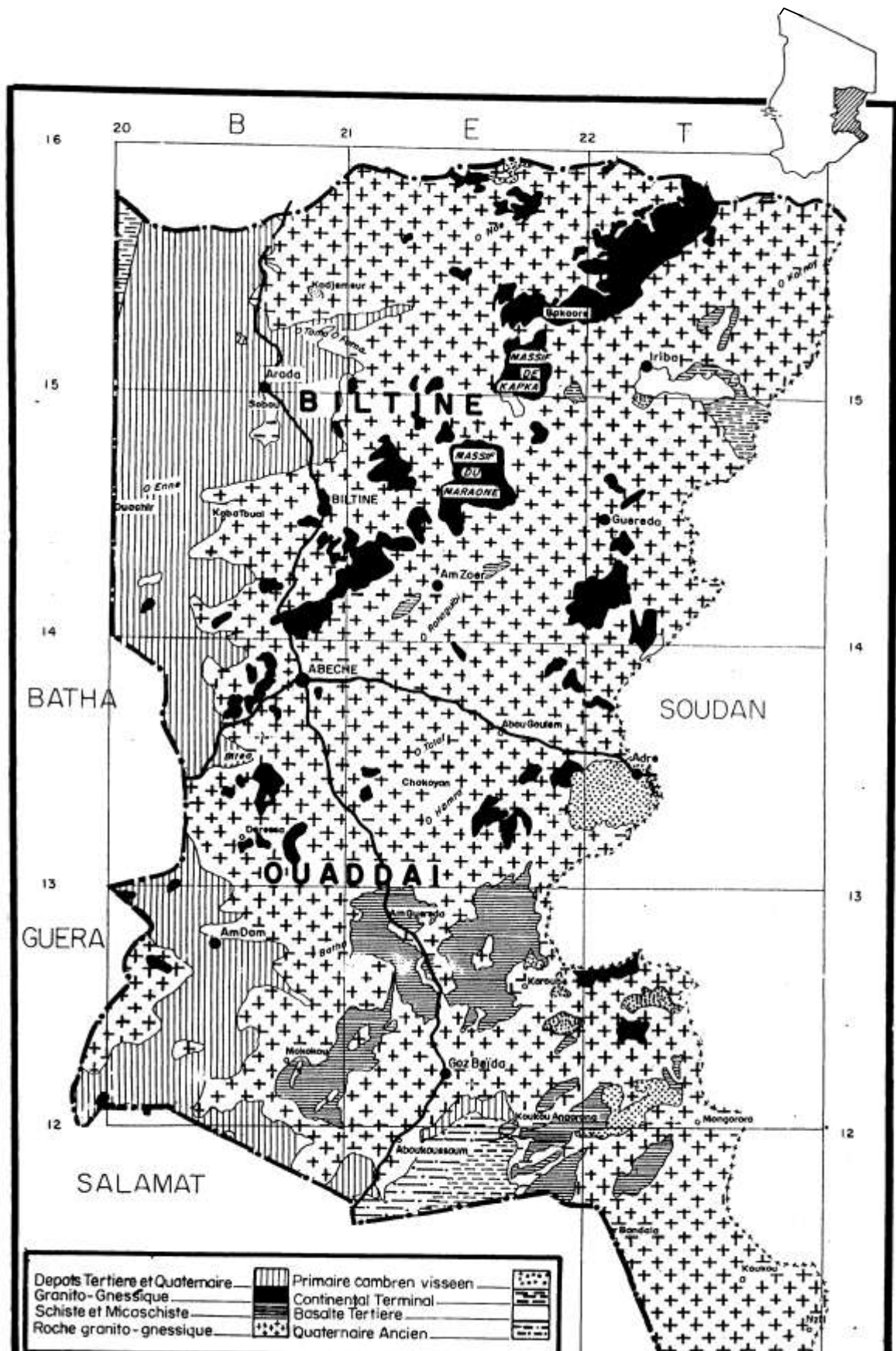


Fig.16. Carte géologique de la région du Ouaddai-Biltine (Anonyme, 1998).

Le granite de type calco-alcalin et magma domine. Le grano-diorite et les micaschistes sont rares et ne se présentent que par endroits. Aux environs d'Adré des grès d'âge paléozoïque sont présents. La partie Sud est caractérisée par une cuirasse ancienne qui affleure par endroits. Elle date de la fin du tertiaire et est véritablement durcie.

Le massif du Ouaddaï qui constitue la bordure orientale de la cuvette tchadienne occupe la partie dominante de la région. Il s'agit d'une surface surélevée par des mouvements épeirogéniques pendant le tertiaire, ensuite abaissée et aplanie par l'érosion. La plus grande partie de cette surface a disparu. On note cependant que des témoins résistants subsistent comme les massifs isolés et inselbergs disséminés. La surface restante est une plaine avec une pente de 0,4 % vers l'Ouest. La partie ouest de la région constitue la bordure de la cuvette tchadienne désignée comme « glacis de piémonts ». Elle a été formée pendant le quaternaire par des dépôts pluvio-lacustres. Les environs de la région sont dominés par de petits îlots sableux d'origine fluviale éolisée. Ils sont souvent localisés autour des massifs et inselbergs où bordent les ouadis. Ils sont d'âges quaternaires déposés pendant les phases arides (Anonyme, 1998).

### **II.1.2.3. Relief**

Le relief de la région du Ouaddaï-Biltine est caractérisé par le massif du Ouaddaï et les piémonts.

Le massif du Ouaddaï s'étend sur 500 km du Nord au Sud et se situe sur la ligne de partage des eaux du Nil et du lac Tchad, et à l'extrémité orientale du plateau saharien. C'est un vaste plateau incliné d'Est en Ouest et qui recouvre environ les trois quarts de la région. Il se présente le plus souvent sous forme de massifs qui ont une altitude comprise entre 500 et 1000 m.

Les piémonts sont une zone de plaines et des plateaux au relief relativement plat soumise à l'ensablement. Cette zone est localisée dans la région Ouest du Ouaddaï. Les altitudes sont comprises entre 360 et 450 m (Anonyme, op.cit.).

### **II.1.2.4. Hydrographie**

Le réseau hydrographique du Ouaddaï-Biltine se compose des eaux temporaires et des eaux souterraines.

#### **Les eaux temporaires**

Le réseau hydrographique lié aux bassins versants des ouadis (cours d'eaux temporaires) et mares permet de distinguer quatre systèmes hydrographiques selon l'importance des ressources en eau :

- le système du Chari/Lac Tchad couvre toute la partie sud de la région et s'étant le long de la frontière jusqu'à Iriba. Le cours d'eau principal est le Bahr Azoum dont les ouadis Kadja, Habile et Doy sont les affluents les plus importants. L'extrême Sud-est du Ouaddaï appartient au bassin versant du Bahr Aouk qui se verse dans le Chari au sud de Sarh.
- le système du lac Fitri, au centre du Ouaddaï, est constitué par le batha et son affluent le plus important qui est le ouadi Bithéa.
- le bassin versant du ouadi Howar, à l'extrême nord-est de la préfecture de Biltine, se déverse dans les zones sableuses du Soudan. Son côté tchadien est alimenté par ses principaux tributaires qui sont les ouadis Absounout-tiné et Gueregne Ourda.

Pendant les années pluvieuses, certains ouadis débordent sur les terrasses alluviales et les dépressions, formant des zones d'inondation favorables à la culture et à l'élevage.

#### Les mares

Les mares jouent un rôle important dans l'abreuvement du bétail. Toutefois, le phénomène d'assèchement entraîne une diminution de leur importance et de leur permanence en saison sèche. Il en est ainsi de la mare d'Adré qui avait une profondeur de plusieurs mètres, même en saison sèche et qui alimentait la ville en eau. Elle s'est asséchée pour la première fois en 1969, et depuis lors le phénomène est récurrent. Les travaux de curage de son fond s'avèrent nécessaires.

#### Les eaux souterraines

Les difficultés techniques plus ou moins grandes de l'accessibilité aux ressources en eaux souterraines dépendent des formations géologiques de la région concernée. On ne trouve pas de couche aquifère généralisée dans les roches cristallines dans le vaste et ancien massif du Ouaddaï mais plutôt une multitude de petits aquifères, isolés les uns des autres et groupables en trois catégories principales :

- les socles fissurés :

Le massif du Ouaddaï principalement constitué de roches cristallines est riche en silice. Celles-ci sont traversées par un réseau de fines fissures, avec des propriétés d'emmagasinement médiocres, qui laissent néanmoins passer de l'eau. Ces fissures se ferment progressivement vers le bas et la partie productive ne peut être atteinte qu'au moyen de forage équipé de pompe. Leur débit unitaire est trop faible pour les besoins des troupeaux ;

- les résidus des roches cristallines, résultat de l'altération sous l'action du climat, pourraient contenir un aquifère généralisé ; toutefois, le phénomène d'érosion, les fortes pentes ainsi que

la faible pluviométrie limitent l'importance de cette nappe. En dessous d'une pluviométrie de 400 mm par an, la quantité d'eau s'accumulant dans le sous-sol est très faible ;

- les alluvions déposés par les ouadis :

La partie haute du massif du Ouaddaï à l'Est est une zone d'érosion. Son fond est rocheux et ne contient pas d'aquifère alluvial. Par contre la partie inférieure est une zone de sédimentation. Elle peut contenir jusqu'à 20 m de dépôt sableux où se forme une nappe alluviale. Seulement au fur et à mesure que l'on progresse vers l'aval, à l'Ouest, la sédimentation devient argileuse et les propriétés de cette nappe apparaissent moins intéressantes. Ces aquifères ont une extension limitée car les vallées sont étroites. Leur pente longitudinale est assez forte et l'eau ne s'y accumule qu'à l'amont des seuils hydrauliques imperméables. Leur faible potentiel hydraulique les destine surtout au petit maraîchage ;

Les aquifères des oueds de la partie méridionale du Ouaddaï, la mieux arrosée, offrent une garantie plus forte de pérennité. Certains d'entre eux sont très perméables et on a pu y creuser des puits d'une capacité de 10m<sup>3</sup>. Ils permettent l'alimentation en eau des centres urbains comme Abéché et le développement des cultures maraîchères (Anonyme, 1998).

#### **II.1.2.5. Pédologie et végétation naturelle**

Sur la base principalement des caractères morphologiques (fig.17), cinq unités agropédologiques ont été distinguées par le bureau d'études de la société allemande de télédétection appliquée, à partir des images satellites dans la région. Pour chacune des unités, il est précisé : la nature des sols, la végétation et les problèmes de l'environnement. Notre étude est faite sur les deux unités C et D.

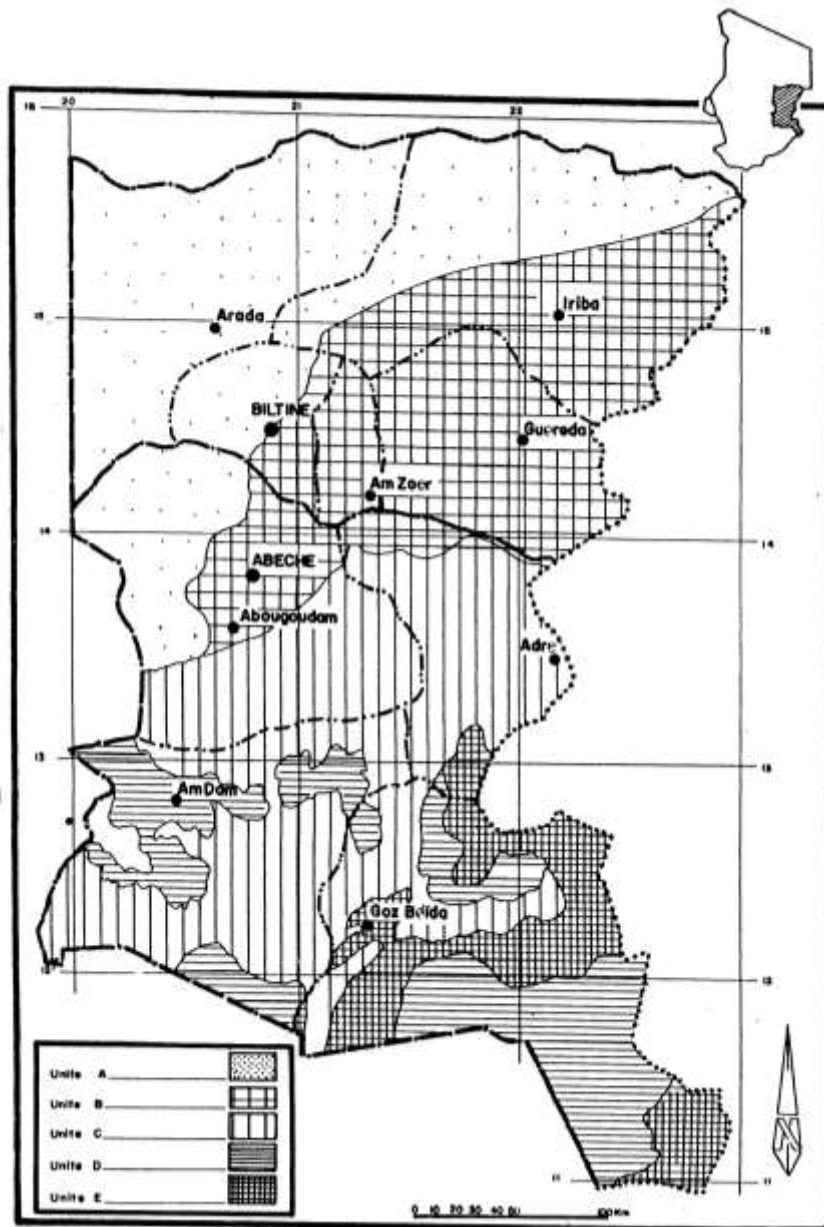


Fig.17. Pédologie et végétation du Ouaddaï-Biltine (Anonyme, 1998).

L'unité C est celle des bas-fonds et terrasses alluviales. Cette aire est drainée par de nombreux ouadis intermittents bordés de terrasses alluviales et en particulier dans les dépressions.

Les sols des terrasses sont très variables en texture. La fertilité est très élevée. Bien que le limon domine, le sable et l'argile existent aussi. Si les sols sont sodiques et/ou argileux, ils sont perméables et durs, mais généralement ils sont perméables et friables : le labour est facile et l'enracinement profond (Anonyme, 1998).

#### Environnement

Grâce à leur perméabilité et leur relief plat, les sols alluviaux ne sont pas érosifs mais sensibles au sapement des berges, en particulier dans les ouadis sableux où le régime torrentiel

provoque des écoulements des berges verticales. L'érosion différentielle est fréquente à tel point que la largeur du lit de plusieurs ouadis augmente de quelques dizaines et par endroits de quelques centaines de mètres. Le phénomène de sapement ne se produit le plus souvent qu'en période de crues exceptionnelles (Anonyme, op.cit.).

### Végétation

Les ouadis dans le Nord-ouest ont une physionomie arbustive souvent clairsemée et composée entre autres de *Acacia* spp., *Balanites aegyptiaca*, *Boscia senegalensis* et *Salvadora persica*.

Dans les galeries forestières du Sud on trouve *Tamarindus indica*, *Anogeissus leocarpus* et *Combretum glutinosum*.

Sur les sols sableux à sablo-argileux des fonds des vallées, on trouve *Acacia seyal* le long du ouadi bithea, vers Oum-hadjer ainsi que sur la route d'Am-zoer. Le couvert herbeux est bon et très varié mais souvent surpâturé (Anonyme, op.cit.).

L'unité D est représentée par une plaine sur cuirasse latéritique. Elle est localisée dans le sud de la préfecture du Ouaddaï (sous-préfecture Goz-beïda et Am-dam). Il s'agit des regs à surface souvent gravillonneuse. Le paysage est peu incisé par le réseau hydrique. La plupart des sols sont argileux, souvent avec des fentes très compactes à l'état humide. Malgré le relief plat, il existe une sévère érosion en nappe là où la surface est dénudée ; Il y a un faible ravinement dans la zone où le ruissellement est concentré (Anonyme, op.cit.).

Grâce à la pluviométrie la plus élevée de la région, la végétation est plus boisée qu'ailleurs. Les arbres les plus typiques sont *Acacia seyal*, *Albizia amara* et *Combretum glutinosum*. *Sclerocarya birrea* est fréquent sur les sols plus sableux. Le couvert herbeux est moyen avec 30 % de la superficie dénudée. Au sud de Goz-beïda, la végétation est relativement bien conservée (Anonyme, op.cit.).

## II.2. METHODES D'ETUDES

### II.2.1. Etudes phytochimiques

#### II.2.1.1. Matériel biologique utilisé

Les gousses de *A. nilotica*, le bois de tronc de *T. macroptera* et celui de *C. procera* ont été récoltés en juillet 2009 dans la région d'Abker (Ouaddaï, Est du Tchad). Les gousses ont été récoltées sèches et les bois de tronc ont été coupés sur des plants secs puisque ce sont des morceaux de bois secs qui sont traditionnellement mis à brûler pour servir d'insecticide et dans la construction des cases, respectivement pour *T. macroptera* et *C. procera*.



Les poudres obtenues à partir des bois de *T. macroptera* et *C. procera*, fendus à la hache puis réduits en poudre fine à l'aide d'un broyeur et celle obtenue à partir des gousses sèches de *A. nilotica* broyées ont constitué le principal matériel végétal de l'étude.

## **II.2.1.2. Généralités sur les techniques utilisées**

### **II.2.1.2.1. Méthodes chromatographiques**

#### **II.2.1.2.1.1. Chromatographie sur couche mince**

C'est une méthode chromatographique analytique qui est utilisée à chaque étape pour le suivi et le contrôle des étapes de purification. Les chromatogrammes sur couche mince permettent de vérifier la présence des produits suivis et l'état de pureté.

Les analyses sur couche mince sont réalisées en phase normale sur des plaques d'aluminium avec deux supports différents : en phase normale, ont été utilisées des plaques recouvertes d'un gel de silice Silicagel 60 F254, Merck® (20 x 20 cm) ; en phase inverse, elles sont recouvertes d'un gel de silice Silicagel 60 RP-18 F254, Merck® (20 x 20 cm). Le développement des plaques a été réalisé dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié.

La phase mobile est constituée d'un mélange binaire, tertiaire ou quaternaire de solvants selon le type de séparation souhaitée.

Dans notre cas, les systèmes de solvants pour les différentes classes de composés sont les suivants (les proportions sont données en volume et sont classées par polarité croissante) :

Hex / AcOEt (5 : 5)

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH / H<sub>2</sub>O (70 : 30 : 5)

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / Me OH (90 : 10)

MeOH / H<sub>2</sub>O (6 : 4)

Hex / AcOEt (7 : 3)

CHCl<sub>3</sub> / MeOH (9 : 1)

CHCl<sub>3</sub> / MeOH (7 : 3)

AcOEt / MeOH / H<sub>2</sub>O (60 : 15 : 1)

MeOH / H<sub>2</sub>O (80 : 20)

ButOH / isop OH / H<sub>2</sub>O (4 : 2 : 2)

ButOH / isoprOH / H<sub>2</sub>O (4 : 1 : 1)

L'observation des CCM s'effectue en lumière visible et sous UV (254 et 365 nm), avant et, dans certains cas, après révélation par les réactifs appropriés.

Les réactifs utilisés pour l'observation des différentes tâches sur les plaques sont :

- la vanilline sulfurique : elle est utilisée pour caractériser les composés terpéniques en général, dont les triterpènes et les stéroïdes en particulier. Elle est constituée d'un mélange de solution A de 6 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans 100 ml d'éthanol 96% et d'une solution B de 6 g de vanilline dans 100 ml d'éthanol 96 %. Le mélange à volume égal des solutions A et B est utilisé pour pulvériser les plaques CCM analytiques.

- le DBA : il est généralement utilisé pour caractériser les flavonoïdes. Il est constitué d'un g de diphénylborate d'aminoéthanol dans 100 ml de méthanol puis 5 ml de PEG 400 (Polyéthylène glycol).

L'utilisation de différents réactifs permet de rassembler judicieusement les fractions récoltées suites aux différentes chromatographies.

#### **II.2.1.2.1.2. Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte**

C'est une technique utilisée à des fins préparatives pour fractionner ou purifier un extrait. La phase stationnaire (silice ou cellulose) est placée dans une colonne en verre de diamètre et hauteur variables selon la quantité de produits à séparer et selon la résolution voulue (en général 100 g de phase stationnaire pour 1 g d'extrait). Les éluants sont utilisés en fonction de l'allure de l'extrait sur la CCM analytique. Les Phases stationnaires utilisées ont été :

- gel de silice 60 Å 40-63 µm (Merck®) : la séparation se fait en fonction des différences d'affinité des composés pour la phase stationnaire. On parle de chromatographie d'affinité. Sur Silice en phase normale, plus les composés polaires sont polaires plus ils seront retenus sur la phase stationnaire, plus le temps de rétention sera long.

- Sephadex LH-20 (lipophilic Sephadex, Pharmacia®) : la séparation se fait en fonction des différences de taille et de poids des composés. On parle de chromatographie d'exclusion-diffusion. Plus la taille des composés est importante, plus le temps de rétention sera court.

L'échantillon dissout dans la phase mobile de départ est déposé au sommet de la colonne et élué par la phase mobile qui s'écoule sous l'effet de la gravité. L'éluant est recueilli dans des tubes à analyser par CCM afin de rassembler les fractions similaires.

Une fois les tubes similaires rassemblés, l'éluant est évaporé à l'évaporateur rotatif.

Sur gel de Silice, si l'échantillon ne se dissout pas dans la phase mobile de départ, on procède à un dépôt sec : l'échantillon est dissous dans un minimum de solvant adéquat et adsorbé sur silice (ou cellulose) dans un cristalliseur ; le solvant est évaporé sous hotte puis la poudre ainsi obtenue est déposée au sommet de la colonne.

#### **II.2.1.2.1.3. Chromatographie liquide sous moyenne pression**

La chromatographie liquide à moyenne pression (MPLC) est réalisée à l'aide d'une pompe Büchi 688, sur colonnes de chromatographie moyenne pression en verre Büchi remplies soit avec de la silice SDS 60 Å 6-35 µm (SDS®, Peypin) en phase normale (préalablement activée quelques heures à l'étuve à 110 °C), soit avec de la silice en phase inverse de type C-18 90 Å, 40-60 µm (AIT, Le Mesnil le Roy). L'échantillon est introduit sous forme solide mélangé à la phase stationnaire. Les systèmes d'élution utilisés sont généralement des mélanges binaires dans des proportions variables au cours de l'élution. La colonne est éluée avec un débit d'environ 20 ml/min et la pression est en moyenne de 2 bars. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

#### **II.2.1.2.1.4. Chromatographie en phase solide**

Il s'agit d'un module de purification qui permet d'utiliser jusqu'à 60 g de silice (Merck®). C'est une technique chromatographique qui permet de fractionner des échantillons en petite quantité. L'élution est effectuée sous vide avec contrôle du débit. Les colonnes peuvent être achetées prêtes à l'emploi ou fabriquées au laboratoire comme une colonne ouverte classique.

#### **II.2.1.2.1.5. Chromatographie liquide sous vide**

Elle est utilisée pour un fractionnement grossier avec différentes phases stationnaires et a comme avantage une économie de solvants.

#### **II.2.1.2.1.6. Chromatographie liquide à haute performance**

La CLHP est une technique chromatographique utilisée pour des analyses qualitatives et quantitatives. Elle peut être utilisée à des fins analytiques mais aussi préparatives.

Ici nous avons utilisé la CLHP dans des conditions analytiques. Deux modes de détection ont été utilisés :

- la spectroscopie UV/vis avec un détecteur à barrettes de diodes (Diode Array Detector). Cela permet d'enregistrer les données chromatographiques à différentes longueurs et, simultanément, d'obtenir les spectres UV /vis de chaque pic détectés sur le chromatogramme.
- la spectrométrie de masse, avec la technique d'ionisation par électrospray (ESI-MS, ElectroSpray Ionization-Mass Spectrometry). Le spectromètre utilisé ici est un quadripole à temps de vol (Q-TOF, Quadrupole-Time Of Flight), permettant d'obtenir des fragmentations spécifiques à chaque composé présent. Cet équipement permet des analyses SM, SM/SM et SMn.

Ces deux techniques de détection peuvent être couplées, notamment pour les analyses en UPLC/UV-DAD/MS-ESI-QTOF (tableaux XXI et XXII). Ce couplage est très intéressant car il associe les données UV/vis et les données de spectrométrie de masse, exploitées pour l'identification en ligne des composés présents dans un mélange. Ces données peuvent être comparées à celles d'une banque de données interne au laboratoire, pour identifier avec certitude les composés connus, sans avoir à les purifier.

Tableau XXI. Appareillage utilisé

	HPLC/UV-DAD	UHPLC/DAD/MS-QTOF
Appareil	Agilent Technology série 1200 dégazeur (G132A) pompe quaternaire (G1311A)	Agilent 1290 Infinity series
Détecteur	DAD (G1315B)	DAD (G4212A) ESI-QTOF (Agilent 6530)
Injecteur	Passeur d'échantillons (G1329A)	

Tableau XXII. Conditions d'analyse utilisées

	HPLC/UV-DAD	UHPLC/DAD/MS-QTOF 130207-10
Colonne	NUCLEODUR sphinx C18 (250 × 4,6 mm ; 5 µm-Macherey-Nagel®, Düren, Germany)	POROSHELL 120 EC-18 column (2,7 µm, 3,0 x 100 mm, Agilent)
Phase mobile	solvant A : Eau solvent B : 0,4 % acide acétique dans CH <sub>3</sub> CN	solvant A : Eau- acide acétique 0,4 % solvent B : CH <sub>3</sub> CN
Phase mobile de 0 à 3 mn de 3 à 30 mn	0 – 3 mn                    B : 2 % 3,1 – 30 mn                B : 2 à 100 %	0 - 3 mn :                B : 1 % 3,1 - 13 mn :            B : 1 à 100 % 13,1 - 17 mn :         B : 100 %
Débit	1 ml/mn	0,7 ml/mn
Volume injecté	10 µl	5 µl
Concentration des extraits	10 mg/ml dans MeOH	10 mg/ml dans MeOH
Détection DAD-UV/vis	λ 210, 230, 254, 280, 360 nm spectres UV/vis enregistrés entre 190 and 600 nm	λ 210, 230, 254, 280, 360 nm spectres UV/vis enregistrés entre 190 and 600 nm
Détection ESI-MS		Ionisation en mode positive, spectres enregistrés entre m/z 100 et 2000, Voltage du capillaire 3,5 kV ; fragmenteur 120 V ; Energie de collision-dissociation de 20 eV ; Débit de l'Azote 10 l/mn, à la température de 300 °C et à la pression de 40 psi

Les phases mobiles varient en fonction des échantillons à analyser en UHPLC-UV-MS.

Le logiciel Chemstation Agilent® a été utilisé pour l'intégration et la comparaison des chromatogrammes. Chaque chromatogramme est intégré, à l'exception des pics minoritaires.

Les composés sont identifiés après analyse de leurs données UV/vis, HRMS (spectrométrie de masse haute résolution) et MS/MS (fragmentation de masse) en utilisant le logiciel Mass Hunter Qualitative Analysis (Agilent® Technologies, USA). Les données sont comparées à celles d'échantillons témoins (Extrasynthèse®, Lyon, France) ou aux données de la littérature.

#### **II.2.1.2.2. Méthodes spectroscopiques**

Les appareils Bruker® Avance 500 et Bruker® DRX 300 ont permis d'effectuer l'enregistrement des différents spectres RMN. Les spectres RMN 1H ont été enregistrés à 500 et 300 MHz et ceux de RMN 13C à 125 et 75 MHz, respectivement. Les solvants utilisés pour la solubilisation des composés sont deutérés. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm (partie par million) en prenant comme origine le tétraméthylsilane (TMS,  $\delta$  0), ou comme référence le solvant (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  7.24 pour le 1H / 77.00 pour le 13C ; CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$  3.30 pour le 1H / 49.00 pour le 13C).

##### **II.2.1.2.2.1. Résonance magnétique nucléaire monodimensionnelle**

Dans la RMN monodimensionnelle (RMN 1D), trois méthodes ont été utilisées :

- RMN 1H est utilisé pour déterminer la structure d'un composé, elle fournit les informations sur les différents types de protons que possèdent les composés ;
- RMN 13C apporte plus d'informations sur la structure d'un composé en fournissant le nombre de carbones présents dans le composé ;
- RMN 13C (DEPT) permet de mettre en évidence les carbones primaires (CH), secondaires (CH<sub>2</sub>) et tertiaires (CH<sub>3</sub>), présents dans une molécule.

##### **II.2.1.2.2.2. Résonance magnétique nucléaire bidimensionnelle**

Dans la RMN bidimensionnelle (RMN 2D), trois méthodes ont été utilisées :

- Corrélation homonucléaire

COSY (1H - 1H) fournit des informations sur les couplages homonucléaires 2J et 3J entre les protons voisins ;

- Corrélation hétéronucléaire

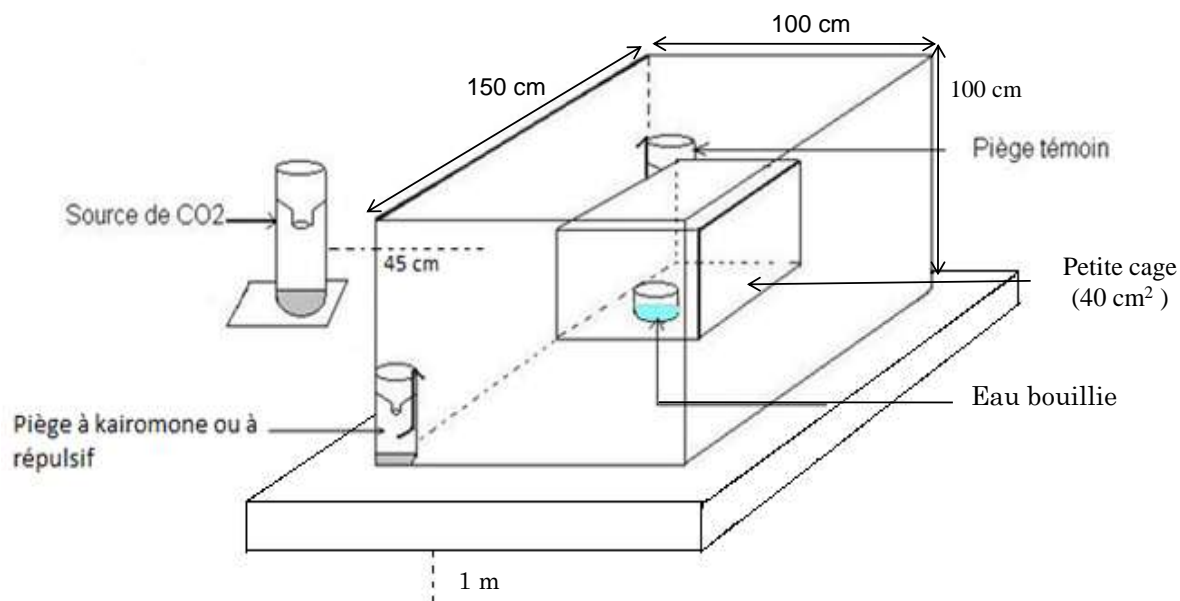
HSQC (1JH-C) fournit des informations sur les couplages chimiques entre les carbones et protons directement liés ;

HMBC (2JH-C, 3JH-C) permet de détecter les couplages chimiques à longue distance.

#### **II.2.2. Etudes biologiques**

##### **II.2.2.1. Mesure de l'effet répulsif ou attractant des moustiques *Culex* sp.**

Ces tests ont été réalisés en collaboration avec le Laboratoire International Associé (CNRS/Université d'Antananarivo) situé à Antananarivo (Madagascar). Les essais ont été réalisés en plusieurs temps (période chaude et période chaude et humide).



### Les pièges à kairomone et à blanc



Fig.18. Dispositif expérimental mis en place au Laboratoire International Associé.

Moustiques adultes :

- larves récoltées le 08/10/13 à Ampefiloha Antananarivo (Madagascar) ;
- prélèvement le 10/10/13 (moustiques de 1J) ;
- tests sur les moustiques âgés de 5J, 6J, 7J, 8J .

Une cinquantaine de moustiques femelles nullipares de même âge entre 5-12 jours, sont préalablement laissés à jeun pendant huit heures dans la petite cage (PC). Les deux pièges (témoin et produit à tester) ont été placés à l'intérieur de la grande cage (GC), sur deux côtés opposés. Une source de CO<sub>2</sub> est placée au milieu des deux pièges à l'extérieur de la grande cage (cage du test). Entre deux et huit répétitions ont été effectuées pour chaque concentration de produit à tester, et l'emplacement du piège et du témoin a été inversé à chaque essai et les moustiques remplacés par de nouveaux individus pour chaque répétition (le nombre de répétition dépendant de la quantité de produit disponible). Le test débute à 09 : 00 PM pour tenir compte du rythme d'activités des moustiques. Il a été lancé en ouvrant lentement la cage

de relâchement dans la grande cage de test. La durée totale du test est de 24 h. Après chaque test, les pièges sont retirés après comptage, la salle est ventilée pendant 24h, les moustiquaires sont changées et nettoyées toutes les semaines.

Dispositif expérimental :

L'expérience se déroule simultanément dans deux salles d'expérimentations maintenues à une température de 25°C et une humidité relative proche de 70%. Chaque pièce se compose d'un ventilateur pour l'aération de la salle d'expérimentation, un radiateur pour le maintien de la température, une grande cage (cage de test : (1.5x1x1) m<sup>3</sup>), une petite cage (cage de relâchement : (40x40x40) cm<sup>3</sup>), des cuvettes remplies d'eau pour maintenir l'humidité relative de la salle de test.

Les activités des moustiques pendant les tests à blanc ont été pris comme une mesure de référence. On suppose que les moustiques qui sont restés dans la grande cage sont considérés comme inactifs lors du test pendant une durée de 24 heures et que seuls les moustiques qui se trouvent dans les deux pièges (témoin et traitement) sont pris comme mesure de l'effet du produit.

Les mesures :

Selon la littérature, les effets attractant ou répulsif (Pascual-Villalobos and Robledo, 1998 ; Khalequzzaman et al., 2002) des extraits végétaux sur les moustiques sont évalués au travers de la détermination d'indices calculés selon la formule suivante :  $100 \times (T-C) / (T+C) =$  Index d'attraction et  $100 \times (C-T) / (T+C) =$  Index de répulsion, où T est le nombre de moustiques du test, et C est le nombre de moustiques du contrôle. Les fractions ou molécules testées sont ensuite classées (Beroza and Green, 1963) selon leur indice entre 1-15 (classe 1), 16-33 (classe 2) et 34-100 (classe 3). La valeur zéro indique l'absence de préférence pour le contrôle ou le test.

