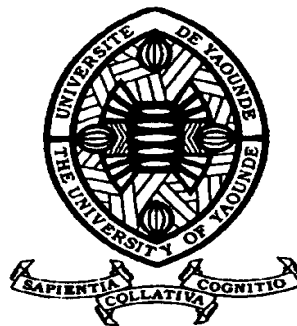


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE LA VIE,
SANTÉ ET ENVIRONNEMENT



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

CENTRE FOR RESEARCH AND
DOCTORAL TRAINING IN
GRADUATE STUDIES IN
LIFE SCIENCES, HEALTH AND
ENVIRONMENT

Potentiel antifongique des extraits de quelques Annonaceae et verbenaceae

Thèse

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en
Biochimie

Par : **TAFFOU**
DEA en Biochimie

Sous la direction de
FEKAM BOYOM Fabrice
Professeur., Université de Yaoundé I.

Année Académique : 2017 - 2018





02 OCT 2018

ATTESTATION DE CORRECTION DE LA THESE DE DOCTORAT/PhD DE

Dr TAFFOU

Nous, soussignés, Professeurs **PENLAP BENG Véronique**, Président du Jury et **FOKOU Elie**, examinateur du Jury de la thèse de Doctorat/PhD en Biochimie du **Dr TAFFOU**, intitulée : « **POTENTIEL ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS DE QUELQUES ANNONACEAE ET VERBENACEAE** », soutenue le **Mardi 10 Juillet 2018** à 10 heures dans la **salle S01/S02** du Bâtiment Pédagogique de l'Université de Yaoundé 1, attestons que **Dr TAFFOU** a effectué toutes les corrections que les membres du jury lui ont demandé.

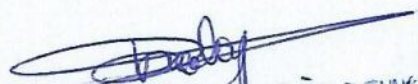
En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Examineur

Le Président


Chef de Département


Dr. Elie Fokou
Dr. d'Etat en Biochimie
Nutrition et Sciences Alimentaires


Dr. Véronique N. PENLAP BENG
Professeur



Moundipa Fewou Paul D3C.D. Etat
Professor
Enzymology-Toxicology

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2017/2018

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : 10 Mars 2018

ADMINISTRATION

DOYEN : AWONO ONANA Charles, *Professeur*

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

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

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

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche MBAZE MEVA'A
 Luc Léonard, *Maitre de Conférences*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NANA Louise épouse WAKAM	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	ACHU Merci BIH	Chargée de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOU Marcelline	Chargée de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
22	EVEHE BEBANDOU Marie-Solange	Chargée de Cours	En poste
23	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
24	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
25	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
28	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste
29	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
31	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
32	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
33	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
34	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
36	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
38	BEBEE Fadimatou	Assistante	En poste
39	TIENTCHEU DJOKAM Leopold	Assistant	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)			
1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VDoyen/FMSB/UIYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	EN POSTE
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM	Maître de Conférences	Chef Service DPER

13	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.S. MINRESI</i>
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargée de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
25	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
26	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
27	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	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	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
32	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargée de Cours	En poste
33	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargée de Cours	En poste
35	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
36	NJATSA Hermine épouse MEGAPTCHE	Chargée de Cours	En Poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	CD/UBa
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargée de Cours	En poste
40	YEDE	Chargée de Cours	En poste
41	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
42	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
43	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (26)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
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	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste

9	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
10	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
11	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Univ Dschang
13	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
14	ANGONI Hyacinthe	Chargée de Cours	En poste
15	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
16	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOUCO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
21	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national /UNESCO</i>
22	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
23	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistante	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistante	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>RECTEUR Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>ISI MINRESI/Chef de Département</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ. Dschang</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>Chargé de Mission au P. M.</i>

14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>VC/UB</i>
16	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
21	NDI NSAMI Julius	Chargée de Cours	En poste
22	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
23	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
24	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
25	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
26	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
27	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
28	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOTOU DAUDA	Chargé de Cours	En poste
30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
32	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
33	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / DPSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir IBAF/UDS
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFACK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
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	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>VR/ UYYI</i>
17	YANKÉP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
19	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaléon	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 Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/Minesup
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
33	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste
6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef DivSys.</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef DivSys.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
5	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
6	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
7	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
8	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
10	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
11	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
12	ABESOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
14	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistante	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	KENFACK DONGMO Clauvice V.	Assistant	En poste
21	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
22	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Assistant	En poste
23	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)			
1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD/ MINESUP /Chef de Département (IN)</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste

7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
9	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
17	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Directeur/MINTP
8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département Recteur Université de Douala
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	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	Chargée de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY)			
1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département

4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste	
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste	
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda	
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste	
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste	
9	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>	
10	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>	
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin	
12	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	CD/ENS/UN	
13	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste	
14	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste	
15	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste	
16	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste	
17	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste	
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste	
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste	
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste	
21	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>	
22	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi	
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste	
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste	
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste	
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste	
27	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste	
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste	
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste	
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste	
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima	
32	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste	
33	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste	
34	VONDOU DerbetiniAppolinaire	Chargé de Cours	En poste	
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste	
36	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste	
37	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Chargée de Cours	En poste	
38	WAKATA née BEYA Annie	Chargée de Cours	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>	
39	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>	
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste	
41	MLI JOELLE LARISSA	Assistante	<i>En poste</i>	

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)

1	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
2	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
3	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
4	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
5	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Coseiller Technique/UYII</i>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
8	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
9	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
10	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
11	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
12	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
13	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Chef div. DAASR / FS</i>
14	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
15	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINIMDT</i>
16	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
19	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
20	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	BISSO Dieudonne	Chargé de Cours	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En pste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargée de cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
26	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
29	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
33	NGUETCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
34	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>CT / MINRESI</i>
36	METANG Victor	Chargé de cours	En poste
37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de cours	En poste
41	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de cours	En poste
42	ELISE SABABA	Chargé de cours	En poste
43	EYONG JOHN TAKEM	Assistant	En poste

44	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En poste
----	----------------------------	-----------	----------

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
B.C.	5 (1)	10 (5)	20 (10)	3 (1)	39 (16)
B.P.A.	11 (1)	9 (3)	20 (8)	3 (5)	43 (17)
B.P.V.	4 (0)	9(2)	10 (2)	4 (4)	27 (8)
C.I.	9(1)	8(2)	16 (4)	0 (2)	33 (9)
C.O.	8 (0)	13 (3)	8 (2)	1 (0)	30 (5)
I.N.	3 (0)	1 (0)	8 (0)	12 (3)	24 (3)
M.A.	3 (0)	5 (0)	18 (1)	4 (0)	30 (1)
M.B.	2 (0)	5 (2)	6 (2)	0 (0)	13 (4)
P.H.	8 (0)	17 (0)	15 (2)	2 (1)	42 (3)
S.T.	5 (0)	15 (2)	22 (3)	2 (0)	44 (5)
Total	58 (3)	92(19)	144 (33)	31(16)	325(71)

Soit un total de 325(71) dont :

- Professeurs 58 (3)
- Maîtres de Conférences 92 (19)
- Chargés de Cours 144 (33)
- Assistants 31 (16)

() = Nombre de Femmes

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	xi
DEDICACE.....	xvi
REMERCIEMENTS	xvii
LISTE DES ABREVIATIONS	xviii
LISTE DES FIGURES	xxi
LISTE DES TABLEAUX.....	xxii
LISTE DES ANNEXES	xxiii
RESUME.....	xxiv
ABSTRACT	xxvi
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I :REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1 Généralités sur les champignons	3
I.1.1 Définition.....	3
I.1.2 Classification	3
I.2 Généralités sur les mycoses.....	4
I.2.1 Définition.....	4
I.2.2 Transmission et manifestations des mycoses	5
I.2.3 Facteurs favorisant la contraction des mycoses.....	5
I.2.4 Caractéristiques de quelques champignons pathogènes à l’homme	6
I.2.4.1 Les champignons levuriformes	7
I.2.4.2 Les champignons filamenteux	8
I.2.4.2.1 Les dermatophytes	8
I.2.4.2.2 Les Aspergillus	10
I.2.5 Epidémiologie des Candidoses, Cryptococcoses, Dermatophytoses et Aspergillose	11
I.2.6 Traitement des mycoses.....	12
I.2.6.1 Définition et mode d’action des antifongiques	13
I.2.6.2 Résistance aux antifongiques	16
I.3 Généralités sur les plantes utilisées	16

I.3.1 Famille des <i>Annonaceae</i>	16
I.3.1.1 Le genre <i>Annona</i>	17
I.3.1.1.1 <i>Annona muricata</i> L.	17
I.3.1.2 Le genre <i>Monodora</i>	21
I.3.1.2.1 <i>Monodora myristica</i> (Gaertn.) Dunal.	21
I.3.1.3 Le genre <i>Polyalthia</i>	24
I.3.1.3.1 <i>Polyalthia suaveolens</i>	24
I.3.1.3.2 <i>Polyalthia oliveri</i>	26
I.3.1.4 Le genre <i>Uvaria</i>	26
I.3.1.4.1 <i>Uvaria angolensis</i> (Engl. et Diels).....	27
I.3.1.4.2 <i>Uvaria muricata</i> (Engl. et Diels)	28
I.3.1.4.3 <i>Uvaria baumanii</i> (Engl. et Diels).....	29
I.3.1.5 Le genre <i>Uvariastrum</i>	29
I.3.1.5.1. <i>Uvariastrum zenkeri</i>	29
I.3.1.6 Le genre <i>Uvariadendron</i>	29
I.3.1.6.1. <i>Uvariadendron calophyllum</i> R.E Fries	29
I.3.1.6.2. <i>Uvariadendron moludense</i> R.E. Fries.....	29
I.3.1.7 Le genre <i>Xylopia</i>	29
I.3.1.7.1. <i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal) A. Rich.	30
I.3.1.7.2 <i>Xylopia africana</i>	33
I.3.1.7.3 <i>Xylopia parviflora</i> (A. Rich) Bentham	34
I.3.1.8 Le genre <i>Anonidium</i>	36
I.3.1.8.1 <i>Anonidium mannii</i>	36

I.3.2 Famille des Verbenaceae	38
I.3.2.1 Le genre <i>Vitex</i>	38
I.3.2.1.1 <i>Vitex rivularis</i> Gürke.....	39
I.3.2.1.2 <i>Vitex grandifolia</i> Cienkowskii Kots. et Peyr.	40
CHAPITRE II :.....	
MATERIEL ET METHODES	
II.1 Matériel	42
II.1.1 Matériel végétal.....	42
II.1.2 Microorganismes	47
II.2 METHODES.....	47
II.2.1 Préparation des extraits bruts	47
II.2.1.1 Préparation des extraits éthanoliques.....	47
II.2.1.2 Préparation des extraits au mélange méthanol-chlorure de méthylène.	47
II.2.2 Obtention des fractions.....	48
II.2.2.1 Préparation des fractions à partir des extraits éthanoliques par chromatographie de partition liquide-liquide.....	48
II.2.2.2 Fractionnement des extraits au méthanol-chlorure de méthylène par chromatographie flash	49
II.2.3 Evaluation de l'activité antifongique des extraits et fractions	51
II.2.3.1 Préparation des solutions d'extraits et d'antifongique de référence	51
II.2.3.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits sur les levures par la méthode de microdilution en milieu liquide.....	51
II.2.3.3 Détermination des concentrations minimales fongicides (CMF) des extraits sur les levures par subculture	53
II.2.3.4 Étude de l'interaction entre les extraits et le Kétoconazole : détermination de l'indice de concentration inhibitrice fractionnelle (FICI)	54
II.2.3.5 Activité antifongique des extraits et fractions sur les champignons filamenteux	55

II.2.4 Criblage phytochimique des extraits retenus	58
II.2.4.1 Mise en évidence des alcaloïdes	58
II.2.4.2 Mise en évidence des phénols.....	58
II.2.4.3 Mise en évidence des flavonoïdes	58
II.2.4.4 Mise en évidence des saponines	59
II.2.4.5 Mise en évidence des anthocyanines	59
II.2.4.6 Mise en évidence des anthraquinones.....	59
II.2.4.7 Mise en évidence des tannins.....	59
II.2.4.8 Mise en évidence des triterpènes et stérols.....	59
II.2.4.9 Mise en évidence des glucosides	59
II.2.4.10 Mise en évidence des huiles essentielles	60
II.2.5 Analyses statistiques.....	60
CHAPITRE III :	
RESULTATS ET DISCUSSION.....	
III.1 Activité antifongique des extraits bruts	61
III.1.1 Rendement d'extraction et Screening préliminaire des extraits sur les levures.....	61
III.1.2 Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale Fongicide (CMF) des extraits éthanoliques et des fractions dérivées des <i>Annonaceae</i>	64
III.1.3 Résultats de la combinaison entre le kétoconazole et la fraction UAst H d'U. angolensis.....	67
III.1.4 Activité antifongique des extraits au méthanol-chlorure de méthylène des Verbenaceae sur les levures	71
III.1.5. Activité antifongique des extraits au méthanol-chlorure de méthylène des Verbenaceae sur les filamenteux.....	74
III.1.6 Activités antifongiques des fractions et composés purifiés	78
III.2 Profil phytochimique des extraits de <i>V. grandifolia</i> , <i>V. rivularis</i> , et fractions active de <i>U. angolensis</i> (UAst H)	80
III.3 Fractionnement de l'extrait des racines de <i>V. rivularis</i>	83
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	
CONCLUSION	85
PERSPECTIVES.....	86

REFERENCES.....

REFERENCES..... 87

ANNEXES a

DEDICACE

Je dédie ce travail

*A l'Eternel, Dieu Tout-Puissant, qui a présidé à
l'élaboration de cette œuvre.*

A la mémoire de mes chers parents défunts,

*A mon épouse chérie Paule -Reine,
À mes fils et petits-fils, gendres et brus.*

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier :

L'éternel **Dieu Tout Puissant** pour m'avoir gardé pendant toutes ces années et pour m'avoir donné la force, le courage et la persévérance de mener à bout ce travail.

Le **Pr. FEKAM BOYOM Fabrice** qui m'a accueilli dans son équipe avec la plus grande bienveillance. Vos encouragements, votre confiance et votre rigueur scientifique m'ont guidé tout au long de ce travail. En témoignage de ma profonde gratitude, veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

Les **Enseignants du Département de Biochimie** de L'Université de Yaoundé I pour la qualité de leurs enseignements et leurs conseils.

Ma chère épouse **Taffou Paule Reine** qui a tout sacrifié pour ce travail : merci, maman, merci chérie.

Mon ami **TANKO Jacob** qui, en plus du soutien spirituel et moral, m'a accompagné dans mes périlleux voyages en forêt (Mont Kalla, Mont Eloundem, Mont Akok-Ndoe et autres) ainsi que M. **NGOUNE Victor** et M. **SONKENG Désiré** (*paix à son âme !*)

Aux camarades du Labo, **Dr TSOUH Valère, Dr NGOUANA Vincent, Dr NGOUANA Thierry, Dr HZOUNDA Jean Baptiste** pour leur assistance dans les recherches et l'organisation des résultats, ainsi que **Dr YAMTE Lauve, Dr ZEUKO'O Elisabeth** qui m'ont assisté dans les manipulations et l'interprétation des résultats. **Dr ISSAKOU VIA BARKANGA, Dr KEGNE Hubert et Dr NGOUEBENG Ignace** pour les corrections littéraires ainsi que **TOGHEO Rufin** et **KEUMOE Rodrigue** pour les présentations.

L'Hôpital Central de Yaoundé pour nous avoir offert les isolats de levures.

L'Herbier National du Cameroun pour nous avoir aidés à identifier les différentes espèces de plantes. En particulier **M. NANA Victor** sans qui je ne pouvais retrouver mes échantillons dans les forêts des monts Kalla, Eloundem et Akok-Ndoe, sans oublier les chauffeurs et accompagnateurs **NOUMBISSI PAP et BLASIUS SEKA**

L'Unité de Recherche de Biochimie des Plantes Médicinales, Science Alimentaire et Nutrition (URBPMAN), Université de DSCHANG qui nous a gracieusement offert les isolats.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide Désoxyribonucléique
AMfr	Extrait éthanolique des fruits d' <i>Anonidium mannii</i>
AMI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Anonidium mannii</i>
AMr	Extrait éthanolique des racines d' <i>Anonidium mannii</i>
AMsb	Extrait éthanolique d'écorces de tronc d' <i>Anonidium mannii</i>
AMtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Anonidium mannii</i>
AnMfp	Extrait éthanolique des fleurs d' <i>Annona muricata</i>
AnMI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Annona muricata</i>
AnMp	Extrait éthanolique du pédoncule d' <i>Annona muricata</i>
AnMpf	Extrait éthanolique des péricarpes des fruits d' <i>Annona muricata</i>
AnMs	Extrait éthanolique des fruits d' <i>Annona muricata</i>
AnMtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Annona muricata</i>
ANOVA	Analysis of variances
ARN	Acide ribonucléique
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPC	Centre Pasteur du Cameroun
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG/MS	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
DMSO	Dimethylsulfoxyde
FIC	Fractional Inhibitory Concentration
FICI	<i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i>
HE	Huile Essentielle
HNC	Herbier National du Cameroun
IC50	Concentration Inhibitrice 50
MMI	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Monodora myristica</i>
MMsb	Extrait éthanolique d'écorces de tronc de <i>Monodora myristica</i>
MMtw	Extrait éthanolique des brindilles de <i>Monodora myristica</i>
MST	Maladie Sexuellement Transmissible
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standard

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
POI	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Polyathia oliveri</i>
POsb	Extrait éthanolique d'écorses de tronc de <i>Polyathia oliveri</i>
POTw	Extrait éthanolique des brindilles de <i>Polyathia oliveri</i>
PSI	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Polyathia suaveolens</i>
PSsb	Extrait éthanolique d'écorses de tronc de <i>Polyathia suaveolens</i>
PStw	Extrait éthanolique des brindilles de <i>Polyathia suaveolens</i>
RF	Rapport Frontal
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
UAI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Uvaria angolensis</i>
UAst	Extrait éthanolique des tiges d' <i>Uvaria angolensis</i>
UAst H	Fraction hexanique de l'extrait des tiges d' <i>Uvaria angolensis</i>
UAtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Uvaria angolensis</i>
UBI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Uvaria bamannii</i>
UBst	Extrait éthanolique des tiges d' <i>Uvaria bamannii</i>
UBtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Uvaria bamannii</i>
UCTw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Uvariadendron callophyllum</i>
UFC	Unité Formant Colonie
UMI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Uvaria muricata</i>
UMst	Extrait éthanolique des tiges d' <i>Uvaria muricata</i>
UMtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Uvaria muricata</i>
UV	Ultra-Violet
UZI	Extrait éthanolique des feuilles d' <i>Uvariastrum zenkeri</i>
UZtw	Extrait éthanolique des brindilles d' <i>Uvariastrum zenkeri</i>
Vgl	Extrait méthanolique des feuilles de <i>Vitex grandifolia</i>
Vgr	Extrait méthanolique des racines de <i>Vitex grandifolia</i>
Vgrb	Extrait méthanolique des écorses de racines de <i>Vitex grandifolia</i>
Vgsb	Extrait méthanolique des écorses de tronc de <i>Vitex grandifolia</i>
Vgst	Extrait méthanolique des tiges de <i>Vitex grandifolia</i>
Vgtw	Extrait méthanolique des brindilles de <i>Vitex grandifolia</i>
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Vrl	Extrait méthanolique des feuilles de <i>Vitex rivularis</i>

Vrr	Extrait méthanolique des racines de <i>Vitex rivularis</i>
Vrsb	Extrait méthanolique d'écorces de tronc de <i>Vitex rivularis</i>
Vrst	Extrait méthanolique des tiges de <i>Vitex rivularis</i>
Vrtw	Extrait méthanolique des brindilles de <i>Vitex rivularis</i>
XAEs	Extrait éthanolique des graines de <i>Xylopi aethiopica</i>
XAEI	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Xylopi aethiopica</i>
XAEst	Extrait éthanolique des tiges de <i>Xylopi aethiopica</i>
XAI I	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Xylopi africana</i>
XAr	Extrait éthanolique des racines de <i>Xylopi africana</i>
XAsb	Extrait éthanolique d'écorces de tronc de <i>Xylopi africana</i>
XAtw	Extrait éthanolique des brindilles de <i>Xylopi africana</i>
XPI	Extrait éthanolique des feuilles de <i>Xylopi parviflora</i>
XP s	Extrait éthanolique des graines de <i>Xylopi parviflora</i>
XPst	Extrait éthanolique des tiges de <i>Xylopi parviflora</i>

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Quelques manifestations de mycose et agent causal.....	5
Figure 2 : Différentes souches de levures sur milieu SDA.	7
Figure 3 : Différentes souches de dermatophytes sur milieu SDA	9
Figure 4 : La cellule fongique et les cibles antifongiques	14
Figure 5 : <i>Annona muricata</i> L	18
Figure 6 : Graines de <i>Monodora myristica</i> (Gaertn.) Dunal	21
Figure 7 : <i>Polyalthia suaveolens</i> var <i>suaveolens</i>	24
Figure 8 : Tige feuillée d' <i>Uvaria angolensis</i>	27
Figure 9 : Tige feuillée d' <i>Uvaria muricata</i>	28
Figure 10 : Fruit de <i>Xylopia aethiopica</i> A. Rich	30
Figure 11 : Graines et coques de <i>Xylopia africana</i> Benth.....	33
Figure 12 : <i>Xylopia parviflora</i> (A. Rich) Bentham.	34
Figure 13 : Branche feuillée et Fruit d' <i>Anonidium mannii</i>	37
Figure 14 : <i>Vitex rivularis</i> Gürke	39
Figure 15 : <i>Vitex grandifolia</i> Cienkowskii Kots. et Peyr.	40
Figure 16 : Procédure de préparation des fractions	49
Figure 17 : Illustration de la mesure des diamètres de croissance sur la boîte de Pétri	57
Figure 18 : Isobologramme présentant l'interaction synergique entre le kétoconazole et la fraction hexanique UAst H sur <i>C. parapsilosis</i>	69

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Facteurs à risque liés aux infections fongiques (Mc Taggart et Wong, 2002)	6
Tableau II: Quelques antifongiques et leurs mécanismes d'action	15
Tableau III: Plantes étudiées et quelques applications ethnopharmacologiques	43
Tableau IV: Rendement d'extraction et Screening antifongique des extraits sur les levures.	61
Tableau V: CMI et CMF des extraits et fractions (mg/ml)	64
Tableau VI: Type d'interaction obtenu après combinaison de la fraction UAstH et le kétoconazole sur les levures	68
Tableau VII: CMI et CMF des extraits méthanoliques sur les levures (mg/ml)	72
Tableau VIII: CMI et CMF des extraits méthanoliques sur les champignons filamenteux (mg/ml)	75
Tableau IX: CMI et CMF des fractions et composés purs (mg/ml)	79
Tableau X: Profil phytochimique des extraits actifs	81
Tableau XI: Fractionnement de l'extrait des racines de <i>V. rivularis</i>	84

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Concentration Minimale Inhibitrice obtenue après combinaison de UAst H et le Ketoconazole	a
Annexe 2 : Protocole de fractionnement de l'extrait des racines de <i>V.rivularis</i>	b
Annexe 3: Révélation des fractions par (1) le rayonnement U.U, (2) la vapeur d'iode et (3) par les vapeurs d'acide sulfurhique.	c
Annexe 4 : Spectres ACD/NMR des composés isolés	e
Annexe 5: Publication issue du travail	o

RESUME

Durant ces vingt dernières années, les infections fongiques sont devenues un véritable problème de santé publique étant donné la mortalité et la morbidité dont elles sont responsables. Dans le but de rechercher une thérapie alternative pour leur contrôle et de contribuer à la valorisation des plantes médicinales Camerounaises, l'objectif de ce travail était d'évaluer l'activité antifongique des extraits de quelques plantes de la famille des Annonaceae et des Verbenaceae.

Les organes des différentes plantes des Annonaceae et des Verbenaceae ont été soumis à une extraction par macération à l'éthanol et au mélange méthanol-chlorure de méthylène pendant 72 heures et les extraits testés pour leur activité antifongique. Les extraits bruts d'intérêt ont été fractionnés par partition liquide-liquide et par la chromatographie sur colonne. Les tests d'activité antifongique ont été effectués sur des isolats de levures (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*) par la méthode de microdilution en milieu liquide et de subculture sur milieu solide, et sur *Aspergillus flavus* et quelques dermatophytes (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*) en utilisant la méthode de l'incorporation à la gélose. Ces méthodes ont permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales fongicides (CMF). La méthode de l'échiquier a été utilisée pour tester les combinaisons d'extraits d'intérêt. Le criblage phytochimique a été effectué sur les différents extraits les plus actifs en utilisant des méthodes standards.

Les résultats montrent que les rendements d'extraction varient de 0,10% à 13,94% et étaient fonction de la plante et des organes. Le criblage préliminaire de l'activité antifongique a permis de sélectionner 24 extraits parmi lesquels 13 extraits éthanoliques ont donné des valeurs de CMI variant entre 0,625 mg/ml et 5 mg/ml. Les extraits méthanoliques se sont révélés être les plus actifs avec des CMI comprises entre 0,09 et 6,25mg/ml. Le fractionnement par partition liquide-liquide des 13 extraits éthanoliques a donné 27 fractions avec des CMI comprises entre 2,5mg/ml et 5mg/ml. Certains extraits se sont révélés inactifs (CMI>10 mg/ml). La fraction hexanique des tiges d'*Uvaria angolensis* (UAsH) avec une CMI de 2,5 mg/ml sur *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *Cr. neoformans* a été la plus active. La combinaison de cette fraction avec le kétoconazole a permis d'obtenir les interactions synergiques (indices de concentration inhibitrice fractionnelle (ICIF) $\leq 0,5$) sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *C. parapsilosis*.