Ici, seulement 30 à 70 % des moustiques présenteraient une activité et chercheraient à se nourrir dans l'un des pièges proposés. Les 70 à 30 % restant sont considérés comme inactifs pendant la période du test. Aussi, les résultats ont été exprimés en fonction de deux paramètres :

(i) le pourcentage de moustiques qui sont entrés dans les pièges par rapport à ceux qui restent dans l'espace de la grande cage à la fin du test a été pris comme mesure de l'activité (IA) pendant le test. Il faut noter que seuls les indices d'activités supérieurs à 20% ont été acceptés.

$$IA (\%) = \frac{P + T}{P + T + G} * 100$$

(ii) le pourcentage de la différence du nombre de moustique piégés dans le groupe traité et le groupe témoin sur l'ensemble des moustiques qui se trouvent dans les deux pièges était



pris comme une mesure de répulsivité ou d'attractivité du produit testé (IR= indice de répulsion, ou IS= indice de sélectivité). Un indice de répulsion ou de sélection égal à zéro suppose qu'il n'y a pas d'effet enregistré : il y a autant de moustiques dans le piège traité et dans le piège témoin. Si cet indice est positif ou négatif, alors on a respectivement un effet ou un effet inverse du produit. Ils sont exprimés par la formule ci-dessous :

$$IS \text{ ou } IR(\%) = \frac{P - T \text{ ou } T - P}{P + T} * 100$$

P : Somme des moustiques capturés dans le piège à kairomone ou à répulsif ou produit testé

T : Somme des moustiques capturés dans le piège témoin (solution de saccharose à 6 %)

G : Somme des moustiques restés dans la grande cage

Fractions étudiées :

Seuls les extraits TM1C, TM2B et TM2C (annexe 5) et un témoin d'acide gallique, ont été testés sur ce modèle.

#### **II.2.2.2. Recherche des activités antimicrobiennes**

Les activités antimicrobiennes sont réalisées par la méthode de micro-dilutions sur *Staphylococcus aureus*. Deux souches standards sont sélectionnées pour leurs implications dans la récurrence de maladies nosocomiales en milieu hospitalier (SA 1199 et SA 1199B). SA 1199 est la souche sauvage et SA 1199 B est une souche mutante sur-exprimant des pompes à efflux du type NorA, impliquées dans le phénomène de résistance aux antibiotiques.

Pour étudier l'effet inhibiteur de pompes à efflux des extraits végétaux, il faut déterminer au préalable leur CMI.

##### **II.2.2.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits végétaux**

On utilise la méthode des microdilutions sur des plaques à 96 puits et pour cela il faut :

- préparer les extraits végétaux à différentes concentrations de 2 mg/l à 0.03125 mg/ml, concentration finale dans le puits.
- préparer le milieu de culture dans lequel seront testés les extraits végétaux.
- le volume total du puits est de 200 µl et est réparti comme suit :
- 100 µl d'extrait végétal ;
- 100 µl de milieu de culture.

Préparation des différentes concentrations de l'extrait végétal :

Les extraits doivent être préparés dans du DMSO à 10 % pour que dans le puits la concentration finale de ce dernier soit de 2.5 %. Pour cela, il faut :

- dissoudre l'extrait végétal dans du DMSO pur. La concentration de la solution mère de l'extrait végétal est de 4 mg/ml ;
- la solution mère sera ensuite diluée 10 fois pour avoir des solutions d'extraits végétaux contenant 10 % de DMSO au maximum ;
- la première concentration finale de l'extrait dans le puits sera de 2 mg/ml.

Préparation de l'inoculum :

- la souche est repiquée sur le milieu nutritif Mueller-Hinton solide et laisser à incuber pendant une nuit à 37 °C.
- la densité bactérienne de l'inoculum est mesurée à l'aide d'un densimètre et ajuster sa valeur à 0.8 Mac Farland qui correspond à  $10^8$  CFU/ml.
- à partir de la solution mère, on préparera un volume dilué de cet inoculum qui servira à apporter dans chaque puits de la microplaque une quantité de  $10^6$  CFU/ml.

Par exemple pour une valeur de 0.8 Mac Farland, on prendra 100 µl de la solution mère, auquel on ajoutera 9.9 ml de milieu Mueller-Hinton.

Interprétation des résultats :

La concentration la plus faible de l'extrait inhibant toute la croissance visible à l'œil nu après une nuit d'incubation à 37 °C est la concentration minimale inhibitrice dite CMI.

#### **II.2.2.2.2. Evaluation de l'effet inhibiteur de pompes à efflux**

Une fois la CMI de l'extrait végétal déterminée, on procédera à l'étude de l'effet IPE de ce dernier sur la bactérie. Pour cela, On utilisera une concentration d'extrait 4 fois inférieure à la CMI puis on ajoutera l'ATB auquel la souche est sensible, à concentration croissante.

La concentration de l'extrait végétal reste constante et on variera dans ce cas la concentration de l'ATB utilisé (de la concentration initiale de 8 µg/ml à 0.125 µg/ml).

Préparation de l'ATB :

L'antibiotique utilisé est la ciprofloxacine à 0.64 mg/ml. La solution est préparée selon le protocole suivant :

- 6.4 mg d'ATB sont dissouts dans 1 ml de H<sub>2</sub>O ultra pure ;
- 8 µl de HCl à 37 % sont ensuite ajoutés (pour une dissolution complète de l'ATB) et enfin on complète à 10 ml avec H<sub>2</sub>O ultra pure pour obtenir une solution à 0.64 mg/ml ;
- on commencera ensuite à préparer les solutions de l'ATB à différentes concentrations de 8 µg/ml jusqu'à 0.125 µg/ml. Les dilutions se feront dans du milieu nutritif Mueller-Hinton liquide.

L'incubation des plaques se fait à 37 °C pendant une nuit et la lecture des résultats se fait en observant à l'œil nu la turbidité des solutions dans le puits (solution trouble signifie qu'il y a croissance bactérienne).

L'effet inhibiteur de pompe à efflux se manifeste en diminuant la CMI de l'ATB utilisé de deux cupules (puits) au minimum.

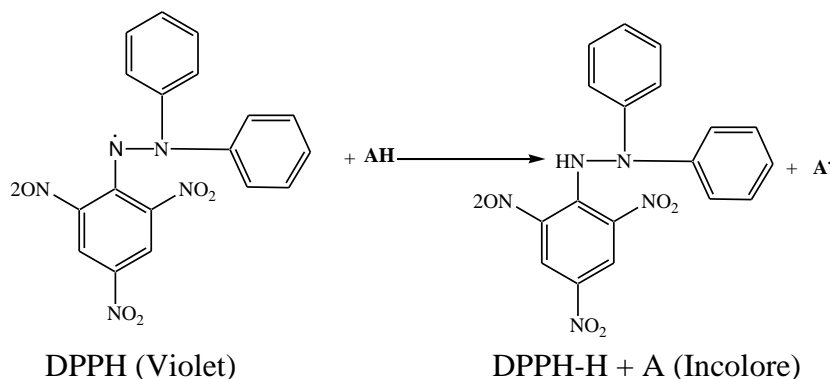
### II.2.2.3. Recherche des activités antioxydantes

L'évaluation du pouvoir antioxydant a été effectuée avec le test du DPPH.

Principe :

L'activité antiradicalaire vis-à-vis du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été évaluée à température ambiante. La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 50 ml de MeOH. La solution de référence est le Trolox (acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tétraméthyl-chroman-2-carboxylique). Cinq solutions de concentration différentes sont préparées à partir de la solution mère (50 mg dans 10 ml de MeOH) en suivant un protocole adapté de Brand-Williams (1995).

Le radical DPPH présente une coloration violette intense qui vire au jaune en présence de capteurs de radicaux libres et se réduit en 2,2-diphényl-1- picrylhydrazine (Congo, 2012).



La diminution de l'intensité de la coloration est suivie par spectrophotométrie à  $\lambda = 515$  nm. Elle rend ainsi compte du pouvoir piègeur des molécules étudiées vis-à-vis du DPPH (Maataoui et al., 2006 ; Congo et al., 2012). Elle permet de déterminer ainsi l'EC50, concentration à laquelle 50 % de la coloration est perdue soit 50 % des radicaux piégés.

Les résultats sont exprimés par rapport à ceux obtenus par le Trolox pris comme antioxydant de référence. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicat.

Protocole :

Cinq dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 de chaque extrait et chaque composé ont été préparées à partir d'une solution mère à 10 mg/ml et 1 mg/ml) respectivement. Le test est réalisé sur une plaque de 96 puits à fond plat (Réf. 655101, Deutscher®). Dans les puits, on place les échantillons à tester, aux différentes concentrations, auxquelles sont additionnés 200  $\mu$ L DPPH

(Réf. D9132, Sigma®). L'absorbance du mélange est mesurée à 515 nm par une lecture de microplaque Multiskan Ex® (Thermo Electron Corp.) utilisant le logiciel Ascent® Software 2.6 ; la lecture se fait toutes les minutes pendant 45 mn.

L'activité des extraits est évaluée par rapport à la solution 100 % qui renferme le méthanol absolu (blanc réactif) (réf. PF309008002, Carlo Erba®) et par rapport à la solution 100 % de DPPH (Song et *al.*, 2003 ; Naik et *al.*, 2004).

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la formation des radicaux DPPH libres est calculé selon la formule suivante :

$$PI = (1 - (DO \text{ extrait} / DO100 \%)) \times 100, \text{ où :}$$

DO<sub>extrait</sub> = absorbance de la solution contenant une dilution de l'extrait ou du produit pur en présence du DPPH.

DO100 % = absorbance de la solution 100 % contenant uniquement la solution de DPPH.

Seules les fractions TM 2A, TM 2B et TM 2C ont été analysées.

## CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

### III.1. RESULTATS

#### III.1.1. Etude de *Terminalia macroptera*

##### III.1.1.1. Fractionnement, purification et analyses des extraits de *Terminalia macroptera*

###### III.1.1.1.1 Macération de la poudre du bois de tronc *Terminalia macroptera*

Le bois du tronc, broyé en poudre fine (1Kg) a été extrait par macération dans le méthanol (Me OH) pendant 24 heures, à trois reprises. Après filtration et évaporation sous vide, les trois extraits méthanoliques TM1A (24,64 g), TM1B (6,78 g) et TM1C (94 g) ainsi obtenus ont été regroupés pour constituer l'extrait méthanolique de départ (fig.19).

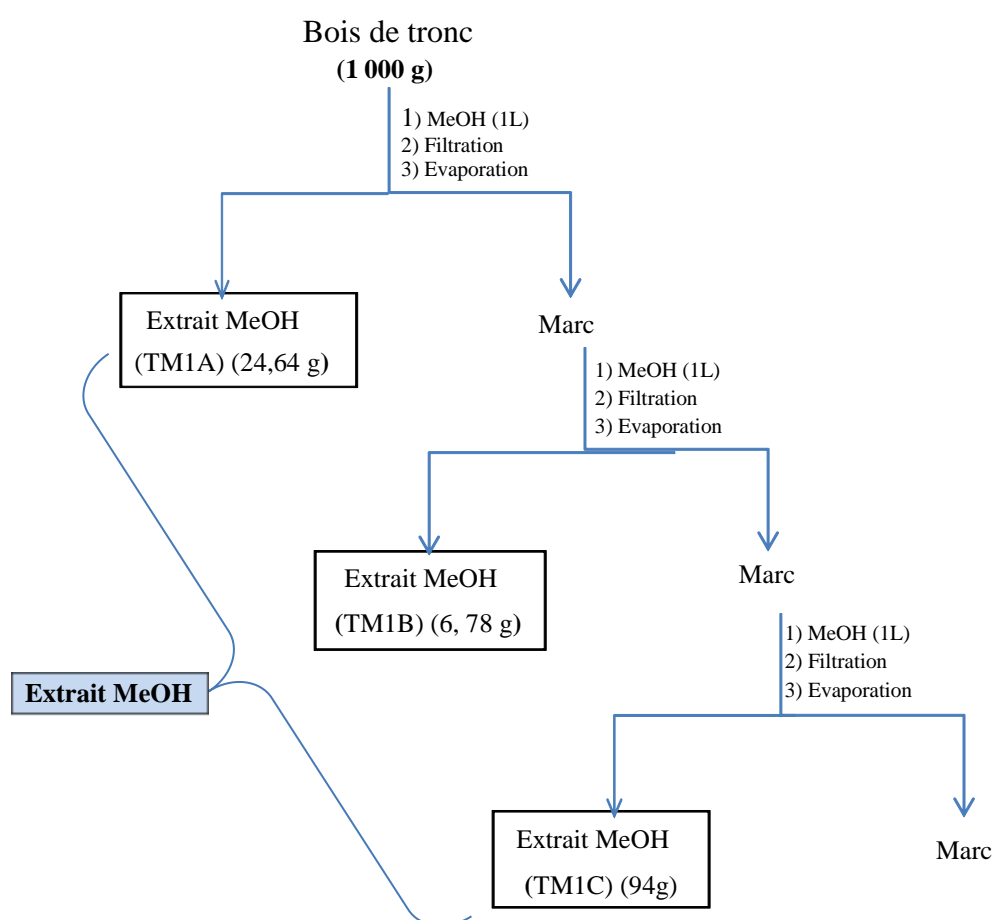


Fig.19. Extraction de la poudre du bois de *Terminalia macroptera*

###### III.1.1.1.2. Fractionnement de l'extrait méthanolique

Une petite masse (30 g) de l'extrait méthanolique sec a été dissoute dans l'eau distillée et a subi un fractionnement liquide-liquide contre du dichlorométhane (DCM, 300 ml x 3), de l'acétate d'éthyle (AcOEt, 300 ml x 3) et du butanol (BuOH, 500 ml x 3) successivement pour donner quatre fractions TM2A à TM2D (fig.20) :

- une phase dichlorométhane TM2A (0,9664g) ;
- une phase acétate d'éthyle TM2B (4,33g) ;
- une phase butanolique TM2C (4,58g) ;
- une phase aqueuse résiduelle TM2D (6g).

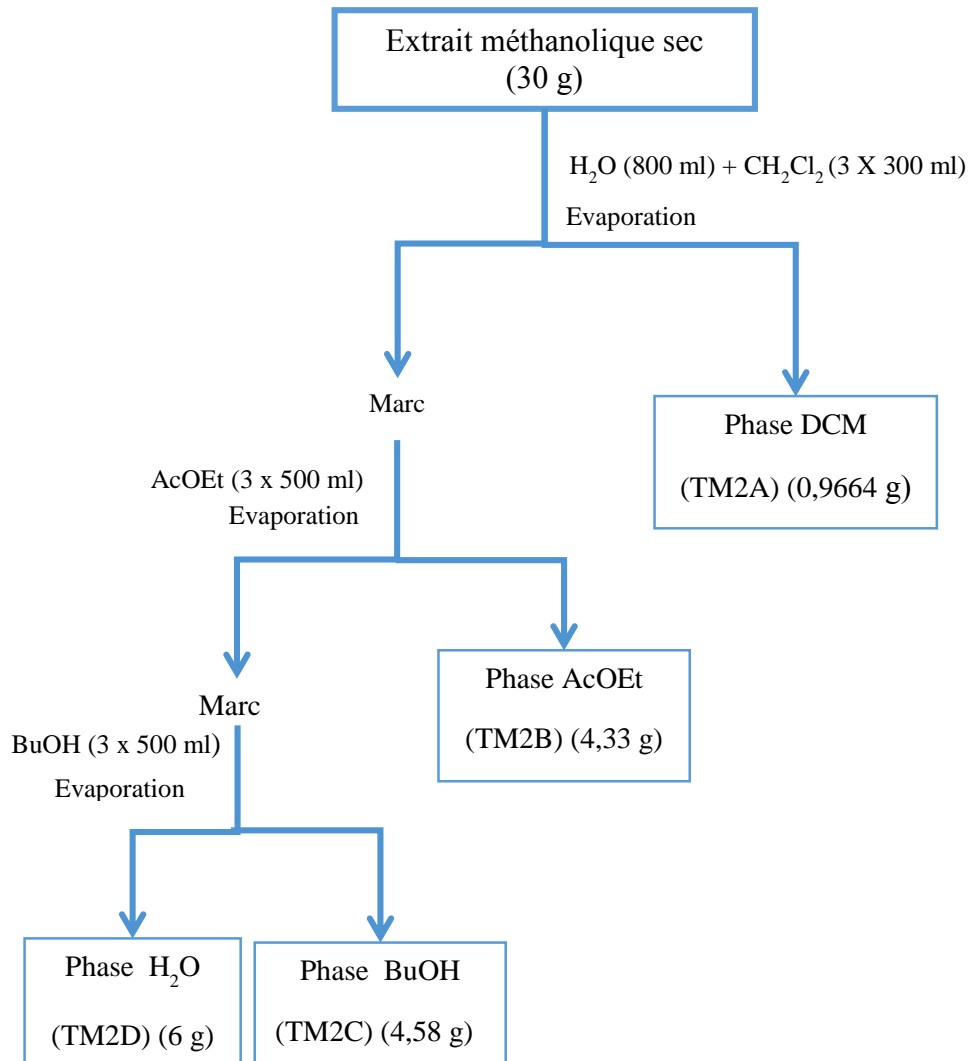


Fig.20. Fractionnement liquide-liquide de l'extrait méthanolique

Le profil métabolique des extraits ainsi obtenu a été réalisé par CLHP/UV/SM.

### III.1.1.1.3. Fractionnement de l'extrait dichlorométhane

La phase dichlorométhane a été soumise à une extraction liquide-liquide au vu de son profil CCM. Trois fractions sont ainsi obtenues : TM10A, TM10B et TM10C.

#### III.1.1.1.4. Fractionnement de l'extrait acétate d'éthyle

La phase acétate d'éthyle a fait l'objet d'une colonne sous vide (VLC = Vacuum Liquid Chromatography) sur silice pour donner huit fractions de TM3A à TM3H (fig.21 ; tableau XXIII).

L'élution est réalisée avec gradient Hexane-AcOEt-MeOH (de 100 % hexane à 100 % MeOH) (annexe 3).

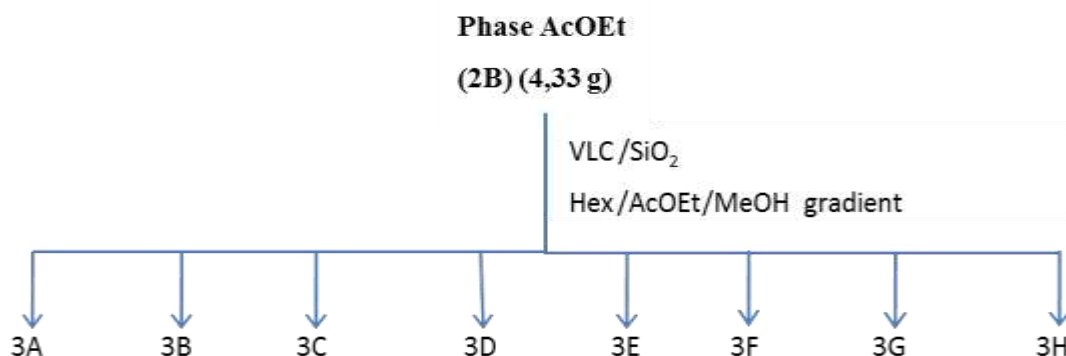


Fig. 21. Fractionnement de l'extrait AcOEt

Tableau XXIII. Fractions résultant de la VLC de TM 2B

Fraction	Regroupements	Masse extrait (mg)
TM 3A	1	1,8
TM 3B	2	3,2
TM 3C	3	14,9
TM 3D	[4-13]	190 ,2
TM 3E	[14-16]	41,1
TM 3F	17	35,9
TM 3G	[18-19]	247,1
TM 3H	[20-22]	3268,4

#### III.1.1.1.5. Purification des fractions issues de la phase acétate d'éthyle

La fraction TM3G (247 mg) ainsi obtenue a fait l'objet d'une purification par SPE (Solid Phase Extraction) en phase inverse (Lichoprep RP-18,40-60 µm, Merck®) eau/méthanol pour donner 10 fractions, de TM4A à TM4J (fig.22 ; tableau XXIV).

L'élution est réalisée avec un gradient de 100 % H<sub>2</sub>O à 100 % MeOH (paliers de 10 %) (annexe 4).

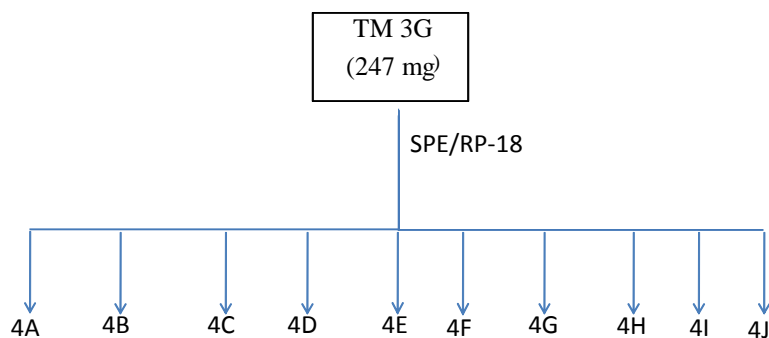


Fig.22. Fractionnement de TM3G

Tableau XXIV. Fractions résultant de la SPE de TM3G

Fraction	Regroupements	Masse (mg)	extrait
4A	1	3	
4B	[2-4]	19,5	
4C	[5-6]	13,6	
4D	7	7,6	
4E	8	7,6	
4F	9	30,9	
4G	10	1,8	
4H	11	16,4	
4I	[12-13]	30,2	
4J	[14-16]	37,7	

Quatre de ces fractions issues de la VLC ont été fractionnées dans MeOH-H<sub>2</sub>O (90 : 10) sur Sephadex LH-20 ; ce sont les fractions TM4B (19,5 mg), TM4C (13,6 mg), TM4F (30,9 mg) et TM4I (30,2 mg) pour donner cinq produits purs qui sont : TM5A et TM5B pour la fraction 4B, TM7A pour la fraction 4C, TM8B et TM8C pour la fraction 4F (tableaux XXV à XXVIII, annexe 1).

Tableau XXV. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4B

Regroupements	Fractions	Masse (mg)
1	5A	4,8
2	5B	3



Tableau XXVI. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4C

Regroupements	Fractions	Masse (mg)
1	7A	2,9
2	7B	2,1
3	7C	0,8
4	7D	<0,1
5	7E	<0,1
6	7F	0,2

Tableau XXVII. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4F

Regroupements	Fractions	Masse (mg)
[1-3]	8A	7,6
[4-5]	8B	19,5
[6-8]	8C	3,2
[9-11]	8D	1,6

Tableau XXVIII. Fractions résultant du Sephadex LH-20 de TM 4I.

Regroupements	Fractions	Masses (mg)
[1-4]	9A	8
[5-6]	9B	23,4
[7-9]	9C	3,6
[10-12]	9D	1,2

Les produits purs, TM5A et TM5B, révélés identiques après contrôle CCM, ont été regroupés et les quatre composés purifiés ont été analysés par la technique spectroscopique de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

La fraction TM3H issue de la phase acétate d'éthyle TM2B a subi un fractionnement liquide-liquide (fig.23) contre du dichlorométhane puis de l'acétate d'éthyle, après avoir été dissoute dans l'eau, pour donner trois fractions (tableau XXIX) :

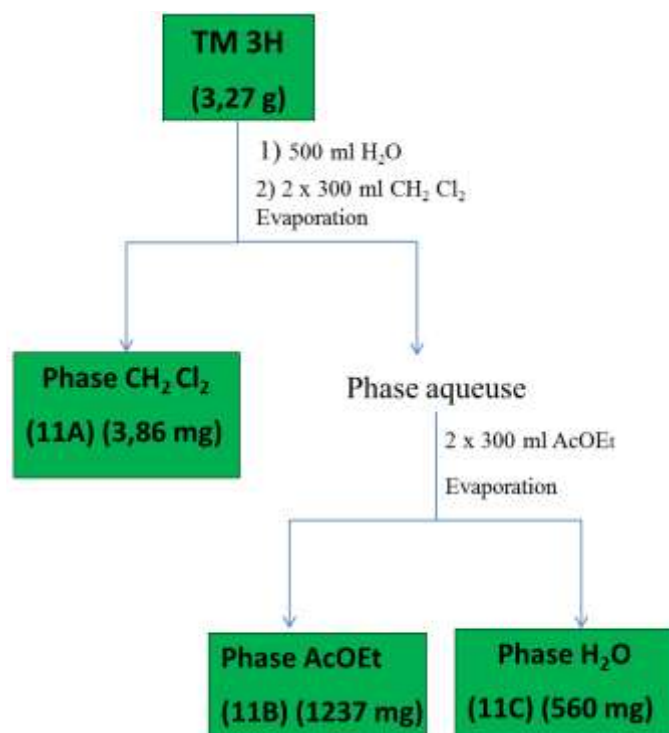


Fig.23. Fractionnement de TM 3H

Tableau XXIX. Fractions résultant du fractionnement liquide-liquide de TM3H.

Piluliers	Fractions	Masses (g)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	11A	0,0039
AcOEt	11B	1,237
H <sub>2</sub> O	11C	0,56

La fraction TM 11C (560 mg) a fait l'objet d'une MPLC sur cellulose dans butanol-isopropanol-eau (4 : 1 : 1) pour donner 58 fractions (tableau XXX) qui ont été réunies en fonction des profils chromatographiques en 20 fractions (TM 12A à TM 12T) (fig.24).

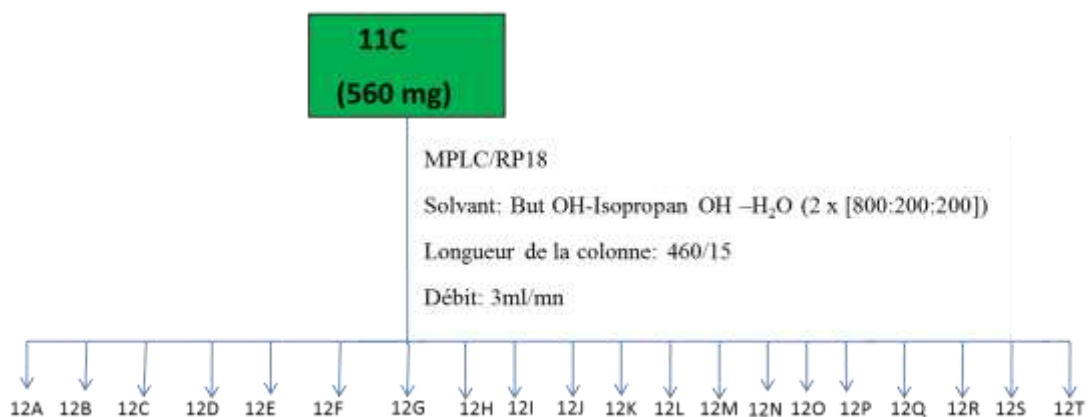


Fig.24. MPLC de la fraction TM 11C

Tableau XXX. Fractions résultant de la MPLC de TM 11C

Fractions	Piluliers	Masses (mg)
12A	1	27,8
12B	2	101,3
12C	3	130,7
12D	[4-6]	153,3
12E	[7-9]	94,7
12F	[10-13]	37,7
12G	[14-15]	19,7
12H	[16-19]	41
12I	[20-24]	106,9
12J	[25-27]	20,2
12K	[28-29]	7,3
12L	[30-31]	5,8
12M	32	3,9
12N	[33-34]	5,8
12O	[35-36]	5,4
12P	[37-39]	4,2
12Q	[40-44]	11,8
12R	[45-48]	9,5
12S	[49-52]	9,4
12T	[53-58]	8,9

Les fractions 12D, 12E et 12F ont fait l'objet de CCM préparative sur cellulose. L'échantillon TM12D a été réparti sur deux plaques, pour donner trois bandes (A) sur l'une et cinq bandes (B) sur l'autre :

Tableau XXXI. Fractions résultant de la CCM préparative sur TM12D

Bandes	Fractions	Masses (mg)
1A	31A	14,2
2A	31B	57
3A	31C	71
1B	31D	0,8
2B	31E	1,7
3B	31F	1,3
4B	31G	1,4
5B	31H	2,1

Tableau XXXII. Fractions résultant de la purification de TM 12E

Bandes	Fractions	Masses (mg)
1	31I	7,2
2	31J	3,8
3	31K	4,2
4	31L	2,7
5	31M	7,5
6	31N	29
7	31P	32
8	31Q	26,9
9	31R	34,6
10	31S	30,7
11	31T	33,3

Tableau XXXIII. Fractions résultant de la purification de TM 12F

Bandes	Fractions	Masses (mg)
1	31U	11,5
2	31V	4,2
3	31W	24,1
4	31X	12,8
5	31Y	2,5
6	31Z	6,6

La fraction TM31A (14,2 mg) a été fractionnée sur gel de Sephadex LH-20 dans du méthanol 100 % pour donner sept fractions collectées en fonction du suivi par CCM (fig.25 ; tableau XXXIV, annexe 2) :

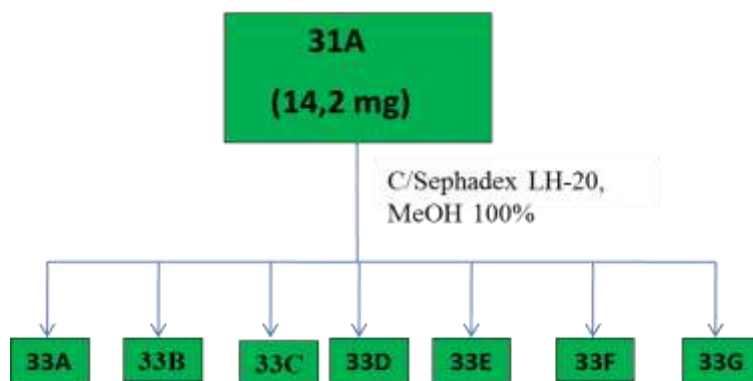


Fig.25. Fractionnement de la fraction TM31A

Tableau XXXIV. Fractions résultant du Sephadex de TM 31A.

Fractions	Masses (mg)
33A	5,0
33B	4,9
33C	1,5
33D	2,5
33E	1,9
33F	1,8
33G	0,9

La fraction 31B (57 mg) a été soumise à la même technique que précédemment (colonne d'exclusion de Sephadex LH-20 dans du méthanol) pour donner sept fractions (fig.26 ; tableau XXXV, annexe 2).

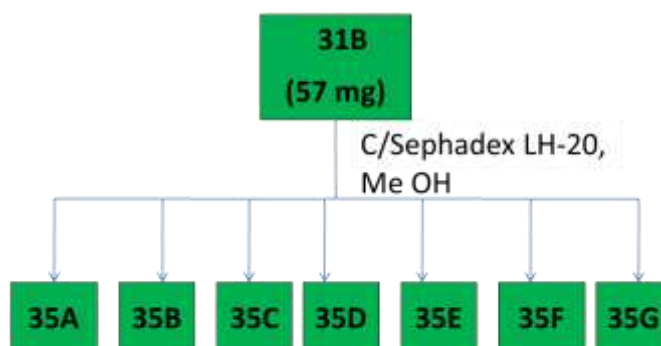


Fig.26. Fractionnement de la fraction TM 31B

Tableau XXXV. Fractions résultant du Sephadex de TM 31B

Fractions	Fractions collectées	Masses des extraits (mg)
35A	1	17,4
35B	2	7,7
35C	3	1,9
35D	4	1
35E	5	2,9
35F	6	1,7
35G	7	3,5

Les fractions TM 4G et TM 4H réunies (18,2 mg) issues de TM 3G ont été fractionnées sur gel d'exclusion-diffusion de Sephadex LH-20 dans du méthanol 100 % pour donner 10 fractions (fig.27 ; tableau XXXVI, annexe1) :

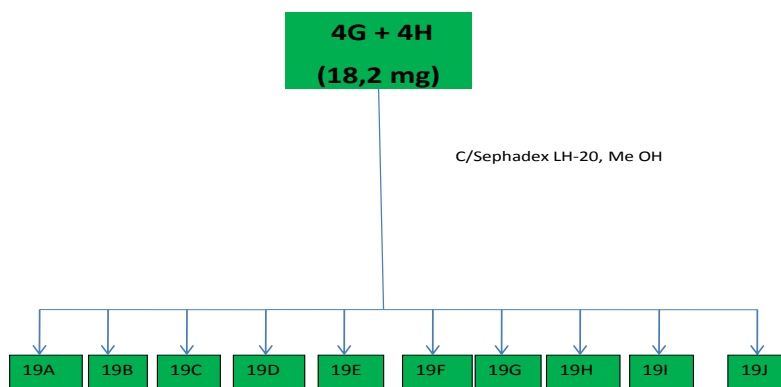


Fig.27. Fractionnement de TM4G et TM4H

Tableau XXXVI. Fractions résultant du Sephadex de TM4G et TM4H

Regroupements	Fractions	Masses des extraits (mg)
Tête de colonne	19A	7,1
1-4	19B	3,4
5-10	19C	14,8
11-14	19D	3,9
15-17	19E	1,1
18-19	19F	1,3
20-23	19G	1,0
24-32	19H	1,9
33-44	19I	0,9
45-60	19J	1,4

### III.1.1.1.6. Analyses en HPLC-UV/DAD-MS/QTOF

Chacune des fractions TM19A à TM19J ont été analysées en HPLC/UV/MS. Nous présenterons, dans la partie III.1.1.1.6.1., les analyses qui ont permis de proposer des structures pour les composés majoritaires.

La fraction TM9B (23 mg) issue de TM4I a été aussi fractionnée sur colonne d'exclusion de Sephadex LH-20 dans du méthanol 100 % pour donner 20 fractions (tableau XXXVII) qui sont réunies, en fonction de leur profil chromatographique, en sept fractions (fig.28)

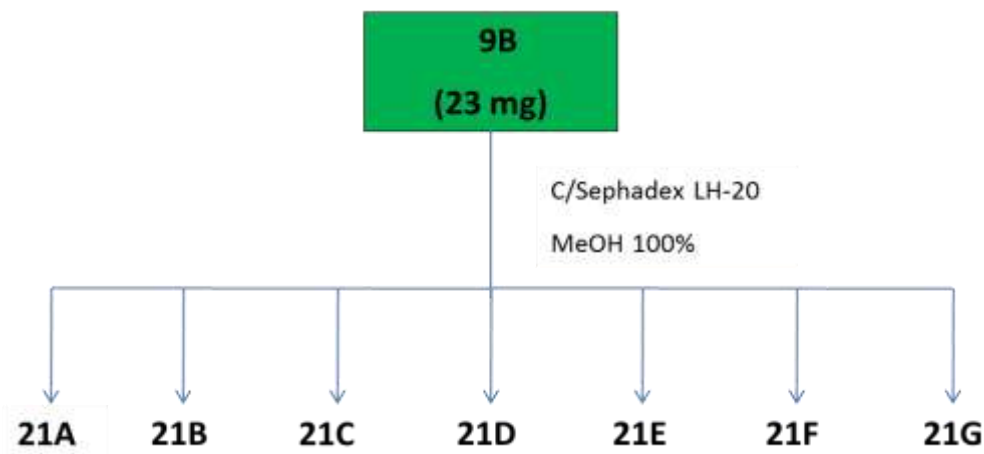


Fig.28. Fractionnement de TM9B

Tableau XXXVII. Fractions résultant du Sephadex de TM9B

Regroupements	Fractions	Masses des extraits (mg)
[1-3]	21A	1,1
[4-6]	21B	4,10
[7-9]	21C	10,4
10	21D	2,3
11	21E	1,1
[12-13]	21F	1,2
[14-20]	21G	1,3

### III.1.1.1.6.1. Analyses HPLC-UV-SM des extraits de *Terminalia macroptera*

#### III.1.1.1.6.1.1 Analyse de la fraction TM 8C

La fraction TM 8C n'est pas pure. En effet, on distingue quatre pics principaux, dont la détection varie en fonction de la longueur d'observation.

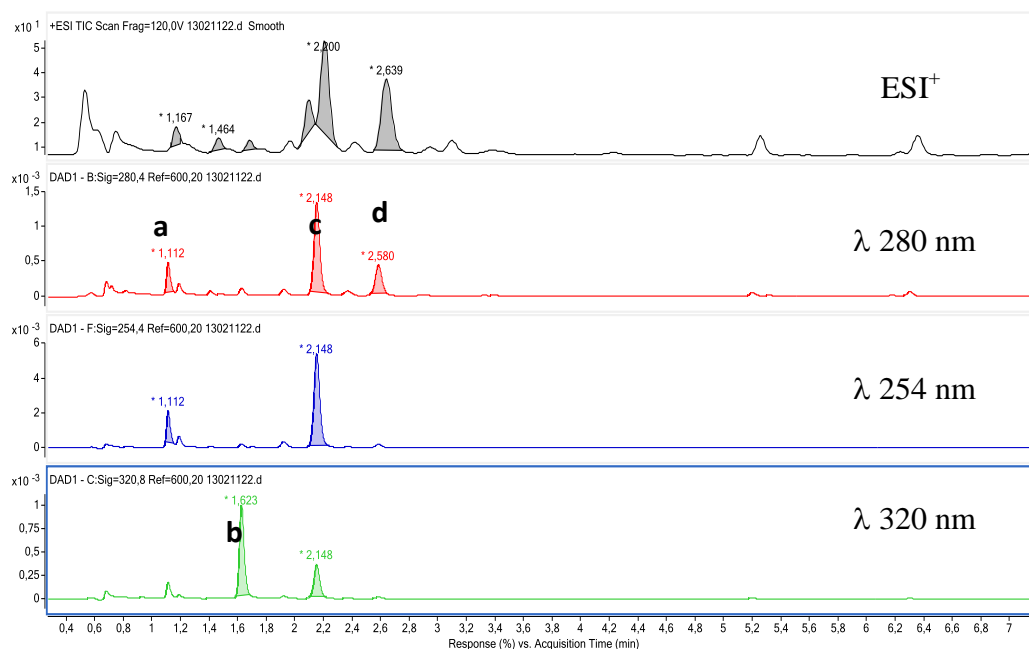


Fig.29. Chromatogrammes de TM8C (ESI mode positif et UV/vis (à 280, 254, 320 nm))

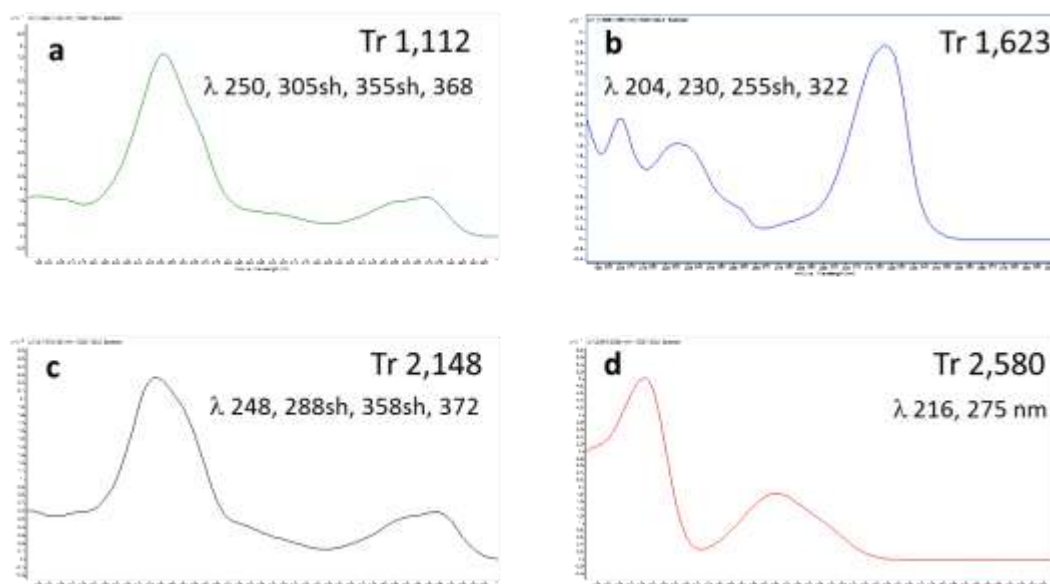


Fig.30. Spectres UV/Vis des composés a, b, c, et d détectés dans TM8C



Le composé (b) n'est observé qu'à 320 nm par exemple. Les composés (a) et (c) ont des spectres UV comparables et doivent donc posséder des structures de base similaires. Selon la littérature de tels spectres UV sont caractéristiques de dérivés de l'acide ellagique ( $\lambda$  253, 367 nm) (Park et *al.*, 2014 ; Nawwar et *al.*, 2012).

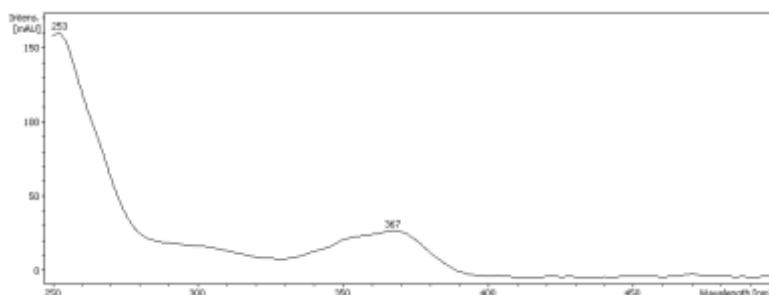


Fig.31. Spectre UV/vis de l'acide ellagique de référence

L'acide ellagique ayant la formule brute  $C_{14}H_6O_8$ , pour un poids moléculaire de 302, on peut avancer que les composé (a) et (c) présentent deux et trois ( $CH_3-$ ) supplémentaires.

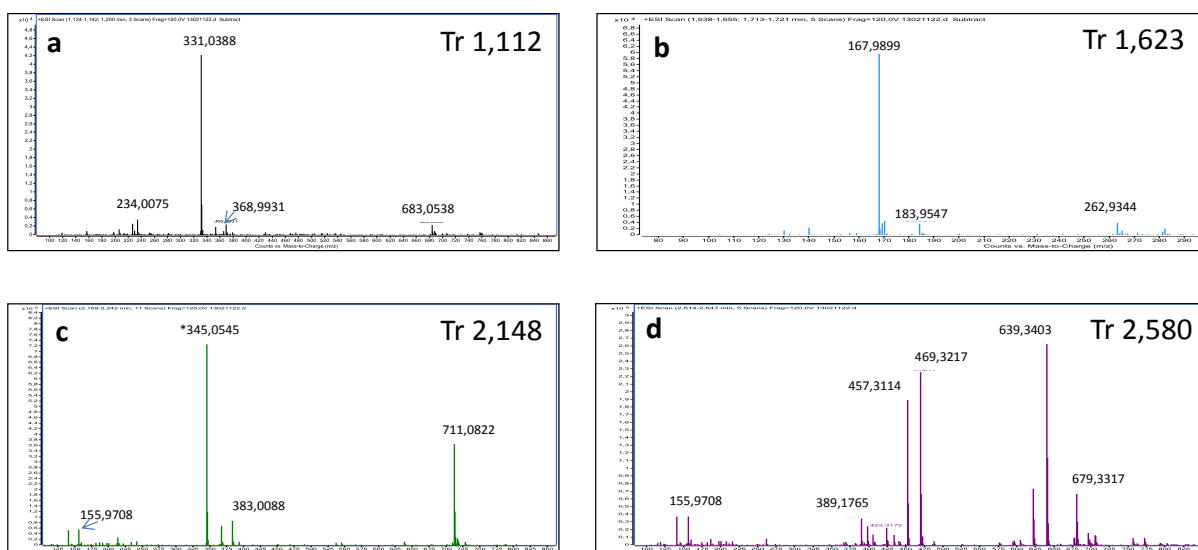


Fig.32. Spectres de masse en ESI+ des composés a, b, c, et d détectés dans la fraction TM8C

Les spectres de masse révèlent en effet un poids moléculaire de 331  $[M+H]^+$  pour (a), et de 345  $[M+H]^+$  pour (c).

Cela est confirmé par l'analyse MS/MS qui montre les fragmentations des ions parents  $m/z$  331  $[M+H]^+$  (ESI+) et  $m/z$  329  $[M-H]^-$  (ESI-). (Fig. 36 et 37)

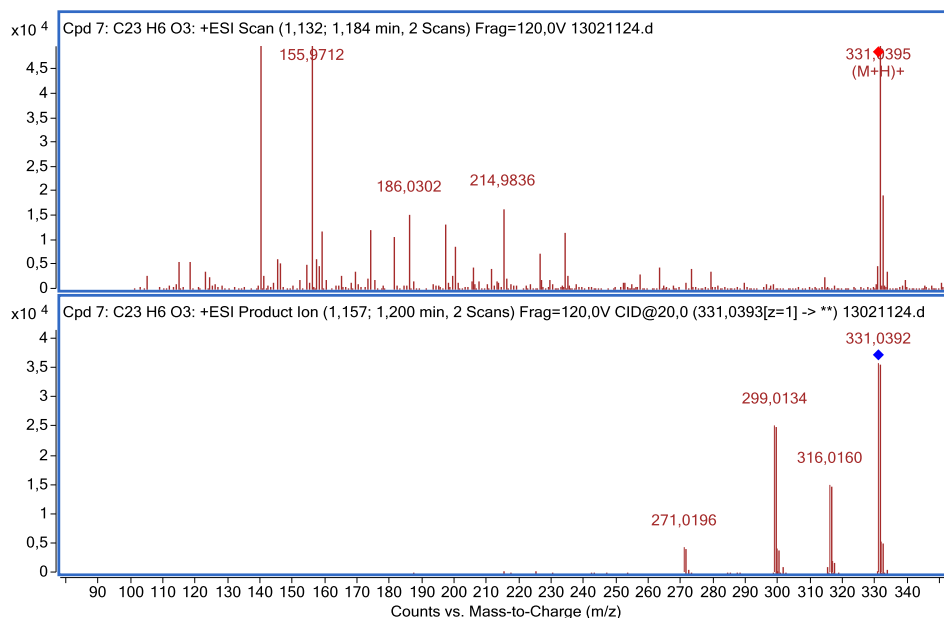


Fig.33. Spectre de masse (haut) et fragmentation (bas) du composé (a) en ESI mode positif

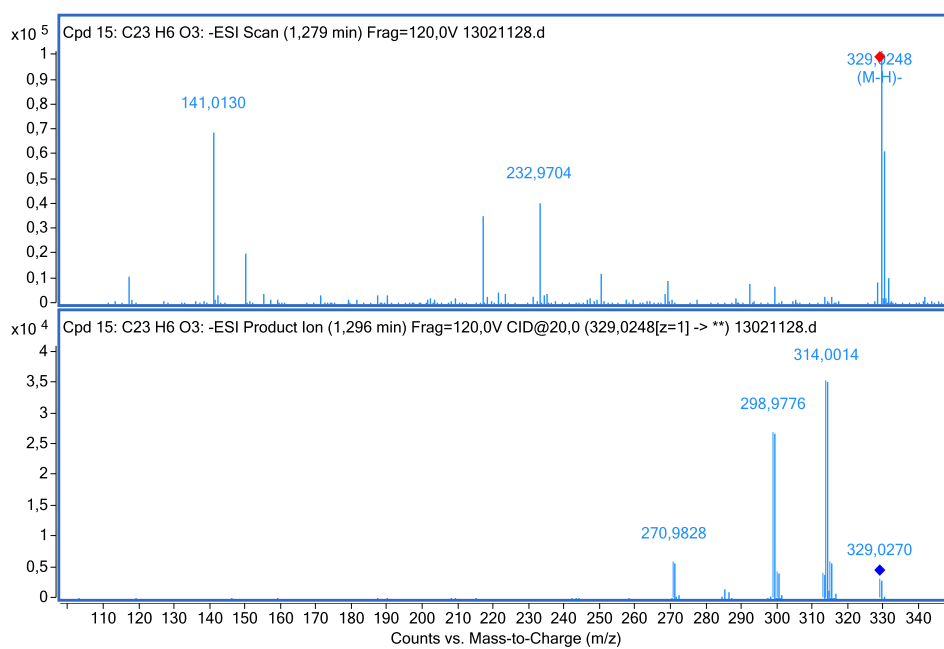
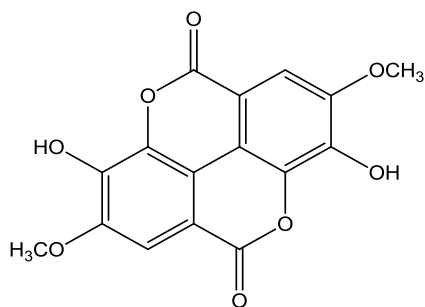


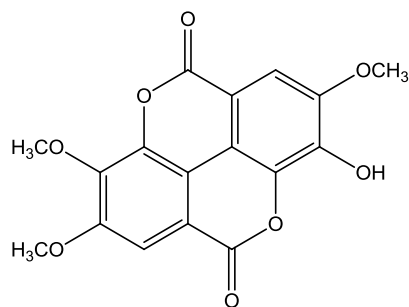
Fig.34. Spectre de masse (haut) et fragmentation (bas) du composé (a) en ESI mode négatif

Ainsi, nous proposons les structures suivantes pour ces deux composés : (a) acide 3,3'-di-*O*-méthyl ellagique (fig.4b, I.1.2.4.3) et (c) acide 3,3',4-tri-*O*-méthyl ellagique. Ce dernier composé sera retrouvé quasiment pur dans la fraction TM19G.



TM8C(a)

Acide 3,3'-di-*O*-méthyl ellagique



TM8C(c)

Acide 3,3',4-tri-*O*-méthyl ellagique

Fig.35. Structures proposées pour les composés TM8C

Le spectre UV du composé TM8C(b), avec les maxima à  $\lambda$  230, 322 nm, rappelle les données répertoriées pour des dérivés du stilbène (Fyhrquist et *al.*, 2014).

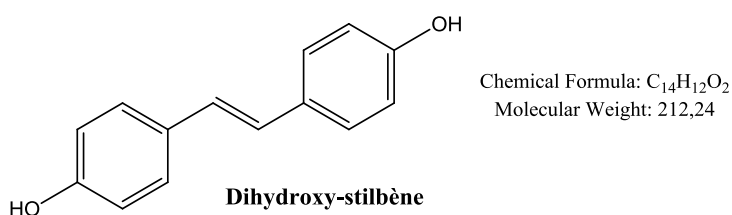


Fig.36. Structure d'un dérivé de stilbène

Le spectre de masse en ESI mode positif découvre un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  543,3182 et 521,3384 correspondant à  $[M+Na]^+$  et  $[M+H]^+$  respectivement (fig. 37). Sur ce même spectre on remarque la présence d'un autre ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  559,2923  $[M'+Na]^+$ . Ce dernier est dû à un second composé élué au même temps de rétention et présentant les mêmes caractéristiques UV/vis.

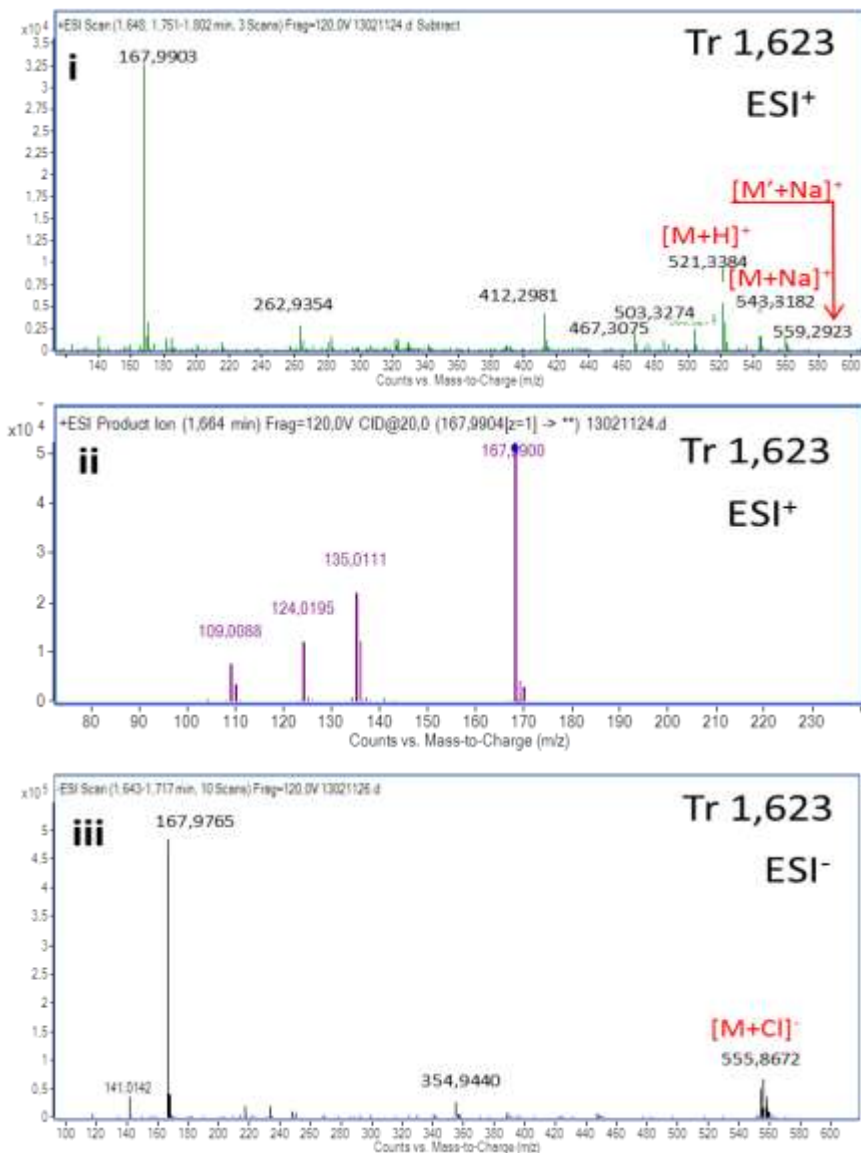


Fig.37. Spectres de masse du composé TM8C(b) (i : spectre de masse en mode ESI positif ; ii : spectre de masse entre  $m/z$  70 et 240 en ESI+ ; iii : spectre de masse en mode ESI négatif).

Le spectre de masse en ESI en mode négatif confirme le poids moléculaire de 550 uma avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  555,8672  $[M+Cl]^-$ , correspondant à la formule brute  $C_{29}H_{28}O_9$ .

Ces différentes données ont permis d'émettre des hypothèses concernant la composition du pic TM8C(b) : un mélange de 4,4'-dihydroxystilbène-4-*O*-[6-*O*-cinnamoyl]-glucoside (M) et de 3, 5, 4'-trihydroxystilbène-3-*O*-[6-*O*-cinnamoyl]-glucoside (cinnamoyl picéide, M'). Le glucose pourrait être fixé en -4', comme c'est le cas dans le resveratroloside (Fyhrquist et al., 2014).

La position précise de l'unité osidique doit bien être confirmée par analyse RMN, après purification du composé.

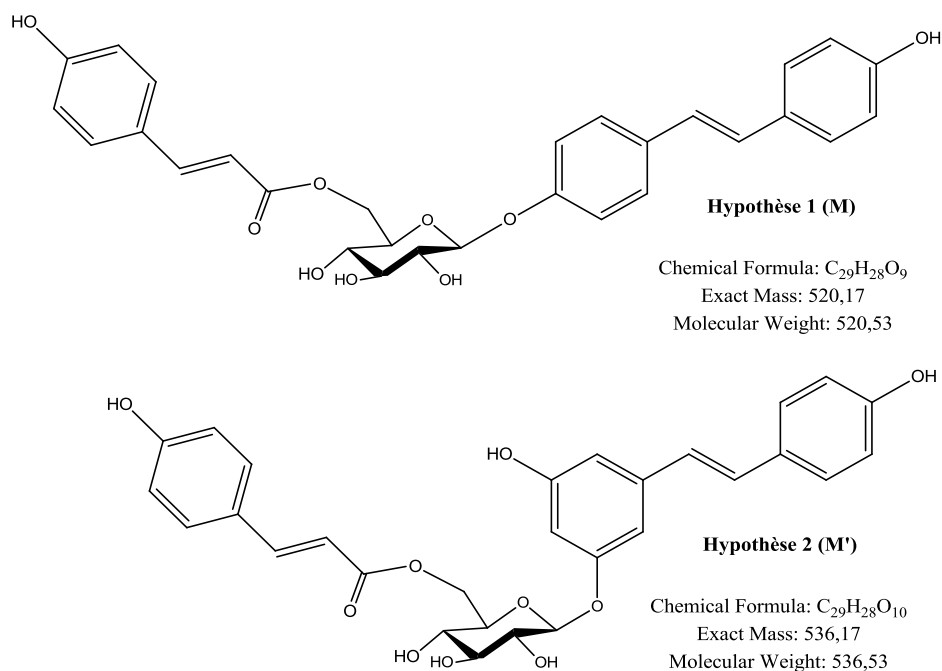


Fig.38. Structures proposées pour les composés du pic TM8C(b)

En ce qui concerne le composé TM8C(d), et comme l'indiquent les figures suivantes (fig.39), il semblerait qu'il s'agisse du composé TM8B, c'est-à-dire l'acide 23-*O*-galloyl terminolique. Les mêmes données (UV et SM) seront décrites plus loin lors de l'identification complète de ce composé.

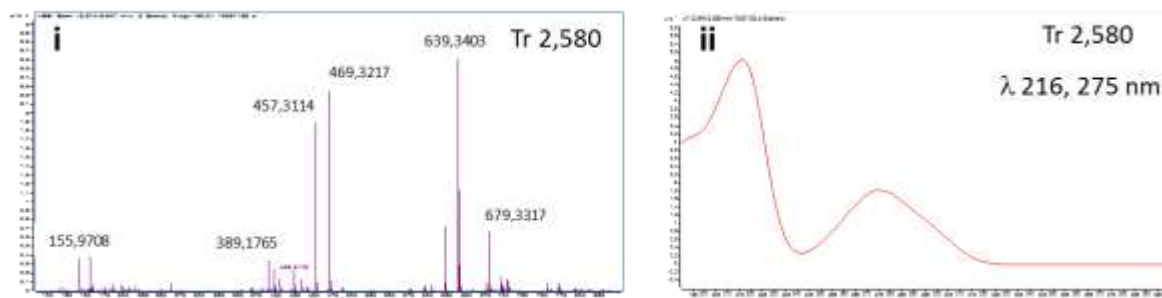


Fig.39. Spectre de masse en ESI mode positif (i) et spectre UV/vis (ii) de TM8C(d)

### III.1.1.1.6.1.2. Analyse de la fraction TM 19E

TM19E contient également trois composés dont les temps de rétention sont Tr 5,05 (a) ; 7,988 (b) et 11,428 (c) mn, respectivement. Le deuxième, TM19E(b), est majoritaire. Tous trois ont le même spectre d'absorption UV/vis, indiquant qu'ils renferment le même motif structural, le même chromophore. Ces profils sont à rapprocher également de celui du composé TM8B, c'est-à-dire un dérivé de l'acide gallique, avec deux maxima à  $\lambda$  216, 276 nm (fig.41).

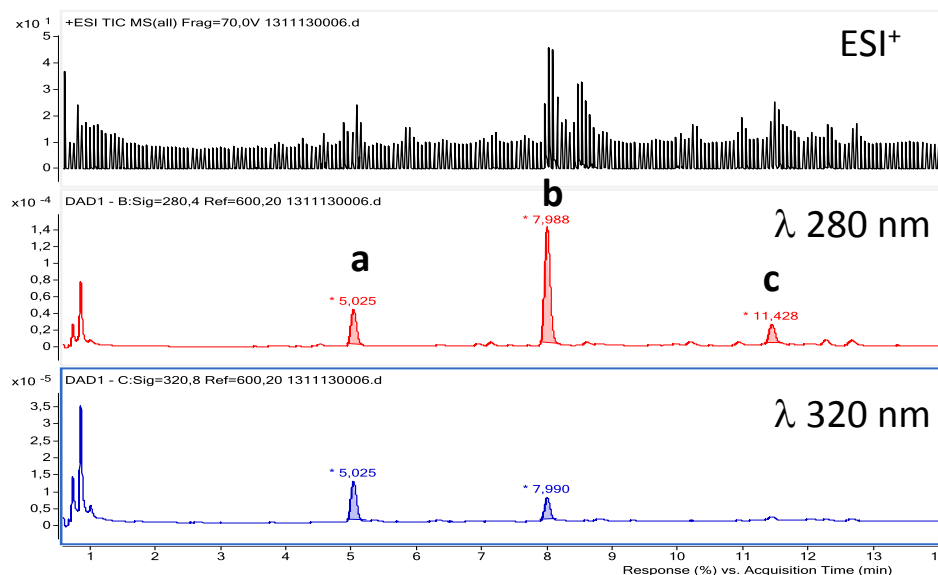


Fig.40. Chromatogrammes de la fraction TM19E

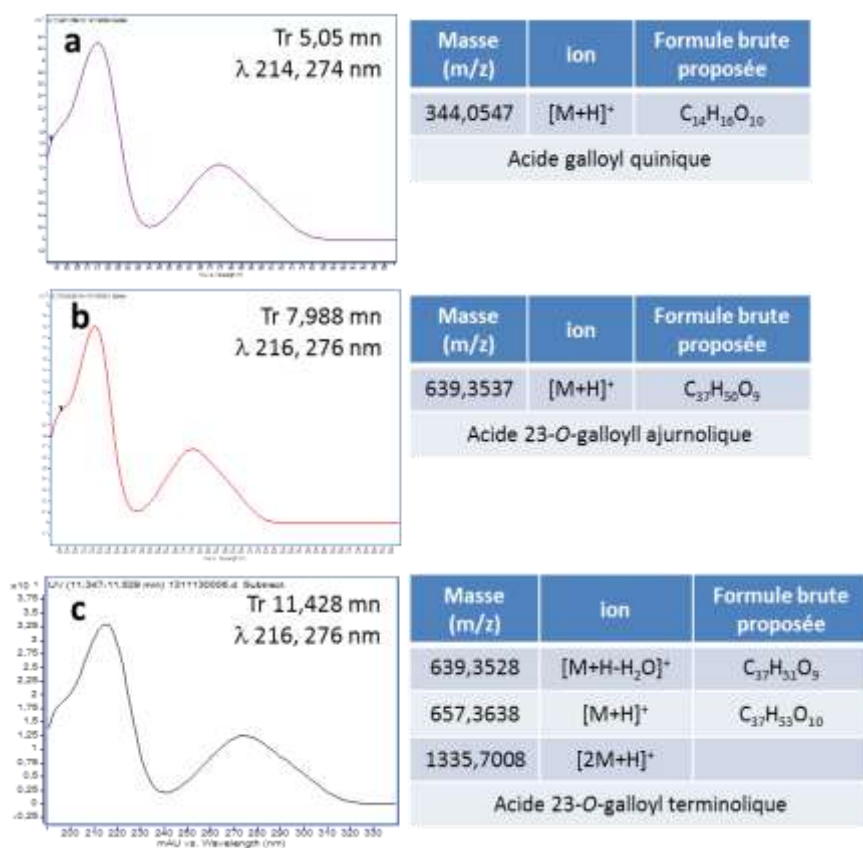


Fig.41. Spectres UV et données de la spectrométrie de masse en ESI mode positif des composés majoritaires de TM 19E (TM9E (a - c))

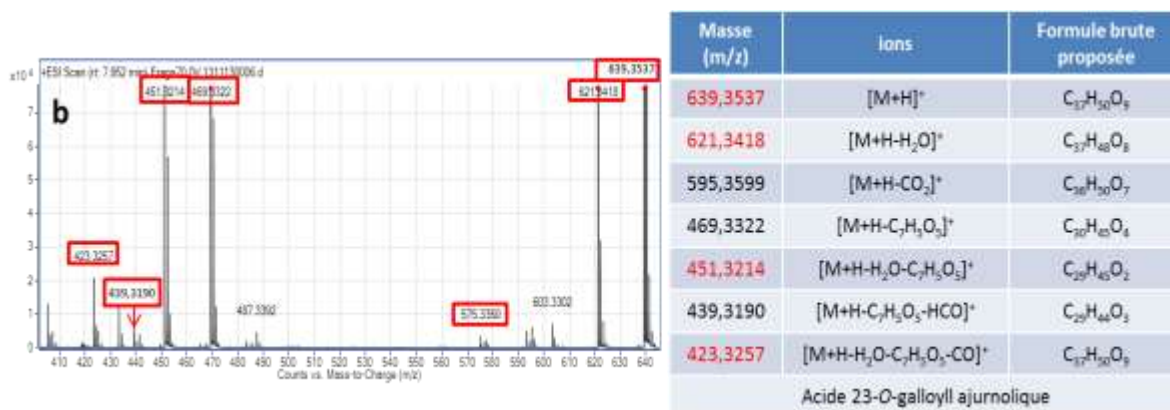


Fig.42. Spectres de masse et données de la spectrométrie de la fragmentation en ESI mode positif du composé majoritaire de TM 19E(b)

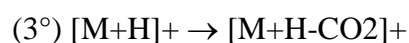
Comme précédemment l'identité de ces composés a été proposée au vu des données de spectrométrie de masse. Les spectres de masse présentent respectivement les ions pseudo-moléculaires à m/z 345.0604 [M(a)+H]<sup>+</sup>, 639,3537 [M(b)+H]<sup>+</sup>, 657,3638 [M(c)+H]<sup>+</sup>. Les formules brutes correspondantes sont :

- TM19E(a) : C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>O<sub>10</sub>
- TM19E (b) : C<sub>37</sub>H<sub>50</sub>O<sub>9</sub>
- TM19E(c) : C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>O<sub>10</sub>

Considérant les données de la littérature et en les comparant avec les données précédentes ou obtenues ici, ces trois composés sont identifiés à :

- TM19E(a) : Acide galloyl quinique
- TM19E (b) : Acide 23-O-galloyl ajurnolique (fig.3b, I.1.2.4.2)
- TM19E(c) : Acide 23-O-galloyl terminolique (=TM8B).

En effet l'analyse de la fragmentation du pic pseudo-moléculaire a permis de visualiser trois types de fragmentation. Ainsi pour le composé TM19E(b) nous observons :



L'existence simultanée de ces différents modes de fragmentation, et en particulier les fragments issus des voies (1°) et (2°) suggèrent que la fonction carboxylique de l'acide triterpénique est libre et que par conséquent l'acide gallique estérifié soit la fonction hydroxyl en -3 soit celle en -23. Par analogie avec la littérature, nous proposons une substitution en -23. Ceci devra être confirmé soit par l'analyse HPLC/DAD/SM d'échantillons témoin soit par RMN après purification des trois composés.





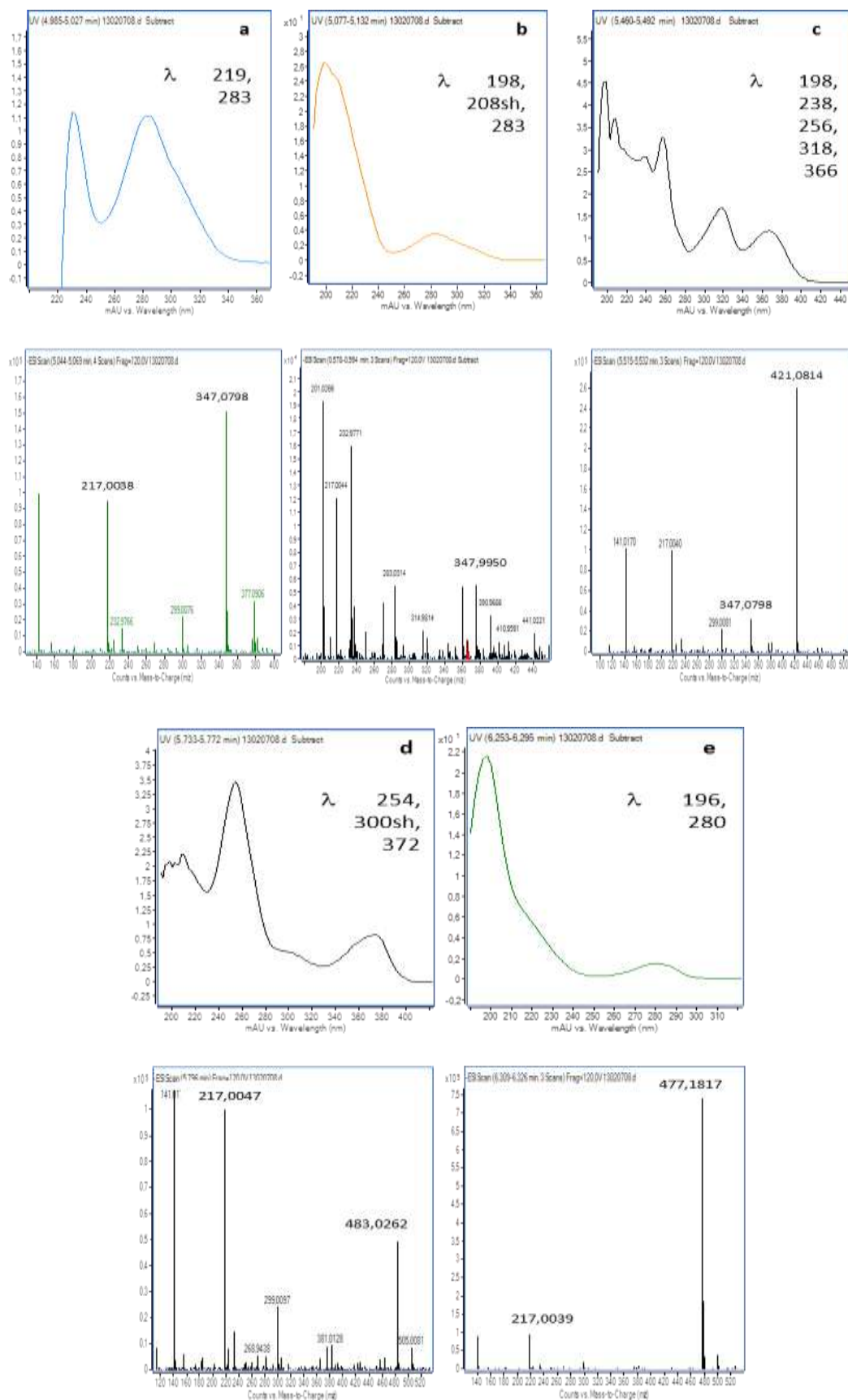


Fig.45. Spectres UV (en haut) et de masse en ESI mode négatif (en bas) des pics majoritaires (a – e) de la fraction TM21A

Les spectres UV/vis nous indiquent que le composé TM21A(d) renferme un chromophore proche de celui de l'acide ellagique et de ces dérivés. Le spectre de masse présente un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  483,0262 correspondant à la formule  $C_{22}H_{12}O_{13}$ . D'après la littérature, ces données (UV et SM) pourraient correspondre à un dérivé *O*-méthoxylé de l'acide valonéique dilactone dont la structure est la suivante (Fracassetti et *al.*, 2013).

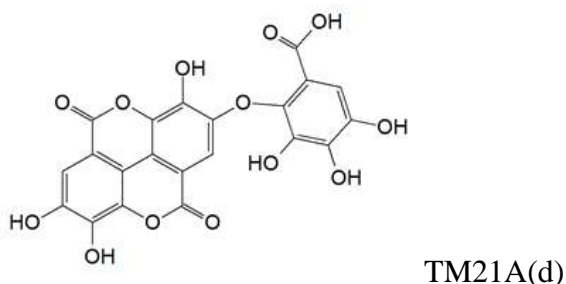


Fig.46. Structure de l'acide valonéique dilactone

Ce composé est à rapprocher des glucosides de l'acide tergallique isolés de *Terminalia chebula* ou encore des dérivés de l'acide chébulinique identifiés dans d'autres *Terminalia* ([http : //www.mmh-mms.com/downloads/mp21terminaliachebula.pdf](http://www.mmh-mms.com/downloads/mp21terminaliachebula.pdf). Consulté le 02/09/2015).