Le fractionnement de l'extrait des racines de *Vitex rivularis* par chromatographie sur colonne a permis d'obtenir 11 fractions (F'1 à F'11) regroupées en fonction de leur profil chromatographique sur couche mince (CCM) et 10 composés (Vr1 à Vr10). L'évaluation de leurs activités antifongiques a permis d'obtenir des CMI comprises entre 0,01 et 0,39 mg/ml. Le criblage phytochimique a révélé la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, anthraquinones, huiles essentielles, triterpènes, stéroïdes, saponines, tannins, xanthoprotéines, lipides et sucres réducteurs.

Ces résultats révèlent que les extraits des organes des Verbenacées et d'Annonacées présentent de bonnes activités antifongiques sur les levures, les moisissures et les dermatophytes. Ce qui corrobore par ailleurs les usages de ces plantes en pharmacopée traditionnelle. D'autre part, l'action synergistique observée avec la fraction hexanique des tiges d'*Uvaria angolensis* (UAstH) en combinaison avec le kétoconazole soutend un éventuel développement d'un phytomédicament contre les levures.

Mots clés : *Annonaceae*, *Verbenaceae*, Activité antifongique, Fractionnement, Combinaison

ABSTRACT

Within the last two decades, fungal infections have become a major public health problem due to inherent morbidity and mortality. In order to search for new drugs or alternative medicines and add value to Cameroonian medicinal plants, the objective of this work was to evaluate the antifungal activity of extracts from some plants from Annonaceae and Verbenaceae families. Plant parts from *Annonaceae* species were macerated in ethanol while *Verbenaceae* samples were macerated in methanol/methylene- chloride for 72 hours and the resulting extracts screened for antifungal activity. Promising ethanol crude extracts were fractionated by liquid-liquid partition and methanol crude extracts by column chromatography. Antifungal activity was assessed against yeasts isolates (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Cryptococcus neoformans*) using the microdilution method, and against *Aspergillus flavus* and some dermatophytes (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*) using food poisoning method. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) were determined. The checkerboard method was used to assess the combinations. The phytochemical screening of the promising extracts was carried out using standard methods.

The yields of extraction of plants parts ranged from 0.10% to 13.94%. Twenty-four extracts (13 ethanol extracts and 11 methanol extracts) were selected for further study based on the results of preliminary antifungal screening. MIC of ethanol extracts varied from 0.625 mg/ml to >10 mg/ml while those of methanol/methylene-chloride extracts ranged from 0.09 to 6.25 mg/ml. The fractionation of the 13 ethanol extracts by liquid-liquid partition yielded 27 fractions with MIC ranging from 2.5 mg/ml to 5 mg/ml. The Hexane fraction of the stem of *U. angolensis* (UAstH) was the most active against *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans* with an MIC of 2.5 mg/ml. Fraction was tested in combination with ketoconazole and showed synergistic interactions on *C. albicans*, *Cr. neoformans* and *C. parapsilosis* with fractional (inhibitory concentration indexes (FICI) ≤ 5). The fractionation of the methanol extract of the root of *Vitex rivularis* by column chromatography yielded 11 fractions (F'1 to F'11) and 10 compounds (Vr1 to Vr10) with MIC values ranging from 0.01 mg/ml to 0.39 mg/ml. The phytochemical screening of the promising extracts showed the presence of alkaloids, flavonoids, anthraquinones, essential oils, triterpenes, steroids, saponins, tannins, xanthoproteins, lipids and reducing sugars.

These results are promising as they highlight the antifungal effect of Verbenaceae and Annonaceae plants extracts on yeasts, molds, and dermatophytes. These observations go in line with the traditional uses of the tested plants species. On the other hand, the hexanic fraction of the stem of *U. angolensis* (UAstH) that showed synergistic action in combination with Ketoconazole indicates alternative directions for the development of a phytodrug against yeasts.

Keywords: *Annonaceae*, *Verbenaceae*, Antifungal activity, Fractionation, Combination

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les mycoses sont des maladies provoquées par des champignons microscopiques pathogènes des organismes vivants (**Boiron, 2004**). Elles représentent de nos jours un ensemble d'affections particulières, touchant toutes les tranches d'âges et indépendamment du sexe (**Clark et Hajjeh, 2002; Warnock, 2007**). En effet, au cours des vingt dernières années, l'incidence des infections fongiques, tant superficielles que profondes, a considérablement augmenté. Elles sont devenues un réel problème de santé publique de par leur fréquence et leur gravité (**Clark et Hajjeh, 2002; Sati et Joshi, 2011**).

Du point de vue clinique, les mycoses sont réparties en deux groupes selon leur affinité particulière pour une partie du corps (**Chabasse et al., 2004**): les mycoses superficielles (dermatophytoses) qui attaquent préférentiellement l'épiderme et les mycoses systémiques (candidoses, cryptococcoses, aspergilloses) qui attaquent sélectivement certains organes et viscères. Les mycoses en général représentent 17,10% des infections dues aux microorganismes pathogènes, 30% de celles-ci sont des mycoses systémiques dont 75% sont liées aux *Candida*, 20% sont liées aux *Aspergillus* et 5% aux *Cryptococcus*, tandis que 70% sont des mycoses superficielles. Ces mycoses seraient l'une des principales causes de décès non seulement chez les enfants et les personnes âgées, mais surtout chez les immunodéprimés à travers le monde (**Gumbo et al., 2000 ; Wallace et al., 2008 ; Spence, 2010**).

La recrudescence des infections fongiques résulte d'une augmentation des facteurs à risque que sont entre autres l'expansion des pratiques médicales telles que les chirurgies, les chimiothérapies, les transplantations et ablations d'organes qui fragilisent le système de défense de l'organisme, porte d'entrée de nombreuses infections, l'apparition des formes de résistance aux antifongiques disponibles et l'immunodépression (**Sanglard et Odds, 2002**).

Les nombreux traitements antifongiques proposés sont généralement longs, très chers et donc inaccessibles à la grande majorité des populations concernées. De plus, le développement du phénomène de résistance de certains champignons pathogènes aux antifongiques (**Dismukes, 2000; Babayi et al., 2004**), les effets secondaires (fièvre, maux de tête, vomissement, néphrotoxicité, hépatotoxicité, atteinte de la moelle osseuse) considérables de ces médicaments (**Ostrosky-Zeichner et al., 2003**), les caractéristiques de la population à risque et ainsi que la distribution des espèces responsables sont autant de facteurs qui influent fortement sur l'incidence et la mortalité dues à ces infections (**Hobson, 2003; Eggimann et**

al., 2003). Il devient donc urgent d'intensifier la recherche de nouvelles molécules ou d'une thérapie alternative pour une meilleure prise en charge des infections fongiques.

Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Malheureusement, les plantes médicinales ne sont pas toujours bien exploitées par les populations locales, avec des dosages et des conditionnements approximatifs. C'est pourquoi il faut orienter la recherche des médicaments sur l'exploitation des plantes médicinales dont la riche flore de nombreux pays africains à l'exemple du Cameroun constitue un bon réservoir. Considérant le rôle que jouent les plantes dans l'amélioration de la santé, l'OMS recommande l'usage des plantes dont l'efficacité et l'innocuité ont d'ores et déjà été scientifiquement démontrées (OMS, 1992). Ainsi, l'étude des plantes aux vertus médicinales représente une source crédible de molécules pouvant contribuer au développement de nouvelles sources médicamenteuses antifongiques efficaces, peu toxiques et à moindre coût.

De nombreuses études d'activités antifongiques de la famille Verbenaceae tel que *Vitex* dont *V. negundo* et de la famille des Annonaceae tel que *Polyalthia suaveolens*, ont été publiées à ce jour (Rani et Sharma, 2013 ; Lamidi *et al.*, 2005).

De ces faits nous avons émis l'hypothèse selon laquelle :

Les plantes des familles des Annonaceae et Verbenaceae contiendraient des substances possédant des pouvoirs antifongiques.

L'objectif de ce travail est

d'évaluer le potentiel antifongique de quelques plantes de la famille des Annonacées et des Verbenacées.

Pour cadrer cet objectif dans son véritable contexte, nous nous sommes posé la question suivante :

Les plantes des familles des Verbenaceae et Annonaceae contiennent-elles des substances à activité antifongique ?

Spécifiquement, il s'agissait :

- D'évaluer l'activité antifongique des extraits éthanoliques et au méthanol-chlorure de méthylène des Annonaceae et Verbenaceae ;
- De faire un fractionnement bioguidé des extraits actifs ;
- De déterminer la composition phytochimique des extraits d'intérêt.



CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

I.1 Généralités sur les champignons

I.1.1 Définition

Les champignons sont des thallophytes, c'est-à-dire des végétaux eucaryotes (uni ou pluricellulaires) qui ne sont pas différenciés en organes tels que les feuilles, les racines et les tiges. Ils se distinguent ainsi d'une part, des bactéries (procaryotes) par leur plus grosse structure et d'autre part, des plantes vertes par l'absence de chlorophylle (**Chabasse *et al.*, 2002**).

Leur appareil végétatif est un thalle sur lequel se trouvent les organes reproducteurs. Lorsque le thalle est visible et très développé, on parle de champignon macroscopique ou macromycète. Un thalle visible seulement en microscopie caractérise les micromycètes ou champignons microscopiques. Ces derniers sont subdivisés en levures et champignons filamenteux qui peuvent présenter des filaments septés ou non. Les champignons se multiplient par des spores sexuées ou asexuées, se procurent leurs nutriments par absorption et peuvent vivre en saprophytes, symbioses ou parasites (**Koenig, 1995**).

I.1.2 Classification

On distingue quatre classes de champignons en fonction de l'aspect des hyphes cloisonnés ou non, levuriforme ou non, et du mode de reproduction : les Phycomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes, les Deutéromycètes ou champignons imparfaits (**Leyral et Vierling, 2001**).

Généralement les champignons microscopiques sont classés en champignons inférieurs et champignons supérieurs.

➤ Les champignons inférieurs appelés phycomycètes sont caractérisés par des filaments et siphons non cloisonnés ou peu cloisonnés. Ils se multiplient de manière asexuée par des spores endogènes à l'intérieur des sporanges et de manière sexuée par fusion de deux éléments filamenteux polynucléés qui donnent un œuf ou dicaryon (**Leyral et Vierling, 2001**).

➤ Les champignons supérieurs sont caractérisés par leurs filaments cloisonnés. La reproduction asexuée se fait par des conidies portées par des conidiophores. La reproduction sexuée les divise en champignons parfaits et imparfaits (qui n'ont pas de reproduction sexuée).

✓ Les champignons parfaits se reproduisent par fusion des filaments donnant le dicaryon, puis l'œuf qui, après réduction chromatique évolue sous forme d'asques (Ascomycètes) ou sous forme de basides (basidiomycètes) ou encore sous forme libre formant la zygospore (zygomycètes). L'asque renferme 4 à 8 ascospores internes tandis que la baside forme 4 basidiospores externes (**Leyral et Vierling, 2001**).

✓ Les champignons imparfaits sont caractérisés par l'absence de reproduction sexuée. Ils sont constitués de la plupart des champignons pathogènes tels que *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Microsporium*, *Trichophyton* (**Leyral et Vierling, 2001**).

D'après le site internet **Doctorfungus (2009)**, plus d'un million (1 000 000) d'espèces de champignons sont répertoriées mais seules environ 400 sont pathogènes chez l'Homme, les animaux et les plantes. Ces champignons vivent soit comme parasites en détruisant les tissus des organismes vivants, soit comme saprophytes dans le sol, l'air, les tissus végétaux ou animaux et deviennent pathogènes à la suite de l'affaiblissement du système immunitaire de ces organismes vivants par des facteurs intrinsèques (la grossesse, le diabète, le cancer, la transplantation d'organe) ou extrinsèques (les immunosuppresseurs) (**Hostettman et Marston, 1994**). Les champignons microscopiques peuvent causer chez l'Homme différents types de pathologies connues sous le nom de mycoses et pouvant avoir une localisation superficielle ou profonde.

I.2 Généralités sur les mycoses

I.2.1 Définition

Les mycoses sont des infections provoquées par la présence d'un champignon microscopique pathogène dans l'organisme (**Chabasse et al., 2004**). Les symptômes sont extrêmement variés et dépendent non seulement de l'hôte lui-même (de sa nature, de sa capacité de résistance et de la localisation de la maladie) mais également du pathogène et de sa virulence (**Dupont, 2002**).

Le nom d'une mycose découle soit du nom de la partie du corps envahie (dermato mycose, onychomycose) soit le plus souvent du champignon responsable (aspergillose, candidose). Du point de vue clinique, on divise les mycoses selon leur affinité particulière pour une partie du corps. Celles qui se développent sur l'épiderme, les phanères ou les muqueuses sont appelées mycoses superficielles alors que celles qui attaquent de façon sélective certains organes ou viscères sont les mycoses profondes (**Etoundi, 1982**).

I.2.2 Transmission et manifestations des mycoses

Les mycoses sont des manifestations provoquées par la présence d'un champignon microscopique dans l'organisme (**Chabasse *et al.*, 2004**). La contagion se fait par des champignons vivants à l'état saprophyte dans notre environnement ; ils peuvent se greffer sur une lésion préexistante : c'est le cas de *Aspergillus fumigatus* très abondant dans l'air, et qui peut se manifester sur une lésion bronchique préexistante.

Cependant, il existe certains champignons comme les dermatophytes qui sont transmis directement ou indirectement par l'homme ou l'animal ; c'est le cas du muguet du nouveau-né infecté lors du passage de la filière vaginale de la mère.



Intertrigo (A)
(Saha, 2008)

Muguet buccal (B)
(Boiron, 2008)

Aspergillose de la trachée (C)
(Doctorfungus, 2009)

Figure 1 : Quelques manifestations de mycose et agent causal. A=dermatophytose à *Trichophyton mentagrophytes* ; B= candidose à *Candida albicans* ; C= Aspergillose à *Aspergillus fumigatus*.

I.2.3 Facteurs favorisant la contraction des mycoses

Les mycoses sont contractées à la suite du contact et de la pénétration des tissus par le champignon. Cette situation peut être favorisée par plusieurs facteurs tels que représentés dans le tableau I ci-dessous.

Tableau I: Facteurs à risque liés aux infections fongiques (Mc Taggart et Wong, 2002)

Conditions sous-jacentes	Facteurs immunitaires	Facteurs iatrogènes
Hémopathies malignes		Chimiothérapie
Greffe de cellules souches		Médicaments immunosuppresseurs
Infection à VIH		Cathéters vasculaires centraux
Greffe d'organe solide		Séjour prolongé aux soins intensifs
Tumeur solide	Granulocytopénie/Neutropénie	Ventilation mécanique
Diabète	Lymphopénie (cellules T)	Antibiotiques à large spectre
Pancréatite sévère		Corticostéroïdes à fortes doses
Brûlures sévères		Chirurgie abdominale
Maladie greffon versus hôte (GVHD)		Alimentation parentérale
Nouveau-nés prématurés		Dialyse

Ces facteurs favorisent beaucoup plus les infections par les levures qui restent les germes les plus infectieux et les plus mortels dans le groupe des champignons. De plus, elles sont connues pour leur grande facilité à développer des résistances aux antifongiques. Parmi celles-ci figurent au premier rang le genre *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*...) et le genre *Cryptococcus* (*Cr. neoformans*) (Rex *et al.*, 2000).

I.2.4 Caractéristiques de quelques champignons pathogènes à l'homme

Les champignons sont regroupés en deux grands groupes : les champignons levuriformes et les champignons filamenteux. Parmi les champignons levuriformes, nous avons les genres *Candida*, *Cryptococcus*. Parmi les filamenteux, nous avons les moisissures du genre *Aspergillus* et les dermatophytes du genre *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton*.

I.2.4.1 Les champignons levuriformes

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires se reproduisant le plus souvent par bourgeonnement. Parmi les quelques 500 espèces connues, une trentaine environ peut être retrouvée en pathologie humaine (**Boiron, 2008**).

Les levures qui ont fait l'objet de cette étude appartiennent aux genres *Candida* et *Cryptococcus* et sont représentées par la figure suivante.



a) *C. albicans* b) *C. glabrata* c) *Cr. neoformans* d) *C. parapsilosis*

Figure 2: Différentes souches de levures sur milieu SDA. (**SIMO, 2010**)

C. albicans (Figure 2a) : Ses colonies sur le milieu SDA à 25°C sont blanches à crème, molles, lisses où ridées. Les isolats se développent à 42°C sur un milieu contenant le cycloheximide (**Doctorfungus, 2009**). C'est un pathogène opportuniste de l'homme, le plus fréquemment isolé du tractus génital (85 à 90 % de cas). Il fait parti de la flore normale des voies respiratoires, gastro-intestinales et vaginales humaines (**Douglas et Turnburg, 1998**). En effet, cette espèce est susceptible de vivre en équilibre avec la flore vaginale pendant des années sans manifestation clinique. Il devient pathogène (candidose) suite à une immunodéficience et divers facteurs tels que la malnutrition, le diabète, les leucémies, et la prise incontrôlée d'antibiotiques (**Koenig, 1995**).

C. glabrata (Figure 2b) : Il forme des colonies blanches, crémeuses, brillantes, planes, et lisses sur milieu SDA à 25°C et est sensible à l'actidione (**Doctorfungus, 2009**). C'est une levure de formes variables rondes à allongés, dont la forme parfaite n'est pas connue. Il se reproduit par bourgeonnement multilatéral et présente parfois un pseudo filament qui peut être rudimentaire ou abondant. C'est une levure saprophyte des voies génitales et urinaires ; il est retrouvé dans 13,8% des prélèvements digestifs et dans 24,4% des prélèvements urinaires

particulièrement chez les femmes (**Doctorfungus, 2009**). Il représente actuellement près de 10 % de toutes les levures isolées chez l'homme et est la deuxième en importance après *Candida albicans*. Son rôle pathogène est redoutable. C'est le troisième agent responsable des septicémies fongiques. Il provoque des vaginites et des infections urinaires. L'un des facteurs qui contribuent à l'augmentation de son incidence, est sa résistance de plus en plus fréquente à de nombreux antibiotiques, particulièrement aux azolés tels que le Kétoconazole ou le fluconazole (**Koenig, 1995**).

Candida parapsilosis (Figure 2d): C'est un pathogène opportuniste de l'Homme, de plus en plus responsable des hospitalisations. C'est le pathogène le plus couramment rencontré dans les péritonitoses au cours des dialyses du péritoine (**Kuan-Hasting et al., 2006**). La capacité de ce pathogène à se développer dans les solutions glucosées entraîne une nette augmentation de leur adhérence aux matières synthétiques. Ce qui a pour conséquence une augmentation de la contamination du matériel médical et par là une augmentation des infections nosocomiales (**Weems, 1992**). Cette espèce se développe entre 35°C et 37°C. Ses colonies atteignent la maturité en trois jours sur SDA et sont de couleurs blanches à crèmes, lisses et globuleuses et quelques fois dentelées dans leur apparence (**Doctorfungus, 2009**). Au microscope, sur un milieu neuf et au cours des manipulations de routine, les levures sont de forme ovale, de taille variant entre 3-4 x 5-8 µm. Cette espèce est différente des autres espèces de *Candida* par la fermentation et les tests d'assimilation (**Hazen et al., 2007**).

Cr. neoformans (Figure 2c) : Sur milieu SDA à 25°C, les colonies sont crèmes à beiges et mucoïdes. Ceci est lié à la présence de la capsule qui entoure la cellule fongique. Certaines souches sans capsules ont été isolées chez les sujets atteints de VIH après un long traitement. Les colonies de certaines souches sont blanches, crémeuses et lisses similaires à *Candida albicans*. En comparaison à d'autres espèces, *Cr. neoformans* se développe sur l'Agar contenant l'acide caféique et ses colonies sont brunes à noires (**Pappas et al., 2001**). C'est une levure à tropisme neuroméningé très répandue dans la nature (fruits, laits, excréments, surtout les fientes de pigeon). Par dissémination sanguine et lymphatique, elle peut atteindre la peau et les muqueuses, mais aussi les articulations et les os.

I.2.4.2 Les champignons filamenteux

I.2.4.2.1 Les dermatophytes

Les dermatophytes sont les champignons microscopiques filamenteux, saprophytes ou parasites essentiellement kératinophiles ou kératinolytiques, se reproduisant de manière

sexuée ou asexuée. Ces champignons secrètent *in vivo* et *in vitro* des substances antigéniques regroupées sous le nom de trichophytines et qui peuvent déclencher des manifestations allergiques (Ngono, 1999). On compte trois genres chez les dermatophytes : *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton* dont trois espèces sont représentées par la photographie 3. Suivant leurs lieux d'habitat, on les classe en trois groupes : les espèces anthropophiles issues exclusivement de l'homme, les espèces zoophiles issues de l'animal et les espèces géophiles ou telluriques issues du sol.



a) *Epidermophyton floccosum* b) *Microsporum gypseum* c) *Trichophyton mentagrophytes*)

Figure 3: Différentes souches de dermatophytes sur milieu SDA

Le genre *Epidermophyton* renferme une seule espèce *E. floccosum* (Figure 3a) qui est doué d'une croissance rapide, les colonies apparaissent vers le cinquième jour et sont caractéristiques vers le douzième jour. Il se distingue des autres dermatophytes par sa croissance rapide, la couleur jaune Kaki de ses colonies sur gélose de Sabouraud entre 20-25°C, et l'absence de microconidies. C'est un dermatophyte cosmopolite anthropophile à l'origine d'épidermophyties circinées et d'intertrigos (inter orteils, inguinaux, axillaires), n'attaque pas les poils ou le cuir chevelure (Chabasse et al., 2004).

Le genre *Microsporum* renferme plusieurs espèces parmi lesquelles *M. gypseum* (Figure 3b). C'est un dermatophyte cosmopolite tellurique doué d'une croissance rapide, dont les colonies apparaissent 4 à 5 jours et sont caractéristiques en une semaine. Sur gélose de Sabouraud entre 20-25°C, les colonies sont planes, habituellement poudreuses ou granuleuses, mais parfois plus duveteuses. La contamination s'effectue à partir du sol (plaie souillée de terre) ou par le biais d'un petit mammifère sauvage ou domestique (chien, chat, rat). Il est responsable des kériions chez l'enfant et d'épidermophyties des parties découvertes, très inflammatoires et des folliculites. Il n'attaque pas l'ongle (Chabasse et al., 2004).

Le genre *Trichophyton* renferme également plusieurs espèces à l'instar de *T. mentagrophytes* (Figure 3c). On distingue deux variétés : la variété interdigitale (anthropophile) et la variété mentagrophytes (tellurique et zoophile). Les colonies apparaissent 4 à 5 jours et sont caractéristiques en 10 jours. Elles sont duveteuses, à poudreuses pour les anthropiles et davantage granuleuses pour les zoophiles sur gélose de Sabouraud entre 20-25°C. La variété interdigitale est un parasite fréquent des pieds, c'est le troisième agent responsable d'onychomycose (**Boukachabine et Agoumi, 2005**). Cependant, la variété mentagrophytes détermine les lésions inflammatoires, les teignes inflammatoires chez l'enfant, les folliculites sur les parties découvertes de l'adulte et les épidermophyties circinées inflammatoires. Ces pathogènes sont responsables des infections fongiques qui attaquent toutes les tranches de la population et l'on les retrouve partout dans le monde particulièrement en Afrique.

I.2.4.2.2 Les Aspergillus

Le genre *Aspergillus* a été décrit pour la première fois en 1809 par Mecheli ex Link. Ce sont des champignons filamenteux cosmopolites que l'on retrouve dans le sol, les débris de végétaux et dans l'air ambiant. Même si certaines formes télémorphiques ont été décrites pour certains *Aspergillus* spp., d'autres sont mitosporiques (**Chabasse et al., 2002 ; Doctor fungus, 2009**). *Aspergillus flavus* est l'une des espèces d'*Aspergillus* les plus souvent rencontrés dans les Aspergilloses humaines (**Kurup et al., 2000**).

Aspergillus flavus a été décrite pour la première fois par Link ex gray en 1821. Sur Potato Dextrose Agar (PDA) à 25°C, les colonies jeunes sont blanches puis virent au jaune et passent au vert jaune pour les colonies adultes. Le verso est incolore, rose ou brun rouge foncé. Ils ont une croissance rapide (3 à 4 jours) avec un optimum à 37°C. La texture est poudreuse à cotonneuse et quelques fois granuleuse (**Chabasse et al., 2002**). Au microscope, les hyphes sont septés et hyalins. La tête des conidies est radiée et perd les colonnes avec l'âge. Les conidiophores sont grossièrement rugueux, incolores et ont 800µm de long pour 15 à 20µm de large. Les vésicules sont globuleuses à sub-globuleuses (20-45µm). Les phialides sont directement insérées à la vésicule et portées par un métule (8-10 x 5-7µm). Les conidies sont doux à très légèrement rugueux, globuleux ou sub-globuleux, avec 3-6µm de diamètre (**Chabasse et al., 2002**). L'expansion des colonies avec des conidiospores rugueux et des conidies doux ou très finement rugueux permet de distinguer cette espèce des espèces similaires (*Aspergillus parasiticus* qui produit des spores très rugueuses) (**Chabasse et al., 2002 ; Doctorfungus, 2009**).

1.2.5 Épidémiologie des Candidoses, Cryptococcoses, Dermatophytoses et Aspergillose

Les nouvelles données indiquent que les proportions relatives d'organismes qui causent des infections nosocomiales invasives ont changé cette dernière décennie, avec les espèces du genre *Candida* responsable de 64,7% des infections fongiques dont 26,4% de décès (**Richardson, 2005**) et de 80 % des infections fongiques nosocomiales (**Rex et al., 2000**). Les mycoses superficielles à *Candida* peuvent affecter plus de 95% des personnes vivants avec le VIH-SIDA (**Dupont, 2002**). Ainsi, parmi les mycoses affectant les patients infectés par le VIH et consultés dans les hôpitaux de Yaoundé (Hôpital Central et Centre Hospitalier Universitaire), 77% sont des candidoses orales, 36,2% sont des candiduries (**Lohoué et al., 2005**). Chez les femmes enceintes, 72% de candidoses vaginales sont dues à *Candida albicans* (**Lohoué et al., 2003**). De même, des patients VIH positifs recrutés à l'Hôpital Baptiste de Mutengéné à Buea entre Février et Août 2011, 66,67 % souffraient de candidoses parmi lesquelles 81,2 % étaient des candidoses oropharyngées et 18,8 % des candidoses urinaires (**Njunda et al., 2013**).