Les composés TM21A (a, b, e) sont des dérivés de l'acide gallique alors que TM21A(d) renferme un chromophore de type ellagique.

#### III.1.1.1.6.1.4. Analyse de la fraction TM 21B

Nous observons huit composés pour lesquels les spectres UV et de masse ont pu être obtenus. Comme précédemment nous remarquons que certains composés présentent les mêmes caractéristiques UV/vis.

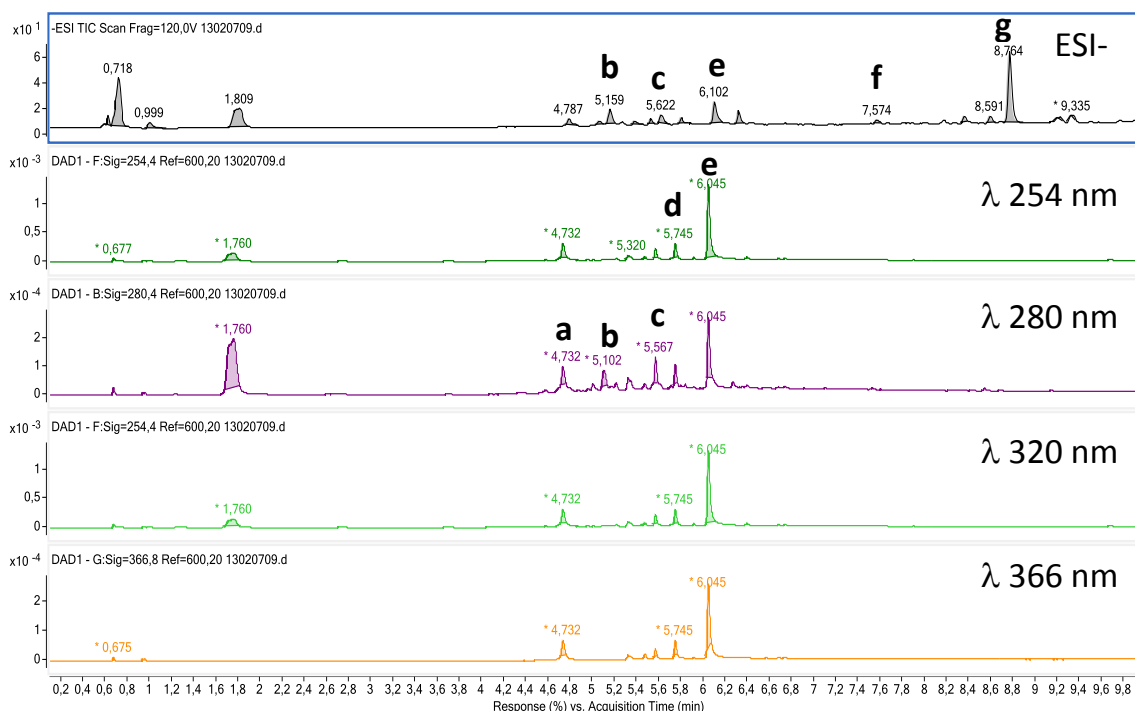


Fig.47. Chromatogrammes de la fraction TM21B

Les composés TM21B(a), (c), (d) et (e) possèdent des pics d'absorption à 200, 254, 373 nm avec un épaulement à 305 nm. Ces maxima peuvent être associés à la présence dans la structure d'une unité dérivant de l'acide ellagique. Le spectre de masse du composé TM21B(a) révèle un ion pseudo-moléculaire en ESI mode négatif à  $m/z$  469,0092 [M-H]<sup>-</sup> correspondant à la formule brute  $C_{21}H_{10}O_{13}$ . Cet ion se fragmente pour produire un ion fils à  $m/z$  299,0090 [M-H-C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup> suggérant une sous-unité ellagique (PM de l'acide ellagique est de 302 uma) après la perte d'une sous-unité d'acide gallique fixée par une liaison C-C. En considérant l'inventaire des composés isolés de *T. macroptera* (cf. I.1.2.4), et plus particulièrement les dérivés de l'acide ellagique, on remarque que de nombreux composés de ce type, plus ou moins complexes ont été identifiés parmi les dérivés de tannins. C'est ainsi que nous proposons comme structure pour TM21B(a), l'acide C-galloyl ellagique.

Le spectre de masse de TM21B(d) montre les pics suivants :  $m/z$  483,0269 [M-H]<sup>-</sup>, 299,0093 [M-Me-galloyl]<sup>-</sup>. Le pic moléculaire, qui est aussi le pic de base, correspond à la formule brute  $C_{22}H_{12}O_1$ .

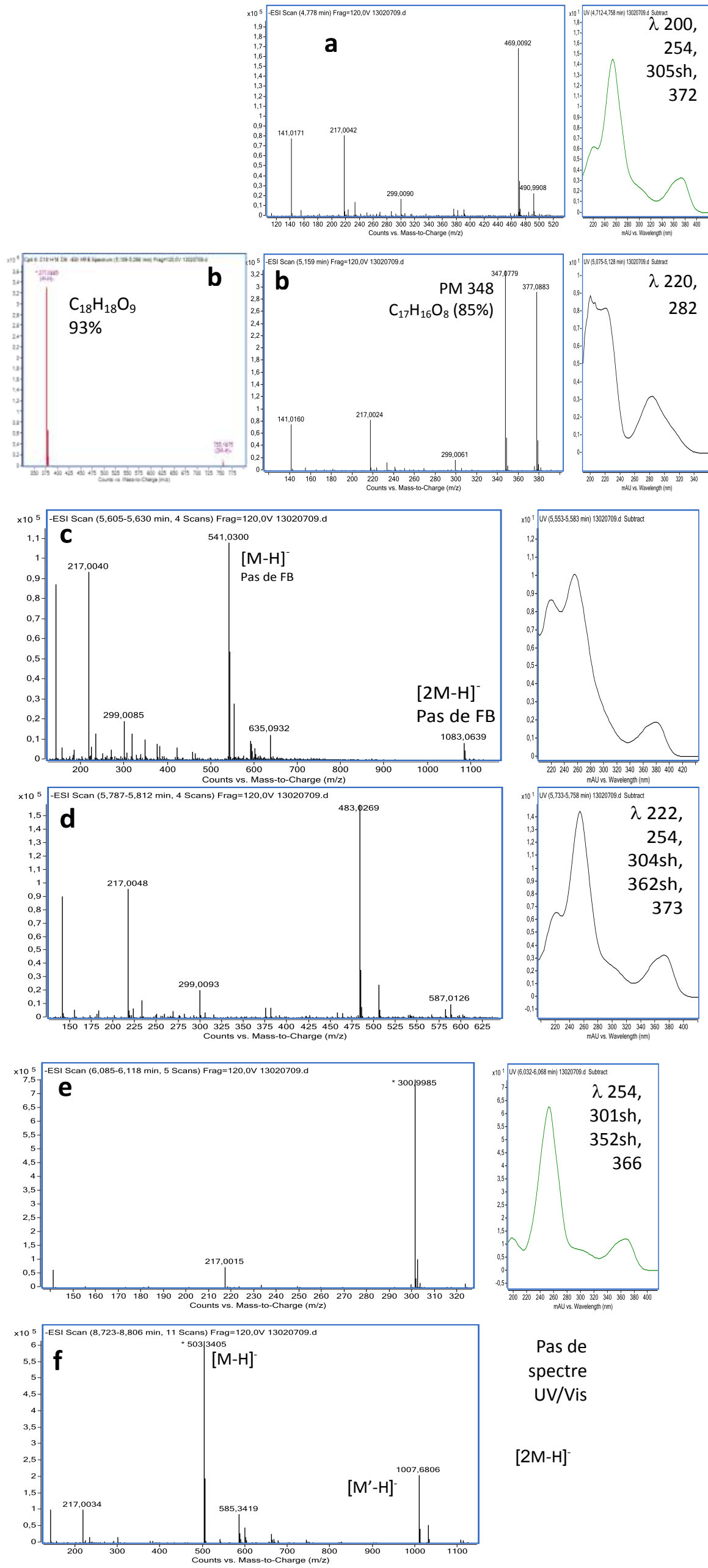


Fig.48. Spectres de masse (à gauche) et UV/vis (à droite) des pics majoritaires de TM 21B

Le fragment à  $m/z$  299,0093 comme pour TM21B(d) signe en effet la présence d'une sous-unité ellagyl. Les caractéristiques UV et le poids moléculaire suggère que la molécule contient également un groupement méthoxyl.

TM21B(e) est caractérisé quant à lui par un poids moléculaire de 302 uma avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  300,9980  $[M-H]^-$  - et un spectre UV rappelant celui de l'acide ellagique ( $C_{14}H_6O_8$ ).

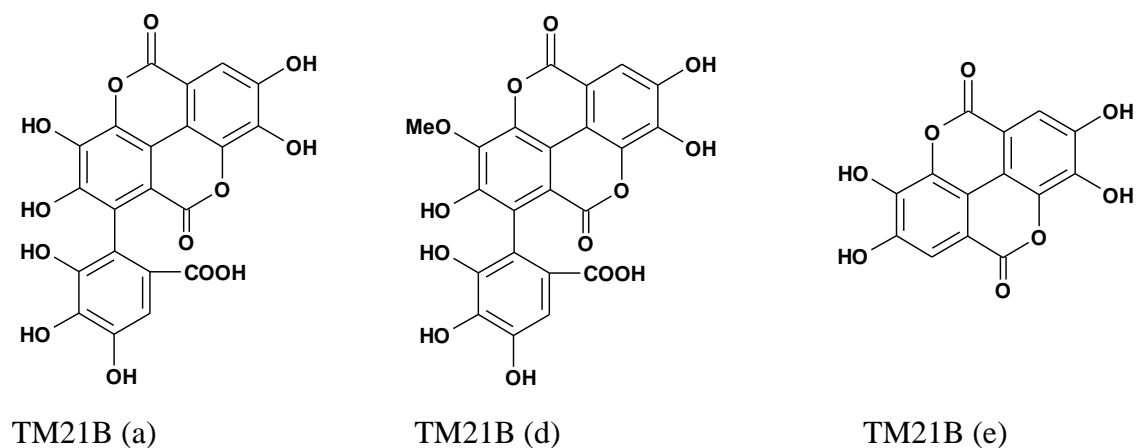


Fig.49. Structures proposées pour le composé TM21B

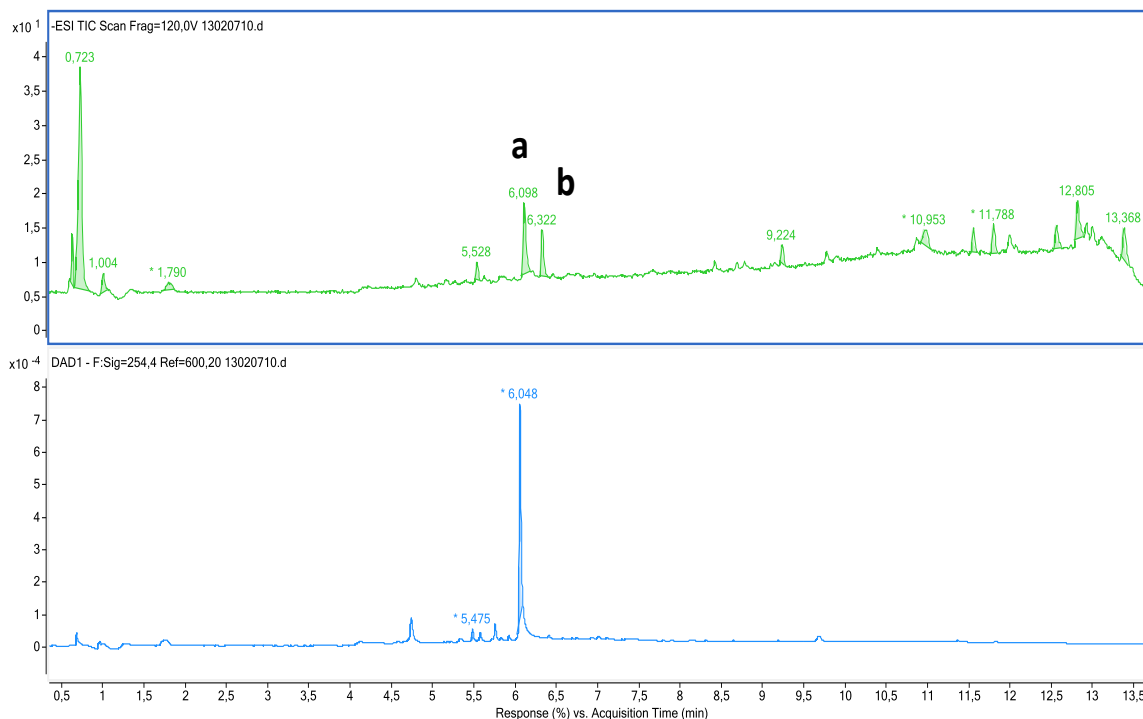
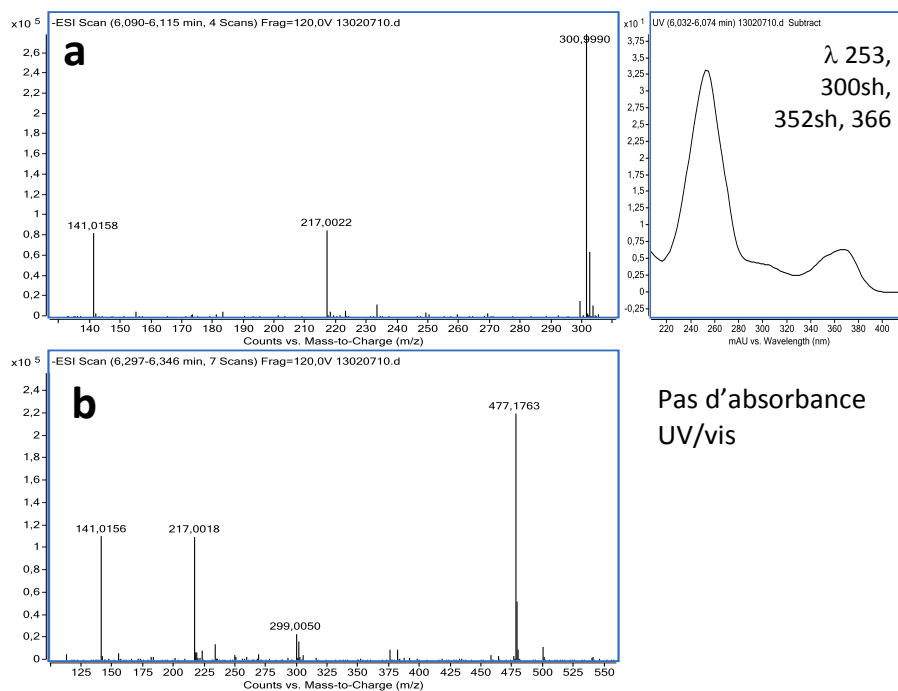


Fig.50. Chromatogramme de la fraction TM21C



Dans cette fraction on retrouve l'acide ellagique (composé (a)) et un composé n'absorbant pas en UV et qui existe aussi dans les fractions précédentes. Des analyses complémentaires seront nécessaires à l'identification de ce composé.

### III.1.1.1.6.1.5. Analyse de la fraction TM 21D

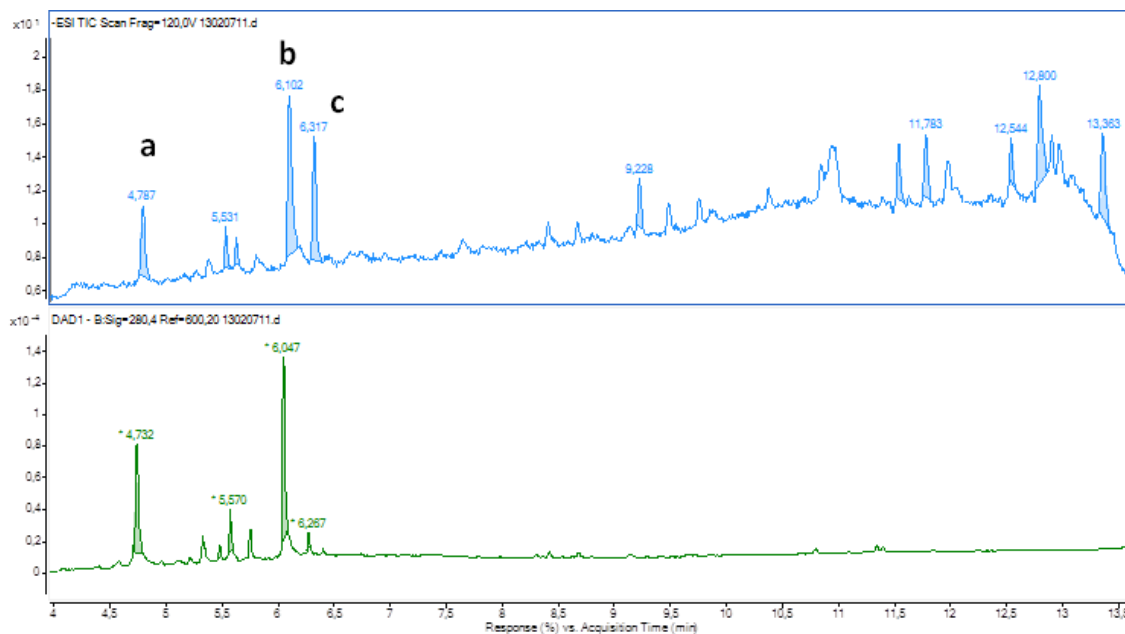


Fig.52. Chromatogramme de la fraction TM21D

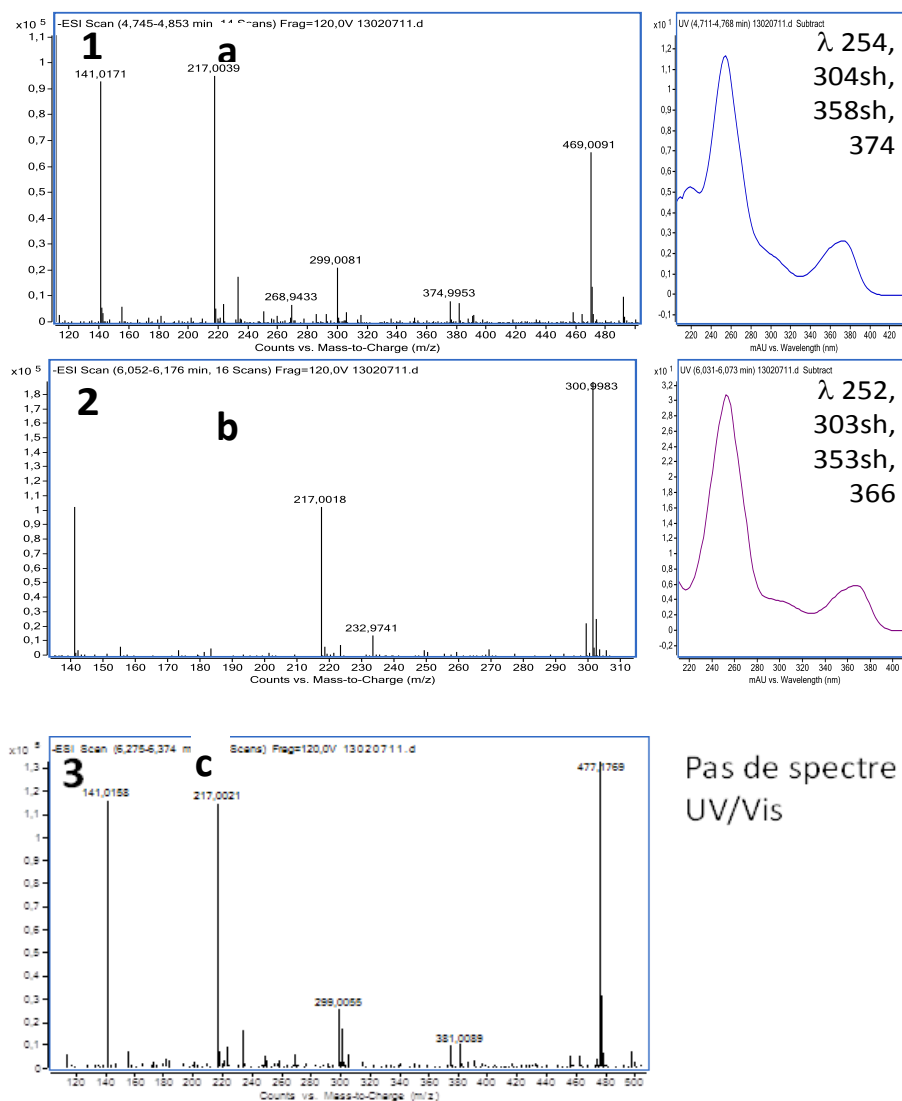


Fig.53. Spectres de masse (à gauche) et UV/vis (à droite) des pics majoritaires de TM 21D

Dans la fraction TM21D, nous retrouvons les mêmes composés que précédemment : l'acide ellagique (TM21D(b)), l'acide galloyl ellagique (TM21D(a)=TM21B(a)) et le même composé de type terpénique, non identifié.

Les fractions suivantes ayant été transformées au cours de leur conservation et étant complexes nous avons fait le choix de ne pas les montrer ici.

### III.1.1.2. Identification des composés purs de *Terminalia macroptera*.

#### III.1.1.2.1. Identification de TM 5A/B

L'analyse comparative des deux fractions TM5A et TM5B, par CCM et par RMN du proton a permis de montrer leur équivalence. Elles ont donc été regroupées.

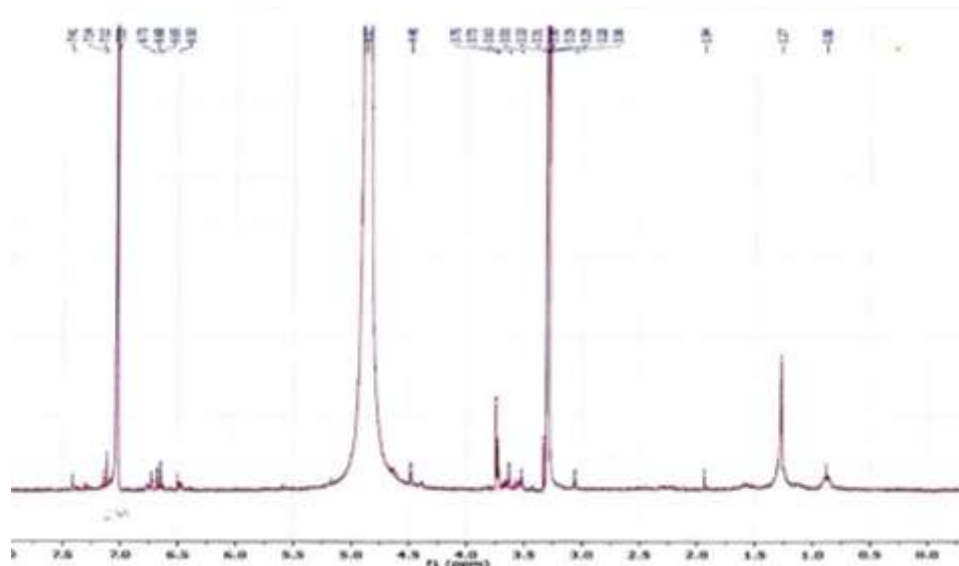


Fig.54. Spectre RMN 1H du composé TM 5A/B (300 MHz, CD3OD)

L'analyse du spectre RMN-1H révèle que l'échantillon n'est pas très pur. Cependant le spectre reste interprétable. Il révèle un composé largement majoritaire caractérisé par un seul signal, un grand singulet à  $\delta$  7.05 ppm.

Le spectre de masse ESI-MS en mode positif montre un ion à  $m/z$  171 correspondant à un pic pseudomoléculaire  $[M+1]^+$  pour une formule brute de  $C_7H_6O_5$ .

Le spectre UV montre un  $\lambda$  max à 275 nm.

L'analyse par HPLC-DAD-MS comparée à un échantillon témoin a permis d'identifier TM5B à l'acide gallique.

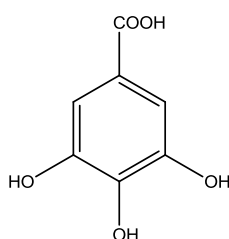


Fig.55. Structure de l'acide gallique

### III.1.1.2.2. Identification de TM 8B

Le spectre RMN-1H (figure (57)) montre un grand nombre de signaux entre 0,90 et 7,25 ppm. Des signaux entre 0,90 et 2,20 ppm sont caractéristiques des protons aliphatiques d'un triterpène. On peut compter six signaux singulets intégrant pour trois protons chacun à  $\delta$  0.90, 0.94, 1.06, 1.08, 1.20, 1.41. Ces derniers signent la présence de six méthyles. La comparaison



avec la littérature permet d'attribuer précisément chacun des signaux aux méthyles H-29, H-30, H-26, H-27, H-24, H-25 (Ponou et *al.*, 2008).

Un massif de signaux difficilement attribuables sans des données complémentaires, entre 0.8 et 2.10 ppm, correspond aux protons des CH et CH<sub>2</sub> des fragments alcanes de la molécule.

Le singulet large à  $\delta$  5,29 est caractéristique d'un proton éthylénique en position 12 (Ponou, 2008). Entre 3,36 et 4,25 ppm on dénombre cinq protons qui sont caractéristiques de protons en position alpha d'un hydroxyl (tableau XXXIX) :

- $\delta$  4.25, 1H, singulet large
- $\delta$  4.24, 1H, doublet,  $J = 10.0$  Hz
- $\delta$  4.15, 1H, doublet,  $J = 12.0$  Hz
- $\delta$  3.80, 1H, doublet de triplet large,  $J=3.0 ; 12.0$  Hz
- $\delta$  3.37, 1H, doublet,  $J=9$  Hz.

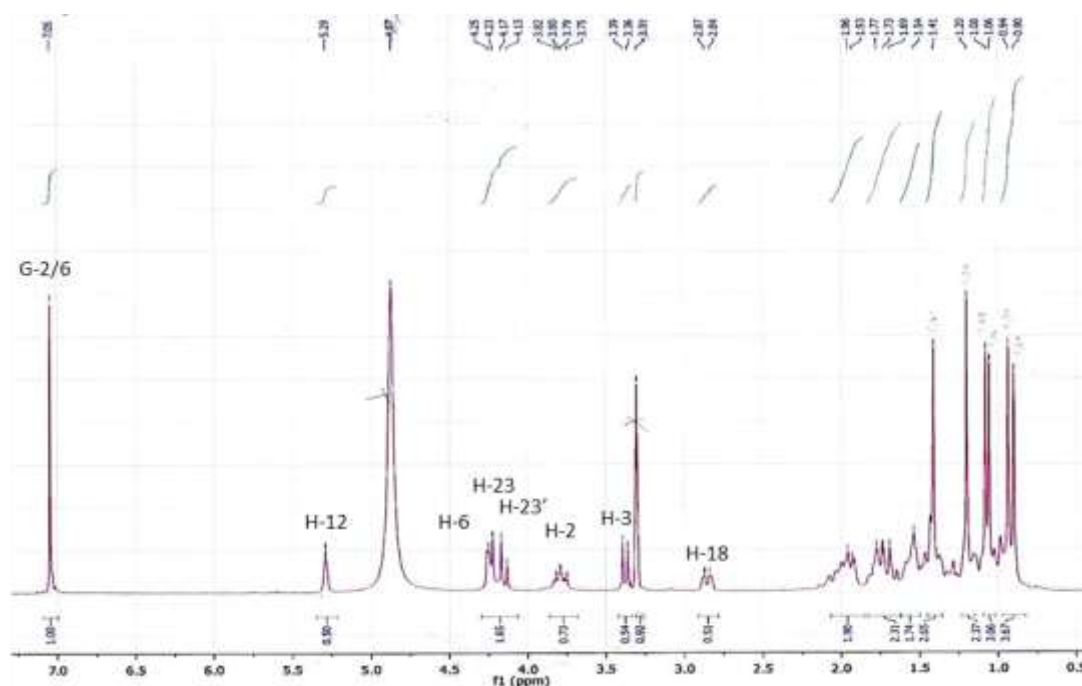


Fig.56. Spectre RMN 1H du composé TM 8B (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

La littérature va permettre d'attribuer ces signaux aux protons H-6, H-23, H-23', H-2 et H-3 respectivement (Ponou, 2008).

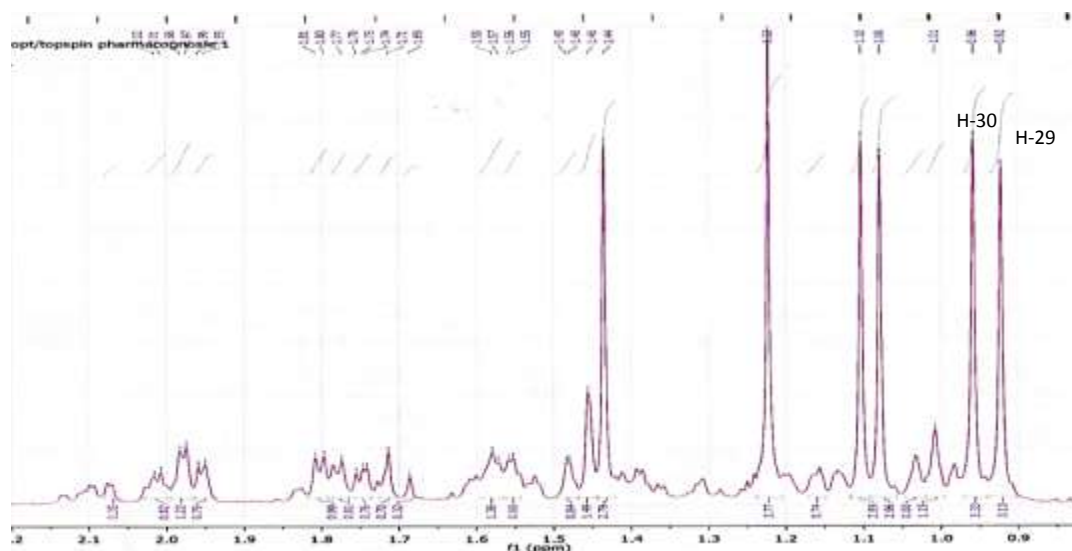


Fig.57. Spectre RMN 1H du composé TM 8B (agrandissement de la zone de 0,8 à 2,2 ppm) (300 MHz, CD3OD)

Enfin, un singulet ( $\delta$  7.05, s, 2H) intégrant pour deux protons signent la présence d'un noyau aromatique tétrasubstitué sur la structure. Se rapprochant des données du composé TM5A/B et des données de la littérature, ce signal est attribué à l'acide gallique, estérifiant une des fonctions hydroxyles du triterpène.

L'analyse du spectre RMN 13C décrit 35 signaux différents entre 23,7 et 176,0 ppm (fig.58 et fig.59). On confirme la présence des éléments de structure identifiés lors de l'analyse du spectre 1H. Six méthyles aliphatiques (13,0-32,1 ppm), 17 C/CH/CH<sub>2</sub> aliphatiques (23,2-46,9 ppm), 4 CHOH/CH<sub>2</sub>OH (65,6-76,0 ppm), 2 carbones éthyléniques (122,4 et 143,0 ppm) et un acide carboxylique (176,6 ppm). Aux côtés de ces signaux caractéristiques d'un triterpène, on retrouve les sept signaux d'un acide phénolique, l'acide gallique (120,1-166,6 ppm) (tableau XXXVIII).

Les données de RMN 13C des triterpènes sont bien documentées. Aussi en comparant les données de TM8B à celle de la littérature la structure de bas a pu être identifiée à celle de l'acide terminolique (ou acide 6-hydroxy-ajurnolique) (Conrad et *al.*, 1998 ; Mahato et *al.*, 1994).

Tableau XXXVIII. Données RMN 13C de TM8B (CDCl3, 300 MHz)

a : Données du 13C-RMN de l'acide 23-O-galloyl ajurnolique ; 75 MHz

b : Données du 13C-RMN de l'acide 23-O-galloyl terminolique ; 75 MHz

N°	RMN <sup>13</sup> C (δ <sub>ppm</sub> )		
	TM8B (CDCl <sub>3</sub> )	Conrad et al. 1998 (Py-d <sub>5</sub> ) a	Li et al. 2002 (Py-d <sub>5</sub> ) b
1	50,2	47,7	49,9
2	69,3	68,3	68,4
3	78,3	77,6	78,0
4	44,4	43,2	43,8
5	49,8	48,7	49,5
6	68,4	18,6	67,5
7	42,8	32,9	41,1
8	39,8	39,7	39,1
9	49,8	48,5	48,9
10	38,6	38,1	38,0
11	24,00	23,8	23,5
12	123,6	122,1	122,5
13	144,7	144,8	144,1
14	43,4	42,1	42,6
15	28,7	28,0	27,8
16	24,6	23,6	23,8
17	47,7	46,6	46,6
18	42,8	42,0	42,0
19	47,2	46,3	46,3
20	31,6	30,8	30,8
21	34,9	34,1	34,1
22	33,8	33,1	33,0
23	67,1	66,7	66,8
24	15,0	13,9	15,4
25	18,9	17,4	18,8
26	18,8	17,1	18,6
27	26,3	25,8	26,0
28	181,0	180,1	180,1
29	33,8	32,2	33,1
30	24,0	23,7	23,6
1'	121,5	121,4	121,3
2'/6'	110,0	110,0	109,9
3'/5'	146,6	147,6	147,6
4'	139,8	140,9	140,9
7'	168,2	167,0	167,1

La spectrométrie de masse haute résolution a identifié la formule brute à C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>O<sub>10</sub> (Mcal 656,3536) avec un ion pseudo-moléculaire à m/z 655,3488 [M-H] - en ESI mode négatif (on observe également un ion à m/z 1312,7126 [2M] -). En ESI mode positif, on observe les

ions correspondant à  $[2M+Na+H]^+$  + (m/z 1336,6826),  $[M-H_2O+H]^+$  + (m/z 639,3413),  $[M-C_7H_5O_5+H]^+$  + (m/z 469,3226). Ce dernier signe la perte du groupement galloyl.

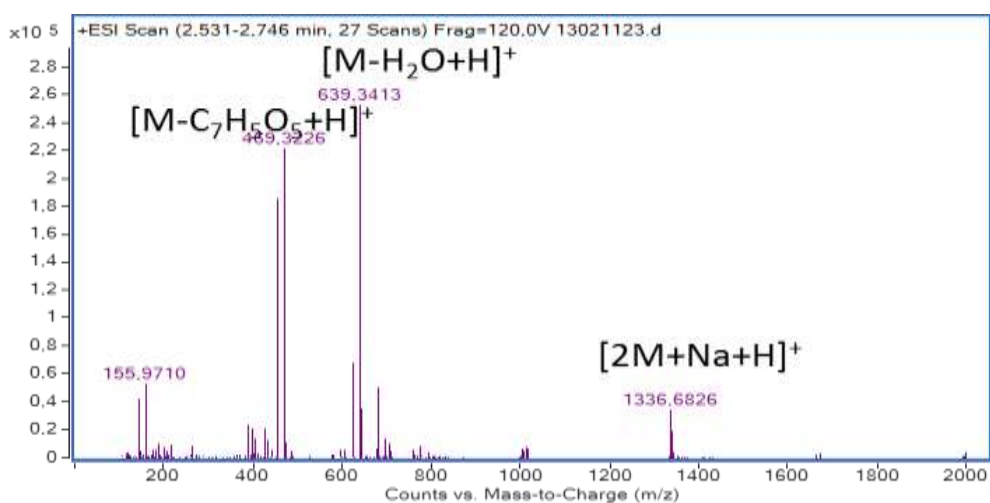


Fig.58. Spectre de masse en ESI mode positif de TM 8B

L'ensemble de ces données a permis d'identifier TM8B à l'acide 23-*O*-galloyl terminolique ou acide 23-*O*-galloyl-6-hydroxy-arjunolique.