Concernant la cryptococcose, on estime qu'aux États-Unis, plus de 80% sont liées au VIH (**Diamond, 1995**). Environ 5 à 10% de séropositifs développent une cryptococcose au cours de l'évolution de leur maladie (**Diamond, 1995**) et elle reste mortelle dans 15-20% des cas malgré un traitement optimal (**Saag et al., 2000**). En effet, elle survient chez 58 % des patients au stade SIDA maladie (**Dromer et Lortholary, 2004**), le risque augmentant avec le degré de l'immunodépression. Il est huit fois supérieur lorsque le taux des lymphocytes CD4 est inférieur à 100 éléments/mm³ (**Garcia et al., 2001**). La cryptococcose neuroméningée (CNM) à *Cr. neoformans* est la mycose systémique la plus fréquente au cours du SIDA (**Bergemann et Karstaedt, 1996**), et constitue de ce fait la deuxième affection opportuniste au cours de celui-ci (**Millogo et al., 2004**). Elle est relativement rare en Afrique de l'Ouest (**Frimpong et Lartey, 1998**) et très fréquente en Afrique Centrale (**Heyderman et al., 2001**) probablement du fait d'une écologie favorable. Au Cameroun, une étude menée sur des patients atteints de l'infection à VIH à l'Hôpital Central de Yaoundé, entre Mars et Décembre 2010 a montré que la prévalence de la cryptococcose chez ces individus était de 7,14 % (**Dzoyem et al., 2012**).

Les dermatophytes sont généralement répartis de façon ubiquitaire (**Feuilhade et al., 2003**). Mais d'autres sont limités aux régions intertropicales: *M. langeronii*, *T. soudanense*, *T. yaoundei* en Afrique sub-saharienne, *M. persicolor* en Europe, *T. concentricum* en Asie et

Iles du Pacifique et en Inde *T. simii* (Beghin et Vanbreuseghem, 1974; Bouchet *et al.*, 1986; Chabasse *et al.*, 1999). En Europe, *M. canis* est le plus fréquent des agents étiologiques des teignes. Les pays avec la plus grande incidence sont les pays méditerranéens (Italie, Espagne, Grèce, Croatie) ainsi que leurs pays frontaliers (Autriche, Allemagne, Hongrie, Pologne) (Hackett *et al.*, 2006; Ginter *et al.*, 2007). Une étude menée en Italie a mis en évidence les agents étiologiques de l'épidermophytie du visage. *M. canis* a été retrouvé dans 58,9% des cas, suivi par *T. rubrum* 22,4% et *T. mentagrophytes* 18,7% (Nicola *et al.*, 2010). En Egypte, les dermatophytoses les plus fréquentes sont respectivement les teignes (76,4%), les épidermophyties (22,3%) et les onychomycoses (1,2%). Les dermatophytes isolés sont *T. violaceum* (71,1%), *M. canis* (21,1%) et *T. rubrum* (6,2%) (Zaki *et al.*, 2009). Au Cameroun, Same (2011) a montré une prévalence d'affection par les dermatophytes de 35% dans la région de l'Est. Les teignes constituent une mycose superficielle fréquente au Cameroun, surtout chez l'enfant (entre 6 et 11 ans) avec une prévalence de 31% dans certaines écoles de Yaoundé (Maslin *et al.*, 2005). Cette répartition est imputable au développement des voyages intercontinentaux, au tourisme et à l'immigration et est susceptible de se modifier à la suite de grands brassages de population, de l'amélioration des conditions d'hygiène et des progrès thérapeutiques dans la prise en charge des dermatophytoses (Beghin et Vanbreuseghem, 1974; Bouchet *et al.*, 1986; Chabasse *et al.*, 1999; Maslin *et al.*, 2005).

Les aspergilloses se sont imposées comme premier pathogène fongique à transmission aérienne avec une nette augmentation de leur incidence. Cette émergence est corrélée à la modernisation des pratiques médicales. Une fois dans l'organisme, les *Aspergillus* peuvent coloniser tous les organes et appareils de l'organisme humain ou animal. Ainsi, la colonisation Aspergillaire va de la peau aux méninges en passant par les poumons et les sinus (Gumbo *et al.*, 2000)

I.2.6 Traitement des mycoses

Le traitement des maladies fongiques peut être local, général ou se faire par une association des deux modalités pour une plus grande efficacité. On utilise à cet effet des antifongiques qui peuvent s'opposer à la croissance du champignon ou provoquer sa mort (Ghannoum et Rice, 1999).

I.2.6.1 Définition et mode d'action des antifongiques

Un antifongique est une substance d'origine biologique ou synthétique agissant sur une étape du métabolisme des champignons. Son action se manifeste soit par :

- Un effet fongistatique : l'antifongique inhibe la croissance du champignon
- Un effet fongicide : l'antifongique tue le champignon
- Un effet fongilytique : l'antifongique tue la cellule par une lyse de ses parois (**Ngono, 1999**).

Ces molécules agissent à différents niveaux de la cellule fongique et ce via différents mécanismes. Les agents antifongiques utilisés en médecine moderne affectent la composition de la membrane fongique (**Avis et Belanger, 2001**), agissent au niveau de la paroi cellulaire ou inhibent la synthèse des acides nucléiques (**Ghannoum et Rice, 1999**). Le tableau 2 illustré par la figure 4 ci-dessous présente quelques antifongiques et leurs mécanismes d'action.

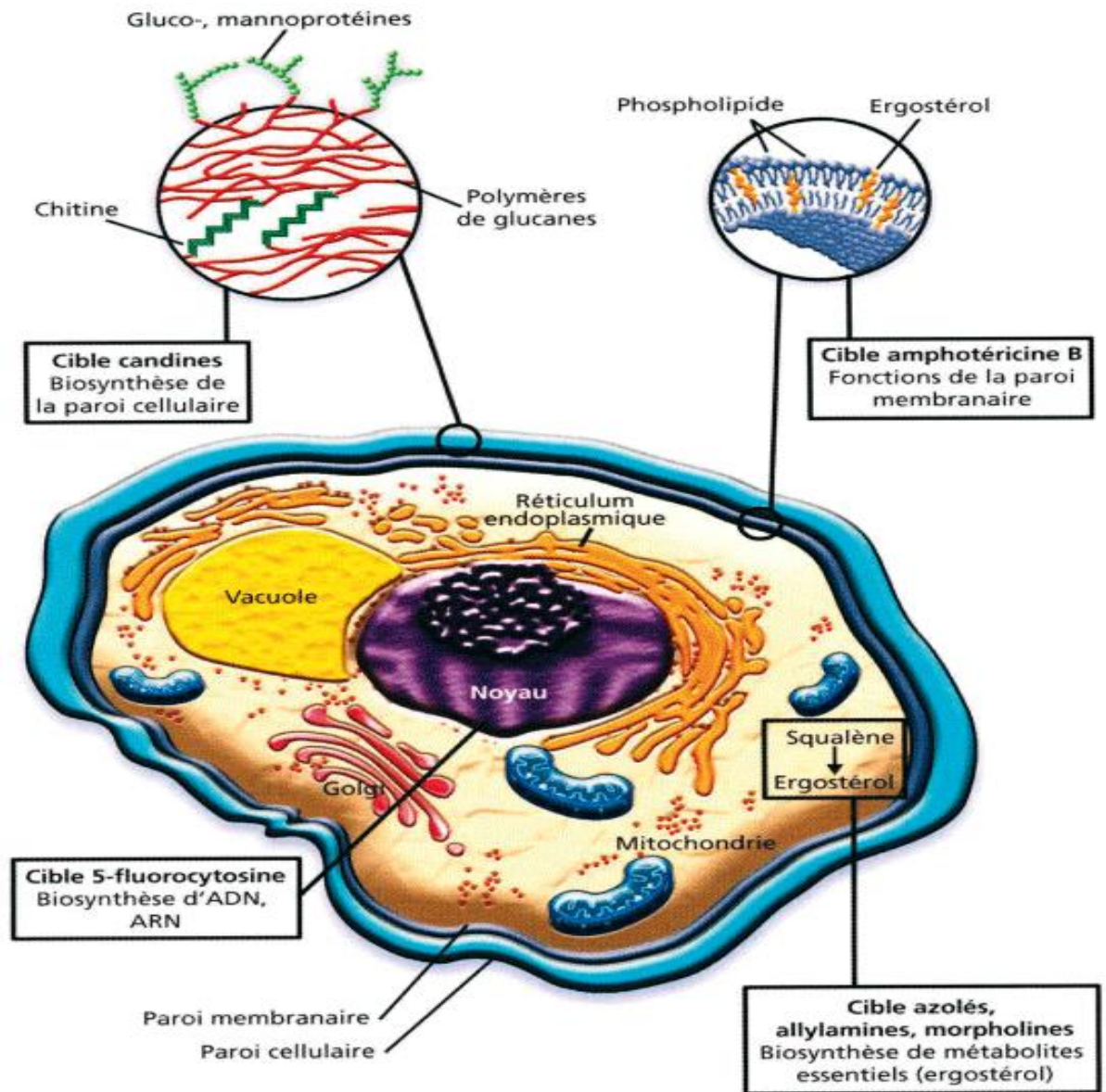


Figure 4 : La cellule fongique et les cibles antifongiques. (Fournier, 2011)

Tableau II: Quelques antifongiques et leurs mécanismes d'action

Site d'action des antifongiques	Famille d'antifongique	Représentants	Mécanisme d'action
La paroi cellulaire	Les Échinocandines	Capsosfungine Micafungine Amidulafungine	Inhibiteurs de la synthèse des glucanes, spécifiquement la 3- β -glucane synthase. (Ghannoun et Rice, 1999)
La membrane fongique	Les polyènes	Amphotéricine B Nystatine	Altèrent la perméabilité cellulaire en formant des complexes insolubles avec l'ergostérol membranaire (Hamoir et al., 2001) .
	Les allylamines	Naftifine Terbinafine	Inhibiteurs de la squalène époxydase (Ryder et Favre, 1997)
	Les azolés	Miconazole Itraconazole	Inhibiteurs de la 14- α -déméthylase. Ils provoquent une accumulation du 14-méthyl-stérol qui altère la membrane (Hamoir et al., 2001 ; Xiao et al., 2004) .
L'acide nucléique	Les pyrimidines	Flucocytosine ou 5-Fluorocytosine	Transformé en 5-fluorouracyl qui substitue l'Uracyl dans la synthèse de l'ARN, et le blocage de la synthèse protéique (Dannaoui, 2007) .
	Autre antifongique	Griséofulvine	Agit sur la polymérisation des microtubules (Koenig, 1995)

La lutte contre les infections fongiques par l'utilisation des médicaments appartenant à ces familles d'antifongiques fait face aujourd'hui à de nombreuses difficultés entre autres l'émergence et la propagation du phénomène de résistance de certains champignons à ces antifongiques.

I.2.6.2 Résistance aux antifongiques

La résistance d'un microorganisme à une substance antimicrobienne est la capacité de celui-ci à développer des mécanismes d'adaptation aux nouvelles conditions de vie (**Dismukes, 2000**). Cette résistance aux antifongiques peut être naturelle (primaire, caractère d'espèce ; par exemple, *Candida kruzei* résistant au fluconazole) ou acquise, caractère secondaire de souche résultant des mutations et de la surexpression de certains gènes (**Sanglard et Odds, 2002**).

Ce phénomène de résistance aux antifongiques qui s'ajoute aux effets secondaires associés à ces derniers entraîne l'accroissement des infections fongiques, notamment celles qui sont dues à la prolifération du genre *Candida* et *Cryptococcus* parmi les personnes à risque (**Dismukes, 2000**). Ceci explique l'intérêt de la recherche d'une thérapie alternative pour le traitement de ces infections ou de nouvelles substances antifongiques efficaces et à large spectre d'action ou capable de potentialiser l'activité de ceux déjà disponibles.

Une des stratégies pour le traitement des mycoses consiste à faire usage des extraits de plantes utilisées en médecine traditionnelle car elles représentent une source non négligeable de nouveaux médicaments et surtout qu'elles présentent moins d'effets secondaires (**Maghrani et al., 2005**). Ces espèces végétales d'une aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation.

I.3 Généralités sur les plantes utilisées

I.3.1 Famille des *Annonaceae*

Les *Annonaceae* constituent une grande famille végétale formée de plus de 2300 espèces. On les retrouve en grande partie dans les régions tropicales et subtropicales (**Lebœuf et al., 1982**). Elles appartiennent à l'ordre des Annonales (magnoliales), classe des Dicotylédones, sous embranchement des Angiospermes, embranchement des Spermaphytes. Les plantes de cette famille sont ligneuses et on les retrouve sous formes variées: arbres, arbustes, arbrisseaux, buissons sarmenteux ou lianes. Les formes biologiques les plus abondantes sont les arbres de taille moyenne (15 à 20 m) et les arbustes (7 à 10 m) (**Le Thomas, 1969**). Leurs écorces, feuilles et fruits dégagent une odeur aromatique caractéristique (**Walker et al., 1961**). Le fruit est très important dans la séparation des genres et plus rarement dans celle des espèces (**Le Thomas, 1969**). La famille des *Annonaceae* comporte plusieurs espèces intéressantes du point de vue alimentaire, économique ou

thérapeutique. Cette famille regroupe 130 genres dont les genres *Annona*, *Monodora*, *Polyalthia*, *Uvaria*, *Uvariastrum*, *Xylopia*.

I.3.1.1 Le genre *Annona*

Le genre *Annona* regroupe des petits arbres, des arbustes ou des arbrisseaux rhizomateux, glabres ou à indument de poils simples. *Annona* est un genre tropical constitué d'une centaine d'espèces pour la plupart américaines. On retrouve en Afrique et à Madagascar 4 espèces avec plusieurs sous-espèces et variétés. Les fruits des *Annona* sp sont syncarpiques, charnus, ovoïdes ou globuleux à cylindriques. Les graines sont nombreuses et noyées dans la pulpe (**Le thomas, 1969 ; Burkill, 1985**)

I.3.1.1.1 *Annona muricata* L.

Synonymes: *Annona bamplandiana* Kunth ; *Annona cedrensis* Barb. Rodr ; *Annona macracarpa* Werckle; *Guanabanus muricata* Gomez; *Annona muricata* var. *borinquensis* Morales (**Pinto et al., 2005**).

Noms communs : Corossolier, Corossol épineux (Français); « Annone », « Soursop » (Anglais) (**Pinto et al., 2005**).

Noms vernaculaires: «Saba Saba » (Douala), «Ebom beti » (Ewondo), « Kwopchonkwop » (Bamoun), « Falo » (Bamenda).

➤ Botanique

Annona muricata est un petit arbre ou arbuste à fleurs persistantes, ayant 4 à 8 m de hauteur lorsqu'il est complètement mature. Il a une croissance érigée, les tiges sont arrondies, rugueuses et non pubescentes ; avec une couleur brun-sombre. Les feuilles ont des pétioles courtes de 5 à 6 mm, un limbe papyracé, obové-oblong, courtement et obtusément acuminé au sommet, aigu à la base, long de 14 à 16 cm, large de 5 à 7 cm, glabre et luisant à la face supérieure, glabrescent à la face inférieure. Les nervures latérales, au nombre de 9 à 11 paires, sont planes et peu visibles au-dessus, peu saillantes en dessous. Les fleurs du corossolier sont plus larges que celles des autres espèces du genre *Annona*. Elles ont une longueur de 3,2 à 3,8 cm. Elles sont blanchâtres, solitaires, terminales ou oppositifoliées, à pédicelle épais, long de 1,5 à 2,5 cm (**Pinto et al., 2005**). Les sépales sont largement ovés, long de 3 à 5 mm, aigus au sommet. Les pétales externes sont épais, ovés-arrondis, cordés à la base, acuminés au sommet, long de 2,5 à 3,5 cm, larges de 1,8 à 2,5 cm; les internes sont

plus courts, légèrement onguiculés à la base. Les étamines sont linéaires, longues de 6 mm. Les carpelles sont à ovaires velus, longs de 2 mm environ (Le Thomas, 1969; Keraudren, 1980).

Annona muricata produit un fruit de forme ovoïde à ovoïde à oblong, ou en forme de cœur. Il est brun vert quand il est immature et devient légèrement vert clair après maturité. Il est long de 15 à 20 cm et son poids varie de 0,9 à 10 kg. Son péricarpe est recouvert de nombreuses protubérances pointues, charnues, courtes et flexibles non piquantes. La pulpe de fruit est fibreuse, blanche, agréablement parfumée et de goût acide. Les fruits renferment de nombreuses graines (127 à 150 graines) oblongues, aplaties, longues de 1 à 2 cm, pesant 0,33 à 0,5 g, à texture lisse. Elles ont une coloration brune sombre avant maturation du fruit, mais deviennent noir après maturation (Pinto *et al.*, 2005).



Figure 5 : *Annona muricata* L. (Tchokouaha, 2009)

➤ **Ecologie**

Annona muricata est originaire d'Amérique Centrale, des Antilles ou du Nord de l'Amérique du Sud et de l'Ouest des Indes. Actuellement, *Annona muricata* est répandue dans toutes les régions tropicales du monde (Pinto *et al.*, 2005).

➤ Usages ethnobotaniques

Tout comme les feuilles de la plante, la pulpe et les graines du corossol sont utilisées en médecine traditionnelle, dans de nombreuses traditions médicales. La décoction des feuilles est utilisée pour le traitement de la diarrhée, de la dysenterie, du diabète, et de l'hypertension (Adjanooun *et al.*, 1996).

Les feuilles du corossolier sont utilisées pour le traitement des maladies intestinales (Noumi et Yomia, 2001). Le fruit immature, les feuilles sont utilisées comme fébrifuge et pour traiter le paludisme (Khan *et al.*, 1997 ; Willcox et Bodeker, 2004). La macération des jeunes fruits et jeunes feuilles est utilisée pour le traitement des amibiases (Mbita, 1998). Les fleurs et les bourgeons sont utilisés contre la toux. Les feuilles mélangées à celles du citronnier seraient calmantes et efficaces contre la fièvre. Les feuilles fraîches réduites en poudre sont appliquées comme cicatrisant sur les blessures sous forme d'infusion. Certaines tribus de basse Casamance utilisent des emplâtres de feuilles pilées pour les plaies de la circoncision (Le Thomas, 1969). Les graines du corossol sont utilisées au Guatemala pour l'artisanat local (Pinto *et al.*, 2005). La pulpe de fruit mûr, est comestible et utilisée pour préparer un vin appelé Champola (Pinto *et al.*, 2005).

➤ Travaux antérieurs

Annona muricata est l'une des espèces les plus étudiées de la famille des Annonacées. Elle a en effet été l'objet de plusieurs types d'investigations. Boyom (1992) a analysé les huiles essentielles des feuilles. Il a montré que les constituants majoritaires des huiles essentielles sont pour la plupart des sesquiterpènes tels que le β -caryophyllène (40%), l' α -santalène (9,5%), α -élémane (14,4%), le δ -cardinène (4,8%) et l' α -humulène (4,6%). Les graines sont riches en acides gras insaturés que sont l'acide oléique (41%), l'acide linoléique (33%), l'acide palmitoléique (19%), les acides gras saturés sont l'acide palmitique (19%), et l'acide stéarique (5%) (Pinto et Silva, 1994).

Les travaux antérieurs mentionnés sur *Annona muricata* mettent en exergue sa richesse en acétogénines. Ce groupe de composés s'avère doté d'importantes activités biologiques (Naoto et Tetsuaki, 2009). Melot *et al.*, (2009) ont isolé 103 acétogénines (Annonacine, Gigantacine, Xylomatenine, Corrossoline, Corrossolone, Annonacinone ...) des écorces, feuilles, fruits, racines et graines. Environ 75% de ces acétogénines ont 35 atomes de carbones, et environ 65% sont des acétogénines de type A1 (mono THF, fonction lactone insaturée). L'étude effectuée par Yuan *et al.*, (2003) a montré que l'acétogénine majoritaire

des feuilles d'*Annona muricata* : l'annonacine tue les cellules cancéreuses, avec une CI₅₀ de 4 µg/ml. Cet acétogénine a également montré une toxicité au niveau des neurones mesencéphalique dopaminergiques avec une DE de 0,018 µM d'où son implication dans l'apparition des syndromes de Parkinson en Guadeloupe (**Lannuzel et al., 2003**).

L'activité antibactérienne *in vitro* des extraits acétoniques, méthanoliques, éthanoliques et aqueux des feuilles, tiges et écorces a été démontrée par **Khan et al., (1998)** sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigelle flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Serratia marcescens* et *Salmonella newport* à des concentrations de 2-3 µg/plaque. **Gbeassor et al., (1990)**, **Antoun et al., (1993)** et **Leaman et al., (1995)**, ont montré *in vitro* l'activité antiplasmodiale des extraits éthanoliques des feuilles d'*Annona muricata* du Togo et du Pérou sur les souches D-6 et W2 de *P. falciparum*, avec des CI₅₀ variant de 20 à 63 µg/ml.

Les extraits au méthanol, à l'hexane, et à l'acétate d'éthyle des graines, tiges, écorces et péricarpe ont montré *in vitro* une activité antiparasitaire contre *Leishmania trypanosoma*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania panamensis*, *Leishmania promastigotes*, *Entamoeba histolytic*, *Nocardia brasiliensi*, *Molinema dessetae*, *Artemia salina* (**Jaramillo et al., 2000 ; Wang et al., 2002**).

N'Gouemo et al., (1997) ont montré que 100 mg/kg d'extrait éthanolique des feuilles administrées par voie intrapéritonéale chez la souris a une activité anticonvulsivante. **Padma et al., (2005)** ont montré que 100 mg/kg d'extrait alcoolique des brindilles ont une activité neurologique antidépressive. **Lannuzel et al., (2002)** ont montré que les alcaloïdes extraits des écorces, racines, et graines d'*Annona muricata* ayant une activité anti-inflammatoire (**Philipov et al., 1995**) entraînent à 18µg/ml des dommages de l'ADN et l'apoptose des cellules dopaminergiques et GABA énergiques *in vitro*.

Carbajall et al., (1991) ont montré que 1ml/l d'extrait aqueux des feuilles administré par voie intraveineuse chez le rat entraîne une baisse de plus de 30% de la pression artérielle ayant ainsi une activité cardiopressive et hypotensive.

Joyeux et al., (1995) ont montré que 1mg/plaque de décoction de feuilles a une activité antiradicalaire, antilipoperoxydante, et antihépatotoxique. L'extrait aqueux des tiges a des effets cytotoxique et antiproliférative *in vitro* sur des cellules infectées par le VIH avec une CI₅₀ < 2 µg/ml (**Antoun et al., 1999**). L'étude menée par **Betancur et al., (1999)** a montré que les extraits éthanoliques des tiges et écorces présentent *in vitro* une activité contre

l'herpès simplex I et l'extrait éthanolique des racines quant à lui a une activité contre l'herpès simplex 2 avec une CC_{50} et CE_{50} de 0,05 2 $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

I.3.1.2 Le genre *Monodora*

Le genre *Monodora* est constitué d'arbres ou d'arbustes parfois lianescents, glabres ou à indument de poils simples. Les fleurs comportant 3 sépales, sont hermaphrodites, grandes, solitaires ou rarement géminées. Les étamines sont très nombreuses, sessiles, oblongues à thèques extrorses, connectifs épais, élargis tronqués au-dessus des anthères. Les carpelles sont soudés en un ovaire uniloculaire à placentation pariétale. Les stigmates sont concrecents en une masse le plus souvent enroulée, dépassant à peine les étamines ; les fruits sont syncarpiques, pendants, globuleux, à ovoïdes- coniques, à péricarpes ligneux. Les graines sont nombreuses, noyées dans une pulpe, suboblongues à subellipsoïdes, à testa mince, lisse. L'embryon est petit et les cotylédons sont plans. Le genre africain comporte environ 14 espèces tropicales de sous-bois en forêt dense humide ou dans les galeries forestières (**Burkill, 1985**). Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié les extraits des graines de *Monodora myristica*.



Figure 6: Graines de *Monodora myristica* (Gaertn.) Dunal (**Bakarnga -Via, 2012**)

I.3.1.2.1 *Monodora myristica* (Gaertn.) Dunal.

Synonymes: *Monodora myristica* Gaertn (1797), *Monodora borealis* Sc. Elliott, *Monodora claessensii* De Wild, *Monodora grandiflora* Benth.

Nom commun: Faux muscadier.

Noms vernaculaires: « Pebé » (Douala), « Ding » (Ewondo), « ikoma » (Bassa), « ozek » (boulou), « medjeng », « mendak mendjock » (Bamileké), « Ariwo » (Tchad).

➤ **Botanique**

C'est un arbre atteignant 35m de hauteur et 50-70 cm de diamètre ; possédant un tronc à fût droit ; une écorce rugueuse, grossièrement striée, à tranche mince et fibreuse ; une cime largement étalée ; des jeunes rameaux pruineux, glabres. Les feuilles sont simples avec un limbe elliptique à obové, mesurant 9-50 cm x 320 cm, membraneux ; une base arrondie à subcordée, des bords entiers et un sommet courtement acuminé ; un pétiole atteignant 14mm de longueur. Les fleurs sont odorantes et solitaires avec un pédicelle atteignant 25 cm de longueur, muni d'une bractéole plus ou moins ovale vers la moitié supérieure, une bractéole mesurant 2-4 x 1-3cm; un calice à 3 sépales verts tachetés de rouge violacé, lancéolé, oblongs, mesurant 2-3,5 x 0,7-1,5 cm, à marges ondulées-crispées ; une corolle à 6 pétales en verticille ; des pétales externes jaune orangé et tachetés de rouge, largement ovés, mesurant 4-9 x 2-3,5 cm, glabres ; des pétales internes blancs tachetés de rouge, largement ovés, mesurant 2,5-4,5 x 2-2,8 cm, auriculés au-dessus d'un onglet très court (3-6 mm), pubescent sur les bords et sur les oreillettes, androcée de plusieurs étamines oblongues ; un pistil à ovaire conique, atteignant 2,5 mm de diamètre. Le fruit est un composé subsphérique, atteignant 15 cm de diamètre. Les graines, nombreuses sont noyées dans une pulpe blanche, oblongues et légèrement comprimées, atteignant 1,8 x 1,2 cm, de couleur brun clair (**Achoundong et al., 2003**).

➤ **Ecologie**

Cette espèce est présente en Afrique tropicale de la Sierra Leone à l'Angola et à l'Ouganda, au Tchad ainsi qu'au Cameroun et sur les îles du Golfe de Guinée. C'est une espèce de forêt dense humide sempervirente, de basse et moyenne altitude, parfois de forêt dégradée et elle peut aussi croître en savane (**Lebœuf et al., 1982**).

➤ **Usages ethnobotaniques**

Les graines sont la partie de la plante la plus utilisée. Ces graines à saveur piquante et à odeur aromatique, s'utilisent sèches (préalablement brûlées ou grillées) écrasées sous forme poudreuse comme condiments dans la confection de plusieurs mets camerounais (sauce jaune, « pépé soup », « mbôgô djobi », etc...). Elles s'utilisent également pour soulager la constipation, les migraines et le contrôle passif de l'hémorragie utérine chez les femmes immédiatement après la délivrance (**Burabai et al., 2009**). En République Centrafricaine, les graines sont utilisées dans le traitement de l'hypertension (**Koudou et al., 2007**). Au Tchad,

les graines servent des condiments dans la sauce et les tradipraticiens utilisent ces graines pour soigner la toux et calmer les céphalées.

➤ Travaux antérieurs

Lamaty et al. (1987) ont analysé la composition chimique de l'huile essentielle des fruits de *Monodora myristica* récoltés à Yaoundé (Cameroun) par la CPG et CPG/SM et ont montré qu'elle est riche en α -phellandrène (48,8%), α -pinène (15,9%), limonène (8,7%), myrcène (7,9 %), α -thujène (6,3%) et en linalol (3,0 %). **Tatsadjeu et al. (2003)** ont montré que l'huile essentielle des graines de *Monodora myristica* récolté à Yaoundé constituée majoritairement de l' α -phellandrène (29,2%), p-cymène (11,2%), α -pinène (9,7 %), cis-sabinol (6,9 %) et de limonène (6,8%). **Burabai et al. (2009)** ont montré que les graines de *Monodora myristica* contenaient 14,7% d'eau, 9,1% de protéines brutes, 29,1% d'huile brute et 25,9% de fibres. Une consommation adéquate de fibres alimentaires est importante pour une santé optimale, par conséquent ces graines aideraient à la prévention de la constipation et des troubles gastrointestinaux. Ces graines contiennent également des éléments minéraux potassium (817,33 ppm), calcium (4210,12 ppm), phosphore (1034,50 ppm), magnésium (923,40 ppm). La littérature montre que le calcium et le phosphore sont responsables de la formation des os et des dents chez les animaux, par conséquent cette graine nutritive peut être utilisée comme une source diététique pour ces éléments. **Alitonou et al. (2013)** ont identifié vingt-quatre composés dans l'huile essentielle des feuilles de *Monodora myristica* récoltées à Abomey-Calavi (Benin) dont l' α -phellandrene (65,5%) et l' α -pinène (6,2%) sont les principaux produits.

Garry et al. (1997), ont reporté que de l'huile essentielle des fruits de *Monodora myristica* inhibe la croissance de *Candida albicans* à la CMI > 9 mg/ml. **Tatsadjeu et al. (2003)** ont montré que l'huile essentielle des graines de *Monodora myristica* a une activité antimicrobienne sur les souches de bactéries et de champignons testées avec des diamètres d'inhibition variant entre 11 et 30 mm et une CMI > 5000 ppm. **Kouamé et al. (2004)** ont montré que les huiles essentielles des graines de *Monodora myristica* ont des propriétés désinfectantes et antiseptiques dues au p-cymène, ce qui confirme leur utilisation en médecine traditionnelle dans le traitement des blessures et plaies.

Les huiles essentielles extraites à partir des graines et des feuilles de *M. myristica* sont généralement constituées de monoterpènes et de sesquiterpènes. Elles sont connues pour leurs

activités antiplasmodiales, antiradicalaires, antifongiques, antibactériennes et cytotoxiques (Bakarnga-Via *et al.*, 2014 ; Alitonou *et al.*, 2013 ; Boyom, 2004)

I.3.1.3 Le genre *Polyalthia*

I.3.1.3.1 *Polyalthia suaveolens*

➤ **Synonymes**

Polyalthia aubrevillei Ghesq. ex Aubrév. ; *Polyalthia mortehanii* De Wild. ; *Xylopia otunga* Exell et *Maba gossweileri* Greves ; *Greenwenyadendron suaveolens* (Engl. & Diels) Verdc

➤ **Noms commun et vernaculaire :**

Afoumengen, Otungui; Ntounga (Pygmies Bakola).

➤ **Botanique**

C'est un arbre de la strate moyenne de la forêt dense humide, d'une vingtaine de mètres de haut (35-40 m) et de 70 cm de circonférence. L'écorce est lisse, gris clair, très odorante à tranche arrangée, avec un rhytidome superficiel noir. Le fût, souvent très étroit, se termine par une cime dense formée de branches plus ou moins horizontales serrées (Le Thomas, 1969).



Figure 7: *Polyalthia suaveolens* var *suaveolens* (Ngoutane, 2014)

➤ **Ecologie**

Polyalthia suaveolens est répandu au Nigéria, vers l'Est de la République Centrafricaine vers le sud de l'Angola. On le retrouve fréquemment dans les forêts denses du Centre et du Sud du Cameroun (Le Thomas, 1969).

➤ Usages ethnobotaniques

Au Congo dans la région de Bongo, *P. suaveolens* est utilisée comme bois de construction, les écorces de tronc servent comme purgatifs, la macération à l'eau de la poudre lutte contre la constipation, facilite l'accouchement, participe à la lutte contre la stérilité chez les femmes et sert à traiter les maladies sexuellement transmissibles (MST); les feuilles bouillies associées à d'autres plantes sont utilisées pour les bains rituels destinés à enlever la malédiction (**Burkill, 1985; Le Thomas, 1969**).

Dans certaines régions du Cameroun et du Gabon, une infusion d'écorce est utilisée pour guérir les maux de ventre et est considérée comme vermifuge au Libéria. La pulpe des feuilles ou d'écorces associées à celle de la maniguette et mélangées à l'huile de palme sert au massage des personnes atteintes de courbatures fébriles ou de rhumatisme (**Burkill, 1985 ; Le Thomas, 1969**).

Une étude ethnobotanique réalisée par **Betti (2004)** dans la réserve du Dja chez les pygmées Baka pour identifier les plantes utilisées dans la pharmacopée générale des pygmées a révélé 102 plantes médicinales appartenant à 97 genres et 51 familles. La toux, le dysfonctionnement de la lactation, le paludisme et les maux de dents sont les principales maladies traitées dans ces régions. Parmi ces plantes, les écorces de *Polyalthia suaveolens* associées à *Elaeis guineensis* sous forme de cendre par scarification y sont utilisées pour traiter le paludisme. **Betti et Lejoly (2009)** ont recensé *Polyalthia suaveolens* parmi les plantes qui traitent la jaunisse dans cette réserve.

Jiofack et al. (2010) dans une étude sur l'utilisation ethnobotanique des plantes et la conservation de la biodiversité dans les forêts de la vallée de Nyong (Cameroun) ont répertorié *P. suaveolens* comme une espèce exploitée à l'échelle industrielle pour fabriquer du papier grâce à sa richesse en caoutchouc et en latex.

➤ Travaux antérieurs

Hocquemiller et al. (1981), en étudiant la composition chimique de l'huile essentielle d'écorces de *P. suaveolens* ont révélé la présence d'un sesquiterpène à noyau indole (polyvéoline) ; les essences des feuilles ont démontré une richesse en composés tels que le α -humulène (34,2%) et le β -caryophyllène (32,8%) ; l'huile essentielle des fruits est dominée par le myrcène (34,3%), le (Z)- β -ocimène (11,2%) (**Cravo et al., 1991**).

Par ailleurs l'activité antifilariale *in vitro* de *P. suaveolens* contre *Onchocerca guttorosa* mâle a été révélée et deux composés ont été isolés : le polycarpol et la polyveoline

(Nyasse *et al.*, 2006). Les composés carapolides A et oliverine ont montré une activité filaricide contre *Onchocerca volvulus* adulte (Titanji *et al.*, 1990).

L'activité antiplasmodiale *in vitro* de l'huile essentielle d'écorces de *P. suaveolens* a été mise en évidence avec comme produit majoritaire du β -caryophyllène (36,4%) et dans les feuilles, l' α -pinène (21,1%) et le β -pinène (22,5%) (Boyom, 2004).

L'extrait à l'hexane de l'écorce de tronc de *P. suaveolens* a démontré une activité trypanocide sur *Trypanosoma brucei* ; le polycarpol (triterpène) et la polyvéoline (alcaloïde indolesquiterpène) ont été isolés (Nyasse *et al.*, 2004). Lamidi *et al.* (2005) ont démontré une forte activité antiproliférative contre la forme promastigote des parasites de la leishmaniose et une bonne activité antifongique des extraits méthanoliques de *P. suaveolens* (CI₅₀ < 1mg/ml).

L'activité antiplasmodiale *in vitro* des fractions méthanoliques des brindilles et des écorces de *P. suaveolens* a été démontrée sur la souche W2 et K1 de *Plasmodium falciparum* avec des CI₅₀<5 μ g/ml (Boyom *et al.*, 2011 ; Ngoutane *et al.*, 2017)

1.3.1.3.2 *Polyalthia oliveri*

➤ Usages ethnobotaniques

Polyalthia oliveri est une plante originaire d'Afrique tropicale. Au Congo Brazzaville cette plante est utilisée par les tradipraticiens comme hypotensive (Adjanohoun *et al.*, 1979).

➤ Travaux antérieurs

Le polycarpol, composé triterpénique a été isolé des extraits éthéro-pétroléique des écorces de tronc de *P. oliveri* (Hammonière *et al.*, 1976).

Les fractions méthanoliques riches en acétogénines des écorces de *P. oliveri* ont montré une inhibition sur la souche W2 de *Plasmodium falciparum* avec CI₅₀ 4, 30 μ g/ml (Boyom *et al.*, 2009)

1.3.1.4 Le genre *Uvaria*

Le genre *Uvaria* regroupe les espèces de plantes des buissons à arbustes, généralement lianeux ou sarmenteux, le plus souvent à poils étoilés. Les fleurs peuvent être bisexuées, unisexuées ou caduques. Les fruits contiennent de nombreuses graines entourées d'une excroissance (Troupin, 1982).

I.3.1.4.1 *Uvaria angolensis* (Engl. et Diels)

Nom vernaculaire : Nosonaback (Yambetta), *Uvaria bukobensis* (Engler et Diels), *Uvaria nyassensis* (R.E.Fries), *Uvaria variabilis* (De Wild)

➤ **Botanique**

C'est une liane ou un arbuste atteignant 6 m de hauteur. Les feuilles sont à pétiole long de 3-10 mm. Les fleurs sont jaunes, solitaires, ou en cymes condensées. Le pédicelle est court, d'environ 4-6 mm et les sépales sont soudés en cupule dans le bouton. Les fruits sont à pédicelle long de 7-10 mm ; les méricarpes sont cylindriques, longs de 1,3-4 cm et larges de 6-20 mm. Les graines sont bisériées, d'environ 1 cm de longueur à maturité, à testa brillant brun-noirâtre (**Le Thomas, 1969**).



Figure 8: Tige feuillée d'*Uvaria angolensis* (**Toghueo, 2011**)

➤ **Ecologie**

Uvaria angolensis est une espèce de galeries forestières, de forêt dense humide et des forêts rivulaires. Elle est très largement répandue en Afrique, de la Sierra Leone à la République Centrafricaine jusqu'en Rhodésie du Nord (**Le Thomas, 1969**).

➤ **Travaux antérieurs**

Les investigations menées sur les racines d'*Uvaria angolensis* par **Hufford et al. (1980)** ont permis d'isoler et d'identifier de nouvelles molécules dont deux dihydrochalcones (angoletine et uvangoletine) et deux C-benzylidihydrochalcones (uvaretine et isouvaretine). **Hufford et al. (1982)** ont isolé des écorces des racines d'*Uvaria angolensis* collectées au Nigéria huit dihydrochalcones (C-benzylés ou C-méthylés) et des flavanones. **Muhammad et Waterman (1985)** ont montré que les écorces du tronc d'*Uvaria angolensis* récoltées dans le Parc national de Gombe en Tanzanie contiennent du benzoate de benzyle, un nombre connu de dihydrochalcone C-benzylé et quatre indoles C- et N-benzylés:

uvarindoles A-D. De même, en 1988, ils ont isolé trois uvarisesquiterpènes (nommés A, B et C) des écorces du tronc de cette plante

Hufford et al. (1987) ont isolé l'angoluvarine d'*Uvaria angolensis* et ont montré qu'elle possédait une activité antimicrobienne sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Mycobacterium smegmatis* avec des CMI de 0,78µg/ml, 1,56µg/ml et 3,12 µg/ml respectivement. **Boyom (2004)** a montré que les huiles essentielles extraites de l'écorce de tronc et des feuilles d'*Uvaria angolensis* possédaient une activité antiplasmodiale sur la souche W2 de *plasmodium falciparum* avec des IC₅₀ de 19,76µg/ml et 35,02µg/ml respectivement.

I.3.1.4.2 *Uvaria muricata* (Engl. et Diels)

Synonyme *Uvaria muricata* var. *suaveolens* (Louis ex Boutique) Le Thomas

➤ Botanique

C'est une liane atteignant 8 cm de diamètre ; rameaux glabres. Les feuilles sont à pétiole long de 5-15 mm. Les fleurs sont jaunes, solitaires, à pédicelle grêle, long de 10-22 mm. Les fruits sont à pédicelle long de 2-4 cm ; méricarpes orangés, globuleux à subglobuleux, de 10-18 mm de diamètre, à péricarpe ligneux. Les graines sont oblongues-aplaties, longues de 10mm environ, larges de 5-6 mm à testa brun ponctué (**Le Thomas, 1969**).



Figure 9: Tige feuillée d'*Uvaria muricata* (**Toghueo, 2011**)

➤ Écologie

Au sens large, cette espèce occupe toute l'Afrique Centrale, où elle est représentée par trois variétés. **Tisserant (1956)** avait déjà reconnu la variété *yalingensis* en République Centrafricaine, distincte par les méricarpes de celle retrouvée au Cameroun. Elle semble spécifique des régions plus sèches (**Le Thomas, 1969**).

Dans la littérature, nous n'avons pas pu retrouver les données sur l'utilisation traditionnelle de cette plante. Cependant, plusieurs espèces du genre *Uvaria* (*Uvaria chamae*, *Uvaria afzelii*) sont traditionnellement utilisées dans le traitement de la dysenterie, des douleurs abdominales et pour la cicatrisation des plaies (**Adjanooun et al., 1979**).

I.3.1.4.3 *Uvaria baumanii* (Engl. et Diels)

Très peu d'informations sont disponibles sur cette espèce dans la littérature. Néanmoins, **Focho et al** dans une revue publiée en 2010 ont relevé le fait que les décoctions des feuilles mélangées avec du piment ainsi que celles des écorces de cette plante sont pris oralement en médecine traditionnelle au sud-ouest du Cameroun pour traiter la fièvre, la toux, les bronchites, le mal d'estomac et la jaunisse. Et aussi, sont administrées comme cataplasme par voie topique pour traiter les vieilles blessures.

I.3.1.5 Le genre *Uvariastrum*

Le genre *Uvariastrum* regroupe les espèces de 4 à 10 m de hauteur qui atteignent 15 cm de diamètre et répandues en Afrique tropicale (**Muhammad et Hassan, 1987**).

I.3.1.5.1. *Uvariastrum zenkeri*

C'est une espèce de forêt vierge avec une écorce brunâtre et fissurée longitudinalement (**Hutchinson et Daziell, 1954**). Elle est assez répandue en Afrique tropicale. La pharmacopée locale n'indique aucun usage spécifique à cette espèce.

I.3.1.6 Le genre *Uvariadendron*

I.3.1.6.1. *Uvariadendron calophyllum* R.E Fries

C'est un arbre ou arbuste de 5 à 10 m de hauteur, à tronc court très rameux et penché, aux feuilles à pubescence courte et brune et aux méricarpes rétrécis aux deux extrémités (**Le thomas, 1969**). Aucun usage de cette espèce n'est signalé dans la pharmacopée locale. D'autre part, **Zeuko'o et al. (2012)** ont démontré son activité antifongique.

I.3.1.6.2. *Uvariadendron moludense* R.E. Fries

Cette espèce n'a fait l'objet d'aucun usage dans la pharmacopée à notre connaissance.

I.3.1.7 Le genre *Xylophia*

Le genre *Xylophia* regroupe des arbres à fût généralement étroit et relativement élevé, coiffé d'une cime à rameaux étalés horizontalement, ou alors des arbustes, glabres ou

indument de poils simples. Les boutons floraux sont ovoïdes ou le plus souvent lancéolés. Les fleurs, hermaphrodites sont axillaires, solitaires, en cyme ou fasciculées. Au nombre de trois, les sépales sont valvaires, plus ou moins soudés à la base, beaucoup plus courts que les pétales. Les pétales sont au nombre de six, libres, disposés en deux cycles valvaires, épais, dressés ou étalés ou le plus souvent linéaires, élargis et concaves à la base. Les étamines sont nombreuses, linéaires, à filets courts, articulés. Les carpelles en nombre variables (3 à 34) sont libres. Les ovaires sont ovoïdes à ovoïdes-oblongs. Les fruits sont à péricarpes nombreux, cylindriques ou ovoïdes, stipités ou sessiles. On y compte 1 à 8 graines unisériées, verticales ou obliques, bisériées et horizontales (**Burkill, 1985**).

Le genre *Xylopi*a est l'un des plus importants de la famille des Annonaceae avec environ 150 espèces. Il est représenté en Afrique par une trentaine d'espèces environ, pour la plupart en zone forestière (**Burkill, 1985**). Dans ce genre nous avons étudié les graines de trois espèces : *Xylopi*a *aethi*o*pica* (Dunal) A. Rich, *Xylopi*a *africana* (Dunal) A. Rich et *Xylopi*a *parviflora* (A. Rich) Benth.

I.3.1.7.1. *Xylopi*a *aethi*o*pica* (Dunal) A. Rich.

Synonyme : *Xylopi*a *eminii* Engl

Noms communs : Poivrier de Guinée, poivrier d'Ethiopie (Français) ; « Ethiopian pepper », « african pepper » (Anglais).

Noms vernaculaires : « netsham » (Bangangté), « ikoli » (Bassa), « ekur » (Bulu), « ebondo mbonji » (Douala), « kembare » (Ffuldéd), « akwi » (Ewondo), « Tchimba » (Tchad).

➤ Botanique



Figure 10: Fruit de *Xylopi*a *aethi*o*pica* A. Rich (**Eke, 2012**)

C'est un arbre atteignant 30 m de hauteur et 70 cm de diamètre, à petits contreforts ailés à la base, à fût droit cylindrique. Les branches sont étalées horizontalement et ascendantes au bout ; la cime conique et le feuillage vert sombre. L'écorce est brun-grisâtre à rougeâtre, fissurée avec une tranche d'environ 1 cm d'épaisseur, fibreuse, brun jaunâtre à lignes claires ou foncées, odorante. Les feuilles sont alternes, simples avec des limbes elliptiques atteignant 20 x 9 cm; des nervures latérales peu visibles et un pétiole long de 2-6 mm. Les inflorescences sont en fascicules de 2-6 fleurs ou fleurs solitaires, trimères d'environ 5cm de longueur, de couleur blanchâtre, très odorantes, hermaphrodites ; de nombreuses étamines et de nombreux carpelles sont libres et pubescents. Le pédicelle est épais, long d'environ 1cm. Les fruits sont en grappes de 20-30 follicules cylindriques, atteignant 6 x 1 cm, légèrement étranglés entre les graines, rouge-brun à l'extérieur, se retournant complètement après déhiscence et rouge vif à l'intérieur. Les graines sont au nombre de 4 à 9, unisériées, verticales mesurant 7-5 x 4-2 mm, brun luisant avec un arille orangé, à odeur poivrée (**Burkill, 1985 ; Achoundong et al., 2003**).

➤ **Ecologie**

Originnaire d'Afrique tropicale, le poivrier d'Ethiopie est une espèce restreinte surtout à la zone guinéenne, du Sénégal à l'Angola, Mozambique et au Cameroun dans les lisières de forêt, les galeries forestières, les recrûs broussailleux et dans les savanes à *Terminalia glaucescens*. C'est une espèce des milieux humides qui se rencontre en individus isolés, supporte les sols légèrement salés en s'intégrant aux communautés végétales côtières (**Burkill, 1985**).

➤ **Usages ethnobotaniques**

Les graines de *Xylopiya aethiopica* sont utilisées comme condiment aussi bien à l'état frais qu'après séchage (**Vivien et Faure, 1995 ; Carriere, 2000**) ou encore comme succédané du poivre pour épicer divers mets en Afrique. Il en est de même pour l'écorce moulue qui s'utilise chez les Banen du Cameroun pour assaisonner la pâte de banane plantain aux feuilles de macabo (**Noumi, 1984**). Les racines, aussi aromatiques que les graines, sont plutôt utilisées en décoction concentrée contre les maux de dents (**Burkill, 1985**). La décoction de feuilles s'emploie contre les rhumatismes ou comme vomitif. La pulpe et l'épicarpe du fruit sont utilisés dans la composition d'une potion contre l'herpès vaginal.

Xylopi *aethi* *opica* intervient également dans le traitement de l'asthme (**Tabuna, 2000**). Au Tchad, les fruits servent comme condiment aromatique et les tradipraticiens utilisent le décocté pour le traitement des bronchites et de la dysenterie.

➤ Travaux antérieurs

Lamaty et al. (1987) ont analysé la composition chimique de l'huile essentielle des fruits de *Xylopi* *aethi* *opica* récoltés à Yaoundé (Cameroun) et ont montré qu'elle est majoritairement constituée de sabinène (23,9%), β -pinène (17,4%), terpinèn-4-ol (12,9%), α -pinène (8,8%) et de α -phellandrène (6,9%). **Koba et al. (2008)** ont révélé que l'huile essentielle des fruits de *Xylopi* *aethi* *opica* récoltés à Lomé (Togo) dont les constituants majoritaires sont le β -pinène (23,6%), l' α -pinène (11%), le sabinène (9,6%), le germacrène D (8,3%) et le 1,8-cineole (8,2%), ne présente aucun effet cytotoxique sur les lignées cellulaires (HaCaT) normales de l'épiderme avec une CI_{50} supérieure à 3000 μ g/ml. **Choumessi et al. (2012)** ont montré que les extraits éthanoliques des fruits de *Xylopi* *aethi* *opica* du Cameroun présentent une activité antiproliférative sur les lignées des cellules cancéreuses (HCT116 colon cancer, U937 et KG1a leukemia cells) avec des CI_{50} de 12 μ g/ml, 7,5 μ g/ml et supérieure 25 μ g/ml respectivement.

Garry et al. (1997) en étudiant la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne ont rapporté que l'huile essentielle des fruits de *Xylopi* *parviflora* est riche en composés décrits précédemment par **Lamaty et al. (1987)** et inhibe la croissance de *Candida albicans* avec une CMI de 4 mg/ml. **Soro et al. (2010)** ont montré que la poudre et l'huile essentielle des fruits de *Xylopi* *aethi* *opica* sont fongicides contre *Fusarium oxysporum f.sp radidis-lycopersici* (mycopathogène tellurique qui crée le plus de dégâts et dommages en cultures de tomate par la fonte du semis et la pourriture des collets et/ou des tiges en Côte d'Ivoire) avec des CMI de 1 g/l et 50 ppm respectivement. Ces extraits peuvent être utilisés en lutte biologique.

Certains produits cosmétiques utilisés au Cameroun comportant des huiles essentielles de *Xylopi* *aethi* *opica* (**Awono et al., 2003**). **Boyom et al. (2003)** ont montré une activité antiplasmodiale de ces huiles sur *Plasmodium falciparum* W2 avec une CI_{50} de 17,80 μ g/ml.

I.3.1.7.2 *Xylopiya africana*

Synonyme: *Melodorum africanum* Benth.

➤ Botanique

C'est un arbre persistant. Les feuilles sont obovales elliptiques (long : 9-16 cm, large : 4-7,5 cm), à la base subcuneiforme. Les fleurs sont à sépales ovales triangulaires (long : 5 mm) et à pétales externes ovales.



Figure 11: Graines et coques de *Xylopiya africana* Benth.

➤ Ecologie

Xylopiya africana est une espèce de plante de la famille Annonaceae. Elle se trouve au Cameroun, au Nigeria et à São Tomé et Príncipe. Ses habitats naturels sont des forêts de plaine humide subtropicales ou tropicales et les forêts montagnardes humides subtropicales ou tropicales. La plus grande densité de *Xylopiya africana* se trouvait dans la réserve forestière de Bali-Ngemba dans la région du Nord-Ouest, Cameroun. Cette espèce autrefois commune dans tout le Plateau Bamiléké et Bamenda Highlands y a pratiquement disparu (**Cheek et al., 2014**).

➤ Usages ethnobotaniques

Les graines de *Xylopiya africana* sont utilisées comme succédané du poivre pour épicer divers mets en Afrique. Il en est de même pour l'écorce moulue qui s'utilise chez les Banen (Cameroun) pour assaisonner la pâte de banane plantain aux feuilles de macabo (**Noumi, 1984**). La décoction de feuilles s'emploie contre les rhumatismes ou comme vomitif. La pulpe et le fruit sont utilisés comme décoction contre les infections (**Burkill, 1985**).

I.3.1.7.3 *Xylopia parviflora* (A. Rich) Bentham

Synonymes: *Uvaria parviflora* A. Rich. ; *Xylopia vallonii* Chipp.