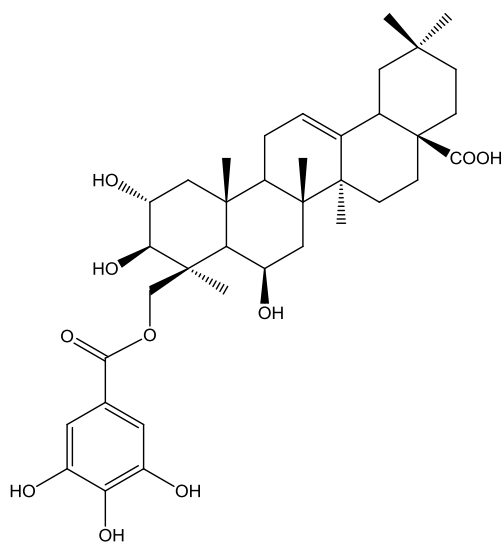


Fig.59. Structure de TM8B

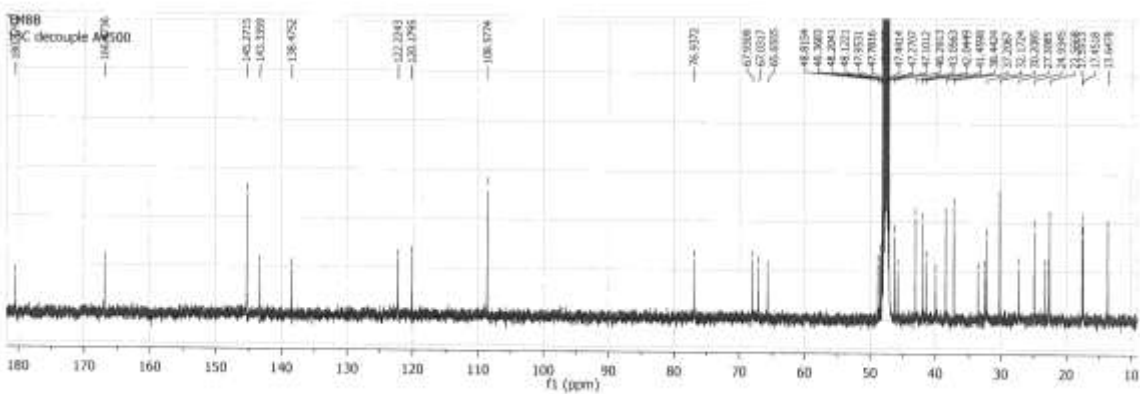
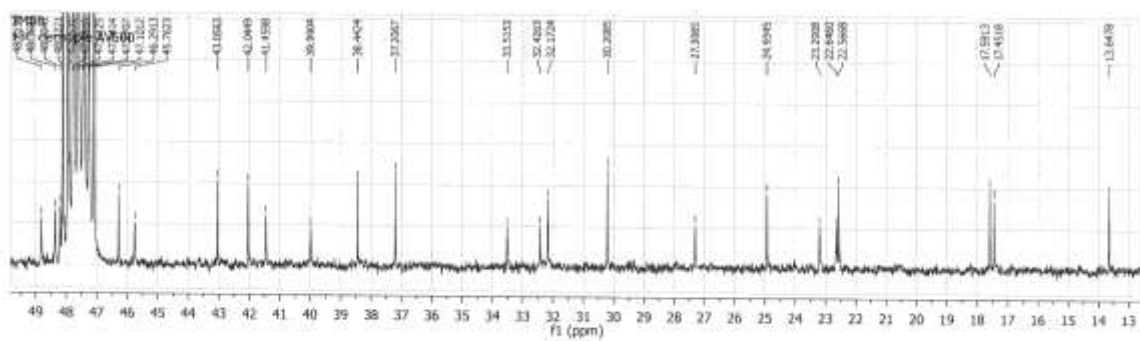


Fig.60. Spectre RMN 13C du composé TM 8B (75 MHz, CD3OD)

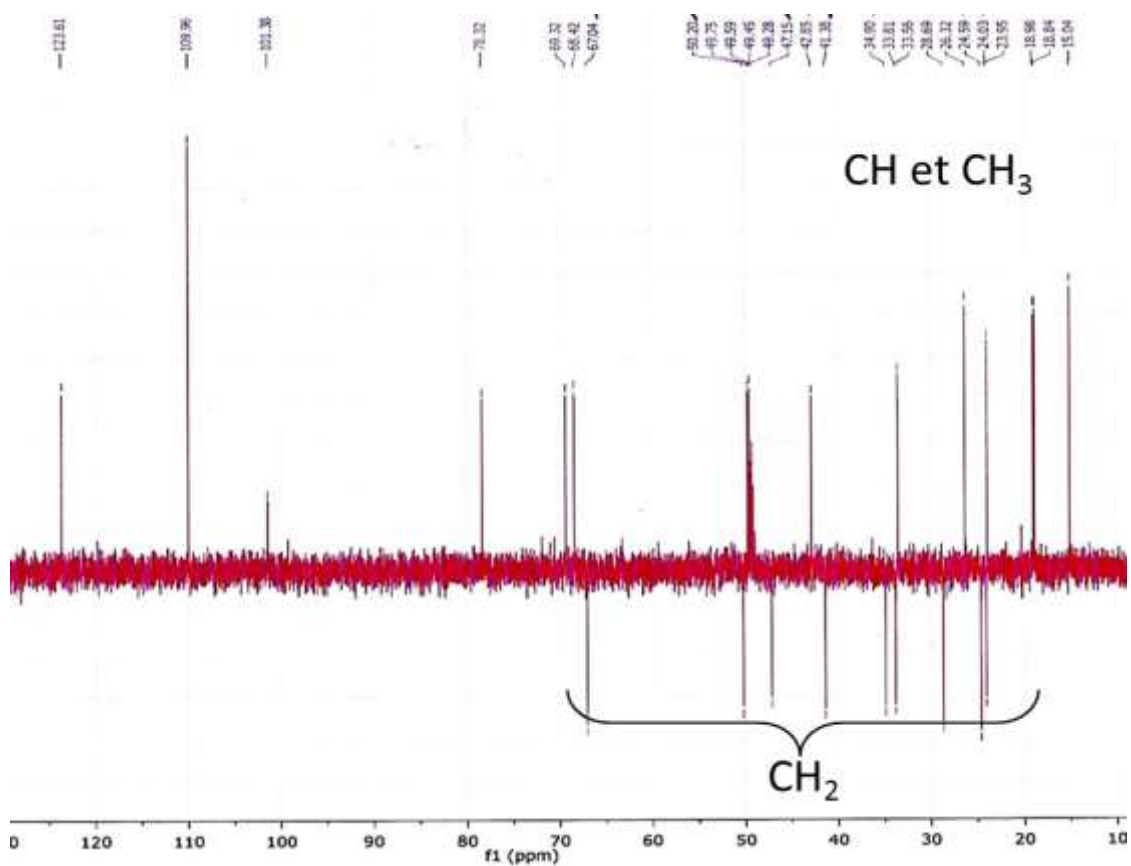


Fig.61. Spectre DEPT 135 du composé TM 8B (125 MHz, CD3OD)

### III.1.1.3. Evaluation des activités biologiques de *Terminalia macroptera*.

#### III.1.1.3.1. Evaluation de l'activité répulsive sur *Culex* sp.

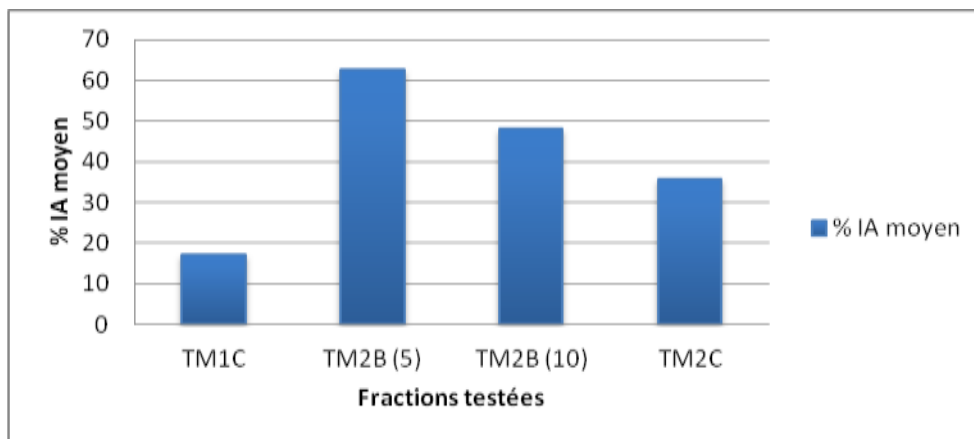
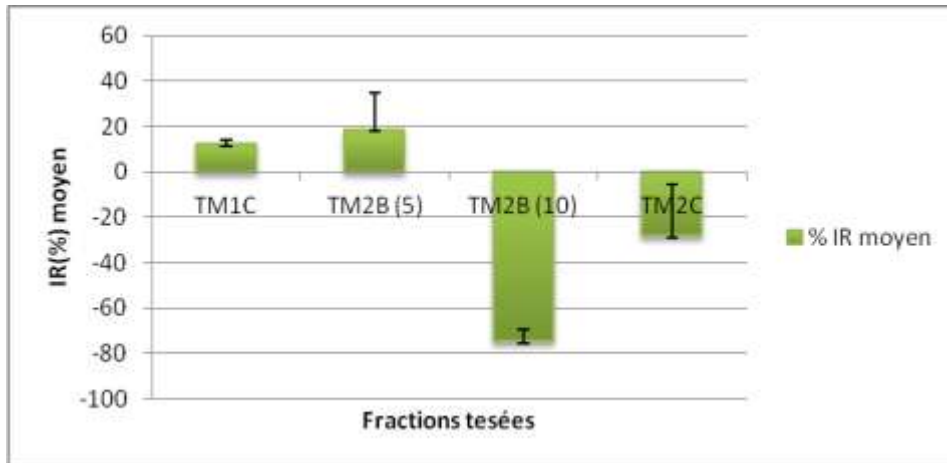


Fig. 62. Activités de TM1C, TM2B et TM2C sur *Culex* sp. (IR en haut ; IA en bas)

Les extraits ont été testés à la concentration de 5 % dans l'éthanol absolu. La fraction TM2B a été également évaluée à 10 %.

Les différents essais réalisés ont permis de confirmer l'effet légèrement répulsif de TM2C (c= 10 %) sur *Culex* sp. représenté par un IR moyen de 74,5 %. L'indice d'activité est amélioré pendant la période chaude (annexe 5). On remarque également la nécessité d'augmenter l'humidité relative. Cependant, les résultats observés restent très modestes lorsque l'on compare avec les produits témoins.

### III.1.1.3.2. Evaluation des activités antimicrobiennes.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits a été réalisée sur deux souches particulières : *Staphylococcus aureus* 1199 et 1199B. Cette dernière est une souche surexprimant une pompe à efflux (NorA) impliquée dans la multidrug résistance aux antibiotiques. Ces souches sont des modèles disponibles dans le laboratoire. Dans le cadre de la recherche de molécules modulant l'activité ou l'expression de ces pompes à efflux, il semblait intéressant de tester des extraits ou des fractions de *T. macroptera*.

Tableau XXXIX. Effet antibactérien de trois fractions de *T. macroptera*

Bactéries à Gram positif	Etude de la CMI mg/ml		
	TM 11B	TM 8A	Ciprofloxacine
<i>Staphylococcus aureus</i> 1199	$2.44.10^{-4}$	0,25	0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> 1199B	$9.75.10^{-4}$	0,0625	4

Les échantillons testés comme inhibiteur de pompes à efflux (IPE) se sont révélés inactifs. Aussi les résultats ne seront pas représentés ici.

### III.1.1.3.3. Evaluation des activités antioxydantes.

Tableau XL. Effet antiradicalaire de trois fractions de *T. macroptera* dans le test du DPPH.

	TM 2A	TM 2B	TM 2C	Trolox
IC50 ( $\mu\text{g/ml}$ )	0,542	0,208	0,210	0,229

Seuls les extraits bruts ont été évalués pour leurs propriétés antiradicalaires. Comparées au Trolox (le témoin positif) les fractions TM2B et TM2C présentent des activités antioxydantes similaires.

### III.1.2. Etude de *Calotropis procera*

#### III.1.2.1. Fractions résultant de l'extraction de la poudre de bois du tronc

L'extraction de 500 g de poudre du bois de tronc de *Calotropis procera* par macération dans le méthanol et le chloroforme a donné :

- une fraction méthanolique CM25A ;
- une fraction chloroformique CM25B.

#### III.1.2.2. Analyse HPLC-UV-DAD des extraits de *Calotropis procera*

Seul l'extrait méthanolique CM 25A des écorces a fait l'objet d'une analyse HPLC-UV/DAD.

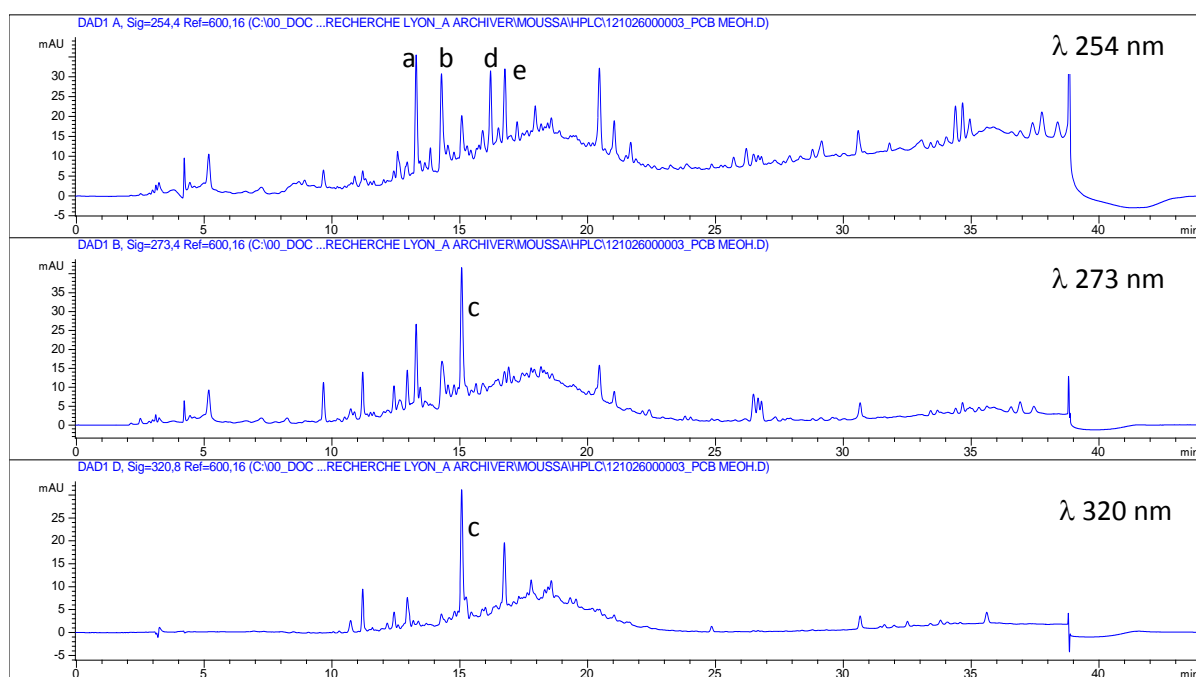


Fig.63. Spectres UV/vis des pics a - e des composés majoritaires



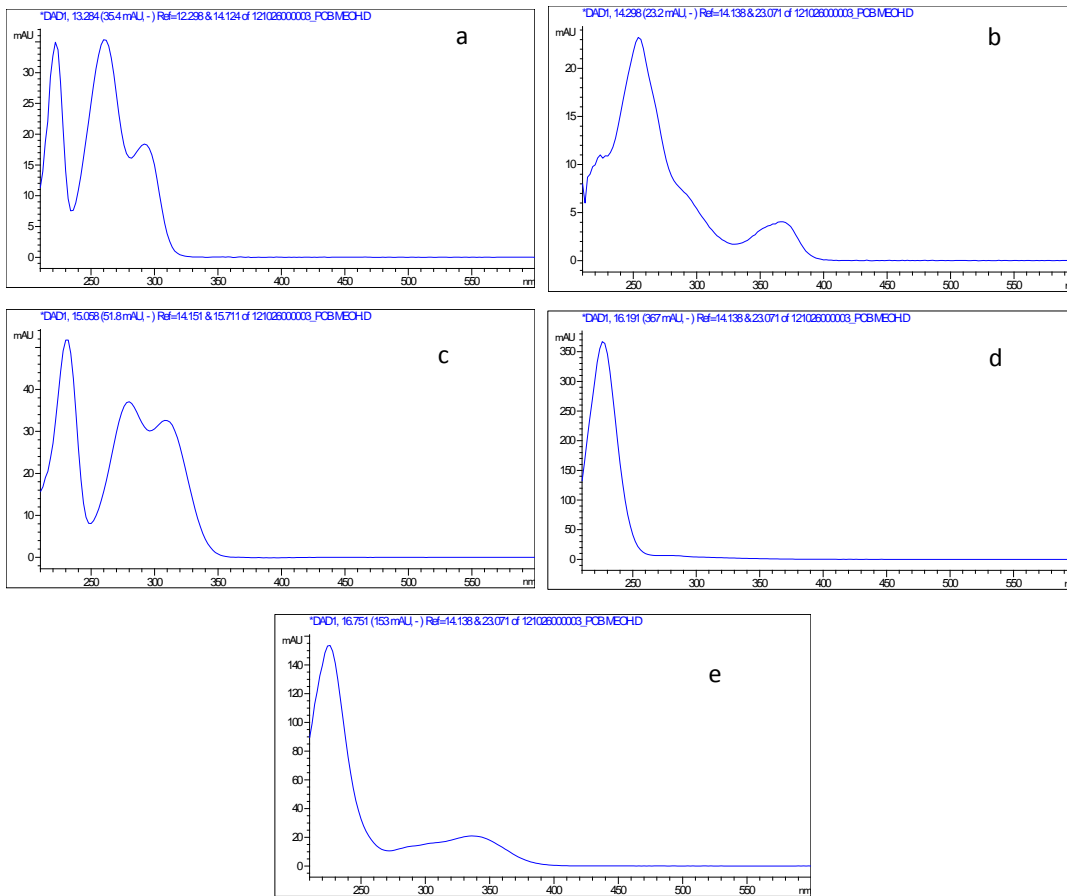
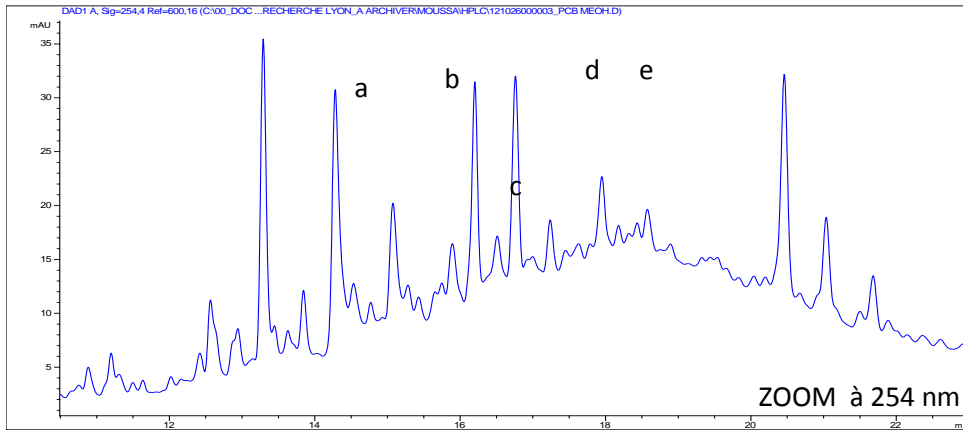


Fig.64. Spectres UV/vis des pics a - e et fragmentation des composés majoritaires

Pour *Calotropis procera*, seules les analyses HPLC-UV/DAD ont été réalisées. Le composé b possède un spectre UV rappelant celui des dérivés de l'acide ellagique. Les autres spectres UV/vis n'étant pas très caractéristiques, il est difficile de proposer des structures pour les composés majoritaires.

### III.1.3. Etude de *Acacia nilotica*

#### III.1.3.1. Fractions résultant de l'extraction de la poudre des gousses

L'extraction de 100 g de poudre de gousses de *A. nilotica* par macération dans le méthanol puis le chloroforme pendant 24H a donné :

- une fraction méthanolique ACM15A ;
- une fraction chloroformique ACM15B.

#### III.1.3.2. Analyse HPLC-UV-SM des extraits de *Acacia nilotica*

##### III.1.3.2.1. Etude de l'extrait méthanolique

Les deux types d'extraits ont été analysés en HPLC/UV/SM.

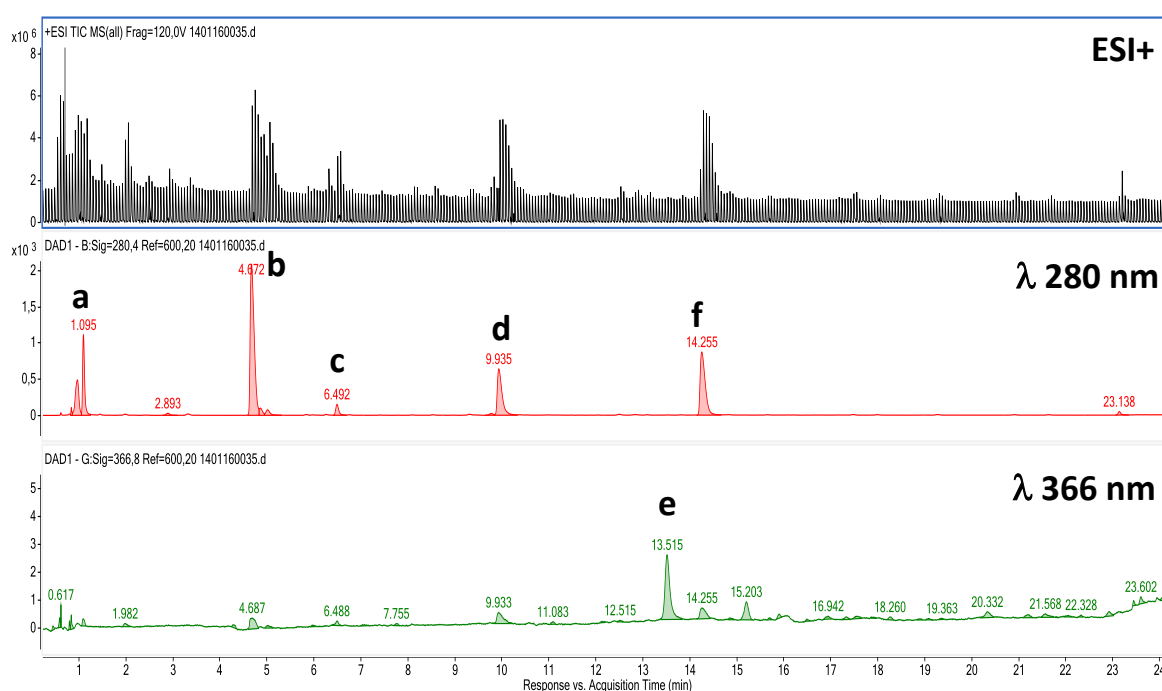


Fig.65. Chromatogrammes de l'extrait méthanolique des gousses de *Acacia nilotica*

Dans l'extrait méthanolique on remarque cinq composés majoritaires. Quatre d'entre eux possèdent les mêmes spectres UV. Les maxima rappellent ceux des dérivés de l'acide gallique ( $\lambda$  max 220, 276 nm).

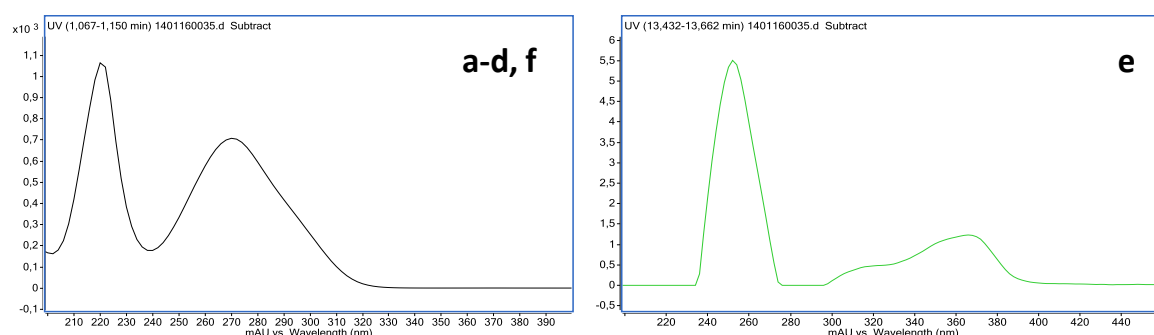


Fig.66. Spectres UV/vis des composés de l'extrait méthanolique des gousses de *Acacia nilotica*

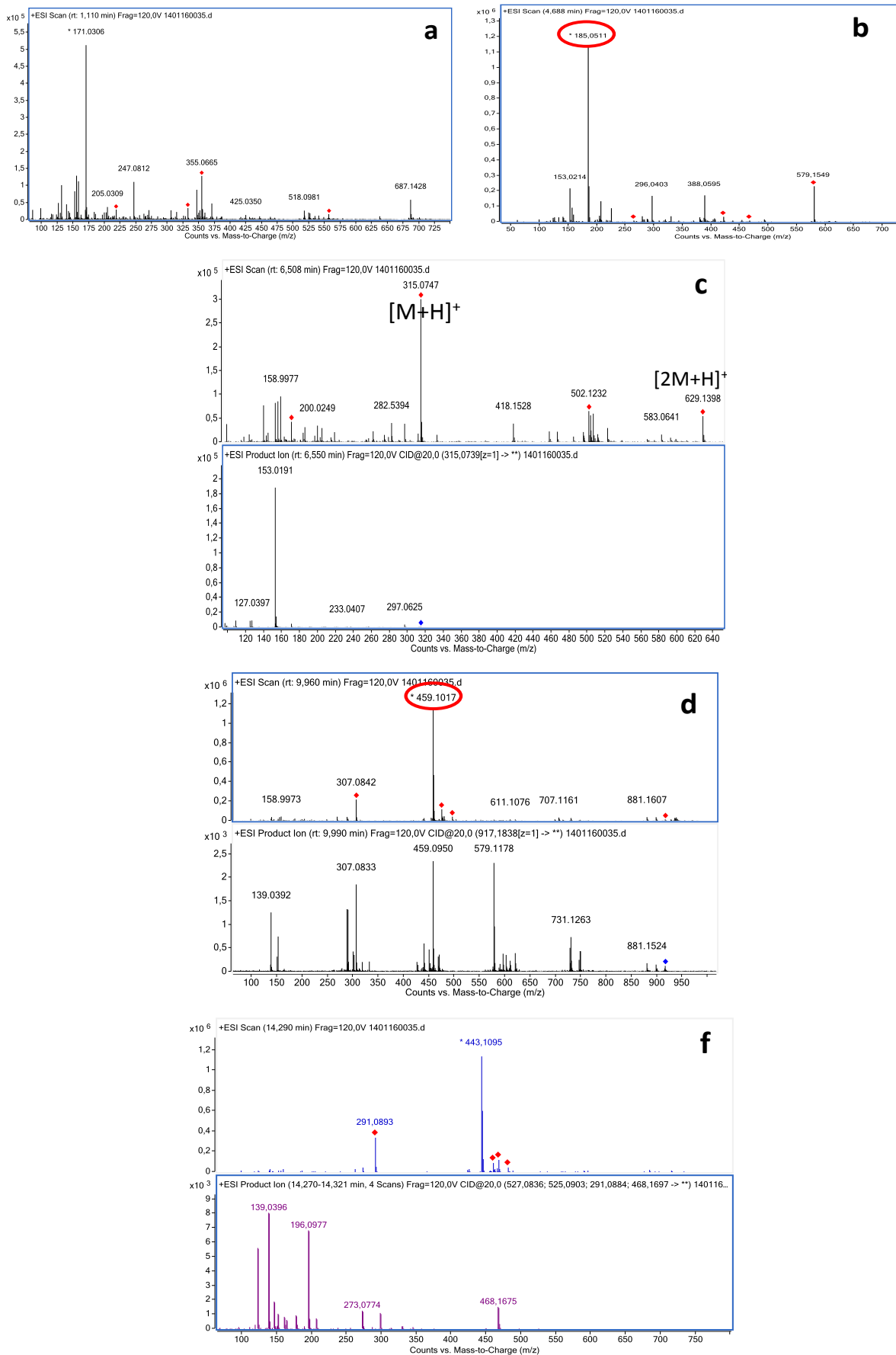


Fig.67. Spectres de masse des principaux composés de l'extrait méthanolique ACM15A

### III.1.3.2.2. Etude de l'extrait chloroformique

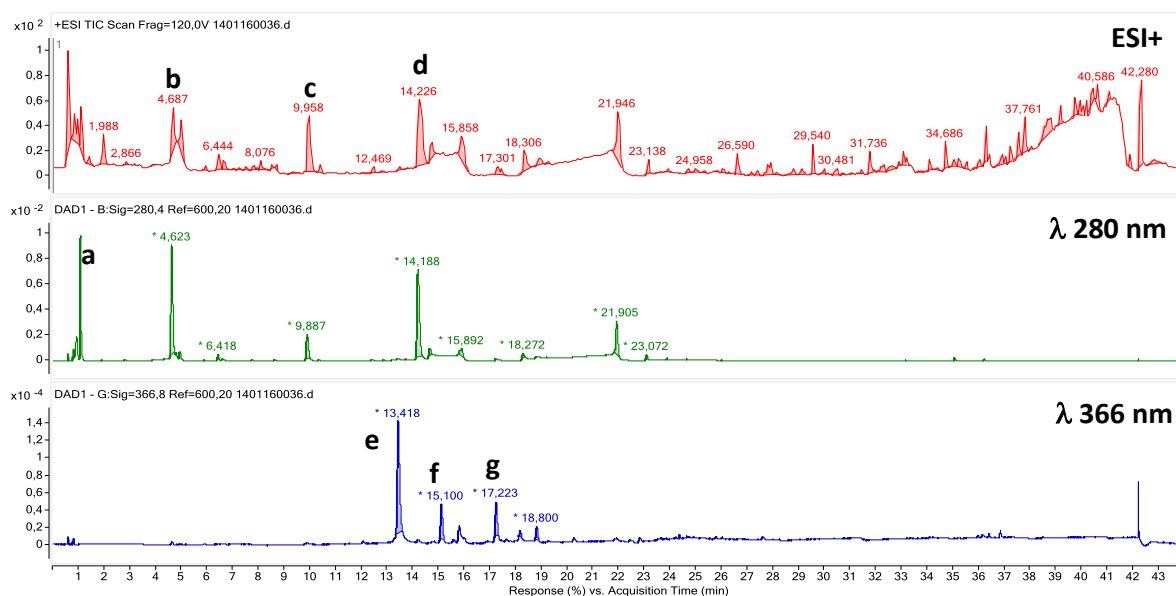


Fig.68. Chromatogrammes de l'extrait chloroformique des gousses de *Acacia nilotica*

Comme précédemment les spectres UV/vis des composés a) à d) sont semblables et laissent supposer que ces composés renferment le même chromophore. Le composé e possède les mêmes caractéristiques UV/vis que les dérivés de l'acide ellagique rencontrés dans *Terminalia macroptera* par exemple (fig.69).

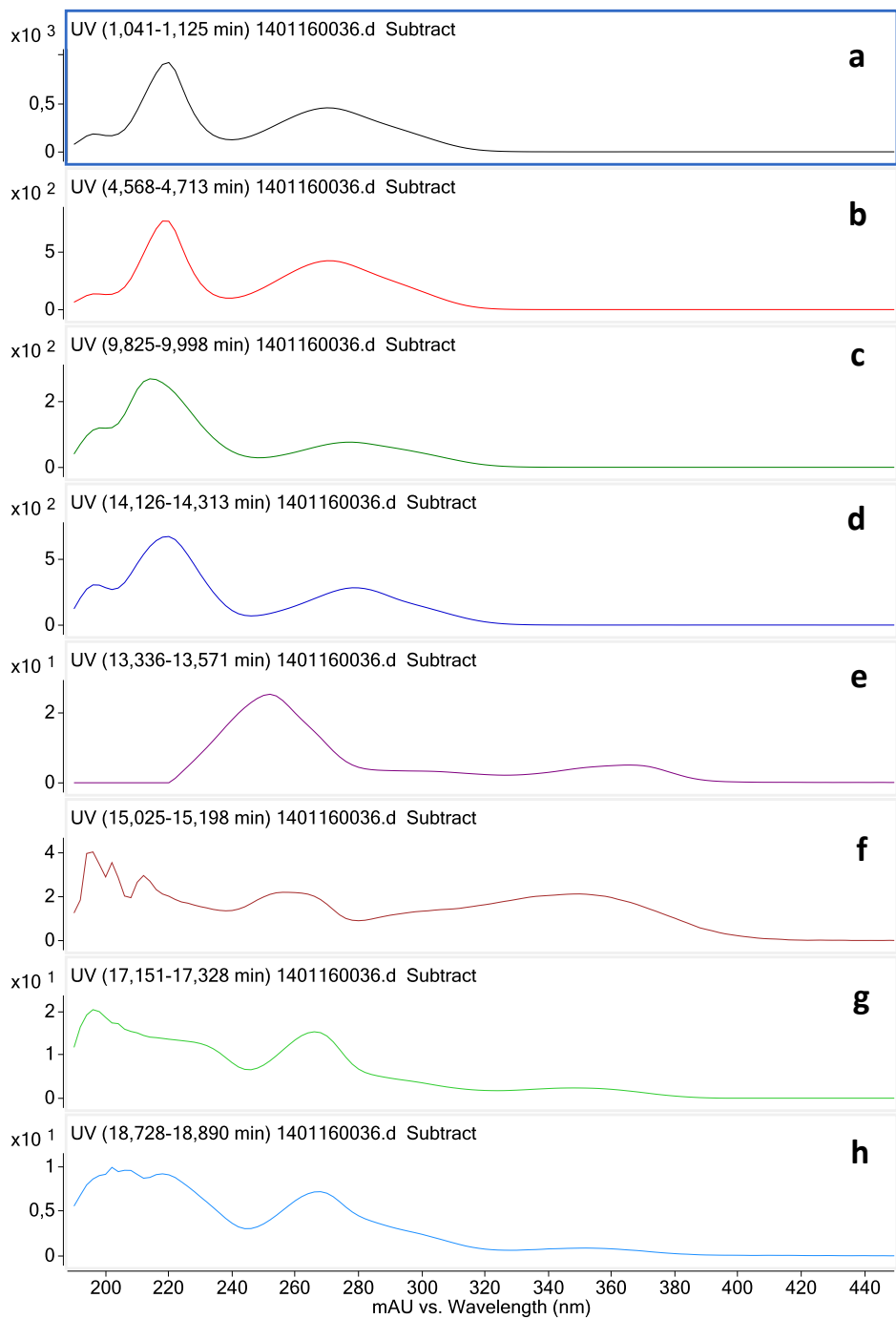


Fig.69. Spectres UV/vis des principaux composés de ACM 15B

L'analyse des spectres de masse et les formules brutes proposées par le logiciel Mass Hunter ne permettent malheureusement pas d'aboutir à des structures cohérentes.