Nom commun : Poivrier de Sedhiou

Noms **vernaculaires** : « mbatou'ou » (Bangangté), « odjobi » (Ewondo), « Kakdoum » (Tchad).



Figure 12: *Xylopia parviflora* (A. Rich) Bentham.

➤ **Botanique**

C'est un petit arbre ou arbuste atteignant 20 m de hauteur, 60 cm de diamètre et possédant une base avec 4-8 contreforts s'élevant jusqu'à 2-3 m de hauteur ; un fût court, un houppier avec de nombreuses branches horizontales, des rameaux retombants lenticelles et une écorce brune, lisse, tranche fibreuse jaune orangé. Les feuilles sont alternes, simples avec un limbe elliptique ou oblong, atteignant 10 × 4 cm, subcoriace; un sommet acuminé, à nervures latérales peu visibles ; un pétiole pouvant mesurer jusqu'à 6 mm de longueur. Les inflorescences sont en fascicules de 2 -3 fleurs, ou fleurs solitaires. Les fleurs sont trimères, longues de 3-5 cm, verdâtres avec étamines nombreuses ; 4-6 carpelles libres, pubescentes ; un pédicelle grêle pouvant mesurer jusqu'à 1,5 cm de longueur. Les fruits sont à follicules cylindriques atteignant 4 × 1,5 cm et sont groupés par 3-5 légèrement étranglés et plus ou moins côtelés longitudinalement, verts à l'extérieur, se retournant complètement après déhiscence, rouges à l'intérieur. Les graines sont jusqu'à 10, bisériées horizontales ; mesurant 1-1,5 × 0,5-0,7 × 0,5 cm ; vertes quand elles sont fraîches, brunes quand elles sont sèches ; le poids moyen étant de 0,5 g par graine sèche (**Achoundong et al., 2003**).

➤ **Ecologie**

C'est une espèce d'Afrique tropicale, de la Casamance à l'Angola, du Soudan au Zimbabwe, au Cameroun et au Tchad au bord des rivières, en forêt dense et dans les galeries forestières (**Burkhill, 1985**).

➤ Usages ethnobotaniques

La pulpe poivrée de la graine de *Xylopi*a *parviflora* est utilisée comme condiment après séchage et comme plante médicinale. Ses racines et ses feuilles sont efficaces dans le traitement de la toux et du rhume. Les racines entrent dans le traitement de la lèpre, du chancre syphilitique, de l'impuissance sexuelle, de la dysenterie, du kwashiorkor, de la jaunisse, etc. En association, les racines, les feuilles et les écorces soignent les céphalées, les oreillons, les otites, la conjonctivite (Vivien et Faure, 1995 ; Arbonnier, 2004). Au Tchad, les pulpes de graines servent de condiment et les tradipraticiens utilisent le décoté des racines et des feuilles pour calmer les douleurs intestinales et soigner la rougeole.

➤ Travaux antérieurs

Lamaty *et al.* (1989) ont analysé la composition chimique de l'huile essentielle des fruits de *Xylopi*a *parviflora* récoltés à Bayagam (Cameroun) : elle est constituée de β -pinène (40,0%), α -pinène (14,0%), (E)- β -ocimène (5,4%), trans-pinocarvéol (2,7%) et de myrténol (2,6%). Boyom (2004) a étudié la composition chimique de l'huile essentielle des écorces de *Xylopi*a *parviflora* et a révélé qu'elle est riche en monoterpènes (50,78%) et en sesquiterpènes (47,11%) avec comme composés majoritaires le cypérène (20,2%) et le β -pinène (10,07%). Woguem *et al.* (2014) ont montré que l'huile essentielle des fruits de *Xylopi*a *parviflora* récoltés dans le département du Ndé (Ouest-Cameroun) est riche en β -pinène (34,0%), α -pinène (10,3%), trans-pinocarvéol (5,0%) et myrténol (4,6%).

Garry *et al.* (1997), étudiant la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, ont reporté que de l'huile essentielle des fruits de *Xylopi*a *parviflora* riche en composés décrits précédemment par Lamaty *et al.* (1989), inhibe la croissance de *Candida albicans* avec une CMI de 4 mg/ml comme observé avec *Xylopi*a *aethiopica*. L'écorce de *Xylopi*a *parviflora* constituée des isoquinolines bioactifs quaternaires possède des propriétés analgésiques et antispasmodiques (Nishiyama *et al.*, 2004). Kuate *et al.* (2011) ont révélé que les extraits hydroéthanolique et éthanolique des graines de *Xylopi*a *parviflora* possèdent une forte activité antioxydante par l'inhibition de l'oxydation de la LDL, et de l'acide α -linoléique. Woguem *et al.* (2014) ont montré que l'huile essentielle des fruits de *Xylopi*a *parviflora* possède des propriétés antiradicalaire, anti-inflammatoire, antimicrobienne et anti-tumorale.

Boyom (2004, 2011) a montré que l'huile essentielle et les extraits méthanolique et éthanolique des graines et écorces de *Xylopi*a *parviflora* est dotée d'une activité

antiplasmodiale sur la souche W2 de *Plasmodium falciparum* en culture avec une CI_{50} de variant 3.44 à 11,31 µg/ml.

I.3.1.8 Le genre *Anonidium*

Anonidium est un genre natif d'Afrique Tropicale groupant cinq espèces parmi lesquelles *Anonidium floribundum*, *Anonidium friesianum*, *Anonidium letestui*, *Anonidium unsambarensis* et *Anonidium manni* (**Le Thomas, 1969**). C'est cette dernière qui a fait l'objet de notre étude.

I.3.1.8.1 *Anonidium manni*

Anonidium manni (Oliv.) appartient au règne végétal, embranchement des Magnoliophyta, Classe des Magnoliopsida, Ordre des Magnoliales, Famille des Annonaceae, Genre *Anonidium*, et Espèce *A. manni*.

Synonymes : *Uvaria crassipetela*, *Uva crassipetela*, *Annona manni*, *Anonidium manni* var *zenkeri* (**Le Thomas, 1969**).

Noms Communs : Jungle Sop (Anglais) ; Corossolier sauvage (Français) (**Le Thomas, 1969**).

Noms vernaculaires : Mombou kombo (Kaka) ; Bom (Badjoue).

➤ Description botanique

A. manni (Oliv.) est un grand arbre de 8 à 12 m de hauteur, le tronc court, légèrement tordu et cannelé a un diamètre compris entre 8 et 30 m, une cime dense à branches retombantes, des feuilles à pétiole long de 3 à 7 cm pubérulent glabre, une limbe papyracée subcoriace, elliptique oblong longue de 20 à 45 cm et large de 7 à 18 cm, une base arrondie subcordée, sommet acuminé à acument atteignant 2 à 3 cm de longueur, une nervure médiane imprimée au-dessus très proéminent, des inflorescences naissant sur le tronc ou sur les rameaux défeuillés, une cyme unipare de 3 à 4 cm de longueur pubérulente et des fleurs à pédicelles épais, longues de 1 à 7 cm. Les fruits sont des syncarpes gros de 25 à 50 cm de longueur et de 10 à 30 cm de largeur pouvant peser 10 kg. Ils contiennent de nombreuses graines longues de 2 à 5 cm, aplaties, noyées dans une pulpe épaisse (**Le Thomas, 1969**).

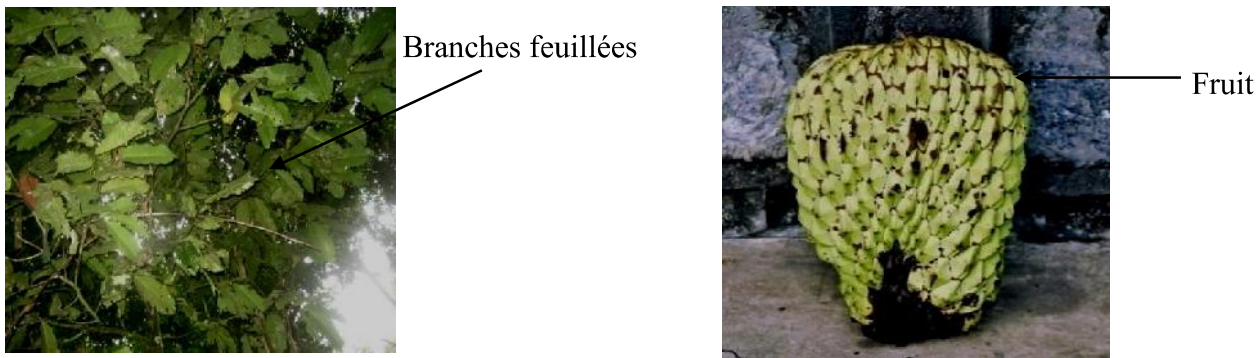


Figure 13: Branche feuillée et Fruit d'*Anonidium mannii* (Photos Kengni, 2011)

➤ **Ecologie**

A. mannii est une espèce de forêt dense. Cette espèce est abondante en Afrique Centrale principalement au Cameroun, au Gabon, en Centrafrique et en Angola (Le Thomas, 1969).

➤ **Usages ethnopharmacologiques**

Les différents organes d'*A. mannii* en décocté ou en infusion sont couramment utilisés en médecine traditionnelle pour les traitements de la syphilis, de la typhoïde, des diarrhées, des morsures de serpent (Ndoye *et al.*, 1998; Noumi *et al.*, 2001; Betti, 2004) et du paludisme dans les régions du Centre et du Sud du Cameroun (Tsabang *et al.*, 2012) de même qu'au Gabon (Akendengue *et al.*, 2005).

➤ **Travaux antérieurs**

A. mannii est l'une des espèces la moins étudiée de la famille des Annonacées.

Boyom *et al.* (2011) ont évalué l'activité antiplasmodiale *in vitro* et la toxicité aiguë des extraits bruts éthanoliques, des fractions méthanoliques riches en acétogénines, des fractions aqueuses, des interfaces et fractions hexaniques des feuilles et brindilles d'*A. mannii*. Ils ont montré que les fractions les plus actives sont les fractions méthanoliques avec des CI₅₀ variant de 2,04 à 2,84 µg/ml sur la souche résistante à la chloroquine du *Plasmodium falciparum* W2. Ces fractions se sont également montrées faiblement toxiques.

Les travaux d'Akendengue *et al.* (2005), ont par contre montré une absence d'activité antiplasmodiale des tiges d'*A. mannii* récoltées au Gabon sur la souche *Plasmodium falciparum* chloroquino-résistante KI.

I.3.2 Famille des Verbenaceae

Les caractères généraux de la famille des Verbenacées sont les suivants :

- **Règne** : *Plantae*
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : Lamiales

Les Verbenacées sont des végétaux caractérisés par des tiges et/ou des rameaux quadrangulaires et sans stipules. Les feuilles sont simples, opposées ou disposées en verticilles, ou composées digitées, la base de pétiole est parfois transformée en épines (chez *Clérodendrum*). L'inflorescence est en épis, racèmes ou corymbes, avec des fleurs bisexuées, parfois unisexuées, régulières ou irrégulières. Le calice, avec ou sans tube, est 2-4-5-lobé ou –denté, rarement quasi tronqué et la corolle à pétales libres, a la forme de tube dans la partie inférieure souvent courbée, parfois enflé à la base, à 4-5 lobes ou plus, régulière ou bilatérale. Les étamines inégales, insérées sur le tube de la corolle et alternant avec les lobes, ont des anthères à loges divergentes, l'ovaire supère, entier ou lobé, 2-4 loculaires ; l'ovule est solitaire dans chaque loge et le style est souvent longuement exsert, entier, bifide ou parfois 4-lobé avec des fruits ressemblant à des drupes contenant de nombreuses graines (**Troupin, 1982; Hutchinson et al., 1963**). Cette famille possède une trentaine de genres parmi lesquels le genre *Vitex*

I.3.2.1 Le genre *Vitex*

Le genre *Vitex* est taxonomiquement complexe avec plus de 250 espèces d'arbres, arbustes, lianes et herbes très répandues en zone de climat tropical (**Mabberley, 1997**) et utilisées en pharmacopée traditionnelle (**Neuwinger, 2000 ; Burkill, 1985**). Ces arbres et arbustes ont des feuilles opposées, rarement disposées en verticilles de 3 ; un limbe foliaire composé digité, à 3-7 folioles, rarement 1 foliole (**Troupin, 1982**). L'inflorescence est terminale en cimes disposées en panicules terminales ou en capitules, bractée rarement plus longue que le calice (**Troupin, 1982**). Les fleurs sont régulières ou irrégulières avec le calice en forme de cloche, tronqué ou 5-lobé, corolle 5-lobé ou bilabiée, à tube cylindrique ou en étroite cloche; les étamines sont 4, insérées au milieu du tube de la corolle, à filet épais, glandulaire, poilu à la base; les loges des anthères sont divergentes; l'ovaire est incomplètement 4-loculaire, un ovule par loge; un style robuste, cylindrique ; Le stigmate est

bifide (**Troupin, 1982**). Les drupes sont rarement entourées du calice accrescent (**Troupin, 1982**). En Afrique, ce genre est représenté par 87 espèces réparties dans deux genres : *Vitex* et *Holmskioldiopsis* (**Bredenkamp et Botha, 1993**).

I.3.2.1.1 *Vitex rivularis* Gürke

Nom vernaculaire: « Likomba » (Bakoko)

Synonyme: *Vitex cilio-foliata*

➤ **Botanique**



Figure 14: *Vitex rivularis* Gürke (**Taffou, 2016**)

Vitex rivularis est un arbre d'environ 15m de haut avec des feuilles longues 5-7 digitolobées, légèrement oblancéolate entières, un calice 5-lobé, glandulaire, fortement accrescent, avec une inflorescence bleue lilac, bilabiale et glandulaire, des fleurs blanches, des fruits ellipsoïdes d'environ 2mm de long (**Hutchinson et al., 1963**).

➤ **Ecologie et usages ethnopharmacologiques**

Vitex rivularis se rencontre surtout en Afrique tropicale de l'Ouest et sub-tropicale. Il pousse en forêt dense et en altitude, et peut faire l'objet de culture. (**Neuwinger, 2000 ; Hutchinson et al., 1963**).

La plante est utilisée dans le traitement de l'épilepsie ainsi que de nombreuses maladies de la peau (dartre, teigne). L'extrait obtenu par macération en solution aqueuse des feuilles est une boisson tonique pour les nouveaux-nés (**Neuwinger, 2000**). Les fruits sont comestibles.

I.3.2.1.2 *Vitex grandifolia* Cienkowskii Kots. et Peyr.

Synonymes : *Vitex bipindensis*, *Vitex lutea*

Nom commun et vernaculaire : Kayu masam, Gakoloy, Gambir

➤ **Botanique**



Figure 15: *Vitex grandifolia* Cienkowskii Kots. et Peyr. (Taffou, 2017)

Vitex grandifolia est un grand arbre (plus de 20 m de haut), avec de larges feuilles pentalobées de couleur vert-jaune, et des fleurs brunes jaunes.

➤ **Ecologie et usages ethnopharmacologiques**

Vitex grandifolia se rencontre en forêt dense ou en forêt secondaire et peut faire l'objet de culture. La poudre des feuilles calcinées est utilisée contre les dartres, la gale et d'autres affections de la peau, les fruits sont comestibles (Neuwinger, 2000).

➤ **Travaux antérieurs sur *Vitex rivularis* et *Vitex grandifolia***

Peu d'études ont porté sur ces deux plantes. Cependant, en 2008, Taffou a étudié le profil chimique et le potentiel antifongique de l'huile essentielle des feuilles de *V. rivularis* et des extraits méthanoliques des feuilles et branches de *V. rivularis* et *V. grandifolia*. Cette étude a montré que l'huile essentielle des feuilles de *V. rivularis* est très pourvue, avec 39 composés identifiés, le Germacrène D comme composé majoritaire (20%) et 78% de terpènes ; elle est très active contre les champignons, surtout les dermatophytes tandis que les extraits méthanoliques des feuilles et branches sont très actifs contre les champignons de tout genre et espèce confondus. Les extraits des feuilles et branches de *V. grandifolia* sont

également très actifs sur ces germes. Les tests phytochimiques ont révélé que ces deux espèces contiennent des métabolites secondaires polyfonctionnels (antifongiques, antibactériens, antiviraux et autres...) tels que les composés phénoliques (flavonoïdes lato sensu), les alcaloïdes, les hétérosides, les terpènes et les stéroïdes. Certaines espèces du genre *Vitex* ont fait l'objet d'investigations : le *Vitex agnus castus* a conduit à la découverte de 2 molécules très utilisées de nos jours et standardisées en Agnuside et Casticine, pour soigner le syndrome prémenstruel (Agnolyt®), les irrégularités du cycle menstruel ainsi que la mastalgie (douleur aux seins) liée aux syndrome prémenstruel et l'infertilité féminine attribuable à une aménorrhée secondaire ou à une insuffisance lutéale (insuffisance en progestérone) (Blumenthal *et al.*, 2000 ; Pizzorno *et al.*, 2006).

Beaucoup d'autres travaux ont été réalisés sur la composition chimique et l'activité biologique des *Vitex* d'Europe, *V. agnus*, *V. castus* (Novak, 2005 ; Senatore, 1996) ainsi que de quatre espèces asiatiques à savoir *V. negundo*, *V. pseudo negundo*, *V. rotundifolia* et *V. trifolia* (Suksamrarn *et al.*, 1991 ; Mallavarapu, 1994 ; Kaul *et al.*, 2005).

Des études se sont intéressées à la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Vitex negundo* récoltées en Inde et ont révélé la présence de viridiflorol (19,55%), du beta-caryophyllène (16,59%), du sabinène (12,07%), du terpinen-4-ol (9,65%), du gamma-terpinène (2,21%) et de l'oxyde de caryophyllène (1,75%) comme composés majoritaires. Le viridiflorol a été identifié pour la première fois dans une huile essentielle de *V. negundo* (Singh *et al.*, 1999). Un flavonoïde glycosidique ayant une activité antifongique a été isolé de la même plante (Sathiamoorthy *et al.*, 2007).

Toutefois, l'étude de la composition chimique des huiles essentielles et de leurs activités antifongiques ont été publiées tout d'abord pour une espèce du sous-genre *Vitex*, *V. ferrugina* (Cabral *et al.*, 2007) et pour 5 espèces du sous-genre Sud-Africain, *Holmskioldiopsis*: *V. obovata* sous espèce *obovata*, *V. obovata* sous-espèce *wilmsii*, *V. pooara*, *V. rehmannii* et *V. zeyheri* (Nyiligara *et al.*, 2004).

Des études récentes ont montré que les extraits des feuilles et d'écorces d'un *Vitex* de la flore gabonaise, *Vitex madiensis* Oliv. (*Lamiaceae*) ont des vertus antiplasmodiales et cytotoxiques (Ondo *et al.*, 2012).



CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel végétal

Les plantes des familles des Verbenaceae et Annonaceae ont été récoltées par convenance en fonction de leur disponibilité. Le matériel végétal était constitué des feuilles, brindilles, tiges, branches, écorces, racines et fruits d'*Annona muricata* Linn, *Anonidium manni* Gaertn (D. Oliver) Engl. & Diels, *Monodora myristica* (Gaertn.) Dunal, *Polyalthia oliveri* Engl., *Polyalthia suaveolens* Engl. & Diels, *Uvaria angolensis* Engl. & Diels, *Uvaria muricata* Engl. & Diels, *Uvaria baumanii* Engl. & Diels, *Uvariastrum zenkeri* Engl. & Diels, *Uvariadendron calophyllum* R.E Fries, *Uvariadendron molundense* (Engl. & Diels), *Vitex grandifolia* Cienkowski Kots and Peyr, *Vitex rivularis* (Gürke), *Xylopi aethiopica* (Dunal) A Rich, *Xylopi africana* (Benth) Oliv, et *Xylopi parviflora* A Rich, récoltés à Yaoundé (Mont Kala) et à Kribi en Septembre 2011 avec l'aide de M. Nana Victor, Botaniste à l'Herbier Nationale de Cameroun. Ces espèces végétales ont été authentifiées à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé par comparaison à l'aide des spécimens. Le nom des plantes, les numéros d'identification et les organes utilisés sont regroupés dans le Tableau III ci-dessous.

Les échantillons ont ensuite été découpés puis séchés au laboratoire à température ambiante 25°C pendant deux semaines jusqu'à obtention d'un poids constant. Enfin, les différents organes secs ont été broyés pour obtenir une poudre fine.

1Tableau III: Plantes étudiées et quelques applications ethnopharmacologiques

Plantes et numéros d'identification	Famille	Noms vernaculaire	Site de récolte	Utilisation traditionnelle	Etudes antérieures	Organes	Méthode de préparation
<i>1-Annona muricata</i> 32879/HNC		Saba Saba (Douala) Ebom beti (Ewondo) Kwophonkwop (Bamoun) Falo (Bamenda)	Yaoundé	Fièvre, Maux de tête, Asthme, paludisme, douleurs, constipations, diarrhée, dermatoses, hypertension, rhumatisme, infections parasitaires.	Activités anthelminthique, antiplasmodiale, antiparasitaire, antimicrobienne, antipyrétique, sédatif, antispasmodique, hypotensive, anticonvulsivante, digestive, antitumorale et anticancéreuse (pinto <i>et al.</i> , 2005)	Feuilles, brindilles, péricarpes, pulpe de fruits et graines	Macération
<i>2-Anonidium mannii</i> Gaertm 45582HNC	Annonaceae		Mont Kala	Infertilité masculine, Complication de la grossesse, accouchement, traitement de l'abcès	Activité antimycobactérienne	Feuilles et brindilles	Macération

Plantes et numéros d'identification	Famille	Noms vernaculaire	Site de récolte	Utilisation traditionnelle	Etudes antérieures	Organes	Méthode de préparation
3-Monodora myrsitica 1927/SRFK		Medjeng Mendak(Bamiléké), Pébé(Douala), Ding(Ewondo) Ikoma(bassa), Ozek(Boulou) Ariwo(Tchad)	Yaoundé	constipations, maux de tête, douleurs, mal d'estomac, fiébrilité, mal des yeux et hémorroïdes	Activités antimalariale, cytotoxique (Bakamga-Via <i>et al.</i> , 2014), antibactérienne et antifongique (Tatsadjieu <i>et al.</i> , 2003)	Feuilles, brindilles écorce de tronc	Macération
4-Polyalthia oliveri 19416SRF/Cam		/	Mont Kala	Paludisme	Antiplasmodiale (Boyom <i>et al.</i> , 2009)	Feuilles, brindilles écorce de tronc	Macération
5-Polyalthia suaveolens 1227/SRF/CAM		Afoumengen, Otungui Ntounga (Pygmees Bakola))	Mont Kala	Dysménorrhées	Activité antimalariale (Cushnie and Lamb, 2005)	Feuilles, brindilles écorce de tronc	Macération
6-Uvaria angolensis 16797/SRF/CAM		Nosonaback (Yambetta)	Mont Kala	Douleur abdominale, dysentérie	Activités antiplasmodiale antimicrobienne (Hufford <i>et al.</i> , 1987)	Feuilles, brindilles et tige	Macération

Plantes et numéros d'identification	Famille	Noms vernaculaire	Site de récolte	Utilisation traditionnelle	Etudes antérieures	Organes	Méthode de préparation
<i>7-Uvaria baumanii</i> 6427/SRF/CAM		/	Mont Kala	Fatigue, abcès	Antimycobactérienne (Donkeng <i>et al.</i> , 2014)	Feuilles, brindilles	et Macération
<i>8-Uvaria muricata</i> HNC 6415/SRF/CAM		/	Mont Kala	Douleur abdominale, dysentérie	Activité antifongique (Toghueo <i>et al.</i> , 2012)	Feuilles, brindilles et tige	Macération
<i>9-Uvariastrum zenkeri</i> 57355HNC		/	Mont Kala		Activité antimycobactérienne (Donkeng <i>et al.</i> , 2014)	Feuilles, brindilles	et Macération
<i>10-Uvari dendron calophyllum</i> 28734/SFR/CAM		Obom ossoé	Mont Kala	Paludisme	Activités antifongique, antioxydante (Horiuchi <i>et al.</i> , 2007) et antiplasmodiale (Hufford <i>et al.</i> , 1987)	Feuilles, brindilles, écorce de tronc	Macération

Plantes et numéros d'identification	Famille	Noms vernaculaire	Site récolte	Utilisation traditionnelle	Etudes antérieures	Organes	Méthode de préparation
<i>11-Uvariadendron molundense</i> 41685HNC		Ojobilobe	Mont Kala	Paludisme	Activités antifongique antioxydante (Horiuchi <i>et al.</i> , 2007)	Feuilles et brindilles	et Macération
<i>12-Xylopiya aethiopica</i> 28725/SFR/Cam,		Netsham (Banganté), ebongo mbonji (Douala) (Bassa), ekur (Bulu), kembare(Fulfulde), Akwi(Ewondo) Tchimba(Tchad)	Kribi	ulcère de buruli, Troubles respiratoires, Mal d'estomac, bronchite et dysentérie	Activités antiplasmodiale (Boyom <i>et al.</i> , 2004), cytotoxique, antiproliférative (Bakarnga-Via <i>et al.</i> , 2014), antibactérienne et antifongique (Tatsadjieu <i>et al.</i> , 2003)	Feuilles et brindilles	et Macération
<i>13-Xylopiya africana</i> 38322/HNC,		Kojeup	Kribi	Bronchite, dysentérie, douleurs, asthme, mal d'estomac et rhumatisme	Activités cytotoxique et antiproliférative (Bakarnga-Via <i>et al.</i> , 2014)	Feuilles, brindilles, racines, écorce de tronc	Macération

Plantes et numéros d'identification	Famille	Noms vernaculaire	Site de récolte	Utilisation traditionnelle	Etudes antérieures	Organes	Méthode de préparation
<i>14-Xylopi</i> <i>parviflora</i> 42351HNC		Mbatou'ou (Bangangté), Odjobi(Ewondo) Kakdoum (Tchad)	Kribi	Mal d'estomac, maux de tête, douleurs	Activités cytotoxique et antiproliférative (Bakamga-Via <i>et al.</i> , 2014)	Feuilles, graines	tiges, Macération
<i>15-Vitex grandifolia</i> 18416 SRF/Cam	<i>Verbenaceae</i>	/	Mont Kala	Dartre, gale et d'autres affections de la peau	Activité antifongique (Taffou, 2008)	Feuilles, brindilles, écorce, fruits et racines	Macération
<i>16-Vitex rivularis</i> 29220 SRF/Cam		Likomba (Bakoko)	Mont Kala	Epilepsie, teigne et fatigue	Activité antifongique (Taffou, 2008)	Feuilles,brindille, tige, écorce, fruits et racines	Macération

II.1.2 Microorganismes

Trois isolats de levures (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis* et *Cryptococcus neoformans*) isolés respectivement de la bouche, des urines et du liquide céphalorachidien des patients VIH positifs à l'Hôpital Central de Yaoundé, et neuf champignons filamenteux (*A. flavus*, *E. floccosum*, *M. audorinii*, *M. canis*, *M. gypseum*, *M. langeroni*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, et *T. terrestre*) provenant de l'Unité de Recherche de Biochimie des Plantes Médicinales, Science Alimentaire et Nutrition (URBPMAN), Département de Biochimie de l'Université de Dschang, ont été utilisés.

Les isolats ont été conservés au laboratoire par culture sur milieu SDA supplémenté au chloramphénicol en pente dans les tubes. Après 48 heures d'incubation à 37°C pour les levures, 72 heures pour la moisissure et 7 jours pour les dermatophytes, les tubes ont été entreposés dans un réfrigérateur à 4°C pour leur utilisation ultérieure. Ces isolats ont été réensemencés 48, 72 heures et 7 jours respectivement avant chaque test afin d'obtenir une culture jeune.

II.2 METHODES

II.2.1 Préparation des extraits bruts

II.2.1.1 Préparation des extraits éthanoliques

Cent grammes de poudre de chaque échantillon de *A. muricata*, *A. mannii*, *M. myristica*, *P. oliveri*, *P. suaveolens*, *U. angolensis*, *U. muricata*, *U. baumanii*, *U. zenkeri*, *U. calophyllum*, *U. molundense*, *X. aethiopica*, *X. africana*, et *X. parviflora* ont été extraits par épuisement dans 400 ml d'éthanol 95% à température ambiante pendant 72 heures. Le mélange était remué deux fois par jour (matin et soir), le macérât obtenu était filtré à l'aide du papier filtre Wattman N°1 et le filtrat, concentré à l'évaporateur rotatif (BÜCHI 011) à 80°C pour donner l'extrait brut.

II.2.1.2 Préparation des extraits au mélange méthanol-chlorure de méthylène.

Cent grammes de poudre de chaque organe de *Vitex grandifolia* et *Vitex rivularis* (feuilles, branches, racines, écorces, fruits et brindilles) ont été extraits par épuisement dans 400 ml d'un mélange de méthanol et chlorure de méthylène (1:1) pendant 72 heures. Le macérât était filtré puis concentré à l'évaporateur rotatif (BÜCHI 011) à 70°C pour éliminer

les solvants. Le concentré ainsi obtenu était séché sous ventilation à température ambiante pour obtenir l'extrait brut.

Tous les extraits bruts obtenus ont été pesés et leurs rendements calculés selon la formule :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait brut obtenu}}{\text{Masse de matériel végétal}} \times 100$$

II.2.2 Obtention des fractions

Les fractions ont été obtenues respectivement par partition liquide-liquide et par chromatographie flash pour les extraits éthanoliques et ceux au méthanol-chlorure de méthylène présentant une activité antifongique.

II.2.2.1 Préparation des fractions à partir des extraits éthanoliques par chromatographie de partition liquide-liquide

Principe

Il est basé sur le contact entre deux solvants non miscibles, l'un contenant le mélange à séparer. Le passage du soluté dans le solvant aboutit à un équilibre dans la composition des phases, équilibre lié à la vitesse de diffusion du soluté d'une phase à l'autre. La séparation des phases s'obtient ensuite par décantation gravimétrique (Cote, 1998).

Mode opératoire

Le protocole utilisé est celui décrit par **Alali et al. (1999)**. Dix grammes de chaque extrait éthanolique étaient partitionnés entre l'eau et le chlorure de méthylène (50 ml, v/v) aboutissant ainsi à l'obtention de la fraction aqueuse et la fraction au chlorure de méthylène. Après concentration à l'évaporateur rotatif à 40°C, le résidu au chlorure de méthylène (CH₂Cl₂) était partitionné entre le méthanol à 90% et l'hexane à volume égal (50 ml) donnant ainsi les fractions hexanique et méthanolique.

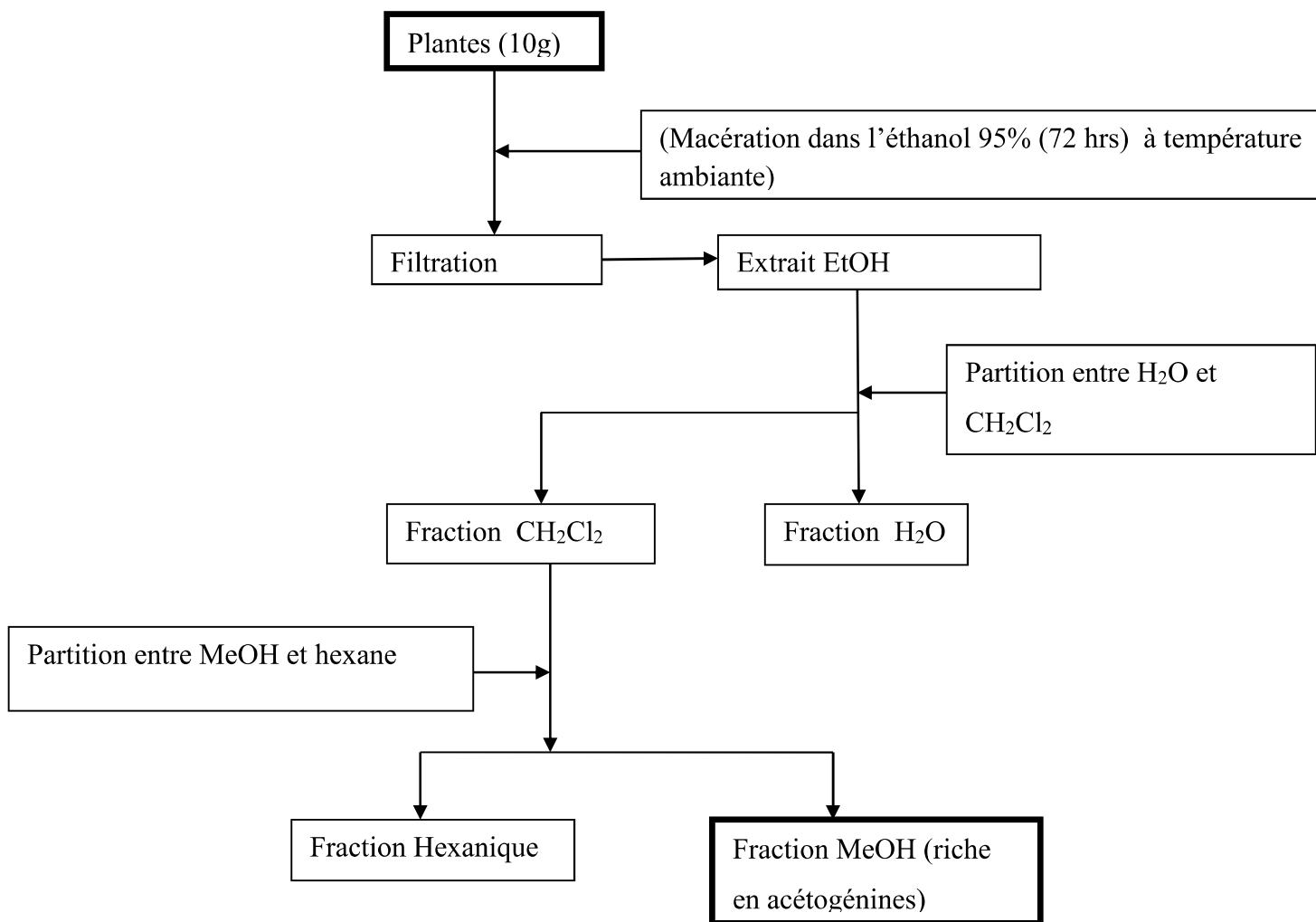


Figure 16: Procédure de préparation des fractions (Alali *et al.*, 1999)

II.2.2.2 Fractionnement des extraits au méthanol-chlorure de méthylène par chromatographie flash

Principe

Le principe est basé sur la séparation des constituants d'un mélange en fonction de leur affinité avec un solvant ou un système de solvants constituant la phase mobile à travers les mailles d'un gel de silice constituant la phase stationnaire d'une part et en fonction de leur taille et de leur forme d'autre part (Audigié *et al.*, 1995).

Les éluats obtenus constituent les fractions qui sont regroupées en fonction de leur profil sur plaques de Chromatographie sur couche mince (CCM). La méthode comporte deux volets complémentaires : la chromatographie flash ou chromatographie sous pression réduite et la Chromatographie sur couche mince.

Mode opératoire

41,92g d'extrait ont été fixé sur 125,76 la silice (Gel de silice 60 de granulométrie 0,040-0,063mm, Merk-Allemagne). Pour cela il a été dissout dans le méthanol, puis mélangé à e la silice, après homogénéisation complète du mélange, le solvant a été évaporé, l'extrait alors fixé sur silice a été séché et placé au sommet de la colonne de chromatographie, le Büchner, dispositif indiqué pour la Flash chromatographie. La colone ainsi préparée à été éluée successivement par les systèmes solvants constitués d'hexane, d'acétate d'éthyle et de méthanol. Chaque passage était constitué de 250 ml de solvant ou système solvant. Les éluats étaient recueillis sous forme d'aliquote à raison de 20 à 25 ml par aliquot et le solvant récupéré est réutilisé dans la fraction suivante. Le calcul de la polarité des systèmes de solvants utilisés a été déterminé par la formule :

$$V' = \frac{V(x' - x)}{100 - x'} \quad \text{avec :}$$

V' = volume du solvant le plus polaire
 V = volume du solvant récupéré
 x' = nouvelle polarité
 x = première polarité

Après épuisement de la colonne, les éluats sont regroupés en fonction de leur profil en chromatographie sur couche mince.

La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une chromatographie liquide-solide exécutée sur une couche de particules d'une substance polymérisée immobilisée sur un support planaire (**Yrjönen, 2004**). La présence d'un composé ou d'un groupe de constituants ayant les mêmes caractéristiques vis à vis des phases fixe et mobiles utilisés est déterminée par le calcul des rapports frontaux (Rf) (**Audigié et al., 1995**).

Les plaques chromatographiques utilisées sont des plaques de Silica gel G60 ; 0,25mm, sur support rigide en verre, 20/20cm.

Deux microlitres de chaque extrait ou fraction ont été déposés à des points repères à 1,5cm du bord inférieur de la plaque. Chaque phase mobile était préparée en fonction du système solvant ayant permis l'obtention de l'éluât. Le développement a été fait dans une cuve en verre saturée en vapeurs du solvant d'éluat. Les plaques sont par la suite retirées de

la cuve et séchées sur un support chauffant à 50°C avant révélation. Trois plaques ont été préparées par l'éluât.

La révélation de ces plaques de silice s'est faite par trois révélateurs complémentaires

- Sous lampe UV à 254 et 366nm. Les couleurs des spots et les Rf ont été enregistrés.
- Sous vapeur d'iode
- Sous vapeur d'acide sulfurique dilué.

Le profil de chaque extrait représente alors la somme des profils chromatographiques obtenus avec les trois révélateurs.

Les fractions cristallisées ont été purifiées par lavage utilisant le solvant ou système solvant ayant une polarité inférieure à celle ayant permis l'élution de la fraction.

Caractérisation des composés

Les données spectrales (Anexe 4) des produits isolés (RMN, SM, COSY, HSQC et HMBC) ont été enregistrées au Laboratoire de chimie organique de l'Université de Bielefeld en Allemagne. L'élucidation de leurs structures chimiques est en cours.

II.2.3 Evaluation de l'activité antifongique des extraits et fractions

II.2.3.1 Préparation des solutions d'extraits et d'antifongique de référence

Un gramme des différents extraits a été pesé et dissout dans 10 ml de solution de DMSO à 10% de façon à obtenir une solution stock d'extrait de concentration 100 mg/ml. Les solutions d'antifongiques de référence ont été préparées dans les mêmes conditions en dissolvant respectivement dans 2,5 ml et 2 ml de solution de DMSO à 10%, 250 mg de nystatine (PHARMAQUICK, Benin) et 200 mg de kétoconazole (JANSSEN-CILAG, France).

II.2.3.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits sur les levures par la méthode de microdilution en milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible du germe après un temps d'incubation donné (Carbonnelle *et al.*, 1987). Pour ce travail, sa détermination a été

effectuée à partir du protocole M27-P décrit par la « **National Committee for Clinical Laboratory Standards** » (NCCLS) en 1992.

Principe

Le principe de cette méthode repose sur le dosage colorimétrique des métabolites acides issus du métabolisme des levures au cours de leur croissance. En effet, ces métabolites acidifient le milieu et contribuent au virage du rouge phénol (indicateur coloré) au jaune marquant ainsi la croissance des levures. En absence de croissance, il n'y a pas de changement de coloration (**Tchoumboungang, 1997**).

Mode opératoire

➤ **Préparation de l'eau physiologique stérile**

9 g de chlorure de sodium ont été dissouts dans 1 litre d'eau distillée puis la solution a été homogénéisée jusqu'à dissolution complète des cristaux de sel. La solution a été ensuite autoclavée à 121,1°C pendant 15 min et refroidie en environnement stérile.

➤ **Préparation de l'inoculum**

Dans les tubes contenant des cultures en pente de levures vieilles de 48 heures, une colonie isolée a été prélevée et introduite dans un tube à essais contenant de l'eau physiologique et le mélange a été homogénéisé.

Les cellules ont été dénombrées en utilisant la cellule de Malassez. En effet, ce dénombrement est basé sur la quantification par microscopie optique d'une suspension des microorganismes déposée sur une cellule de Malassez. Le nombre de cellules par millilitre de la suspension est donné suivant la formule ci-après :

$$N = n \times 10^5 \text{ Cellules/ml.}$$

N = nombre de cellules dans la solution
n = nombre de cellules énumérées dans le carré de Malassez
 10^5 = nombre de Malassez

Toutes les solutions ont été ensuite ajustées par dilution à la charge $2,5 \times 10^4$ cellules/ml nécessaire pendant la manipulation.

➤ **Préparation du milieu de culture**

Le milieu liquide (Nutrient Broth 'E') a été préparé suivant les instructions du fabricant (LAB M Limited Topley House).

➤ Préparation des microplaques

90 µl de milieu liquide ont été introduits dans les cupules de la première et de la deuxième ligne et 120 µl dans le reste des cupules de la plaque. Dans les cupules contenant 90 µl de milieu, 150 µl de la solution d'extrait ont été introduits afin d'obtenir un volume total de 240µl. A partir des cupules de la deuxième ligne, une série de 10 dilutions obéissant à une progression géométrique de raison 2 pour chaque extrait a été effectuée. Les concentrations ainsi préparées varient de 25 mg/ml à 0,0488 mg/ml. Par la suite, 30µl de la suspension microbienne de charge $2,5 \times 10^4$ UFC/ml ont été introduits dans les cupules de la plaque à l'exception des cupules de la première ligne et celles de la colonne du blanc. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48 heures. Les tests ont été répétés trois fois de suite.

Les cupules de la première ligne ne contenaient que le milieu de culture et les solutions à tester. Elles permettaient de s'assurer de la stérilité des solutions et aussi d'avoir une idée de l'effet des solutions sur le milieu de culture en termes de décoloration.

Le témoin positif a été préparé de la même manière que les extraits exceptés qu'à la place de ceux-ci, le kétoconazole a été introduit (10 à 0,0097 mg/ml respectivement). Pour le témoin négatif, dans chaque cupule, 120µl de milieu de culture liquide et 30µl de suspension microbienne à $2,5 \cdot 10^4$ UFC/ml ont été ajoutées.

Une colonne contenant uniquement le milieu de culture constituait le blanc qui témoigne de la variation de la coloration du milieu de départ. Une autre colonne était constituée de cupules contenant le milieu de culture, l'inoculum et le solvant de dilution de l'extrait qui était le DMSO à 10%. Cette colonne permettait de s'assurer que ce solvant n'a aucun effet sur la viabilité du microorganisme.

II.2.3.3 Détermination des concentrations minimales fongicides (CMF) des extraits sur les levures par subculture

La détermination des CMF des extraits a été faite par une subculture, en prélevant après homogénéisation 3µl du mélange contenu de 4 cupules (la cupule suivant la CMI, la cupule de la CMI et les deux cupules précédant la CMI) et en ensemençant sur le milieu solide stérile (SDA) contenu dans des boîtes de Pétri cloisonnées préalablement étiquetées, celle-ci permettant d'ensemencer quatre cupules par extrait. Les boîtes ainsi préparées ont été incubées à 37° C pendant 48 heures et la croissance a été ensuite observée. Les plus petites

concentrations ne présentant aucune croissance fongique ont été notées comme représentant les CMF.

II.2.3.4 Étude de l'interaction entre les extraits et le Kétoconazole : détermination de l'indice de concentration inhibitrice fractionnelle (FICI)

L'étude de l'interaction entre les fractions et les antifongiques a été effectuée par la méthode de microdilution décrite par **Berenbaum (1978)** suivie de quelques modifications.

NB : Les produits A et B utilisés dans ce protocole peuvent représenter respectivement deux fractions différentes (fraction A et fraction B) ou alors une fraction ou extrait et le kétoconazole.

➤ Protocole expérimental

Les microplaques de 96 puits ont été utilisées pour cette étude. En effet, les cupules de la colonne 1 (de B1 à H1) et celles de la ligne A (de 1 à 10) contenaient respectivement les produits A et B avec un volume total de 200 µl. Le volume du milieu de culture et celui des produits dans ces cupules était fonction de la concentration initiale recherchée. Le reste des cupules contenait 100µl de milieu. Une dilution bidirectionnelle décroissante d'ordre 2 a été réalisée, la première allant de la colonne 1 à la colonne 10 et la deuxième de la ligne A à la ligne H.

Par la suite, 25µl de solution d'inoculum à la charge de $2,5 \times 10^4$ UFC/ml ont été introduits dans les différentes cupules excepté celles de la colonne 12 qui constituait le blanc. Les cupules de la colonne 11 ne contenaient pas d'antifongique, elle servait de témoin négatif. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48 heures et la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance était observée par la variation de la coloration du milieu.

Les plus petites combinaisons de concentrations ne permettant aucune croissance visible ont été retenues comme les CMI des produits (fractions, extraits ou médicaments) impliqués dans la combinaison et ont ainsi permis de calculer les différents Indices de Concentration Inhibitrice Fractionnelle (Fractional Inhibitory Concentration Index : "FICI") suivant la formule (**Berenbaum, 1978**):

$$FICI = FIC_A + FIC_B$$

Avec :

$$FIC_A = \frac{\text{CMI de la fraction A dans la combinaison}}{\text{CMI de la fraction A sans combinaison}}$$

$$FIC_B = \frac{\text{CMI de la fraction B dans la combinaison}}{\text{CMI de la fraction B sans combinaison}}$$

Pour déterminer la nature des interactions entre les différents produits, deux méthodes ont été utilisées :

- ❖ **La méthode algébrique** : l'interaction s'évalue par l'interprétation de la valeur obtenue en faisant la moyenne des FICI (**Van Vuuren et Viljoen, 2011**). Ainsi :
 - $FICI \leq 0,5$ indique une interaction synergique
 - $0,5 \leq FICI \leq 1$ indique un effet additif
 - $1 \leq FICI \leq 4$ indique une indifférence ou pas d'interaction
 - $FICI > 4$ indique une interaction antagoniste.
- ❖ **La méthode géométrique** : l'interaction entre les produits s'évalue à l'aide des courbes dites isobogrammes. Ces courbes sont tracées dans un plan cartésien en plaçant les valeurs des FIC du produit A à l'ordonnée et celles du produit B en abscisse. Ainsi, lorsque :
 - L'ensemble des points forme un isobole concave : l'interaction est synergique
 - L'ensemble des points forme une ligne droite : l'interaction est additive
 - L'ensemble des points forme un isobole convexe : l'interaction est antagoniste
 - L'ensemble des points est légèrement au-dessus de la ligne d'additivité : il n'y a pas d'interaction ou indifférence (**Berenbaum, 1978**).

II.2.3.5 Activité antifongique des extraits et fractions sur les champignons filamenteux

L'activité antifongique sur les moisissures et les dermatophytes a été évaluée par la méthode d'incorporation à la gélose telle décrite par **Grover et Moore (2008)** et **De Billerbeck (2000)**. Dans cette partie de l'étude seuls les extraits ayant montré les meilleures activités sur les levures ont été utilisés au cours du test.

Principe

La méthode est basée sur la capacité d'un microorganisme à se développer sur un milieu supplémenté en antibiotique à des concentrations bien déterminées.

Mode opératoire

➤ **Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture SDA a été préparé dans les tubes à essai suivant les instructions du fabricant (Titan Biotech LTD, Inde), et dilué dans de l'eau distillée et autoclavé à 121,1°C pendant 30 min.

➤ **Préparation des solutions stocks d'extraits et d'antibiotique de référence.**

Les extraits et les fractions ont été solubilisés dans une solution de DMSO 10% (volume/volume; DMSO/Eau distillée stérile) afin d'obtenir une solution stock (SA). Les concentrations des solutions stocks des extraits testées sur les moisissures et les dermatophytes obéissent à une progression géométrique de raison 2, de premier terme 625 mg/ml et de dernier terme 4,88 mg/ml. L'antibiotique de référence, utilisé ici comme témoin positif était la Griséofulvine. Les solutions stocks de cette molécule était de 250 mg/ml dans le DMSO 10%.

➤ **Incorporation à la gélose**

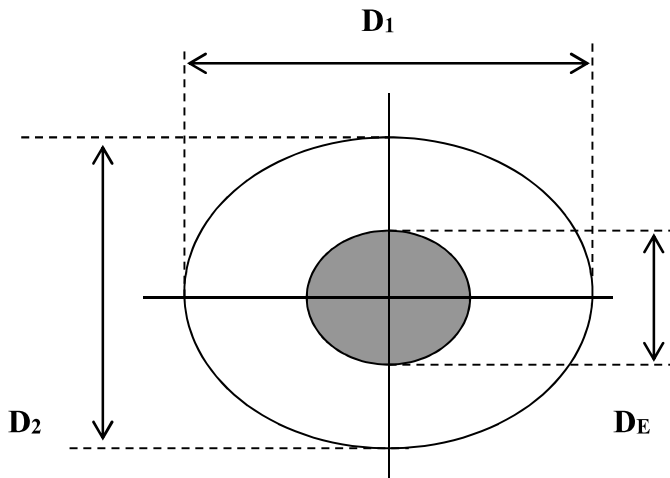
Le milieu de culture autoclavé dans des tubes à essais à raison de 10 ml de milieu par tube à essai a été maintenu en surfusion dans un bain-marie. 10µl de chaque solution stock y ont été remplacés par 10µl de milieu de culture afin d'obtenir des concentrations variant de 625 mg/ml à 4,88 mg/ml dans un volume final de 10 ml. Après homogénéisation, le milieu a été coulé dans les boîtes de pétri de 55 mm puis laissé à température ambiante sous la hotte pour solidification.

Le témoin positif a été préparé dans les mêmes conditions suivant la même grandeur d'ordre de dilution, à la seule différence que les extraits étaient remplacés par les différentes concentrations d'Amphotéricine B ou de Griséofulvine alors que le témoin négatif a été préparé sans ajout de solution inhibitrice soit 10 ml de SDA.

➤ **Ensemencement du champignon**

Un disque mycélien de 7 mm de diamètre a été prélevé au front de croissance d'une culture vieille de 4 jours pour les moisissures et de 7 jours pour les dermatophytes à l'aide d'un emporte-pièce et placé directement au centre des boîtes de pétri préparées précédemment. Les boîtes ont été scellées et incubées à 37°C en position renversée.

Le suivi de la croissance mycélienne a été fait en mesurant chaque jour à la même heure deux diamètres perpendiculaires tracés au revers des boîtes de pétri au niveau des explants, pendant 7 jours pour les moisissures et 15 jours pour les dermatophytes, en effectuant la moyenne de ces 2 diamètres diminuée de celui de l'explant (**Zacchino et al., 1998**).



$$D = \frac{D_1 + D_2}{2} - D_E$$

D1 et D2 sont les deux diamètres perpendiculaires

DE est le diamètre de l'explant

D représente le diamètre de la croissance mycélienne journalière

Figure 17: Illustration de la mesure des diamètres de croissance sur la boîte de Pétri

L'activité antifongique des extraits a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition à partir des diamètres de croissance d'après la formule suivante:

%I = pourcentage d'inhibition

$$\%I = \frac{D_t - D_x}{D_t} \times 100$$

D_t = diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte témoin

D_x = diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte test

➤ Détermination des CMI

Partant des résultats préliminaires, nous avons réalisé une série de dilutions suivant une progression arithmétique entre les deux concentrations consécutives ayant montré d'une part une croissance et d'autre part une inhibition complète. La CMI est la concentration en extrait qui ne permet aucune croissance visible des microorganismes (**Hadacek et Greger, 2000**).

➤ Détermination des CMF

L'étude de la nature fongicide des extraits a été réalisée par subculture. Cette technique consiste à réensemencer tous les explants n'ayant présenté aucune croissance visible dans un milieu non supplémenté : l'activité est dite fongistatique s'il y a reprise de croissance et fongicide dans le cas contraire.

Pour comprendre les résultats obtenus après détermination des paramètres d'activité antimicrobienne (CMI et CMF) des extraits bruts, leur composition en métabolites a été recherchée par criblage phytochimique.