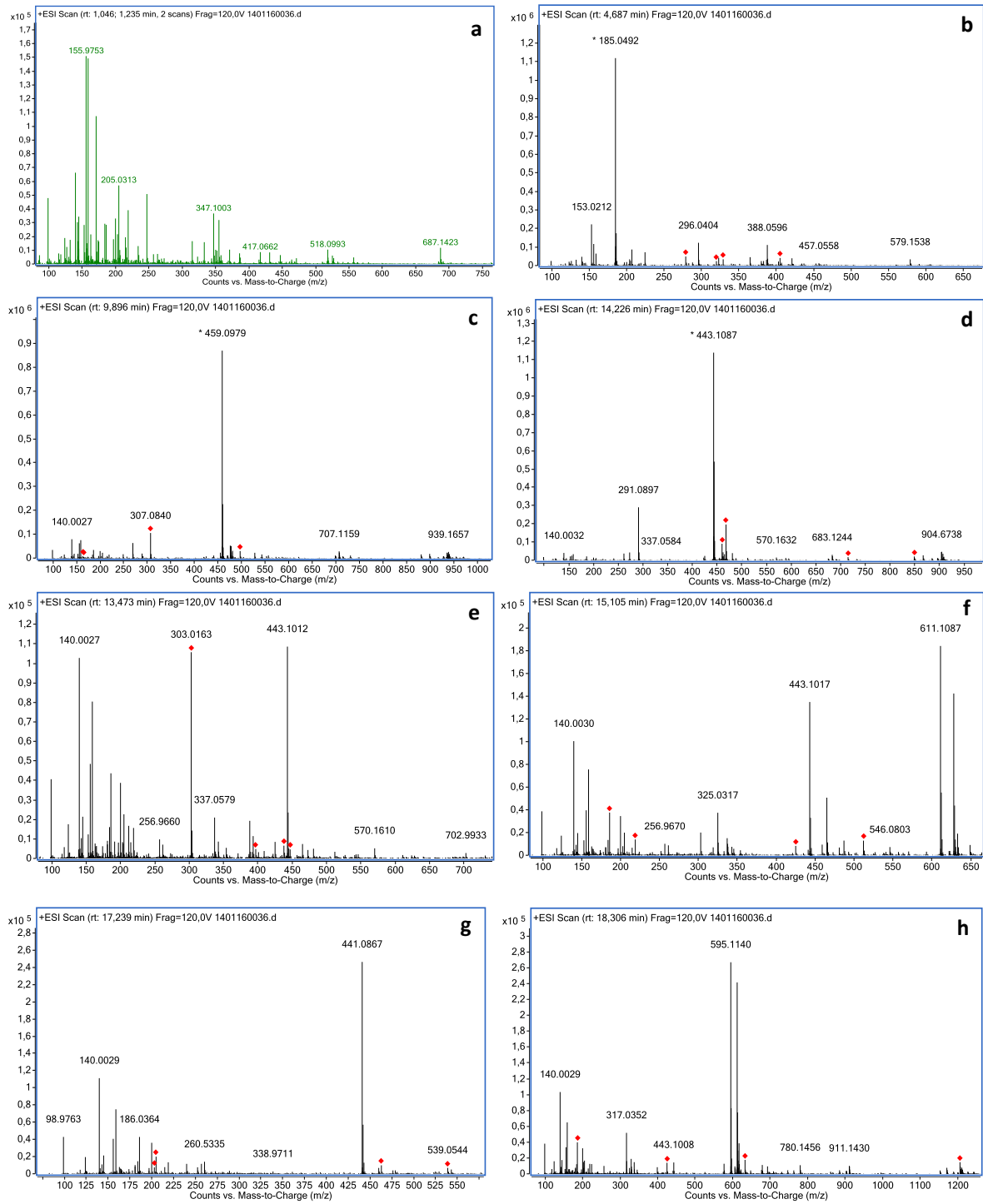


Fig.70. Spectres de masse en ESI mode positif des principaux composés de ACM15B

Tout comme les résultats obtenus pour *Calotropis procera*, des travaux complémentaires seront nécessaires pour compléter ces études préliminaires.

## III.2. DISCUSSION

### III.2.1. Etude de *Terminalia macroptera*

#### III.2.1.1. Etude chimique

Les analyses phytochimiques effectuées sur le bois de tronc de *T. macroptera* dans cette étude ont permis d'identifier six dérivés phénoliques appartenant à la classe des gallo- et ellagitannins et des stilbénoides, et deux dérivés triterpéniques.

Les oligomères de tannins sont les suivants : l'acide gallique, l'acide ellagique, l'acide 3,3'-di-*O*-méthyl ellagique, l'acide 3,3',4-tri-*O*-méthyl ellagique qui étaient déjà répertoriés dans les racines de la même espèce (Conrad *et al.*, 2011) ; ces composés ont été également répertoriés et identifiés par HPLC-UV-SM dans les fruits de trois autres espèces de *Terminalia* : *T. bellerica*, *T. chebula* et *T. horrida*.

On retrouve de l'acide gallique dans les fruits de *T. bellerica* et de *T. chebula*, et de l'acide ellagique dans les écorces de *T. arjuna*, les feuilles et les fruits de *T. bellerica*, et les écorces, les feuilles et les fruits de *T. muelleri* (Bajpai *et al.*, 2005).

Ces composés appartiennent aux tannins hydrolysables. Ils sont également largement décrits pour leurs propriétés anti-oxydantes/antiradicalaires. L'acide ellagique et ses dérivés ont été décrits pour leur propriétés antivirale, antibactérienne, antitumorale, anti-inflammatoire, chimioprotectrice et antileishmaniose (Dutra *et al.*, 2014). Les travaux de Silva *et al* (1997) ont associé aux oligomères d'ellagitannins, mais isolés des racines de *T. macroptera*, des activités biologiques contre diverses souches bactériennes, notamment contre *Shigella dysenteriae*, et *Campylobacter* sp.

Les anti-oxydants ont révélé leur intérêt pour leur caractère protecteur contre des pathologies impliquant les radicaux libres tels que le cancer, le diabète...

Parmi les composés phénoliques, le travail a permis de mettre en évidence pour la première fois dans les Combretaceae des dérivés du cinnamoyl stilbène. Ainsi deux composés ont été identifiés : le 4, 4'-dihydroxystilbène-4-*O*-[6-*O*-cinnamoyl] -glucoside et de 3, 5, 4'-trihydroxystilbène-3-*O*-[6-*O*-cinnamoyl] -glucoside (cinnamoyl picéide). Les structures ne sont pas complètes car persistent des incertitudes : le glucose pourrait être fixé en -4', comme c'est le cas dans le resvératrol (Fyhrquist *et al.*, 2014) ; de même, l'unité cinnamoyl pourrait avoir également une autre position : elle pourrait être rattachée en C-2 du glucose comme c'est le cas dans le 2'-*O*-*E*-férulate de picéide. Dans le genre *Terminalia*, le resvératrol et deux de ses glycosides (3',5'-dihydroxy-4-(2-hydroxy-éthoxy) resvératrol-3-*O*-rutinose et resvératrol-3-*O*-rutinose) ont été isolés des écorces de racines de *T. sericeae*.

Les oligomères de resvératrol, très représentés dans certaines familles botaniques (Dipterocarpaceae, Vitaceae, Leguminosae, Gnetaceae) sont rarement citées dans les Combretaceae. Ces composés, également connus pour le même type d'activités que les dérivés des acides gallique et ellagique, viennent donc renforcer le potentiel pharmacologique et l'intérêt des extraits de *T. macroptera*.

La série des triterpènes est représentée par deux composés : l'acide 23-*O*-galloyl-terminolique et l'acide 23-*O*-galloyl arjunolique. Le premier est isolé pour la première fois de *T. macroptera*, et n'a été jusque-là répertorié que dans trois autres Combretaceae : *Buchenavia parviflora* (racines, Li et al., 2002), *Combretum yunnanense* (fruits, Wang et al., 2011) et *Combretum molle* (écorces de tronc, Kenvoufo et al., 2008). Dans cette dernière plante, c'est le glucoside qui a été isolé et qui a montré une activité anti-inflammatoire in vivo, équivalente à celle de l'indométacine à la même concentration (10 mg/kg).

L'acide 23-galloyl arjunolique et son 28- $\beta$ -D-glucopyranoside ont, eux, déjà été cités dans les écorces de *T. macroptera* (Conrad et al., 1998). Ces composés se sont montrés actifs contre *Caenorhabditis elegans* (à 50 et 100  $\mu$ g/ml, respectivement), *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 2.5 et 10  $\mu$ g, respectivement) et *Bacillus subtilis* (CMI = 5 et 2.5  $\mu$ g, respectivement). Dans cette étude, parallèlement, l'acide terminolique, l'acide arjunique, arjunglucoside et l'acide séricique ont été également isolés et évalués comme antibactériens, antifongiques et anthelminthiques.

Ces résultats montrent que les dérivés terpéniques n'ont pas de spécificité quant à leur localisation tissulaire, car en effet ils sont retrouvés dans toutes les parties de la plante, aériennes ou souterraines. Les structures peuvent être des génines ou des hétérosides. Ces derniers ne sont représentés que par des monodesmosides du type 28-*O*- $\beta$ -D-glucosides. Par ailleurs, dans les évaluations pharmacologiques décrites, les génines semblent être plus actives que leur glucoside.

### III.2.1.2. Etude biologique.

Dans la lutte contre le paludisme classiquement de nouveaux principes actifs sont recherchés dans les plantes afin de limiter la propagation de l'agent infectieux, le Plasmodium. Ainsi, les extraits aqueux de l'écorce de *T. macroptera* ont montré une importante propriété antiparasitaire (IC<sub>50</sub> = 1 $\mu$ g/ml) sur des souches de *Plasmodium falciparum* résistante à la chloroquine (Sanon et al., 2003). Parallèlement à la recherche de molécules anti-infectieuses, une autre stratégie consiste à identifier des agents répulsifs ou attractants de l'hôte vecteur du plasmodium, les moustiques du genre Culex ou Anopheles. Ces molécules pouvant ensuite être



utilisées dans des pièges, destinés à limiter la population de moustiques circulant. Le présent travail se plaçait dans ce deuxième axe. Nous avons donc testé les extraits non pas sur *Plasmodium* sp. mais sur *Culex* sp ; ils se sont avérés peu actifs mais il serait plus intéressant de tester, ultérieurement, les molécules pures ainsi que la fumée du bois de tronc de *T. macroptera*, et d'en faire l'analyse chimique, puisque, en effet, l'usage traditionnel consiste en une sorte de fumigation.

Dans le contexte de l'étude de la multidrug résistance bactérienne et de la recherche d'inhibiteurs de pompes à efflux (IPE), cette étude préliminaire est la première réalisée sur les extraits et molécules de *T. macroptera*.

Ainsi on note que la fraction TM11B a une meilleure CMI sur *S. aureus* 1199 que celle de l'antibiotique de référence (la ciprofloxacine). Sur la souche résistante (*S. aureus* 1199B) à l'antibiotique de référence, TM11B a un net effet bactéricide (CMI  $9,75 \cdot 10^{-4}$  mg/ml contre 4 mg/ml pour la ciprofloxacine). Le mécanisme d'action doit être précisé puisqu'il ne s'agit pas ici d'un effet modulateur de la résistance aux antibiotiques mais bien d'un effet bactéricide. Ces résultats doivent, bien sûr, être confirmés.

Par rapport aux activités anti-oxydantes, les extraits TM2B et TM2C ont une action équivalente à celle du Trolox, composé de référence.

Tous les composés connus identifiés ici de l'extrait TM2B (acétate d'éthyle) sont cités dans la littérature pour les propriétés anti-oxydantes liées à la présence des dérivés de l'acide gallique ou ellagique. On peut donc aisément rapprocher les activités anti-radicalaires mesurées ici, de la présence de ces composés phénoliques dans les extraits.

### **III.2.2. Etude de *Calotropis procera* et *Acacia nilotica***

L'étude de ces deux autres plantes constitue une première approche de la composition chimique des parties de plantes utilisées en médecine traditionnelle. Il est cependant intéressant de noter que nous n'avons caractérisé aucun flavonoïde ou alcaloïde. Des composés appartenant à cette dernière classe, tels que des dérivés de la diméthyltryptamine ou de la diméthylphenylalanine, ont été cités en effet dans diverses espèces de *Acacia*. Ces dérivés aminés sont largement impliqués dans des effets psychotropes (Banso, 2009).

Les analyses réalisées essentiellement en HPLC-DAD n'ont pas permis d'apporter des propositions de structures pour les composés majoritaires des différentes fractions. Aussi, des études complémentaires en UHPLC-UV-SM/SM sont indispensables pour réaliser ces annotations.

## CHAPITRE IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

### IV.1. CONCLUSION

Compte tenu de la diversité des plantes, d'usages médicaux et d'utilisations ethnobotaniques enregistrés au Ouaddaï, valoriser la médecine et la pharmacopée traditionnelles par des études phytochimiques, toxicologiques et pharmacologiques est devenu pour nous un impératif. Aussi, après avoir inventorié les plantes médicinales du Ouaddaï et pour profiter au maximum de leurs vertus, nous avons trouvé intéressant d'orienter les efforts de recherches vers l'analyse de leur composition chimique et la détermination des principes actifs afin de confirmer certaines utilisations ethnobotaniques, d'établir les preuves scientifiques de l'efficacité de ces plantes et mettre à la disposition des populations des phytomédicaments et pesticides naturels améliorés et facilement accessibles.

Ce travail a commencé par une étude ethnopharmacologique, menée auprès de 30 tradipraticiens de santé de la région du Ouaddaï. Cette étude a été réalisée afin de faire un inventaire des plantes utilisées dans cette région et leurs indications. Ainsi, 38 plantes sont traditionnellement utilisées dans des domaines très variés : anti-infectieux, cicatrisant, antiparasitaires, anti-inflammatoire, etc.

*Terminalia macroptera* est une espèce utilisée au Tchad pour traiter l'hépatite (feuilles) et les blessures (racines) mais elle est aussi utilisée comme répulsive des moustiques (fumigation du bois de tronc).

*Calotropis procera* est utilisée pour traiter la lèpre (feuilles et écorces) mais aussi comme répulsive des termites (bois de l'espèce) par les habitants de campagne ; *Acacia nilotica* est utilisée pour traiter la dysenterie (fruits et écorces) mais aussi pour empêcher la putréfaction des dépouilles mortelles (gousses fraîches).

De cette première partie du travail, ces trois plantes ont été donc sélectionnées pour une étude chimique et biologique dans le cadre des thématiques de l'équipe d'accueil de Lyon (UMR 5557 CNRS/Université Lyon 1– Laboratoire d'Ecologie Microbienne) car elles sont utilisées notamment pour leur propriété antimicrobienne, répulsive, ou encore anti-putréfaction, l'objectif étant de rechercher des composés d'intérêt dans le domaine des biopesticides ou dans la modulation de la résistance aux antibiotiques.

Ce travail préliminaire a permis d'identifier, soit après isolement soit en ligne via la technique de UHPLC-DAD-SM/SM, 11 composés dans l'extrait à l'acétate d'éthyle du bois de tronc de *T. macroptera*. Ceux-ci appartiennent pour la plupart aux polyphénols dérivés de l'acide gallique ou de l'acide ellagique. Deux triterpènes ont été identifiés également, dont un pour la première dans le genre sous sa forme d'ester d'acide gallique. Enfin, deux dérivés de

type stilbénol ont été également identifiés. Contrairement aux autres types de polyphénols, les stilbénols sont exceptionnellement cités dans le genre ou encore dans la famille des Combretaceae. Tous ces composés, de par leur structure phénolique, contribuent largement aux propriétés anti-oxydantes de l'extrait EtOAc. La teneur et la diversité en polyphénols peuvent être également associées aux utilisations traditionnelles de la plante comme anti-inflammatoire et cicatrisant.

L'étude phytochimique des deux autres plantes n'a consisté qu'en la préparation des extraits et de premières analyses en HPLC-UV/DAD. Ces premiers profils chromatographiques ont permis de vérifier la présence majoritaire de composés phénoliques, confirmant les données de la littérature.

L'étude des activités biologiques constitue également une première approche et n'a porté que sur *T. macroptera*. Ainsi ont été évalués le pouvoir répulsif sur le moustique *Culex* sp., les activités antiradicalaires, bactéricides et modulatrices de la résistance aux antibiotiques. Les activités anti-oxydante et bactéricide sont très marquées. En effet, l'extrait EtOAc est plus actif que les substances témoin (Trolox ou Ciprofloxacine). Ces activités sont bien sûr, au vu de la littérature, à mettre en relation avec la richesse en polyphénols de cet extrait.

## IV.2. PERSPECTIVES

Ces résultats, bien que préliminaires, montrent l'intérêt de poursuivre dans l'étude des extraits de *T. macroptera* et de développer les analyses des extraits de *C. procera* et *A. nilotica*. C'est pourquoi, dans un proche avenir, il est souhaitable de :

- tester les molécules pures et la fumée du bois de tronc de *T. macroptera* sur *Plasmodium falciparum* et d'autres espèces de moustiques ;
- réaliser des travaux complémentaires en HPLC-UV-SM/SM pour compléter ces études préliminaires de *A. nilotica* et *C. procera* afin d'arriver à proposer des structures pour les composés majoritaires de différentes fractions de cette dernière plante ;
- évaluer les propriétés antioxydantes, antiparasitaires et antibactériennes des extraits de *A. nilotica* et *C. procera*.
- enfin, approfondir cette étude pour permettre à nos services sanitaires qui ont d'ores et déjà intégré les tradithérapeutes dans les hôpitaux d'exploiter les vertus de ces espèces pour mieux juguler ne serait-ce qu'une infime partie de nos problèmes sanitaires et environnementaux. Aussi, espérons-nous que nos collègues du Laboratoire de Biotechnopôle nous aideront à l'améliorer par des apports de synthèses pharmacologique et toxicologique afin de donner une base scientifique à l'utilisation de ces plantes et valoriser davantage notre patrimoine thérapeutique.

## BIBLIOGRAPHIE

- Ahmad M., Zaman F., Sharif F., Muhammad Zabta Ch., 2008. Antidiabetic and hypolipidemic Effects of Aqueous Methanolic Extract of *Acacia Nilotica* Pods in Alloxan-Induced Diabetic - Rabbits. *Scand.J.Lab.Anim.Sci.*, 35 (1) : 29-34.
- Al-Rajhy D.H., Alahmed A.M., Hussein H.I., Kheir S.M., 2003. Acaricidal effects of cardiac glycosides, azadirachtin and neem oil against the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acari : Ixodidae). *Pest Management Science*, 59 : 1250-1254.
- Anonyme, 1989. Plan régional de développement. Le Ouaddaï-Biltine vers l'an 2005. Tchad. Ministère de l'Economie et du Plan (T.M.E.P), 1 : 1-58.
- Ansari S.H., Ali M., 2001. Norditerpenic ester and pentacyclic triterpenoids from root bark of *Calotropis procera* (Ait) R.Br. *Pharmazie*, 56 (2) : 175-177.
- Arbonnier, M., 2009. *Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest*, Paris : éditions Quae, 576p.
- Bachaya H.A., Iqbal Z., Khan M.N., Zia-ud-Din S., Jabbar A., 2009. Antihelmintic activity of *Ziziphus nummularia* (bark) and *Acacia nilotica* (fruit) against *Trichostrongylid nematodes* of sheep. *Journal of Ethnopharmacology*, 123 : 325-329.
- Bajpai M., Pande A., Tewari S.K., Prakash D., 2005. Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(4) : 287-291.
- Bansal V.K. ; Goel R.K. ; 2012. Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract : Role of polyphenolic constituents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 523-528.
- Banso A., 2009. Phytochemical and antibacterial investigation of bark extracts of *Acacia nilotica*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(2) : 82-85.
- Beroza, M., Green, N., 1963. *Materials tested as insect attractants*. U.S. Dept. Agr., Agr. Handbook. 239, 1-148.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 28 : 25-30.

- Chahad A.M, 2007. Contribution à l'étude des plantes médicinales du Tchad oriental : cas du Ouaddaï. Mémoire de DEA, Université de Yaoundé I (Département de Biologie et Physiologie Végétales), 98 p.
- Chandler R.F., Coombe R.G., Watson T.R., 1967. The digitanols of the root bark of *Calotropis procera* R.Br. *Aust. J. Chem.*, 21 : 1625-31.
- Chavda R., Vadalía K.R., Gogani R., 2010. Hepatoprotective and antioxidant activity of root bark of *Calotropis procera* R.Br (Asclepiadaceae). *International Journal of Pharmacology*, 6(6) : 937-943.
- Chaubal R, Pawar PV, Habbalkar GD, Tungikar V, Puranik VG, Deshpande VH, Deshpande NR., 2005. Larvicidal activity of *Acacia nilotica* extracts and isolation of D-Pinitol – a bioactive carbohydrate. *Chemistry & Biodiversity*, 2 : 684-688.
- Congo M, 2012. Etudes des propriétés antiradicalaires et antiprolifératives d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora persica* L.(Salvadoraceae). Thèse de Pharmacie, Université de Ouagadougou, 42 p.
- Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Roos G., Walter U., Kraus W., 1998. Two triterpenes esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*, 48 : 647-650.
- Conrad J., Vogler B., Reeb S., Klaiber I., Papajewsky S., ROOS G., Vasquez E., Setzer M.C., Kraus W. 2001. Isoterchebulin and 4,6-*O*-isoterchebuloyl-D-glucose, novel hydrolyzable tannins from *Terminalia macroptera*. *Journal of Natural Products*, 64 : 294-299.
- Conrad J., Vogler B., Klaiber I., Reeb S., Guse J. H., Roos G., Kraus W., 2011. Vanillic acid 4-*O*-beta-D-(6'-*O*-galloyl) glucopyranoside and other constituents from the bark of *Terminalia macroptera* Guill.et Perr. *Natural product letters*, 15(1) : 35-42.
- Dutra R. P., Vinicius de Barros Abreu B., Cunha M.S., Aranha Batista M.C., Brandão Torres L.M., Fernandes Nascimento F. R., Sousa Ribeiro M.N., Meireles Guerra R.N., 2014. Phenolic Acids, Hydrolyzable Tannins, and Antioxidant Activity of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith. *J. Agric. Food Chem.*, 62 : 2549–2557.
- El-toumy S.A., Mohamed S.M., Hassan E.M., Mossa A.H., 2011. Phenolic Metabolites from *Acacia nilotica* Flowers and Evaluation of its Free Radical Scavenging Activity. *Journal of American Science*, 7(3) : 287-295.

- Fracassetti D., Costa C., Moulay L. , Tomás-Barberán F. A., 2013. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 139 : 578–588.
- Fyhrquist P., Laakso I., Garcia M.S., Julkunen-Tiitto R., Hiltunen R., 2014. Antimycobacterial activity of ellagitannin and ellagic acid derivate rich crude extracts and fractions of five selected species of *Terminalia* used for treatment of infectious diseases in African traditional medicine. *South African Journal of Botany*, 90 : 1-16.
- Geerling, C., 1988. *Guide des terrains des ligneux Sahéliens et Soudano-guinéens*, 2ème édition Agricultural University Wageningen Papers, 340p.
- Gholamshahi S., Vakili M.A., Shahdadi F., Salehi A., 2014. Comparison of total phenols and antiradical activity of flower, leaf, fruit and latex extracts of milkweed (*Calotropis procera*) from Jiroft and Bam cities. *International Journal of Biosciences*, 4 (7) : 159-164
- Gonzales-Coloma A., 2008. Perspectives on natural biopesticides. *Phytochemistry Reviews*, 7 : 1.
- Gupta D.K.,Ali M.,Bhutani K.K., 1996. Triterpenoids from *Calotropis procera* root bark. *Indian Journal of Chemistry*, 35B : 1079-1084.
- Gupta D., Khare S.K., Laha A., 2004. Antimicrobial properties of natural dyes against Gram-negative bacteria. *Coloration Technology*, 120 : 167-171.
- Haj-Ali AM, & Yagoub SO., 2007. Anti-microbial activity of *Acacia nilotica* extracts against some bacteria isolated from clinical specimen. *Research Journal of Medicinal Plant*, 1 : 25-28.
- Junker T., Schumacher M., Dicato M., Diederich M., 2009. UNBS1450 from *Calotropis procera* as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. *Biochemical Pharmacology*, 78 : 1-10.
- Kemvoufo P.B., Barboni L., Teponno R.B., Mbiantcha M., Nguelefack T.B., Hee-Juhn P., Kyung-Tae L., Tapondjou L.A., 2008. Polyhydroxyoleanane-type triterpenoids from *Combretum molle* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, 1(4) : 183-187.

- Khalequzzaman M., Ara H., Zrhura F., Nahar J., 2002. Toxic, repellent and attractant properties of some insecticides towards the housefly (*Musca domestica* L). *Online J Biol Sci*, 2(10) : 672–676.
- Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad A, Manazir Ali S, Siddiqui M, Khan A.U., 2009. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multidrug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14 : 586-597.
- Kraus W.,Ngoc L.H., Conrad J., Klaiber I., Reeb S., Vogler B., 2002. Investigation of biologically active natural products using online LC-bioassay, LC-NMR, and LC-MS techniques. *Phytochemistry Reviews*, 1 : 409-411.
- Kubmarawa D., Ajoku G.A., Enwerem N.M., Okorie D.A., 2007. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of 50 medicinal plants from Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 6 (14) : 1690-1696.
- Kurbeti SM., Patel AM., Patil AP., Upase DS., Sathe SP., Thorat VA., 2014. A comparative study for antimicrobial activity with Amoxycillin of prepared polyherbal formulation. *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science*, 3(4) : 199-215
- Leela V., Saraswathy A., 2012. Phytochemical and pharmacognostical evaluation of *Acacia leucophloea* flowers (Roxb) Willd. *Journal of Pharmacy Research* , 5(2) : 722-726
- Li X-C. , Joshi A. S., ElSohly H. N., Khan S. I, Jacob M. R. , Zhang Z. ,Khan I. A., Ferreira D., Walker L. A., Broedel S. E. , Raulli R. E.,Cihlar R. L., 2002. Fatty Acid Synthase Inhibitors from Plants : Isolation, Structure Elucidation, and SAR Studies. *J. Nat. Prod.*, 65 : 1909-1914.
- Li X.C, Yang L.X., Wang H. Q., Chen R.Y., 2011. Phenolic compounds from the aqueous extract of *Acacia catechu*. *Chinese Chemical Letters*, 22 (11) : 1331–1334.
- Mahato S. B., Kundu A. P., 1994. <sup>13</sup>C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids- a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, 37(6) : 1517-1575.
- Maldini M. ; Montoro P., Hamed A.I, Mahalel U.A., Oleszek W., Stochmal A., Piacente S., 2011. Strong antioxidant phenolics from *Acacia nilotica* : Profiling by ESI-MS and qualitative-quantitative determination by LC-ESI-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56 : 228-239.

- Manar M. Salem, Frederick H. Davidorf, Mohamed H. Abdel-Rahman, 2011. In vitro anti-uvéal melanoma activity of phenolic compounds from the Egyptian medicinal plant *Acacia nilotica*. *Fitoterapia*, 82(8) : 1279–1284.
- Maataoui BS., Hmyene A., Hilali S., 2006. Activités antiradicalaires d'extraits de jus de fruit de barbarie (*Opuntia Ficus india*). *Lebanese Science Journal*, 1 : 3-8.
- Maydell, H-J. Von., 1992. *Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et leurs utilisations*, Hambourg : éditions Margraf, 531p.
- Mishra P., 2011. Isolation and spectroscopic characterization and molecular modeling of novel compounds obtained from latex of *Calotropis procera*. *Elixir Appl.Chem.*, 41 : 5681-5684.
- Moursy L.E., 1997. Insecticidal activity of *Calotropis procera* extracts on the flesh fly, *Sarcophaga haemorrhoidalis* fallen. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 27(2) : 505-514.
- Nagesh S.T., Gokul S.T., 2012. Phytochemical study of *Calotropis procera* stem bark. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(4) : 708-709.
- Nagesh S.T., Gokul S.T., 2011. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of *Calotropis procera* stem bark. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(6) : 1118-1126.
- Nagesh T., Gokul T., 2011. Anti-inflammatory and gastromucosal protective effects of *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) stem bark. *J. Nat. Med.*, 65 : 598-605.
- Naik G.H., Priyadarsini K.I., Naik D.B., Gangabthagirathi R., Mohan H., 2004. Studies of the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomedicine*, 11 : 530-538.
- Nawwar M., Ayoub N., Hussein S., Hachim A., El-Sharawy R., Wende K., Harms M., Lindequist U., 2012. A Flavonol Triglycoside and Investigation of the antioxidant and Cell Stimulating Activities of *Annona muricata* Linn. *Arch. Pharm. Res.*, 35 (5) : 761-767.
- Pascual-Villalobos M.J., Robledo A., 1998. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *Industrial Crops and Products*., 8 : 183–194.
- Park K.I., Park H-S., Kim M-K., Hong G-E., Nagappan A., Lee H-J., Yumnam S., Lee W-S., Won C-K., Shin S-C., Kim G-S., 2014. Flavonoids identified from Korean *Citrus aurantium* L. inhibit Non-Small Cell Lung Cancer growth in vivo and in vitro. *Journal of Functiona Foods*, 7 : 287-297.



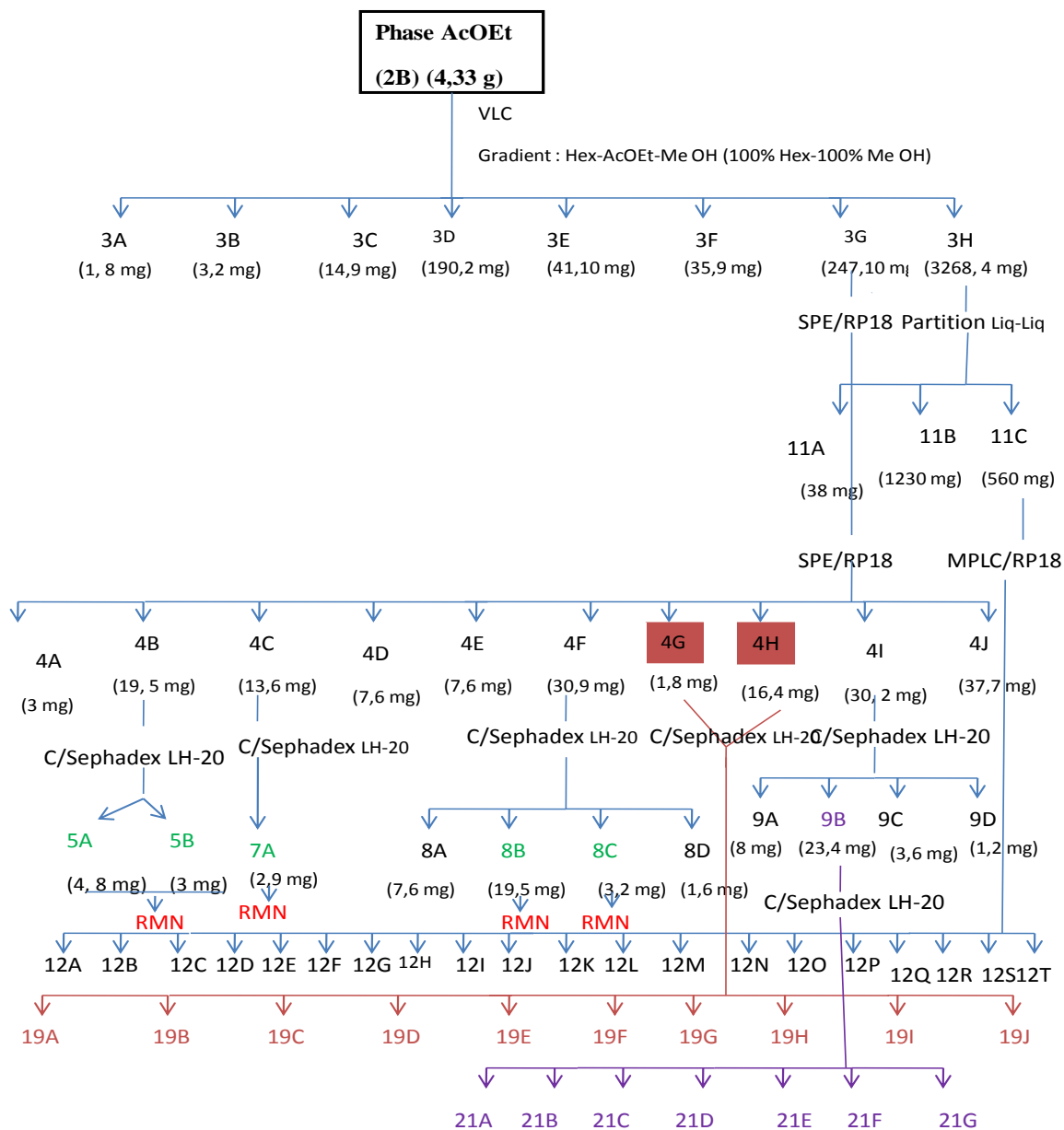
- Pham A.T., Dvergsnes C., Togola A., Wangensteen H., Diallo D., Paulsen B.S., Malterud K. E., 2011. *Terminalia macroptera*, its current medicinal use and future perspectives. *Journal of Ethnopharmacology*, 137 : 1486-1491.
- Philogène BJR, Regnault-Roger C, Vincent C., 2008. Biopesticides d'origine végétale : *bilan et perspectives*. In : *Biopesticides d'origine végétale* Philogène, Regnault-Roger C. & Vincent C., (eds). Paris : Lavoisier : 1-24.
- Ponou B.K., Barboni L., Teponno R.B., Mbiancha M., Nguiefack T.B., Park H-J., Lee K.T., Taponjdjou L.A., 2008. Triterpénoïdes de type polyhydroxyoleanane *Combretum molle* et leur activité anti-inflammatoire. *Phytochemistry Letters*, 1 : 183-187.
- Pousset, J-L., 1989. *Plantes médicinales Africaines, Utilisations pratiques*. Tome I, Paris, France, ACCT. 156p.
- Rahman M.M., Islam W., 2007. Effect of acetonic extracts of *Calotropis procera* R.Br. in (Ait.) on reproductive potential of flat grain beetle *Cryptolestes pusillus* (Schon.) (Coleoptera : Cucujidae). *Bangladesh J.Sci.Ind.Res.* 42(2) : 157-162.
- Ramos M.V., Freitas C.D.T., Stanisquaski F., Macedo L.L.P., Sales M.P., Sousa D.P., Carlini C.R., 2007. Performance of distinct crop pests reared on diets enriched with latex proteins from *Calotropis procera* : role of laticifer proteins in plant defense. *Plant Science*, 173 : 349-357.
- Regnault-Roger C & Philogène BJR., 2008. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. *Pharmaceutical Biology*, 46 : 41-52.
- Sabrin R.M.I., Mohamed G.A., Shaala L.A., Banuls L.M.Y., Gwendoline V.G., Kiss R., Youssef D.T.A., 2012. New ursane-type triterpenes from the root bark of *Calotropis procera*. *Phytochemistry Letters*, 5 : 490-495.
- Salem M.M., Davidorf F.H., Abdel-Rahman M.H., 2011. In vitro anti-uvéal melanoma activity of phenolic compounds from the Egyptian medicinal plant *Acacia nilotica*. *Fititerapia*, 82 : 1279-1284.
- Sanon S., Olivier E., Azas N., Mahiou V., Gasquet M., Ouattar C.T., Nebie I., Traore A.S., Eposito F., Balansard G., Timond-David P., Fumoux F., 2003. Ethnobotanical survey and

- in vitro antiplasmodial activity of plants used in traditional medicine in Burkina Faso. *Journal of Ethnopharmacology*, 86 : 143-147.
- Sharma N., Triveli P.C., 2002. Screening of leaf extracts of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. *Asian J. Exp. Sci.*, 16 ( 1 & 2 ) : 21-28.
- Shehab N.G., 2008. Volatiles, lipoids and flavonoids of the flowers of *Calotropis procera* R. Br : composition and bioactivity. *Bull Fac Pharm Cairo Univ.*, 46(3) : 139-149
- Shehab N.G., Abou Gharbieh E., Bayoumi A.B., 2015. Impact of phenolic composition on hepatoprotective and antioxidant effects of four desert medicinal plants. *Complementary and Alternative Medicine*, 15 : 401.
- Silva O., Duarte A., Cabrita J., Pimentel M., Diniz A., Gomes E., 1996. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, 50 : 55-59.
- Silva O., Duarte A., Pimentel M., Viegas S., Barroso H., Machado J., Pires I., Cabrita J., Gomes E., 1997. Antimicrobial activity of *Terminalia macroptera* root. *Journal of Ethnopharmacology*, 57 : 203-207.
- Silva O., Gomes E.T., Wolfender J-L., Marston A., Hostettmann K., 2000. Application of high performance liquid chromatography coupled with ultraviolet spectroscopy and electrospray mass spectrometry to the characterization of ellagitannins from *Terminalia macroptera* roots. *Pharmaceutical Research*, 17(11) : 1396-1401.
- Singh BN, Singh BR, Singh RL, Prakash D, Sarma BK, Singh HB., 2009. Antioxydant and anti-quorum sensing activities of green pod of *Acacia nilotica* L. *Food & Chemical Toxicology*, 47 : 778-786.
- Singh R., Singh B., Singh S., Kumar N., Kumar S., Arora S., 2009. Investigation of Ethyl Acetate Extract/Fractions of *Acacia nilotica* Willd. Ex Del as Potent Antioxidant. *Records of Natural Products*, 3(3) : 131-138.
- Singh R., Singh B., Singh S., Kumar N., Kumar S., Arora S., 2010. Umbelliferone-An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd. Ex. Del. *Food Chemistry*, 120 : 825-830.
- Song Y.S., Kim S-H., Sa J-H., Jin C., Lim C-J., Park E-H., 2003. Anti-angiogenic, antioxidant and xantine oxidase inhibition activities of the mushroom *Phellinus linteus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 88 : 113-116.