II.2.4 Criblage phytochimique des extraits retenus

Identifier les groupes de métabolites que renferment les extraits de plantes médicinales est important pour une meilleure interprétation de leurs propriétés pharmacologiques. Ainsi, différents groupes de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les saponines, les anthocyanines, anthraquinones, les tanins, les triterpènes, les stérols, les glucosides et les huiles essentielles ont été recherchés selon les méthodes décrites ci-dessous :

II.2.4.1 Mise en évidence des alcaloïdes

Cinquante milligrammes d'extrait (ou de fraction) de chaque organe ont été dispersés dans 10ml de H₂SO₄, 2%. Le mélange a été homogénéisé et porté à ébullition pendant 2 minutes, puis filtré. A 1ml du filtrat, 5 gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutées. Le développement d'une turbidité confirme la présence des alcaloïdes (**Odebeyi et Sofowora, 1978**).

II.2.4.2 Mise en évidence des phénols

A 1ml de solution alcoolique d'échantillon, 2ml d'eau distillée ont été ajoutés, puis quelques gouttes d'une solution aqueuse de chlorure ferrique à 10%. La formation d'une couleur bleue ou verte indique la présence des phénols (**Harbone, 1976**).

II.2.4.3 Mise en évidence des flavonoïdes

A une solution aqueuse d'échantillon, 5ml d'ammoniaque diluée et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré y ont été ajoutés. Une coloration jaune qui disparaît avec le temps marque la présence des flavonoïdes (**Harbone, 1976**).

II.2.4.4 Mise en évidence des saponines

Vingt-cinq milligrammes d'échantillon ont été mélangés à 15 ml d'eau distillée dans un tube à essais et l'ensemble a été porté au bain-marie pendant 5 min. Après refroidissement, la solution homogénéisée a été agitée vigoureusement pendant 10 secondes. La présence d'une mousse persistante (1 minute) de plus d'un centimètre d'épaisseur indique la présence des saponines (**Harbone, 1976**).

II.2.4.5 Mise en évidence des anthocyanines

Cinquante milligrammes d'échantillon ont été introduits dans 15 ml de HCl 1% et le mélange obtenu a été porté à ébullition. Le changement de coloration du rouge orangé au bleu orangé caractérise la présence des anthocyanines (**Odebeyi et Sofowora, 1978**).

II.2.4.6 Mise en évidence des anthraquinones

Cinquante milligrammes d'échantillon ont été dilués dans un mélange de 2 ml de chloroforme et 2 ml d'éther de pétrole. L'ensemble a été ensuite homogénéisé et filtré. A 1 ml du filtrat, on y a ajouté 1ml de NaOH 10%. Le développement d'une coloration rouge est caractéristique des anthraquinones (**Odebeyi et Sofowora, 1978**).

II.2.4.7 Mise en évidence des tannins

A une solution alcoolique ou aqueuse d'échantillon, quelques gouttes de chlorure ferrique ont été ajoutées. La présence des tanins se manifeste par un changement de coloration de la solution ; la coloration bleue foncée indique la présence des tanins galliques alors que la coloration verte noirâtre traduit la présence des tanins catéchiqes (**Harbone, 1976**).

II.2.4.8 Mise en évidence des triterpènes et stérols

Cinquante milligrammes d'échantillon ont été dissous dans 2 ml de chloroforme. A cette solution, 4 gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique ont été successivement ajoutées. La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition de la couleur rouge violacée alors que la couleur bleue verdâtre indique celle des stérols (**Harbone, 1976**).

II.2.4.9 Mise en évidence des glucosides

Un gramme d'échantillon a été dissous dans 5 ml de HCl puis neutralisé par 5 ml de NaOH à 5%. La solution de Fehling (A +B) a été additionnée goutte à goutte. La présence des

glucosides se manifeste par l'apparition d'un précipité rouge brique (**Odebeyi et Sofowora, 1978**).

II.2.4.10 Mise en évidence des huiles essentielles

5g de la poudre d'échantillon ont été bouillis dans 100 ml d'eau distillée pendant 3h. La coloration jaune indique la présence des huiles essentielles volatiles dans l'échantillon (**Harbone, 1976**).

II.2.5 Analyses statistiques

Le logiciel Microsoft Excel pour Windows a permis de calculer la moyenne des FICI et de réaliser le tracé des histogrammes et des isobogrammes.



CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Activité antifongique des extraits bruts

III.1.1 Rendement d'extraction et Screening préliminaire des extraits sur les levures

Les rendements d'extraction des organes de plantes ont été calculés relativement au poids des extraits obtenus, et par rapport à celui du matériel végétal de départ. Ces extraits ont été soumis à un criblage de l'activité inhibitrice sur les levures à la dose de 10mg/ml. Les résultats obtenus sont consignés dans le **tableau IV** suivant.

Tableau IV: Rendement d'extraction et Screening antifongique des extraits sur les levures

Annonaceae	Organes	Codes	Rendement (%)	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilopsis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Annona muricata</i>	Feuilles	AnMl	4,85	-	-	-
	Brindilles	AnMtw	1,77	-	-	-
	Fleurs	AnMfp	2,32	-	-	-
	Pericarpe	AnMp	2,29	+	-	-
	Pulpe	AnMpf	1,09	-	-	-
	Graines	AnMs	3,49	-	-	-
<i>Anonidium mannii</i>	Feuilles	AMl	1,65	+	-	-
	Brindilles	AMtw	0,55	+	-	-
	Fruits	AMfr	2,28	+	+	+
	Ecorces de tronc	AMsb	3,02	-	-	-
	Racines	AMr	1,94	-	-	-
<i>Monodora myristica</i>	Feuilles	MMl	0,63	+	+	+
	Brindilles	MMtw	0,79	+	-	-
	Ecorces de tronc	MMsb	2,58	-	-	-
<i>Polyalthia oliveri</i>	Feuilles	POl	2,57	+	+	+
	Brindilles	POtw	0,64	+	+	+
	Ecorces de tronc	POsb	1,88	+	+	+
<i>Polyalthia suaveolens</i>	Feuilles	PSl	3,73	+	+	+
	Brindilles	PStw	0,73	-	-	-
	Ecorces de tronc	PSsb	1,70	+	-	-
<i>Uvaria baumanii</i>	Feuilles	UBl	1,30	+	+	+
	Brindilles	UBtw	0,97	+	-	-
	Ecorces de tronc	UBst	2,67	-	-	-
<i>Uvariastrum zenkeri</i>	Feuilles	UZl	3,77	-	-	-
	Brindilles	UZtw	0,59	-	-	-
<i>Uvariadendron calophyllum</i>	Brindilles	UCtw	0,42	-	-	-
<i>Uvariadendron molundense</i>	Feuilles	UMl	1,28	-	-	-
	Brindilles	UMtw	0,20	-	-	-
<i>Uvaria</i>	Feuilles	UAl	9,07	+	+	+

Annonaceae	Organes	Codes	Rendement (%)	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilopsis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>angolensis</i>	Brindilles	UAAt	8,83	+	+	+
	Tiges	UAst	13,94	+	+	+
<i>Uvaria muricata</i>	Feuilles	UMI	12,97	-	-	-
	Brindilles	UMtw	5,30	+	+	+
	Tiges	UMs	4,84	+	+	+
<i>Xylopia africana</i>	Feuilles	XAl	3,99	-	-	-
	Brindilles	XAtw	0,75	+	-	-
	Ecorces de tronc	XAsb	1,57	+	-	-
	Racines	XAr	0,49	+	-	-
<i>Xylopia aethiopica</i>	Feuilles	XAEI	4,27	+	-	-
	Tiges	XAEst	0,10	-	-	-
	Graines	XAE s	4,87	-	-	-
<i>Xylopia parviflora</i>	Feuilles	XPI	1,65	+	-	-
	Tiges	XPst	0,67	-	-	-
	Graines	XPps	6,38	+	+	+
<i>Verbenaceae</i>						
<i>Vitex grandifolia</i>	Feuilles	Vgl	7,90	+	+	+
	Brindilles	Vgtw	5,70	+	+	+
	Tiges	Vgst	6,70	+	+	+
	Ecores de tronc	Vgsb	6,70	+	+	+
	Racines	Vgr	8,15	+	+	+
	Ecorces des racines	Vgrb	11,40	+	+	+
<i>Vitex rivularis</i>	Feuilles	Vrl	7,44	+	+	+
	Brindilles	Vrtw	5,43	+	+	+
	Tiges	Vrst	6,58	+	+	+
	Ecores de tronc	Vrsb	9,60	+	+	+
	Racines	Vrr	7,80	+	+	+
	Fruits	Vrfr	5,21	+	+	+
Ketoconazole				+	+	+

-: aucune inhibition à 10 mg/ml; +: inhibition à 10mg/ml

Il ressort du tableau IV que les rendements d'extraction varient avec les solvants d'extraction, la famille de plante utilisée, les genres, les espèces et même les organes. Dans la famille des Annonacées, le solvant d'extraction était l'éthanol à 95° et les meilleurs rendements d'extraction sont ceux du genre *Uvaria*, spécifiquement, *Uvaria angolensis* avec 9,07 % ; 8,83 % et 13,93 % respectivement pour les feuilles, les brindilles et les tiges, et *Uvaria muricata* avec les valeurs respectives de 12,97 % ; 5,30 % et 4,84 % pour les feuilles, brindilles et tiges. Dans la famille des Verbénacées, un seul genre a été étudié, le genre *Vitex*

avec deux espèces, *rivularis* et *grandifolia* dont les organes ont été extraits par le mélange méthanol-chlorure de méthylène. Tous les rendements sont supérieurs à 5,43%, les meilleurs étant ceux de l'écorce des racines de *V. grandifolia* avec 11,43% et celui de l'écorce du tronc de *V. rivularis* avec 9,60%. Etant donné que la technique d'extraction par macération repose sur la différence de solubilité des phytomolécules vis-à-vis du solvant d'extraction, alors nous pouvons dire que les feuilles, les brindilles et les tiges du genre *Uvaria* seraient plus concentrées en métabolites extractibles par l'éthanol ainsi que l'écorce des racines de *V. grandifolia* dont les métabolites seraient plus solubles dans le mélange méthanol-chlorure de méthylène aux vues des meilleurs rendements obtenu. Ces résultats, s'expliqueraient par la différence d'affinité des métabolites secondaire vis-à-vis du solvant d'extraction utilisé. En effet, selon **Bruneton (1999)** les rendements d'extraction des plantes varient en fonction de l'espèce de plante, de l'organe et du solvant d'extraction. La détermination de ce rendement d'extraction permet d'apprécier l'extrait total de chaque espèce et organe de plante permettant ainsi l'estimation de la quantité de la partie de la plante à récolter en cas de nécessité pour permettre l'utilisation rationnelle de ces espèces de plantes (**Kpemissi, 2007**).

Pour ce qui est du screening préliminaire d'activité des différents extraits sur les levures, il ressort également de le Tableau IV que l'inhibition des levures testées (*Candida albicans*, *Candida parapsilopsis*, *Cryptococcus neoformans*) varie en fonction des plantes, des organes et même du microorganisme. En effet, des 55 extraits testés donc 44 *Annonaceae* et 11 *Verbenaceae*, 35 extraits ont inhibé la croissance d'au moins une des trois levures testées à savoir 24 extraits pour la famille des *Annonaceae* (AnMp, AMI, AMtw, AMfr, MMI, MMtw, POI, POtw, POsb, PSI, PSsb, UBI, UBtw, UAI, UAt, UAst, UMTw, UMs, XAtw, XAsb, XAr, XAEI, XPI, XPs) et tous les 11 extraits pour la famille des *Verbenaceae* (Vgl, Vgtw, Vgst, Vgsb, Vgr, Vgrb, Vrl, Vrtw, Vrst, Vrsb, Vrr). Pour ce qui est des *Annonaceae*, 11 des 24 extraits actifs ont inhibé au moins une des trois souches et les 13 autres ont inhibé les trois germes tandis que pour les *Verbenaceae*, tous les 11 extraits actifs ont inhibé les trois levures. Ces résultats pourraient s'expliquer par la qualité et même la quantité de métabolites secondaires contenus dans ces différents extraits. En effet, selon **Parekh et al. (2005)**, les effets bénéfiques des plantes médicinales résultent des métabolites secondaires qui y sont présents. **Gottlieb (1990)** a montré que la quantité et la qualité de ces métabolites est fonction de la plante et des organes.

Les 13 extraits des *Annonaceae* et les 11 des *Verbenaceae* ayant inhibé toutes les trois levures ont donc été sélectionnés pour la détermination des paramètres d'activité antifongique (CMI et CMF).

III.1.2 Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Concentration Minimale Fongicide (CMF) des extraits éthanoliques et des fractions dérivées des *Annonaceae*

Les paramètres d'activité antifongique contre les trois levures pathogènes, *C. albicans*, *C. parapsilopsis* et *Cr. neoformans* ont été déterminés suivant le protocole standard décrit précédemment. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau V** suivant.

Tableau V: CMI et CMF des extraits et fractions (mg/ml)

<i>Annonaceae</i>	Organes	Codes extraits et fractions	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida parapsilopsis</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
			MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Anonidium mannii</i>	Fruits	AMfr	10	>10	10	10	10	10
<i>Monodora myristica</i>	Feuilles	MMI	5	>10	5	>10	5	>10
		MMI I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		MMI H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		MMI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Polyalthia oliveri</i>	Feuilles	POI	10	>10	10	>10	2.5	5
		POI I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		POI H	10	>10	>10	>10	5	5
		POI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	Brindilles	POTw	10	>10	10	>10	>10	>10
		POTw H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		POTw H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	Ecorces de tronc	POsb	10	>10	10	>10	10	>10
		POsb H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		POsb H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Polyalthia suaveolens</i>	Feuilles	PSI	10	10	10	>10	10	>10
		PSI H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		PSI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Uvaria baumanii</i>	Feuilles	UBI	0, 625	1,25	10	>10	10	>10
		UBI I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		UBI H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		UBI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Uvaria angolensis</i>	Feuilles	UAI	10	>10	5	>10	10	>10
		UAI H	10	>10	10	>10	10	>10
		UAI H ₂ O	10	>10	10	>10	5	>10
	Brindilles	UAtw	5	>10	5	>10	5	>10

<i>Annonaceae</i>	Organes	Codes extraits et fractions	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida parapsilopsis</i>		<i>Cryptococcus neoformans</i>	
			MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
			UAtw H	>10	>10	>10	>10	>10
	UAtw H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10	
	Tiges	UAst	10	>10	5	>10	5	>10
		UAst H	2,5	5	2,5	>10	2,5	5
		UAst H ₂ O	10	>10	5	>10	5	>10
<i>Uvaria muricata</i>	Brindilles	UMtw	5	>10	10	>10	5	>10
		UMtw H	5	>10	5	>10	10	>10
		UMtw H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10
	Tiges	UMst	10	>10	5	>10	5	>10
		UMst H	10	>10	5	>10	2,5	>10
		UMst H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10
<i>Xylopia parviflora</i>	Graines	XPs	10	10	10	>10	10	>10
		XPs H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		XPs H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Ketoconazole			10	10	5	10	5	10

I: précipité interface; H: fraction hexanique; H₂O: fraction aqueuse

Il ressort du tableau V que le fractionnement des 13 extraits sélectionnés (AMfr, MMI, POI, POtw, POSb, PSI, UBI, UAI, UAtw, UAst, UMtw, UMst, et XPs) par partition liquide-liquide entre l'hexane et l'eau distillée a donné 27 fractions avec un rapport de 2 fractions par extrait. Des précipités à l'interface de l'eau et de l'hexane ont été obtenus avec les extraits des feuilles de *Monodora myristica*, *Polyathia oliveri* et *Uvaria baumanii*.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des extraits a donné des CMI comprises entre 0,625 mg/ml et >10 mg/ml et celle des fractions entre 2,5 et >10 mg/ml ceci en fonction de la plante et du microorganisme. Le genre *Uvaria* est le plus actif car tous les extraits de *Uvaria baumanii*, *Uvaria angolensis* et *Uvaria muricata* ont inhibé les trois levures avec des CMI variant de 0,625 à 10 mg/ml. La meilleure CMI à savoir 0,625 mg/ml a été obtenue avec l'extrait des feuilles d'*Uvaria baumanii* sur *C. albicans*. Par ailleurs, l'activité antifongique des fractions issues de ce genre s'est avérée satisfaisante comparée aux autres plantes. En effet, exceptés l'interface, la fraction hexanique et aqueuse des feuilles d'*Uvaria baumanii* ainsi que la fraction aqueuse des tiges d'*Uvaria angolensis* qui n'ont présenté aucune inhibition sur les germes testés, toutes les autres fractions ont inhibé les trois levures testées dans ce travail. Tout comme avec les extraits bruts, la meilleure fraction est issue du genre *Uvaria* ; il s'agit de la fraction hexanique des tiges d'*Uvaria angolensis* (UAst H) qui a inhibé les trois levures avec une valeur de CMI de 2,5 mg/ml. Pour ce qui est des

autres extraits impliqués, aucune fraction n'a produit d'activité sur les levures testées excepté la fraction hexanique des feuilles de *Polyalthia oliveri* (POI H) qui a inhibé *C. albicans* et *Cr. neoformans* avec des CMI de 10 mg/ml et 5 mg/ml respectivement.

Ces résultats permettent de constater d'une part qu'il y a une amélioration de l'activité antifongique de certains extraits avec le fractionnement à l'instar des extraits d'*Uvaria*. En effet, pour le fractionnement de l'extrait éthanolique des tiges d'*Uvaria angolensis* (UAst) dont les CMI allaient de 5 à 10 mg/ml, les métabolites actifs semblent être concentrés dans la fraction hexanique (UAst H) qui a inhibé les trois levures à 2,5 mg/ml. C'est ainsi le cas des fractions aqueuses des brindilles et tiges d'*Uvaria muricata* (UMtw H₂O et UMst H₂O), la fraction hexanique des tiges de cette même plante (UMst H) qui ont vu la valeur de leur CMI diminuer, conséquence de l'amélioration de leur activité par rapport à leurs extraits d'origine. D'autre part, une réduction de l'activité de certains extraits a été notée. C'est le cas des fractions issues des extraits de *M. myristica*, *P. oliveri*, *P. suaveolens*, *U. baumanii* and *X. parviflora* (CMI >10 mg/ml).

Les résultats obtenus ici vont en droite ligne avec ceux obtenus précédemment. En effet, **Lamidi et al., (2005)** ont montré que les extraits bruts de *Polyalthia suaveolens*, l'une des plantes impliquées dans cette étude avaient une bonne activité antifongique alors que les fractions obtenues n'ont pas présenté d'activité. Cette constatation peut être expliquée par le fait que les composés contenus dans l'extrait brut agissent en synergie pour produire l'effet inhibiteur observé. Toutefois, les fractions hexanique et aqueuse des tiges de *Uvaria angolensis* et *Uvaria muricata* ont présenté une amélioration de l'activité inhibitrice sur les pathogènes testés ici. Cette différence d'activité des fractions comparée à celle des extraits bruts pourrait être liée à la concentration du principe actif. En effet, l'activité d'un extrait de plante change après fractionnement car il permet de concentrer le principe actif responsable de l'activité (**Harbone, 1984 ; Nwodo et al., 2010**). La différence d'activité entre ces fractions pourrait également s'expliquer par la nature des molécules contenues dans chacune d'elles. En effet, la capacité de solubilisation et d'extraction des solvants à l'égard des phytomolécules diffère d'un solvant à l'autre (**Bolou et al., 2011**). Selon **Cowan (1999)**, au cours de l'extraction liquide-liquide, les phytomolécules sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et de leur solubilité. Il est donc possible de penser que les substances antifongiques contenues dans les extraits d'*U. angolensis* soient plus solubles dans l'hexane que dans l'eau.

La fraction hexanique des tiges d'*Uvaria angolensis* (UAst H) ayant montré une meilleure activité de toutes les fractions testées et une amélioration de son potentiel inhibiteur sur les levures étudiées par rapport à l'extrait d'origine a été retenue pour l'étude de son effet sur les trois levures en combinaison avec le Ketoconazole.

III.1.3 Résultats de la combinaison entre le kétoconazole et la fraction UAst H d'*U. angolensis*

L'effet de la combinaison entre le kétoconazole et la fraction hexanique d'*U. angolensis* est résumé dans les tableaux VI.

Tableau VI: Type d'interaction obtenu après combinaison de la fraction UAstH et le kétoconazole sur les levures

<i>C. albicans</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)	Int	<i>Cr. Neoformans</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)	Int	<i>C. parapsilosis</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)	Int
FIC UAst H	FIC Keto			FIC UAst H	FIC Keto			FIC UAst H	FIC Keto		
0.25	0,01	0,26	S	0,25	0,03	0,28	S	0,13	0,03	0,15	S
0.50	0,03	0,53	A	0,25	0,06	0,31	S	0,13	0,06	0,18	S
0.50	0,06	0,56	A	0,13	0,06	0,18	S	0,13	0,13	0,25	S
0.13	0,13	0,25	S	0,13	0,25	0,37	S	0,13	0,25	0,37	S
0.25	0,25	0,50	S	0,25	0,50	0,75	A	0,01	0,50	0,51	A
0.25	0,50	0,75	A								
Average of FIC Index		0,47±0.19	S	Average of FIC Index		0,38±0.21	S	Average of FIC Index		0,29±0.15	S

ICIF: Indice de Concentration inhibitrice fractionnelle; Int: type d'interaction; A: additivité; S: synergie; keto: ketoconazole; UAst H: fraction hexamique des tiges d'*Uvaria angolensis*

Il ressort du tableau VI que la combinaison entre la fraction UAst H et le Ketoconazole donne une interaction synergique sur les trois levures testées car les valeurs moyennes des FICI obtenues sont inférieures à 0,5 (Van Vuuren et Viljoen, 2011). La meilleure valeur des FICI, $0,29 \pm 0,15$ étant obtenue sur *Candida parapsilosis*.

L'isobologramme ci-dessous illustre l'interaction synergique entre le kétoconazole et la fraction hexanique UAstH sur *C. parapsilosis*.

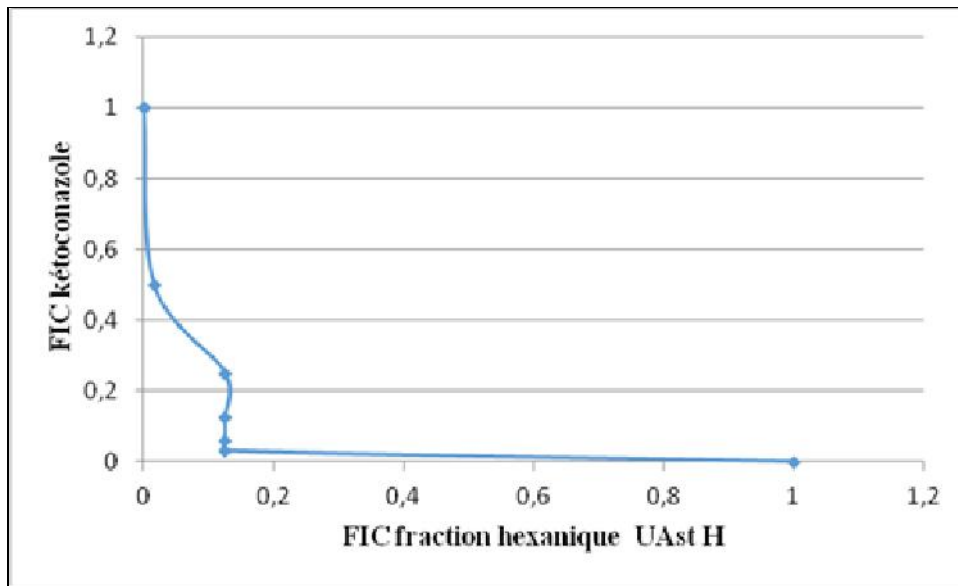


Figure 18: Isobologramme présentant l'interaction synergique entre le kétoconazole et la fraction hexanique UAst H sur *C. parapsilosis*

Cette étude de l'interaction entre la fraction hexanique UAst H de l'extrait de *U. angolensis* et le kétoconazole a eu pour but d'améliorer leur activité antimicrobienne afin de pouvoir limiter le phénomène de résistance observé chez ces levures vis-à-vis des traitements disponibles (**Pankey et al., 2005**). En effet, les médicaments antifongiques disponibles pour le traitement des infections fongiques sont limités par plusieurs facteurs tels que la résistance et les effets secondaires indésirables. Ainsi, il est important de rechercher de nouveaux agents plus actifs et l'étude des combinaisons est l'un des moyens pour y parvenir. Ces résultats montrent une amélioration de l'activité de l'extrait de *U. angolensis* et du kétoconazole en combinaison et donc qu'une interaction synergique entre les extraits de plantes et les médicaments est possible. Ces résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs qui ont montré que les extraits de plantes augmenteraient l'activité antimicrobienne des médicaments et vis-versa (**Betoni et al., 2006; Esimone et al., 2006; Horiuchi et al., 2007 ; Adwan et Mhanna, 2008**).

Cette augmentation de l'activité est probablement due à l'effet combiné des métabolites présents dans l'extrait de plante et l'antifongique (**Olgica et al., 2012**). En effet, les extraits de plante contiennent un grand nombre de métabolites secondaires (phénols, flavonoïdes, tannins, coumarines, alcaloïdes, terpénoïdes...) qui affectent le métabolisme des microorganismes (**Cowan, 1999**). Selon **Duke et al. (2003)**, ils inhibent la croissance des levures par différents mécanismes en agissant directement ou indirectement sur le même site au niveau de la cellule fongique (membrane, paroi, ADN). Cependant, le mécanisme de synergie entre les différents composés des extraits et les antifongiques est encore inconnu. Néanmoins, **Sibanda et Okoh (2007)** et **Horiuchi et al. (2007)** ont suggéré que les métabolites secondaires attaqueraient la paroi cellulaire microbienne et augmenteraient la perméabilité de la membrane cytoplasmique, facilitant ainsi l'entrée des agents toxiques (antibiotique, antifongique) dans la cellule. Cette double attaque de plusieurs agents sur différents sites d'action chez le microorganisme conduit théoriquement à un effet synergique ou additif (**Esimone et al., 2006**). Ceci pourrait expliquer l'effet synergique observé avec la combinaison testée sur les trois isolats de levure.