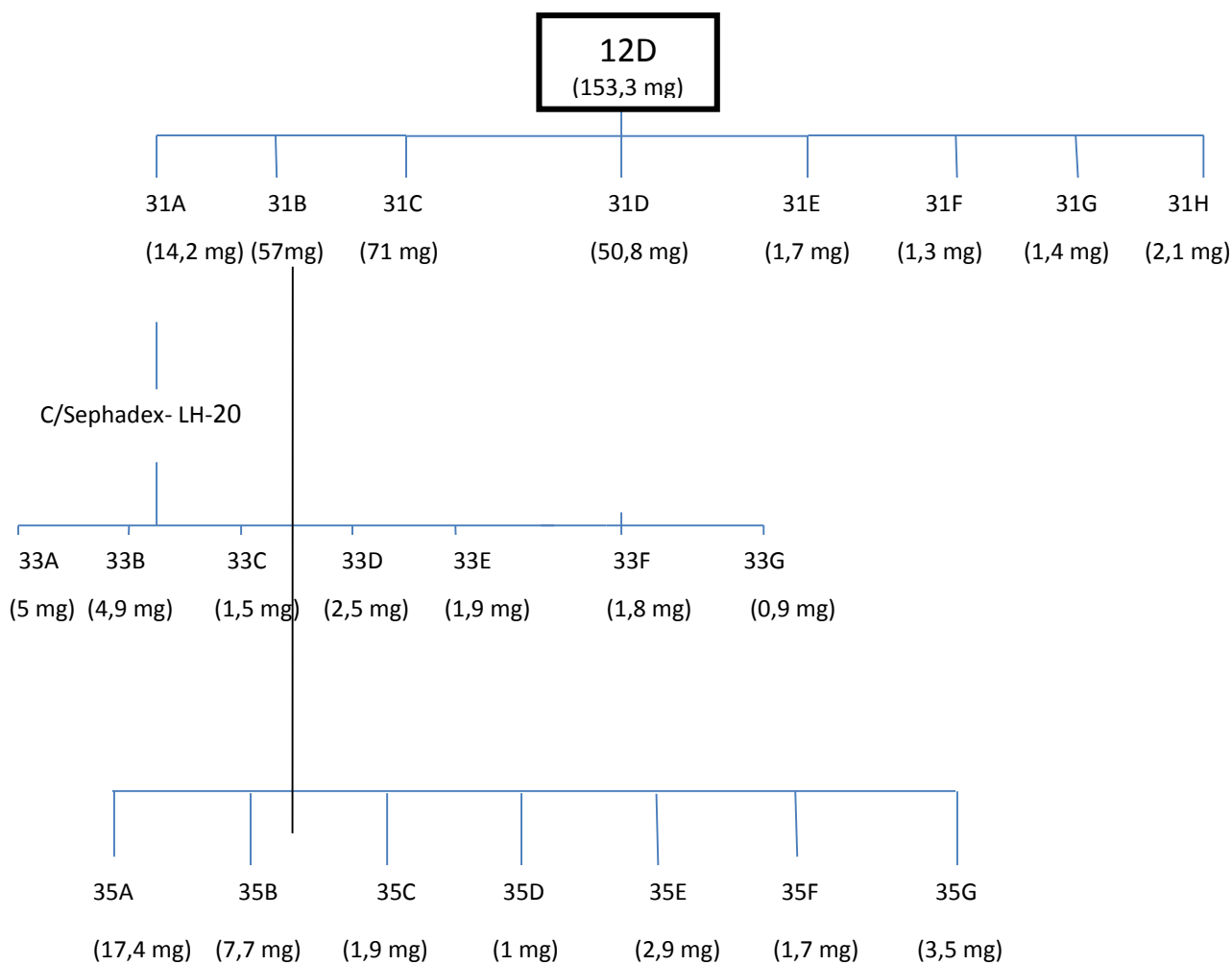
- Spichiger R.E., Savolainen V.V., and Figeat M., 2002. *Botanique Systématique des Plantes à Fleurs*. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes : 437p.
- Sultana B., Anwar F., Ashraf M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14 : 2167-2180.
- Talbi H., Boumaza A., EL-mostafa K., Talbi J., Hilali A., 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.*, 6 (4) : 1111-1117.
- Tung Y-T., Wu J-H., Kuo Y-H., 2007. Antioxidant activities of natural phenolic compounds from *Acacia confusa* bark. *Bioresource Technology*, 98(5) : 1120–1123.
- Van Quaquebeke E., Simon G., André A., Dewelle J., El Yazidi M., Bruyneel F., Tuti J., Nacoulma O., Guissou P., Decaestecker C., Braeckman J-C., Kiss R., Darro F., 2005. Identification of a novel cardenolide (2''-oxovoroscharin) from *Calotropis procera* and the hemisynthesis of novel derivatives displaying potent in vitro antitumor activities and high in vivo tolerance : structure-activity relationship analyses. *J. Med. Chem.*, 48 : 849-856.
- Wang L.Q., Wu M.M., Liu J.P., Li Y., Hua Y., Wang Y.Y., Li X.Y., Chen Y.G., Wang J.H., 2011. Five new diarylpropan-1-ols from *Combretum yunnanense*. *Planta Med.*, 77(16) : 1841-1844.
- Wink M., 2006. Importance of plant secondary metabolites for protection against insects and microbial infections. In : *Naturally Occurring Bioactive Compounds*. Rai & Carpinella (eds). Elsevier : pp. 251-268.
- Zou Y-F., Zhang B-Z., Barsett H., Inngjerdingen K.T., Diallo D., Michaelsen T.E., Paulsen B.S., 2014. Complement fixing polysaccharides from *Terminalia macroptera* Root Bark, Stem Bark and Leaves. *Molecules*, 19 : 7440-7458.
- Zou Y-F., Ti Ho G.T., Malterud K.E., Tran Le N.H., Inngjerdingen K.T., Barsett H., Diallo D., Michaelsen T.E., Paulsen B.S., 2014. Enzyme inhibition, antioxydant and immunomodulatory activities, and brine shrimp toxicity of extracts from the root bark, stem bark and leaves of *Terminalia macroptera*. *Journal of Ethnopharmacology*, 155 : 1219-1226.

## **ANNEXES**

**ANNEXE 1 : Schéma récapitulatif du fractionnement de la phase AcOEt de la poudre du bois de tronc de *T. macroptera***



**ANNEXE 2 : Schéma récapitulatif du fractionnement des produits de 12D issue de la MPLC de 11C**



### ANNEXE 3 : Chromatographie liquide sous vide de la fraction 2B

Masse dépôt : 4,33g

Gradient : Hex : ACOEt : Methanol (100% Hexane à 100% Méthanol)

Hexane ..... 100% (200ml)	Hex-ACOEt.....40 : 60(200ml)
Hex-ACOEt.....95 : 5 (200ml)	Hex-ACOEt.....30 : 70 (400ml)
Hex-ACOEt...90 : 10(200ml)	Hex-ACOEt.....20 : 80(400ml)
Hex-ACOEt....85 : 15 (200ml)	Hex-ACOEt.....15 : 85 (200ml)
Hex-ACOEt....80 : 20 (200ml)	Hex-ACOEt.....10 : 90(200ml)
Hex-ACOEt....70 : 30 (200ml)	ACOEt.....100% (400ml)
Hex-ACOEt....60 : 40 (200ml)	ACOEt-Me OH.....50 : 50 (400ml)
Hex-ACOEt...50 : 50 (200ml)	Me OH.....100% (400ml)

## ANNEXE 4 : Chromatographie en phase solide de la fraction 3G

Masse dépôt : 247 mg

Gradient : H<sub>2</sub>O : Méthanol (100% H<sub>2</sub>O à 100% Méthanol) ; paliers de 10%

100% H<sub>2</sub>O

1) 90 : 10 H<sub>2</sub>O/Me OH

2) 80 : 20 H<sub>2</sub>O/Me OH

3) 70 : 30 H<sub>2</sub>O/Me OH

4) 60 : 40 H<sub>2</sub>O/ Me OH

5) 50 : 50 H<sub>2</sub>O/ Me OH

6) 40 : 60 H<sub>2</sub>O/ Me OH

7) 30 : 70 H<sub>2</sub>O/ Me OH

8) 20 : 80 H<sub>2</sub>O/ Me OH

9) 10 : 90 H<sub>2</sub>O/ Me OH

10) 100%MeOH



## ANNEXES 5 : Activité répulsive des fractions de TM1C, TM2B et TM2C sur *Culex* sp.

1. Efficacité de TM1C sur *Culex* sp. de 5 à 8 jours (date du test : 17.06.13 ; HT : humidité dans le piège traité ; HR : humidité dans le piège référence ; TT : température dans le piège traité ; TR : température dans le piège référence ; PC : petite cage ; GC : grande cage).

Dose	TT °C	HT %	TR °C	HR %	PC	GC	T	R	IR	IA
5%	22,0	44,1	19,5	51,8	3	38	4	5	+0,11	0,19
	21,2	43,5	20,5	51,5	2	41	3	4	+0,14	0,15

2. Efficacité de la TM2B sur *Culex* sp. de 5 à 8 jours (07/05/2013)

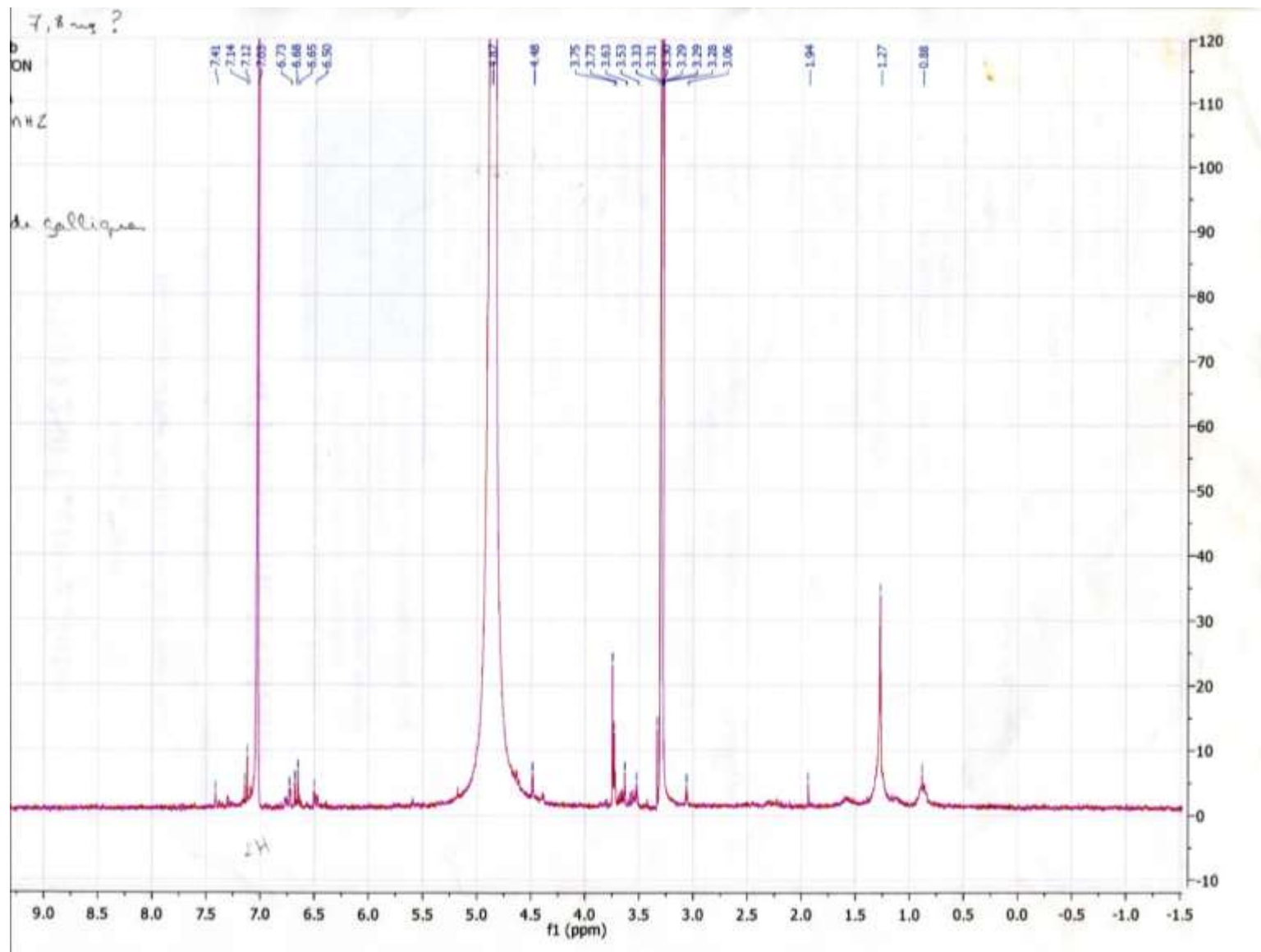
Dose TM2B	TT °C	HT %	TR °C	HR %	PC	GC	T	R	IR	IA
5%	24,1	46,8	20,7	57,6	4	45	1	0	-1	0,02
	23,0	45,7	19,6	56,6	0	33	15	2	-0,76	0,34
	23,3	29,1	20,7	42,8	0	29	8	13	+0,28	0,42
	23,5	40,1	21,1	45,8	0	27	19	4	-0,65	0,46
10%	23,3	44,9	21,1	55,1	0	29	18	3	<b>-0,71</b>	0,42
	22,8	55,6	21,4	60,0	0	23	24	3	<b>-0,78</b>	0,54

3. Effet du produit TM2C 5% Sur *Culex* sp. de 5 à 8 j

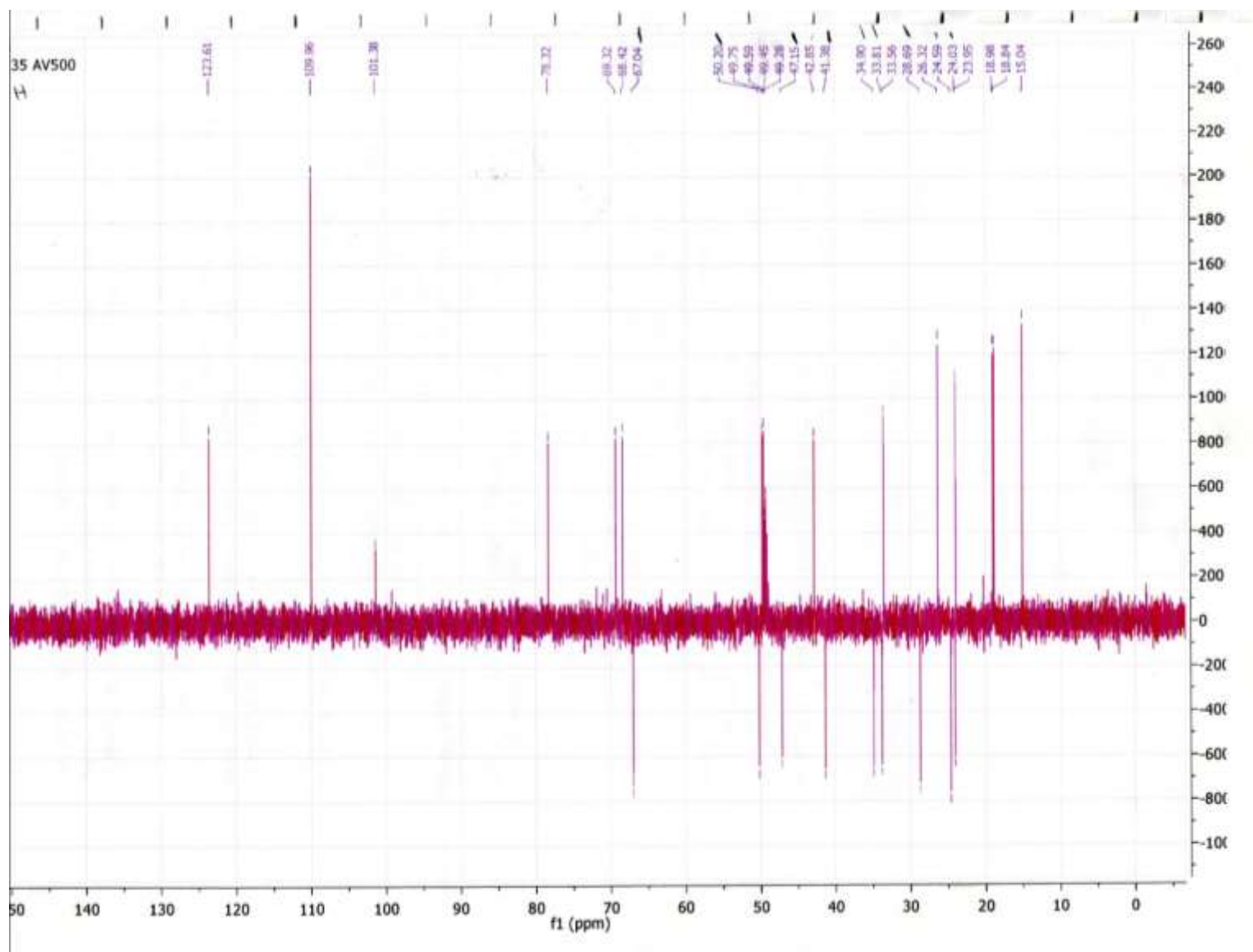
Dose	TT °C	HT %	TR °C	HR %	PC	GC	T	R	IR	IA
5%	22,4	52,3	20,8	54,8	1	21	16	12	-0,14	0,57
	23,1	56,2	20,9	60,1	2	30	15	3	-0,67	0,38
	22,6	52,7	21,9	54,0	2	41	5	2	-0,43	0,15
	23,2	57,3	20,7	61,3	1	31	10	8	-0,11	0,37
	22,8	51,4	19,6	53,6	0	36	9	5	-0,29	0,28
	21,6	59,4	18,6	62,3	0	34	8	8	0	0,32
	23,5	45,6	21,2	50,0	3	26	12	9	-0,14	0,45
	55,4	22,6	19,6	59,0	4	31	11	4	-0,47	0,33
<b>M</b>	<b>26,83</b>	<b>49,69</b>	<b>20,41</b>	<b>56,89</b>	<b>1,63</b>	<b>31,25</b>	<b>10,75</b>	<b>6,38</b>	<b>-0,28</b>	<b>0,36</b>

## ANNEXES 6 : Spectres RMN des composés purifiés

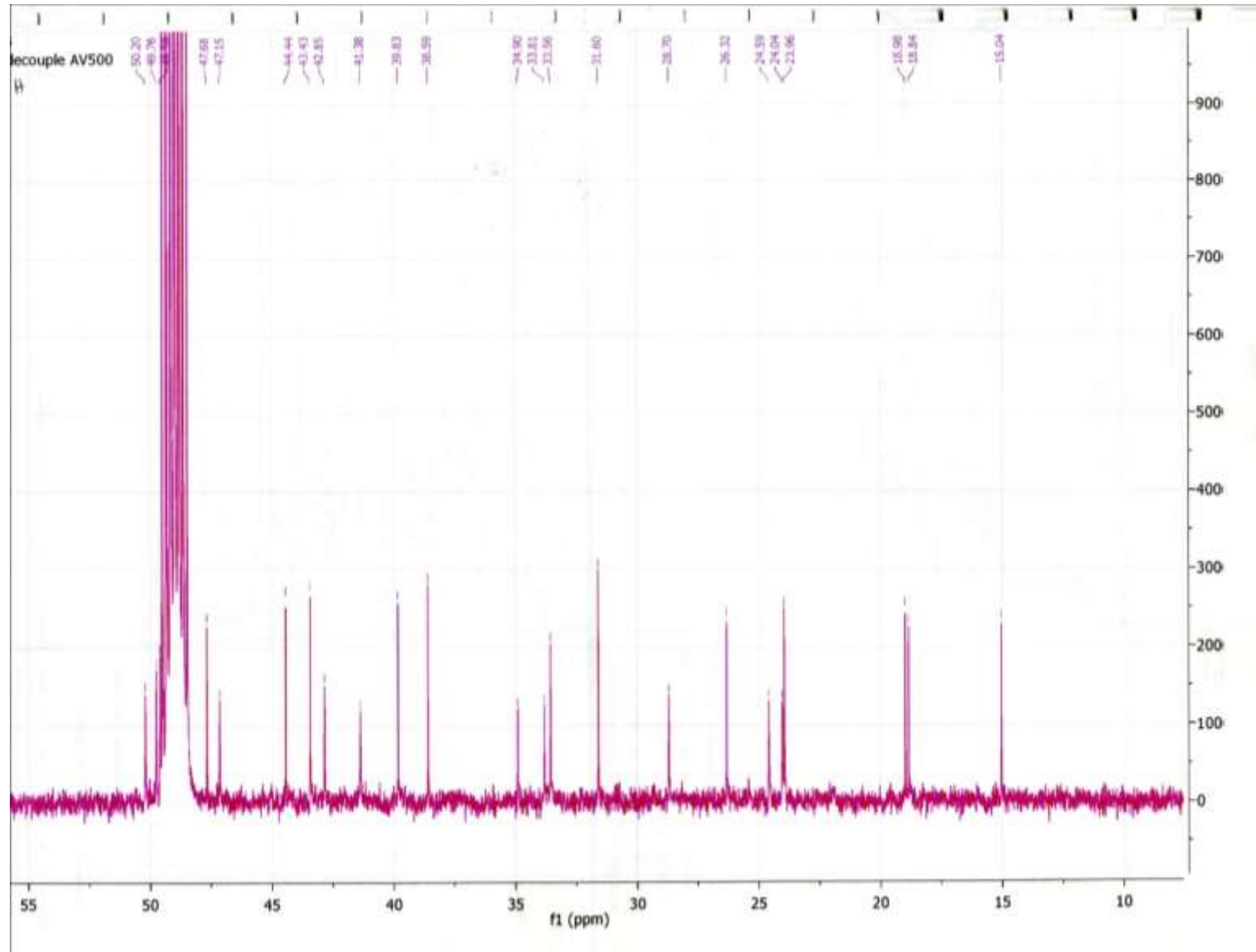
Spectres RMN  $^1\text{H}$  de TM5B (400 MHz)



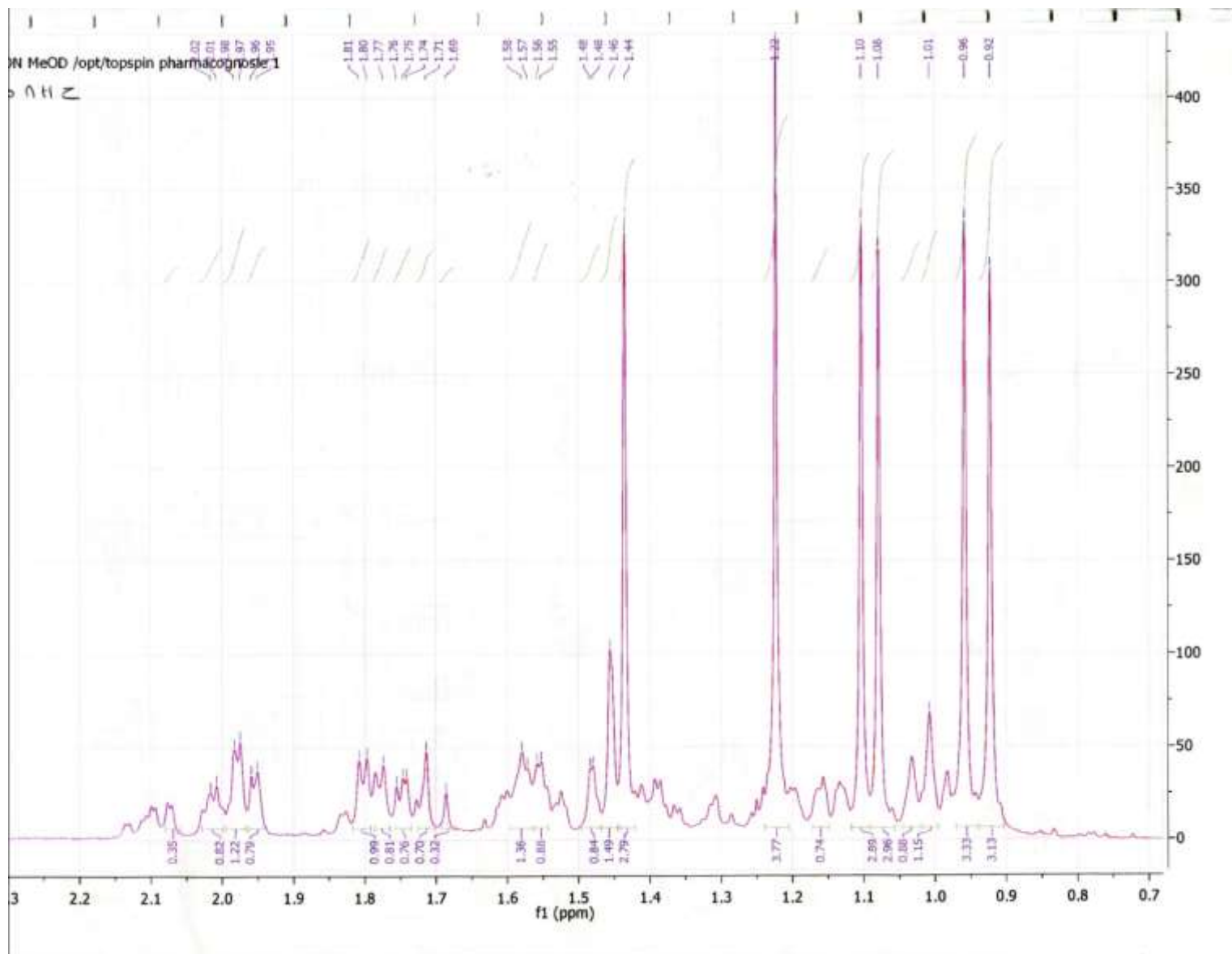
Spectres DEPT 135 de TM8B (100 MHz)



Spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de TM8B (100 MHz)



**Spectres RMN  $^1\text{H}$  de TM8B (400 MHz)**



## ANNEXE 7 : LEXIQUE BOTANIQUE

Acuminé : terminé en pointe effilée, pointue ou obtuse.

Alternes : insérées sur la tige à des hauteurs différentes.

Bipennée : feuille deux fois pennée.

Cordée : en forme de cœur (= cordiforme)

Crevassé : se dit des organes présentant à leur surface des fissures ou des éraillures, résultant soit de l'accroissement, soit à l'isolement de certaines parties laissant des intervalles entre elles.

Cyme : inflorescence ayant les fleurs placées à des hauteurs différentes sur des pédoncules partant ou non du même point.

Fleur : organe génératif de la plante.

Folioles : division d'une feuille composée.

Fruit : pistil transformé et développé à la suite de la fécondation et contenant les ovules transformés en graines. Les carpelles sont devenus le péricarpe, et les téguments de l'ovule sont devenus ceux de la graine.

Glabre : sans poils.

Glaucue : d'un vert blanchâtre ou bleuâtre.

Gousse : fruit non charnu sans cloisons intérieure et s'ouvrant par deux valves.

Liégeuse : formée de tissus morts à cellules subérifiées formées généralement de phellogène.

Limbe : partie terminale de la feuille, en forme de lame.

Nervation : disposition des nervures sur une feuille.

Nervure : ramifications ou veines qui forment la charpente de la feuille dans un ensemble bien hiérarchisé par le raccordement des unes aux autres.

Oblongues : beaucoup plus longues que larges, et obtues aux deux bouts.

Obovale : en ovale, dont la partie supérieure est le plus large.

Palmée : nervures qui partent du même point (ou presque) de la base du limbe, et qui ensuite s'écartent.

Pennée : feuille composée dont les folioles sont disposés de chaque côté du pétiole commun comme les barbes d'une plume.

Pétiole : le pied de la feuille.

Pinnule : dans une feuille bipennée, le rachis secondaire qui porte les foliolules.

Pubescente : garnie de poils.

Racème : inflorescence indéfinie formée d'un pédoncule portant, de façon alterne, des fleurs pédicellées s'épanouissant de la base au sommet.

Ramille : petit rameau.

Saillante : à étamine et style dépassant le périanthe, faisant donc saillie à l'extérieur.

Sessile : sans pétiole ou sans pédicelle.

Soyeuses : couvertes de poils fins et doux comme la soie.

Subéreuse : ayant la nature et la consistance spongieuse du liège.

Succulentes : présentant des tissus charnus très riches en eau.

## ANNEXE 8 : INDEX DES NOMS SCIENTIFIQUES

- Acacia nilotica*, 2, 4, 34, 35, 36, 37,38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 110, 112, 117, 118,119
- Acacia seyal*, 60
- Albizzia amara*, 60
- Anogeissus leiocarpus*, 60
- Balanites aegyptiaca*, 60
- Boscia senegalensis*, 60
- Buchenavia parviflora*, 116
- Calotropis procera*, 2, 4, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 108, 109, 114, 117, 118, 119
- Combretum glutinosum*, 60
- Combretum molle*, 116
- Combretum yunnanense*, 116
- Hyoscyanus niger.*, 1
- Rauwolfia vomitoria*, 1
- Sclerocarya birrea*, 60
- Salvadora pérsica*, 60
- Tamarindus indica*, 60
- Terminalia arjuna*, 47
- Terminalia bellerica*, 115
- Terminalia chebula*, 115
- Terminalia horrida*, 115
- Terminalia macroptera*, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 60, 61, 73, 84, 95, 99, 106, 107, 112, 115, 116, 117, 118, 119
- Terminalia muelleri*, 115
- Terminalia sericea*, 115



## PUBLICATION

Aouadalkarim Moussa Chahad, Serge Michalet, Ali B. Bechir, Abdelsalam Tidjani, Bernard A. Nkongmeneck and Marie-Geneviève Dijoux-Franca, 2015. Medicinal Plants from the Ouaddaï Province (Chad) : An ethnobotanical Survey of Plants Used in Traditional Medicine. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 21(9) : 569-577.

## Medicinal Plants from the Ouaddaï Province (Chad):

### An Ethnobotanical Survey of Plants Used in Traditional Medicine

Aouadalkarim Moussa Chahad, MSc,<sup>1,2,3</sup> Serge Michalet, PharmD, PhD,<sup>2</sup> Ali B. Bechir, PhD,<sup>4</sup>  
Abdelsalam Tidjani, PhD,<sup>5</sup> Bernard A. Nkongmeneck, PhD,<sup>3</sup> and Marie-Geneviève Dijoux-Franca, PharmD, PhD<sup>2</sup>

#### Abstract

**Background/Objective:** Plants are the basis of all health care systems. This study sought to inventory the most used medicinal plants in the local therapeutic patrimony of the Ouaddaï (East Chad) through an ethnobotanical investigation.

**Methods:** The inventory described the plant parts used, their mode of preparation, and their therapeutic uses.

**Results:** Thirty-eight plants species are used for different purposes and diseases. The most used species belongs to the Mimosaceae (eight species), Caesalpiniaceae (four species), and Combretaceae (four species) families. The traditional medicinal uses, as well as the preparations, of these plants are diverse. The used parts are leaves (36.4%), peels (23.7%), fruits (18.2%), roots (10.9%), stems (5.5%), and other (5.3%). These plants are used to treat 16 different illnesses, notably amoebiasis (26.8%), respiratory infections (14.3%), fever (12.5%), kidney stones (7.1%), snake bites (7.1%), tooth decay (5.4%), and leprosy (5.4%).

**Conclusion:** The results obtained from this survey constitute the starting point of an inventory of local medicinal plants to be completed by phytochemical, pharmacologic, and toxicologic studies to allow good exploitation of the local medicinal flora.

#### Introduction

Modern medicine is becoming more and more expensive. It may become unreachable for most Africans in general and for the Chadian population in particular. That is why, despite the dominant role of modern therapeutics, most Chadians turn to traditional medicine to solve their health problems. Given this intensive use of the local flora, an inventory of the healing plants of this country is more than necessary—it is essential because such a study would undoubtedly help resolve some public health problems.<sup>1</sup>

Medication consisting of herbs and plants has been used since the dawn of time, and humans continue to select curative plants from their environment. In particular, they have done so since the time of the Babylonian and Chaldean civilizations along the Tigris and Euphrates rivers, as they did in ancient Egypt on the edge of the Nile. Scholars of Egyptian civilization even analyzed these plants, defined

drugs, recorded their ways of use, applied them in trials, and prescribed their principles to heal numerous diseases. Traditional medicine is still used by a majority of people in the world and still represents a good strategy for drug discovery.<sup>2</sup>

In Africa, researchers have been scientifically studying the medicinal plants used in different regions. Certain uses were confirmed and active ingredients isolated.<sup>3</sup> In addition, over the past three decades numerous African countries have been paying more and more attention to traditional medicine and their medicinal plants. Chad, by its geographic location, offers an important ecologic and floral diversity. However, Chadian pharmacopeia has heretofore been relatively unknown. For this reason, and considering the biodiversity of natural resources (mineral, animal, and vegetal),<sup>4</sup> the present study sought to inventory the healing plants of the regions of Bithéa, Abker, and Goz-Beïda, located, respectively, 35, 82, and 217 km from Abéché, Chad.

<sup>1</sup>Institut Universitaire des Sciences et Techniques d'Abéché, N'Djaména, Chad.

<sup>2</sup>Université Lyon, Ecologie Microbienne, CESN, Equipe Multirésistance environnementale et efflux bactérien, Villeurbanne, France.

<sup>3</sup>Université de Yaoundé I, Laboratoire de Systématique et d'Ethnobotanique, Yaoundé, Cameroon.

<sup>4</sup>Université des Sciences et Technologie d'Ati, Ati, Chad.

<sup>5</sup>Université de N'Djaména, Faculté des Sciences de la Santé, N'Djaména, Chad.

Materials and Methods

Study area

The study zone is in the region of Ouaddaï-Biltine (East of Chad) (Fig. 1). It extends between 11 and 16 degrees of latitude in the North and 17 and 20 degrees of longitude. It is limited in the North by the prefecture of Borkou-Ennedi-Tibesti, in the South by the Central African Republic and the prefecture of Salamat, in the East by the Sudan, and in the West by the prefectures of Batha and Guéra. It covers a surface of 123,090 km<sup>2</sup>. The study zone has an intertropical climate with a dry season and a rainy season.

These two seasons are defined by the fluctuations between masses of dry air from the North (harmattan) and masses of maritime wet air from the Southwest (monsoon). Thus, the presence of the intertropical front in this area brings the rain, and its absence is related to the dry season. The annual pluviometry in Ouaddaï-Biltine is between 200 mm for the North and 950 mm for the South.

The vegetation of Ouaddaï appears as follows: Ouadis in the Northwest has a shrubby aspect, often scattered and

composed of, among others, *Acacia* species, *Balanites aegyptiaca*, *Boscia senegalensis*, and *Salvadora persica*. In the forest galleries of the South, one finds *Tamarindus indica*, *Anogeissus leiocarpus*, and *Combretum glutinosum*. On sandy to sandy-clays soils of the bottom of valleys, one finds *Acacia seyal* along the Ouadi Bithéa toward Oum-Hadjer, and along the road to Am-Zoer. It is a herbaceous area and very diversified but often overgrazed. On clay soils of the South, the vegetation is more wooded. The most typical trees are *A. seyal*, *Albizia amara*, and *C. glutinosum*. *Sclerocarya birrea* is frequent on the more sandy soils. The herbaceous plant cover is average with 30% of bulk soil. A little bit further south, toward Goz-Beïda, the vegetation is relatively well preserved.<sup>5</sup>

The temperature of the region changes according to seasons. In the cold season (December–February), the daily temperatures are between 16 and 35 C; in the dry season (April), they are between 25 and 41 C; in rainy season (August), these temperatures fall and vary between 21 and 31 C. The annual average temperature in Abéché is about 28 C; the maximum is 49 C.<sup>5</sup>



FIG. 1. Administrative map of Ouaddaï-Biltine (from TMEP, 1998).

Table 1. Plants with Multiple Uses

Family	Species	Medicinal uses
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Amebiasis, fever
Asclepiadaceae	<i>Leptadenia hastata</i>	Aphrodisiac, digestion incentive
Balanitaceae	<i>Balanites aegyptiaca</i>	Kidney stones, cold, intestinal worms
Capparaceae	<i>Cadaba farinosa</i>	Cough, cold
	<i>Boscia senegalensis</i>	Snake bites, colic, bilharzia
Caesalpiniaceae	<i>Bauhinia rufescens</i>	Diarrhea, dysentery
	<i>Parkinsonia aculeata</i>	Fever, dysentery
	<i>Piliostigma reticulatum</i>	Diarrhea, dysentery
	<i>Tamarindus indica</i>	Fever, hemorrhoids
Combretaceae	<i>Anogeissus leiocarpus</i>	Diarrhea, aphrodisiac
	<i>Combretum glutinosum</i>	Itching, calamity, wound, cough, stomach diseases
	<i>Guiera senegalensis</i>	Diarrhea, lactation incentive, snake bites, leprosy, dermatitis
	<i>Terminalia macroptera</i>	Hepatitis, wound
Ebenaceae	<i>Diospyros mespiliformis</i>	Diarrhea, fever
Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	Cough, headache, abscess, typhoid fever
Meliaceae	<i>Khaya senegalensis</i>	Jaundice, dermatitis.
	<i>Azadirachta indica</i>	Fever, malaria, intestinal worms, ulcer, leprosy
Mimosaceae	<i>Acacia albida</i>	Cold, influenza, pneumonia, tooth decay
	<i>Acacia seyal</i>	Dysentery, gastric intestinal affections, leprosy
	<i>Acacia raddiana</i>	Jaundice, rheumatism.
	<i>Dichrostachys cinerea</i>	Bone fractures, intestinal worms, dysentery
Rhamnaceae	<i>Ziziphus mauritiana</i>	Colic, snake bites
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Insomnia, headache, intestinal parasites

The geologic base of Ouaddaï-Biltine is almost completely formed by granite of the Precambrian base, a wrinkled, magmatic metamorphic setgroup that is crossed by intrusions. The granite of calco-alkaline typechap and the magma dominate. The granodiorite and the mica-schists are rare. In the neighborhood of Adré, sandstones of paleozoic age are present. The southern part is characterized by old duricrust, is really hardened, and dates from the end of the Tertiary period.<sup>5</sup>

#### Ethnobotanical survey and study method

A pre-established questionnaire was used to ask 30 traditional healers (average age, 45.3 – 6 years; men only) were questioned about the plants used, parts of the plants used, the modes of preparation, and the therapeutic and traditional practices. The interviews and discussions were carried out in Chadian Arabic. During this study, the following information was obtained: (1) For every collected medicinal plant, the local or vernacular name was given, as well as the part used, the mode of preparation, as well as the way of administration of the remedy; (2) each traditional healer was individually questioned, and only the species of which more than 50% of these healers make the same use were retained as healing plants of the studied zone.

All in all, three sites in the South of the city of Abéché, namely Bithéa, Abker, and Goz-Beïda (located, respectively, 35, 82, and 217 km of Abéché) were chosen. At every site, prospecting followed by collection of botanical specimens was organized. Any organ taken on the same plant was allocated by the same number. All information taken was then recorded on the survey sheet of the ethnobotanical investigation.

Pictures of all the plants used in the local therapeutic heritage were taken and the collected samples were identified

by Aouadalkarim Moussa Chahad. The identities were confirmed by comparison with the herbarium of the Veterinary and Zootechnic Research Laboratory of N' Djaména, the Ecological Museum of the Millennium and the National Herbarium of Yaoundé (Cameroon). Voucher specimens were deposited at the Ecological Museum of the Millennium of Yaoundé (Cameroon), and a voucher number has been assigned to each of them as follows: AB for samples collected around Abker, GZ for Goz-Beïda, and BI for Bithéa. Species collected at the same location were increasingly annotated (Table 1).

Data were handled and analyzed by using Excel software (Microsoft Corp., Redmond, WA).

#### Intellectual property agreement statement

The traditional healers who provided information during the survey were adequately financially rewarded after a verbal agreement that this research will not be used for commercial purposes.

#### Results and Discussion

The floral analysis of the realized catalog allowed the identification of 38 botanical species used in traditional medicine in this part of the Chad (Tables 1 and 2). From the botanical point of view, these 38 species are spread into 31 genera and 19 families (according to Cronquist's classification).<sup>6</sup> The most represented families are Mimosaceae (eight species), Caesalpiniaceae (four species), and Combretaceae (four species) and the most represented genera are *Acacia* (eight species), *Zizyphus* (two species), and *Citrus* (two species). The 19 families were spread over 11 orders.

Table 2. Therapeutic Uses, Parts Used, and Comparison with Literature

Family	Species	Voucher number	Vernacular name	Parts used in Ouaddaï	Parts used in the other regions of Sahel (Pousset, 1989; Maydell, 1992)	Medicinal uses in Ouaddai	Medicinal uses in other regions of Sahel (Pousset, 1989; Maydell, 1992)
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L.	GZ_25	Mangaye	Leaves	Leaves, barks	Amoebiasis, fever	Diarrhea, diuretic
	<i>Sclerocarya birrea</i> 5A. Rich. Hochst.	GZ_15	Himmedeaye	Leaves	Leaves	Diabetes	Diabetes
Asclepiadaceae	<i>Calotropis procera</i> (Ait.) Ait.F.	GZ_03	Acharro	Leaves, barks	Leaves, roots, barks	Leprosy	Leprosy, worms, syphilis, cold, stimulant of digestion, diuretic, sedative
	<i>Leptadenia hastata</i> (Pers.) Decne	GZ_26	Chaalob	Leaves	Leaves, seeds	Aphrodisiac, stimulant of digestion	Smallpox
Balanitaceae	<i>Balanites aegyptiaca</i> (L.) Del.	GZ_12	Hadjlidjaye	Fruits, roots	Fruits	Kidney stones, cold, intestinal grubs, snake bites	Anti-inflammatory, molluscidal
Boraginaceae	<i>Cordia sinensis</i> Lam.	GZ_04	Andarabaye	Leaves	None	Tooth decay	No use
	<i>Cadaba farinosa</i> Forsk.	GZ_27	Sirré	Leaves, roots	Leaves, roots	Cough, cold	Cough cold, dysentery
Capparaceae	<i>Boscia senegalensis</i> (Pers.) Lam. Ex. Poir.	GZ_13	Mikhet	Leaves, roots	Leaves, roots	Snake bites, diarrhea, bilharzia	Pains, diarrhea, bilharzia, worms, syphilis, ulcer, jaundice
Caesalpiniaceae	<i>Bauhinia rufescens</i> Lam.	GZ_09	Koulkoulaye	Leaves, fruits	Leaves, fruits, roots	Diarrhea, dysentery	Fever, leprosy, diarrhea, dysentery, eye diseases
	<i>Parkinsonia aculeate</i> L.	GZ_14	Sessabanaye	Leaves, seeds	Leaves, seeds, flowers, barks	Fever, dysentery	Fever, atony, dysentery
	<i>Piliostigma reticulatum</i> (DC.) Hochst.	GZ_21	Kharroubaye	Leaves, barks	Leaves, barks	Diarrhea, dysentery	Ophthalmia, cough, bronchitis, headache, neuralgia, mumps, toothache, rheumatism, ulcer, cut, diarrhea, dysentery
Combretaceae	<i>Tamarindus indica</i> L.	AB_02	Ardebaye	Fruits, leaves	Fruits	Fever, hemorrhoids	Laxative
	<i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. Et Perr.	GZ_02	Sahabaye	Barks, roots	Barks, roots	Diarrhea, aphrodisiac	Fever, diarrhea, dermatitis, ulcer, anthelmintic, aphrodisiac
	<i>Combretum glutinosum</i> Perr. Ex DC.	AB_01	Habilaye	Leaves, roots	Leaves, seeds, roots	Itching, wounds, cough, stomach diseases	Wounds, liver ache, cold, bronchitis, fever, malaria, anemia, bleeding, syphilis, cough, stomach diseases
	<i>Guiera senegalensis</i> J.F. Gmel.	GZ_10	Khibechaye	Leaves	Leaves, roots, barks	Diarrhea, lactation incentive, snake bites, leprosy, dermatitis	Cough, toothache, diarrhea, dysentery, cold, malaria
	<i>Terminalia macroptera</i> Guill. Et Perr.	AB_03	Darotaye	Leaves, roots	Leaves, roots, seeds, fruits	Hepatitis, wounds	Hepatitis, depression, fever, syphilis, aphrodisiac, diuretic, dermatitis, migraines, wounds
Ebenaceae	<i>Diospyros mespiliformis</i> Hochst. Ex A. DC.	GZ_05	Djokhanaye	Leaves, barks, roots	Leaves, barks, roots	Diarrhea, fever	Fever, malaria, syphilis, leprosy, diarrhea, dermatitis, neuralgia, toothache
Fabaceae	<i>Dalbergia melanoxylon</i> Guill. Et Perr.	GZ_22	Babamossaye	Barks	Barks, roots	Diarrhea	Diarrhea, syphilis, headache, bronchitis

(continued)

Table 2. (Continued)

Family	Species	Voucher number	Vernacular name	Parts used in Ouaddai	Parts used in the other regions of Sahel (Pousset, 1989; Maydell, 1992)	Medicinal uses in Ouaddai	Medicinal uses in other regions of Sahel (Pousset, 1989; Maydell, 1992)
Liliaceae	<i>Allium cepa</i> L.	GZ_06	Bassalaye	Bulbs	None	Cough, headache, abscess, typhoid	No use
Meliaceae	<i>Khaya senegalensis</i> (Desv.) A. Juss.	BI_01	Mourraye	Barks, roots	Barks, roots, seeds, leaves	Jaundice, dermatitis	Sting of scorpion, jaundice, dermatitis, allergy, abscess on the gum, tapeworm, bloody wound, fever, neuralgia, sterility, syphilis, leprosy, mental illness, aphrodisiac
	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	BI_06	Nimaye	Leaves, barks	Barks, roots, leaves, seeds	Fever, malaria, intestinal worms, ulcer, leprosy	Fever, weakness, dermatitis, scorpion sting, snake bites, leprosy, ulcer, worm
Mimosaceae	<i>Acacia albida</i> Del.	GZ_20	Harazaye	Leaves, fruits, roots	Barks, roots	Cold, influenza, tooth decay, pneumonia	Cold, toothache, cardiotoxic, fever, kidney diseases, mental illness
	<i>Acacia nilotica</i> (L.) Wild. Ex Del.	GZ_17	Garadaye	Fruits, barks	Fruits, barks, pods	Dysentery	Diarrhea, bilharzia, dysentery, scurvy, toothache, inflammations
	<i>Acacia senegal</i> (L.) Wild.	GZ_01	Kitiraye	Barks	Barks	Gastric affections	Stomach diseases
	<i>Acacia seyal</i> Del.	GZ_07	Talhayé	Barks, roots	Barks, roots	Dysentery, leprosy, gastric and intestinal affections	Dysentery, leprosy, stomach diseases, syphilis, headache, aphrodisiac
	<i>Acacia pennata</i> (L.) Wild.	GZ_08	Aradaye	Leaves	Leaves, barks	Fever	Cold, dermatitis, aphrodisiac, snake bites, fever, toothache
	<i>Acacia raddiana</i> Savi.	GZ_11	Sayalaye	Barks, stem wood	Leaves, barks	Jaundice, rheumatism	Worms, dermatitis, edema
	<i>Dichrostachys cinerea</i> (L.) Wight Et Arn.	GZ_16	Kadadaye	Leaves	Barks, leaves	Fracture, intestinal worms, dysentery	Dysentery, worms, snake bites, leprosy, syphilis, cough, gonorrhoea, eczema, furuncle, bones fracture
	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC.	GZ_18	Pispissaye	Barks	Barks	Ulcer	Ulcer
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	BI_07	Gayafaye	Leaves	Leaves	Diarrhea	Children's diarrhea
Palmae	<i>Hyphaene thebaica</i> (Sw.) DC.	BI_04	Domaye	Fruits	Different members	Asthma	Bilharzia
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> Lam.	BI-05	Nourloukhaye	Flower, barks	No known use	Insomnia, headache, diarrhoea, rheumatism, intestinal parasites	No known use
	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	BI-02	Lemounaye	Fruits	No known use	Cold	No known use
	<i>Ziziphus spina-christi</i> (L.) Walpole	GZ_28	Cornaye	Thorns	Thorns	Snake bite	Snake bite, blood cleansing
Salvadoraceae	<i>Salvadora persica</i> L.	GZ_23	Chawaye	Stems, roots	Total plant	Tooth decay	Fever, liver illness, rheumatism, toothache
Solanaceae	<i>Capsicum annum</i> L.	GZ_19	Chattaye	Fruits	No known use	Colic	No known use
Tiliaceae	<i>Grewia tenax</i> (Forssk.) fiori	BI-03	Guiddemaye	Fruits	No known use	Anemia	No known use

gonorrhoea, bronchitis, asthma, diuretic,



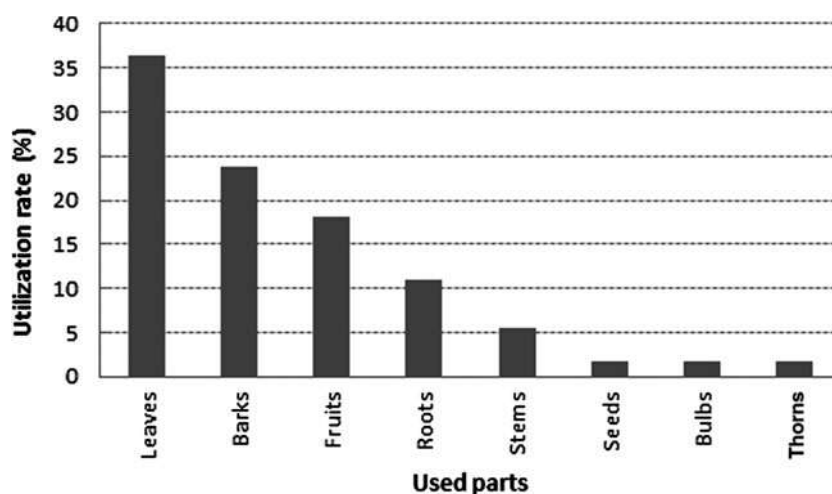


FIG. 2. Use rate for parts.

The most diversely represented order is Fabales, with 13 species, distributed among the three families (Mimosaceae, Caesalpiniaceae, and Fabaceae). These results relative to the listed botanical families are similar to those reported by Guigma et al. and Zerbo et al. in Burkina-Faso, where the most represented families were Poaceae, Caesalpiniaceae, Mimosaceae, Combretaceae, Rubiaceae, and Anacardiaceae.<sup>7,8</sup>

By comparison with literature data, the following species seem to have no therapeutic uses reported in the other parts of Sahelian Africa: *Allium cepa*, *Capsicum annum*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus aurantium*, *Cordia sinensis*, and *Grewia tenax* (Table 2).

Moreover, in Ouaddaï *Acacia raddiana* and *Hyphaene*

thebaica have diverse therapeutic uses different from those in other areas of Sahel; they are, respectively, used against icterus, rheumatism, and asthma. In contrast, in other areas of Sahel, they are used against intestinal worms, dermatitis, edemas, and bilharzia (Table 2). In addition, from the 30 remaining species whose uses remain the same in Sahelian local medicine, 28 species (93.3%) have at least one therapeutic use identical to that of the other regions of Sahel.<sup>3,9-11</sup>

In addition, this survey reveals that the same species sometimes has multiple therapeutic practices: 23 species out of the 38 inventoried (60%) were used to treat multiple diseases and the symptoms of 16 different pathologic abnormalities, of which amoebiasis and respiratory diseases are treated by this panel of medicinal plants (Table 1). This multiplicity of therapeutic uses shows the richness in active ingredients of these plants, which must be looked after. The same observations have been made by Guigma et al.,<sup>7</sup> Zerbo et al.,<sup>8</sup> Séreme et al.,<sup>12</sup> and Nacoulma-Ouédraogo (1996),<sup>13</sup> who reported that the diversity of plants and the variability of the proposed therapeutic uses could be related to their various properties and could be considered a form of cultural heritage capitalized upon by generations of local populations. The variability of these therapeutic practices was also observed in Burkina-Faso (Nacoulma-Ouédraogo,<sup>13</sup> Thiombiano et al.<sup>14</sup>), Niger (Wezel<sup>15</sup>), the Ivory Coast (Koné et al.<sup>16</sup>), and Mali (Kouyaté<sup>17</sup>).

In Ouaddaï, the same plant parts are used as in the rest of Sahelian Africa. However, the rate of use differs from one part to another (Zerbo et al.<sup>8</sup>). Thus, leaves are used in 36.4% of the cases, barks in 23.7%, fruits in 18.2%, roots in

10.9%, stems in 5.5%, seeds in 1.8%, bulbs in 1.8% and thorns 1.8% (Fig. 2). Zerbo et al.<sup>8</sup> also showed in a similar study in Burkina-Faso that leaves are used in 31%, roots in 25%, and trunk barks in 23%. Several types of preparation were described and plant parts were used in fresh or dry state (Table 3), including classical herbal preparations, namely decoctions (35.7%), infusions (22.8%), macerations (11%), and powders (30.5%) (Fig. 3).<sup>7</sup> Of note, no essential oils are used. Identical preparations were also described by Pousset<sup>3</sup> and Salhi et al.<sup>18</sup>

The present investigation shows that the most frequently treated symptoms are fever and intestinal disorders (diarrhea, dysentery, intestinal worms) and, to a lesser extent, respira-

tory diseases (Table 2). This confirms the results obtained in Burkina-Faso by Guigma et al.<sup>7</sup> This is why the species used to treat these recurring conditions must be particularly protected, with the aim of sustainable use and phytochemical analyses as well as pharmacologic evaluations. These species are *Psidium guajava*, *Dalbergia melanoxylon*, *Mangifera indica*, *Balanites aegyptiaca*, *Bauhinia rufescens*, *Parkinsonia aculeata*, *Piliostigma reticulatum*, *Tamarindus indica*, *Anogeissus leiocarpus*, *Guiera senegalensis*, *Diospyros mespiliformis*, *Allium cepa*, *Azadirachta indica*, *Acacia seyal*, *Dichrostachys cinerea*, and *Citrus aurantium*.

Finally, phytochemical analyses of leaves and barks of *Acacia raddiana* on the one hand and fruits of *Hyphaene thebaica* on the other hand are necessary to improve understanding of their effects, respectively, on rheumatism, icterus, and asthma; few data are available on these species.

## Conclusion

The present study listed and identified 38 botanical species used in local traditional medicine in Ouaddaï. Through access to the “holders of the knowledge,” with their “know-how on plants,” the study entailed the harvest of the plant samples, their identification, their preparation, and explanation of their therapeutic uses. Thirty-eight studied species belong to 11 orders, 19 families, and 31 genera. With regard to therapeutic application, 32 species were frequently used in all Sahelian Africa, of which 30 are used for at least one indication in almost all of Sahel. From the

Table 3. Directions for Use and Preparation

Family	Species	Preparation	Administration
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	1. Decoction of 20 leaves with sugar and salt for 30 min 2. Decoction of dried leaves for 15 min in 0.5 L of water 3. Decoction of 1 kg of barks for 1 h in 3 L of water	1. Drink 1 soup-spoonful every 24H in amebiasis 2. Drink hot with sugar, 3 times/day, in high fever 3. Hip bath for hemorrhoids
	<i>Sclerocarya birrea</i>	1. Dried and grounded leaves 2. Decoction of barks for 20 min	1. 3 soup-spoonfuls of powder in a glass of boiling water. Drink for a week for diabetes 2. 3 glasses/day of herbal tea with 1 piece of sugar, for 3 days, for amoebiasis
Asclepiadaceae	<i>Calotropis procera</i> <i>Leptadenia hastata</i>	Dried and grounded leaves Dried and grounded leaves are added to tea leaves	Apply the powder on skin in leprosy Drink the tea to ease digestion and as aphrodisiac
Balanitaceae	<i>Balanites aegyptiaca</i>	1. Maceration of fruits in water at room temperature 2. Ground roots of young plants until a paste forms	1. Drink all day long for kidney stones 2. Fix the paste firmly on the snake bite
Boraginaceae	<i>Cordia sinensis</i>	Leaves are burned and grounded	The powder is applied on the tooth cavity
Capparaceae	<i>Cadaba farinosa</i>	Decoction of leaves and/or roots	To drink for cough and cold
	<i>Boscia senegalensis</i>	1. Roots are grounded 2. Leaves are burned and grounded	1. Firmly apply the cream to the snake bite 2. Drink the powder in water with salt in bilharzia
Caesalpinaceae	<i>Bauhinia rufescens</i> <i>Parkinsonia aculeata</i>	Decoction of leaves and fruits 1. Decoction of leaves and seeds 2. Decoction of leaves and stems	Drink all day long for diarrhea and dysentery 1. Drink to alleviate fever 2. Drink for dysentery
	<i>Piliostigma reticulatum</i> <i>Tamarindus indica</i>	Herbal tea of leaves and barks Express the juice from fresh leaves	Drink all day long for diarrhea and dysentery Drink the juice to alleviate hemorrhoids
Combretaceae	<i>Anogeissus leiocarpus</i>	1. One piece of root 2. Decoction of barks	1. Chew the root as aphrodisiac 2. Drink for diarrhea
	<i>Combretum glutinosum</i>	1. Herbal tea of leaves 2. Leaves are dried and grounded 3. Decoction of roots	1. Drink one glass and wash the body when itching 2. Apply the powder on wounds 3. Drink all day long for cough
	<i>Guiera senegalensis</i>	1. Herbal tea of grounded leaves 2. Herbal tea of grounded leaves and young stems 3. Leaves are reduced to a mash with milk	Drink the tea against snake bites Drink the tea against skin diseases Eat the mash for lactation stimulation
Combretaceae	<i>Terminalia macroptera</i>	1. Herbal tea of leaves 2. Roots are burned and grounded	1. Drink all day long to alleviate hepatitis 2. Apply the powder on wounds
Ebenaceae	<i>Diospyros mespiliformis</i>	1. Decoction of leaves, barks, and roots 2. Decoction of roots	1. Drink all day long to alleviate fever 2. Drink all day long to alleviate diarrhea
Fabaceae	<i>Dalbergia melanoxylon</i>	Decoction of barks	Drink all day long to alleviate diarrhea

(continued)



Table 3. (Continued)

Family	Species	Preparation	Administration
Liliaceae	<i>Allium cepa</i>	1) 1. Cut 3 onions in slices and prepare a decoction in 3 soupspoons of honey and 0.5 L of water, for 1 h, then filter 2) 2. Take 2 slices of onion 3) 3. Cook an onion in hot ash; prepare a mash 4) 4. Cut onions in slices	1) 1. Drink 1 soup-spoonful, 3 times/day, to alleviate cough 2) 2. Put the slices on the head against headaches 3) 3. Apply the bandage on abscess 4) 4. In typhoid fever, apply in cataplasm on the forehead, neck, wrist, and ankles for few minutes; renew the application until the onion color returns to original Drink all day long to alleviate jaundice and dermatitis
Meliaceae	<i>Khaya senegalensis</i> <i>Azadirachta indica</i>	Decoction of barks and roots 1. Decoction with 40 leaves in 1 L of water and 20 pieces of sugar for 30 min 2. Decoction of leaves 3. Prepare a juice with fresh young leaves 4. Ferment bark juice for 7 d	1. Drink 1 glass, 4 times/day, for malaria 2. Drink all day long to alleviate fever 3. Drink 2–3 glasses/day to alleviate ulcer and worms 4. Drink 2–3 glasses/day to alleviate leprosy
Mimosaceae	<i>Acacia albida</i> <i>Acacia nilotica</i> <i>Acacia senegal</i> <i>Acacia seyal</i> <i>Acacia pennata</i> <i>Acacia raddiana</i> <i>Dichrostachys cinerea</i> <i>Prosopis juliflora</i> <i>Psidium guajava</i>	1. Decoction of leaves and fruits 2. Decoction of roots Decoction of fruits and barks Decoction of barks 1. Infusion of roots 2. Decoction of roots Decoction of leaves 1. Prepare maceration with pieces of bark 2. Burn the trunk wood 1. Dry and ground leaves 2. Decoction of barks Prepare a maceration with pieces of bark Decoction of few leaves in 0.5 L of water	1. Drink all day long to alleviate cold and toothaches 2. Drink against pneumonia Drink all day long to alleviate dysentery Drink all day long to alleviate stomach diseases 1. Drink all day long to alleviate dysentery and leprosy 2. Drink all day long to alleviate stomachaches Drink all day long to alleviate fever 1. Drink 3 times/day to alleviate jaundice 2. Smell the fumes to alleviate rheumatism 1. Powder is used in massages to heal broken bones 2. Drink to alleviate dysentery and worms Drink to alleviate ulcers Drink to alleviate diarrhea
Myrtaceae	<i>Hyphaene thebaica</i>	Maceration of the pulp of the fruit	Drink in the morning before eating to alleviate asthma
Palmae	<i>Ziziphus mauritiana</i>	1. Take few pieces of bark 2. Maceration of fruits	1. Chew to alleviate diarrhea 2. Drink 3 times/day to alleviate thorax pain
Rhamnaceae	<i>Ziziphus spina-christi</i> <i>Citrus aurantium</i>	Burn and grind the thorns 1. Boil 4–5 dried flowers in 1 glass of water for 15 min 2. Herbal tea of 30 g of bark pieces; infuse for 1 h 3. Herbal tea of dried bark in 1 L of water; infuse for 2 h	Apply the powder on the snake bite 1. Add sugar and drink 2–3 times/day to alleviate insomnia 2. Drink 1 glass with 2 pieces of sugar every hour to alleviate headaches 3. Drink 1 glass in the morning and evening for 3 days to alleviate worms
Rutaceae	<i>Citrus aurantifolia</i> <i>Salvadora persica</i>	Decoction of 2 lemons (cut in 4 slices) in 0.5 L of water Cut stems and roots in small pieces	Add 4 pieces of sugar and drink to alleviate cold Brush teeth to prevent tooth cavity
Salvadoraceae	<i>Capsicum annum</i>	Infuse 5–6 fruits in warm water	Drink 1 glass to alleviate diarrhea
Solanaceae	<i>Grewia tenax</i>	Maceration of fruits	Drink to alleviate anemia

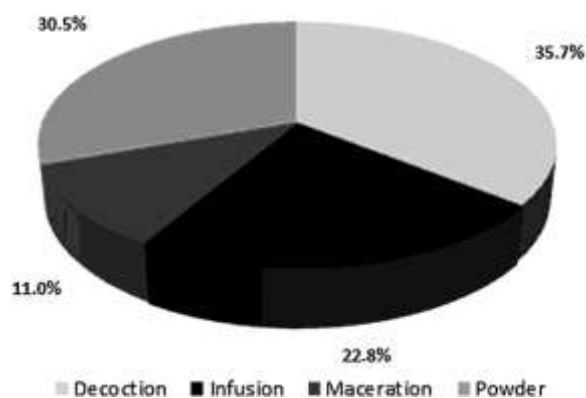


FIG. 3. Rate of the different types of preparation modes (in percentages).

ethnobotanical and pharmacologic points of view, leaves, barks, and fruits are the parts most used.

This study thus represents the starting point for further phytochemical studies to validate remedies listed by rigorous scientific protocols. It could allow the local sanitary departments to exploit these remedies better in order to cure recurrent conditions. This ancestral knowledge is already approachable in hospitals thanks to the integration of traditional healers. This practice, by becoming widespread, will allow access to additional knowledge in pharmacology and in toxicology.

#### Acknowledgments

The authors are thankful to the traditional healers, without whose availability this study would not have been possible. The Ministry of French Foreign Affairs, by means of EGIDE (Campus France), financed this study.

#### Author Disclosure Statement

No competing financial interests exist.

#### References

- Chahad AM. Contribution to the study of medicinal plants from eastern Chad: case of Ouaddai region [Contribution à l'étude des plantes médicinales du Tchad oriental: cas du Ouaddaï]. Mémoire de DEA, Université de Yaoundé I (Département de Biologie et Physiologie Végétales): 2007.
- Saslis-Lagoudakis CH, Savolainen V, Williamson EM, et al. Phylogenies reveal predictive power of traditional medicine in bioprospecting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:15835–15840.
- Pousset JL. African medicinal plants, practical uses [Plantes médicinales africaines, utilisations pratiques]. Tome I. Paris: Ellipses, Agence de Coopération Culturelle et Technique (ACCT), 1989.
- Hmeyada AOMV. Contribution to Mauritanian medicinal plants study [Contribution à l'étude des plantes médicinales de Mauritanie]. Tome XVII. Annales de l'Université de Lomé (Togo), série Sciences. 2009:9–27.
- Tchad, Ministère de l'Economie et du Plan. Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1998. Plan régional de développement. Le Ouaddaï-Biltine vers l'an 2005;1:1–58.
- Cronquist A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York: Columbia University Press, 1991.
- Guigma Y, Zerbo P, Millogo-Rasolodimby J. Use of spontaneous species in three villages close to the south of Burkina-Faso [Utilisation des espèces spontanées dans trois villages contigus du sud du Burkina-Faso]. *Tropicultura* 2012;30:230–235.
- Zerbo P, Millogo-Rasolodimby J, Nacoulma-Ouédraogo O, Van Damme P. Medicinal plants and medicinal practices in Burkina-Faso: case of the sanans [Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina-Faso: cas des sanan]. *Bois et Forêts des Tropiques* 2011;307:47–53.
- Pousset JL. African medicinal plants, possibilities of development [Plantes médicinales Africaines, Possibilités de développement]. Tome II. Paris: Ellipses, Agence de Coopération Culturelle et Technique (ACCT), 1992.
- Maydell HJ. Trees and bushes from Sahel: their characteristics and uses [Arbres et arbustes du Sahel : leurs caractéristiques et leurs utilisations]. Margraf Hamburg, 1992.
- Sofowora A. Medicinal plants and traditional medicine of Africa [Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique]. Karthala, Paris, 1996.
- Séreme A, Millogo-Rasolodimby J, Kouda-Bonafos M, Guinko S, Nacro M. Therapeutic values of Anacardiaceae in link with their metabolites and their richness in tanins [Vertus thérapeutiques des Anacardiaceae en liaison avec leurs métabolites et leur richesse en tanins]. *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest* 2001;63:71.
- Nacoulma-Ouédraogo OG. Medicinal plants and traditional medical practices in Burkina Faso: case of central area [Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina-Faso: cas du plateau central]. PhD thesis. Faculty of Sciences and Techniques, University of Ouagadougou, Burkina-Faso, 1996.
- Thiombiano A, Ouôba P, Guinko S. Place of Combretaceae in gourmantché society in eastern part of Burkina Faso [Place des Combretaceae dans la société gourmantché à l'est du Burkina-Faso]. *Études sur la Flore et la Végétation du Burkina-Faso et des Pays Environnants* 2002;7:17–22.
- Wezel A. Medicinal plants and their uses by nigerian farmers [Plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle chez les paysans au Niger]. *Études sur la Flore et la Végétation du Burkina-Faso et des Pays Environnants* 2001;6:9–18.
- Koné MW, Atindehou KK, Téré H, Traoré D. Some medicinal plants used in traditional pediatry in the region of Ferkessédougou (Ivory Coast) [Quelques plantes médicinales utilisées en pédiatrie traditionnelle dans la région de Ferkessédougou (Côte d'Ivoire)]. *Bioterre* 2002;30:30–36.
- Kouyaté AM. Aspects ethnobotaniques et étude de la variabilité morphologique, biochimique et phénologique de *Detarium microcarpum* Guill. Et Perr. au Mali. Thèse, Université de Gand (Belgique), 2005.
- Sahli S, Fadli M, Zidane L, Douira A. Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 2010;31:133–146.

Address correspondence to:  
 Aouadalkarim Moussa Chahad  
 Institut Universitaire des Sciences  
 et Techniques d'Abéché (IUSTA)  
 BP: 6077  
 N'Djaména  
 Chad

E-mail: chahad2002@yahoo.fr