Ainsi, l'efficacité de l'activité antifongique et l'interaction synergique observées indiquent l'aspect bénéfique de la combinaison des extraits de plantes et des médicaments. Cette approche pourrait être une alternative qui limiterait la prolifération des infections fongiques en réduisant l'émergence de la résistance aux antifongiques disponibles. En effet, les extraits contiennent un mélange de différents composés bioactifs qui agissent sur la cellule

microbienne avec des mécanismes bien différents (**Owoyale *et al.*, 2005**). Développer la résistance face à cette combinaison thérapeutique devient plus difficile pour le microorganisme en comparaison aux antifongiques constitués d'un seul principe actif et administrés en monothérapie. De plus, cette combinaison permettrait aussi de réduire les effets secondaires indésirables observés avec certains antimicrobiens (antifongiques) (**Shanmugam *et al.*, 2008 ; Matias *et al.*, 2011**), de réduire le temps de médication, la dose de médicament synthétique utilisée dans le traitement (**Inui *et al.*, 2007 ; Farzad *et al.*, 2011**) et d'augmenter le spectre d'action des antimicrobiens (antifongiques) disponibles (**Eliopoulous et Moellering 1991**).

III.1.4 Activité antifongique des extraits au méthanol-chlorure de méthylène des Verbenaceae sur les levures

Tableau VII: CMI et CMF des extraits méthanoliques sur les levures (mg/ml)

Espèces végétales	Extraits	<i>C. albicans</i>			<i>C. parapsilosis</i>			<i>Cr. neoformans</i>		
		CMI	CMF	R _{F/I}	CMI	CMF	R _{F/I}	CMI	CMF	R _{F/I}
<i>Vitex grandifolia</i>	Feuilles	0,19	0,39	2	0,39	0,78	2	0,19	0,78	4
	Brindilles	0,19	0,39	2	0,78	1,56	2	0,19	0,39	2
	Tiges	1,56	1,56	1	0,39	0,78	2	0,78	1,56	2
	Ecores de tronc	0,78	3,12	4	0,09	0,09	1	0,39	1,56	4
	Racines	0,39	1,56	4	0,39	0,39	1	0,78	0,78	1
<i>Vitex rivularis</i>	Ecorces des racines	0,09	0,39	4	0,19	0,19	1	0,39	0,39	1
	Feuilles	0,09	0,39	4	0,39	0,39	1	0,09	0,39	4
	Brindilles	0,19	0,39	2	0,39	0,39	1	0,39	0,78	2
	Tiges	0,78	1,56	2	0,09	0,39	4	1,56	3,12	2
	Ecores de tronc	0,19	0,39	2	0,19	0,78	4	1,56	1,56	1
Références	Racines	0,19	0,19	1	0,09	0,19	2	0,19	0,19	1
	Fruits	0,39	0,39	1	0,39	0,78	2	0,39	0,78	2
	Amphotéricine B	0,01	0,02	2	0,005	0,02	4	0,005	0,005	1
	Ketoconazole	10	10	1	5	10	2	5	10	2

Les extraits ont été testés contre les levures selon le protocole standard NCCLS (1992) et les résultats exprimés en CMI (Concentration minimale inhibitrice) et en CMF (Concentration minimale fongicide) ; R_{F/I}= Rapport CMF/CMI

Il ressort du tableau VII que les extraits possèdent un potentiel antifongique avec des CMI variant de 0,09 à 1,56 mg/ml en fonction des extraits et des microorganismes. Concernant les extraits de *V. grandifolia*, l'extrait de l'écorce du tronc (Vgsb) et celui de l'écorce des racines (Vgrb) sont très actifs respectivement sur *C. parapsilosis* et *C. albicans* car ont donné une meilleure CMI, 0,09 mg/ml sur ces germes. Ensuite, avec une CMI de 0,19 mg/ml, viennent l'extrait des feuilles (Vgl) et celui des brindilles (Vgtw) sur *C. albicans* et *Cr. neoformans*, celui des brindilles (Vgtw) sur *C. albicans* et *Cr. neoformans*, et l'extrait de l'écorce des racines (Vgrb) sur *C. parapsilosis*. En profil général de l'espèce *grandifolia*, l'extrait des écorces des racines (Vgrb) est le plus actif car a inhibé les trois levures avec des valeurs de CMI comprises entre 0,09 et 0,39 mg/ml dont 0,09 mg/ml sur *C. albicans*, 0,19 mg/ml sur *C. parapsilosis* et 0,39 mg/ml sur *Cr. neoformans*.

Pour les extraits de *V. rivularis*, le profil d'activité est semblable à celui des extraits de *Vitex grandifolia*. La meilleure CMI, 0,09 mg/ml, a été obtenue avec l'extrait des feuilles (Vrl) sur *C. albicans* et *Cr. neoformans*, de même que l'extrait des tiges (Vrst) et celui des racines (Vrr) sur *C. parapsilosis*. Avec une CMI de 0,19 mg/ml, l'extrait des brindilles (Vrtw) est actif sur *C. albicans* tandis que l'extrait de l'écorce du tronc (Vrsb) est actif sur *C. albicans* et *C. parapsilosis* et l'extrait des racines sur *C. albicans* et *Cr. neoformans*. Les extraits ayant une activité moyenne (CMI de 0,39 mg/ml) sont les extraits des feuilles sur *C. parapsilosis*, des brindilles sur *C. parapsilosis* et *Cr. neoformans*, ainsi que ceux des fruits sur *C. albicans*, *C. parapsilosis* et *Cr. neoformans*. Dans l'ensemble du profil antifongique des extraits de l'espèce *rivularis*, les extraits des racines suivi de ceux des feuilles se sont avérés les plus actifs sur les trois levures avec des CMI de 0,09 à 0,19 mg/ml pour les racines et de 0,09 à 0,39 mg/ml pour les feuilles.

Ces résultats montrent que le degré de fongicidie varie en fonction du spécimen végétal, de l'organe extrait, et même du germe pour l'extrait du même organe d'une espèce donnée. Au fait, partant de la classification de la fongicidie basée sur la valeur du ratio CMF/CMI, tous les extraits testés peuvent être considérés comme ayant un effet fongicide sur toutes les levures car le ratio CMF/CMI est inférieure ou égale à 4 (**Carbonnelle et al, 1987**).

D'après la littérature, les résultats obtenus à l'issue de cette étude sont les premiers mettant en exergue l'activité antifongique des extraits organiques de ces espèces sur les levures. Les résultats obtenus sont différents de ceux de **Cabral et al. (2009)** qui ont obtenu une faible activité antifongique de l'huile essentielle de *Vitex rivularis* contre les espèces du

genre *Candida*. Cette différence d'activité pourrait s'expliquer par le fait que les composés antifongiques synthétisés par *V. rivularis* seraient majoritairement non volatils contrairement aux huiles essentielles constitués en majorité de composés volatiles. **Azokou et al. (2013)** ont montré que l'activité antilavicide des extraits éthanoliques des feuilles et de l'écorce du tronc de *V. grandifolia* sur les larves d'*Anopheles gambiae*, avec des LC₅₀ de 180 ppm sur les souches sensibles et 370 ppm sur les souches résistantes. Néanmoins, de nombreuses études d'activités antifongiques d'autres espèces du genre *Vitex* dont *V. negundo*, ont été publiées à ce jour (**Rani et Sharma, 2013**).

Globalement, ces résultats montrent que les extraits au méthanol-chlorure de méthylène des espèces *V. grandifolia* et *V. rivularis* ont un profil d'activité similaire et donc contiendront des composés qui pourront servir de base à la découverte de nouveaux médicaments antifongiques. En plus, ces extraits ont montré des activités plus prometteuses sur les levures par rapport aux extraits éthanoliques des Annonaceae et pour cela, ils ont été choisis pour être testés sur les champignons filamenteux pour éventuellement estimer l'étendue de leur spectre d'action.

III.1.5. Activité antifongique des extraits au méthanol-chlorure de méthylène des Verbenaceae sur les filamenteux

Tableau VIII: CMI et CMF des extraits méthanoliques sur les champignons filamenteux (mg/ml)

Microorganisme	Paramètres	<i>Vitex grandifolia</i>										<i>Vitex rivularis</i>						Références								
		Feuilles		Brindilles		Tiges		Ecorces de tronc		Racines		Ecorces des racines		Feuilles		Brindilles		Tiges		Ecorces de tronc		Racines		Fruits		
		Vgl	Vgtw	Vgst	Vgsb	Vgr	Vgrb	Vrl	Vrtw	Vrst	Vrsb	Vrr	Vrfr	Amphothéricine B	Grisofulvine											
<i>E. floccosum</i>	CMI	0,78	0,39	1,56	0,39	0,19	0,09	1,56	0,09	0,39	1,56	1,56	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
	CMF	0,78	1,56	3,12	1,56	0,19	0,19	0,39	0,39	1,56	1,56	1,56	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	
	R _{E/I}	1	4	2	4	1	2	4	1	2	4	1	1	4	2	1	1	4	2	1	1	4	2	1	2	
<i>M. audouinii</i>	CMI	0,09	0,78	1,56	0,78	0,78	0,39	1,56	0,39	1,56	1,56	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,005	
	CMF	0,19	1,56	3,12	0,78	3,12	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,01	
	R _{E/I}	2	2	2	1	4	2	1	4	2	4	1	1	1	2	4	2	4	2	4	2	1	1	2	2	2
<i>M. canis</i>	CMI	0,09	0,19	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	1,56	0,09	0,39	0,39	1,56	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,02
	CMF	0,19	0,78	6,25	1,56	6,25	1,56	6,25	1,56	6,25	1,56	0,39	1,56	1,56	1,56	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,04
	R _{E/I}	2	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	2	4	2	4	2	2	1	1	1	2	2
<i>M. gypseum</i>	CMI	0,39	0,78	0,39	0,39	0,39	0,09	0,39	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,02
	CMF	0,78	1,56	0,39	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	1,56	0,39	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,02
	R _{E/I}	2	2	1	4	4	1	4	4	1	1	4	4	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
<i>M. langeroni</i>	CMI	0,78	0,09	0,78	0,09	0,78	0,09	0,78	0,39	0,78	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	1,56	0,39	0,04
	CMF	1,56	0,19	1,56	0,09	0,78	0,39	0,78	0,39	0,78	0,39	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,04
	R _{E/I}	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>T. mentagrophytes</i>	CMI	0,09	0,19	0,19	0,31	0,39	0,19	0,39	0,19	0,19	0,19	0,09	1,56	0,19	1,56	0,19	1,56	0,19	1,56	0,19	1,56	0,19	1,56	0,19	1,56	0,01
	CMF	0,39	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,39	3,12	0,39	3,12	0,39	3,12	0,39	3,12	0,39	3,12	0,39	3,12	0,39	3,12	0,02
	R _{E/I}	4	4	4	2	2	4	2	4	4	4	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2
<i>T. rubrum</i>	CMI	0,39	1,56	1,56	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,005
	CMF	1,56	1,56	1,56	0,78	1,56	0,78	1,56	0,78	1,56	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,02
	R _{E/I}	4	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4
<i>T. terrestre</i>	CMI	0,78	1,56	0,78	1,56	0,78	1,56	0,39	0,78	0,78	0,39	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,04

Microorganisme	Paramètres	<i>Vitex grandifolia</i>										<i>Vitex rivularis</i>					Références	
		Feuilles	Brindilles	Tiges	Ecorces de tronc	Racines	Ecorces des racines	Feuilles	Brindilles	Tiges	Ecorces de tronc	Racines	Fruits	Amphothéricine B	Grisofulvine			
		Vgl	Vgtw	Vgst	Vgsb	Vgr	Vgrb	Vfl	Vrtw	Vrst	Vrsb	Vrr	Vrfr					
<i>A. flavus</i>	CMF	1,56	3,12	0,78	6,25	1,56	1,56	0,39	0,39	0,39	0,19	0,78	0,78	0,02	0,04			
	R_{E/I}	2	2	1	4	2	4	4	2	1	2	4	2	1	1			
	CMI	0,09	0,39	0,78	0,39	0,78	0,39	0,09	0,39	0,39	0,19	0,39	0,78	0,005	0,02			
	CMF	0,39	0,39	0,78	0,39	1,56	1,56	0,39	1,56	0,78	0,39	0,39	0,78	0,02	0,02			
	R_{E/I}	4	1	1	1	2	4	4	4	2	2	1	4	1	1			

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; **CMF** : Concentration Minimale Fongicide, **R_{E/I}** : rapport CMF/CMI, *E. floccosum* : *Epidermophyton floccosum*; *M. audouinii*; *Microsporium audouinii*; *M. canis* : *Microsporium canis*; *M. gypseum*; *Microsporium gypseum*; *M. langeroni*; *Microsporium langeroni*; *T. terrestre* : *Trichophyton terrestre*; *T. mentagrophytes* : *Trichophyton mentagrophytes*; *T. rubrum* : *Trichophyton rubrum*; *A. flavus* : *Aspergillus flavus*

Il ressort du tableau VIII que les CMI varient de 0,09 à 6,25mg/ml en fonction des extraits et des microorganismes.

Concernant *V. grandifolia*, l'extrait des feuilles est très actif contre *M. audouinii*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* et *A. flavus* avec une CMI de 0,09 mg/ml, de même que l'extrait des brindilles et l'écorce du tronc sur *M. langeroni* et l'extrait de l'écorce des racines sur *E. floccosum* et *M. gypseum*. Avec une CMI de 0,19 mg/ml, l'extrait des brindilles a montré une bonne activité sur *M. canis* et *T. mentagrophytes*. L'extrait de l'écorce du tronc et celui des racines ont été très actifs sur *T. mentarophytes* et *E. floccosum* respectivement. L'extrait de l'écorce des racines a été cependant très actif sur *T. mentagrophytes*. Une activité modérée (CMI=0.39mg/ml) a été obtenue avec les extraits des feuilles de *M. gypseum* et *T. rubrum*, des brindilles sur *E. floccosum* et *A. flavus*, *C. tropicalis*, le tronc sur *M. gypseum*, l'écorce du tronc sur *E. focossum*, *M. canis*, *M.gypseum*, *T. mentagrophytes* et *A. flavus*, les racines sur *M. gypseum* et *T. mentagrophytes*, l'écorce des racines sur *M. audouinii*, *M. langeroni* et *T. terrestre*. L'extrait de l'écorce des racines est celui ayant inhibé tous les germes testés avec des CMI inférieures ou égales à 0,78 mg/ml. Les plus faibles effets inhibiteurs dans nos conditions expérimentales (CMI=1,56 mg/ml) ont été obtenus avec les extraits des brindilles et des tiges sur *T. rubrum*, de même, une activité pareille a été obtenue des extraits des brindilles sur *T. terrestre*.

Pour *V. rivularis*, l'extrait des feuilles (Vrl) s'est montré très actif contre *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. terrestre* et *A. flavus* avec une CMI de 0,09 mg/ml, de même que l'extrait du tronc (Vrst) sur *E. floccosum* et *T. rubrum*, l'écorce (Vrsb) sur *T. terrestre*, les racines (Vrr) sur *M. audouini*, et celui des fruits (Vrfr) sur *M. audouinii* et *M. gypseum*. Avec une CMI de 0,19 mg/ml, l'extrait des brindilles (Vrtw) est actif sur *M. audouinii*, *M. gypseum* et *T. terrestre*, l'extrait de l'écorce du tronc sur *T. mentarophytes*, l'écorce du tronc sur *M. audouinii*, *M. gypseum*, *M. langeroni*, *T. mentagrophytes* et *A. flavus* ; l'extrait des racines sur *T. rubrum* et *T. terrestre*. L'activité modérée a été obtenue avec les extraits des feuilles sur *T. rubrum*, des brindilles sur *M. canis*, *M. langeroni*, *T. rubrum* *A. flavus* et *C. tropicalis*, l'écorce du tronc sur *E. focossum*, et les fruits sur *M. langeroni* et *T. terrestre*, tous ayant leurs CMI à 0,39 mg/ml. L'extrait des feuilles de *V. rivularis* a montré de effets inhibiteurs faibles (CMI=1.56) sur *M. audouinii* et *M. langeroni*. C'est aussi le cas de l'extrait de brindilles et de l'extrait des fruits sur *E. floccosum* et *T. mentagrophytes*, l'extrait de tronc sur *M. audouinii* et *M. langeroni* et l'écorce de tronc sur *M. canis*.

Les résultats de ces travaux corroborent ceux de **Cabral et al. (2009)** qui ont obtenu une très bonne activité antidermatophytique de l'huile essentielle de *Vitex rivularis* avec des CMI allant de 0,16 à 0,64 µg/ml. En outre, les extraits d'autres *Vitex* tel que *V. negundo* et *V. trifolia* se sont révélés actifs sur plusieurs agents infectieux dont les champignons (**Rani et Sharma, 2013**).

De l'ensemble des résultats incluant l'activité sur les levures et les filamenteux, il ressort que tous les extraits de *V. grandifolia* et *V. rivularis* étudiés ont inhibé toutes les trois levures testées ainsi que les 9 filamenteux montrant ainsi que ces deux espèces ont un large spectre d'action antifongique. Les extraits des feuilles de *V. rivularis* (Vrl) ont été très actifs sur 5 germes : *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *A. flavus* (CMI ≤ 0,39 mg/ml) ; ceux des tiges (Vrst) sur 3 germes, *C. parapsilosis*, *E. floccosum* et *T. rubrum* ; l'écorce sur *T. terrestre*, les racines (Vrr) sur 6 germes, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Cr. neoformans*, *M. audouinii*, *M. gypseum* et *A. flavus* et ceux de l'extrait des fruits (Vrfr) sur *C. neoformans*, *M. audouinii* et *A. flavus*. Les extraits des feuilles de *V. grandifolia* (CMI ≤ 0,39 mg/ml) ont été actifs sur *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *M. audouinii*, *M. canis*, *T. mentagrophytes* et *A. flavus*, ceux des brindilles sur *C. albicans*, *Cr. neoformans*, *M. audouinii* and *M. canis*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* et *A. flavus*.

Globalement, les extraits de *V. rivularis* et de *V. grandifolia* présentent une bonne activité antifongique sur les germes testés, avec une très grande variabilité en fonction de l'espèce végétale, des organes et du champignon testé. Compte tenu de son profil antifongique, l'extrait des racines de *V. rivularis* a été fractionné et quelques produits purs ont été isolés et l'élucidation de leurs structures est en cours.

III.1.6 Activités antifongiques des fractions et composés purifiés

Les fractions et les produits obtenus de l'extrait des racines de *V. rivularis* ont été évalués sur quelques levures, moisissures et dermatophytes. Les résultats de ces tests sont présentés dans le tableau IX suivant :

Tableau IX: CMI et CMF des fractions et composés purs (mg/ml)

Fractio ns	<i>C. albicans</i>			<i>C. parapsilosis</i>			<i>Cr. neoformans</i>			<i>T. rubrum</i>			<i>A. flavus</i>		
	CMI	CMF	R F/I	CMI	CMF	R F/I	CMI	CM F	R _{F/I}	CMI	CMF	R _{F/I}	CMI	CMF	R _{F/I}
Composés purifiés															
Vr1	0,02	0,09	4	nd	nd	nd	0,01	0,02	2	nd	nd	nd	0,01	0,01	1
Vr2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Vr3	0,01	0,04	4	nd	nd	nd	0,01	0,02	2	nd	nd	nd	0,01	0,02	2
Vr4	0,02	0,09	4	nd	nd	nd	0,02	0,09	4	nd	nd	nd	0,02	0,02	1
Vr5	0,01	0,02	2	0,09	0,39	4	0,09	0,39	4	0,09	0,19	2	0,09	0,39	4
Vr6	0,09	0,19	2	0,01	0,04	4	0,01	0,04	4	0,02	0,02	1	0,01	0,04	4
Vr7	0,01	0,02	2	0,09	0,09	1	0,01	0,04	4	0,09	0,09	1	0,01	0,04	4
Vr8	0,01	0,04	4	0,04	0,04	1	0,012	0,02	2	0,01	0,01	1	0,02	0,04	2
Vr9	0,02	0,09	4	0,02	0,04	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Vr10	0,04	0,04	1	0,01	0,02	2	0,01	0,01	1	0,09	0,09	1	0,02	0,04	2
Fractions															
F'1	nd	nd	nd	0,048	0,097	2	nd	nd	nd	0,024	0,048	2	0,048	0,097	2
F'2	0,02	0,02	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	0,02	1
F'3	0,01	0,01	1	nd	nd	nd	0,02	0,04	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd
F'4	0,01	0,01	1	0,04	0,09	2	nd	nd	nd	0,02	0,09	4	0,01	0,02	2
F'5	0,02	0,09	4	0,02	0,09	4	0,02	0,02	1	0,04	0,19	4	0,02	0,02	1
F'6	0,04	0,04	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,01	0,02	2	0,04	0,19	4
F'7	0,01	0,01	1	0,04	0,04	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
F'8	0,02	0,04	2	nd	nd	nd	0,04	0,09	2	0,01	0,04	4	nd	nd	nd
F'9	0,04	0,19	4	0,04	0,19	4	0,04	0,19	4	nd	nd	nd	0,04	0,04	1
F'10	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	0,04	2	0,04	0,19	4	nd	nd	nd
F'11	0,01	0,02	2	0,04	0,04	1	0,01	0,01	1	0,02	0,04	2	0,04	0,04	1

L'activité antifongique des fractions et composés isolés a été évaluée sur trois levures (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *Cr. neoformans*), un dermatophyte (*T. rubrum*) et une moisissure (*A. flavus*). Il ressort du tableau IX que les CMI ont varié de 0.01 à 0.39 mg/ml en fonction des extraits et des microorganismes.

Vr1 a été très actif sur *Cr. neoformans* et *A. flavus* avec une CMI de 0,01mg/ml, de même que Vr3 sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *A. flavus* ; Vr5 sur *C. albicans* ; Vr6 sur *C. parapsilosis*, *Cr. neoformans* et *A. flavus* ; Vr7 sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *A. flavus* ; Vr8 sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *T. rubrum* et Vr10 sur *Cr. neoformans*. Les fractions F'3, F'7 et F'11 ont été très actives sur *C. albicans* ; F'11 sur *Cr. neoformans* ; F'6 et F'7 sur *T. rubrum* et F'4 sur *A. flavus*. Avec une CMI de 0,02 mg/ml, les composés suivants se sont montrés très actifs, Vr1 sur *C. albicans* ; Vr4 sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *A. flavus* ; Vr8 sur *A. flavus* ; Vr9 sur *C. albicans* et *C. parapsilosis* ; ainsi que les fractions F'1 sur *T. rubrum* ; F'2 sur *C. albicans* et *A. flavus* ; F'3 sur *Cr. neoformans* ; F'4 sur *T. rubrum* ; F'5 sur *C. albicans* ; *C. parapsilosis* et *Cr. neoformans* ; F'8 sur *C. albicans* ; F'10 sur *Cr. neoformans* et F'11 sur *T. rubrum*.

Au regard du tableau IX, l'amélioration de l'activité des fractions comparée à celle des extraits pourrait être liée à la concentration du principe actif. En effet, **Harbone (1984) et Nwodo et al. (2010)** ont reporté que le fractionnement d'un extrait pourrait conduire à l'amélioration de son activité biologique car ce dernier concentrerait les principes actifs responsables du potentiel observé. En comparaison aux extraits, l'activité des composés Vr1, Vr3, Vr4, Vr5, Vr6, Vr7, Vr8, Vr9 et Vr10 illustrerait parfaitement cette affirmation.

Les extraits testés ont été potentiellement actifs sur la quasi-totalité des germes. Des combinaisons de quelques-uns de ces extraits, en fonction de leurs activités avérées pourraient produire une synergie pour une bonne thérapie antifongique. Cependant, des études plus approfondies des molécules pures isolées pourraient mener à la mise sur pied d'une thérapie à large spectre d'action, avec des activités équivalentes ou supérieures à celles des antifongiques de référence.

Comme préalable à l'identification des principes actifs de cet extrait de *V. rivularis*, un screening phytochimique a été effectué pour mettre en évidence la présence de certaines classes de métabolites secondaires doués d'activités biologiques.

III.2 Profil phytochimique des extraits de *V. grandifolia*, *V. rivularis*, et fractions active de *U. angolensis* (UAst H)

Les différentes classes de métabolites secondaires des extraits bruts obtenus ont été regroupées dans le tableau XII suivant :

Tableau X: Profil phytochimique des extraits actifs

Espèces végétales	Organes récoltés	Solvants d'extraction	Composition phytochimique des extraits bruts											
			Alcaloïdes	Phénols	Flavonoïdes	Saponines	Anthocyanines	Tanins	Triterpènes	Stéroïds	Glycosides	Huiles essentielles		
<i>Vitex grandifolia</i>	Feuilles	Vgl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Brindilles	Vgtw	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tiges	Vgst	+	+	+	+	nd	+	+	+	+	nd	nd	nd
	Ecores de tronc	Vgsb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
	Racines	Vgr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Vitex rivularis</i>	Ecorces des racines	Vgrb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Feuilles	Vrl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Brindilles	Vrtw	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tiges	Vrst	+	+	+	+	nd	+	+	+	+	nd	nd	nd
	Ecores de tronc	Vrsb	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd
Uast H	Racines	Vrr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fruits	Vrfr	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+

Uast H : fraction hexanique des tiges de *U. angolensis* ; nd: non déterminé.

De ce tableau X, il résulte que, tous les extraits testés contiennent une grande diversité de métabolites secondaires. En effet, ils contiennent 4 classes de composés phénoliques (flavonoïdes, saponines, anthocyanines, tannins), les alcaloïdes, les triterpènes et les huiles essentielles.

Cette composition phytochimique justifierait les potentialités antifongiques observées. En effet, de multiples travaux ont montré que ces différents métabolites secondaires mis en évidence possèdent des propriétés antifongiques (**Ekundayo et Adeboye, 2011 ; Tasleem et al., 2011**);). Ils agiraient suivant plusieurs mécanismes au niveau de la cellule fongique. D'après **Okusa (2012)**, les phénols favorisent la formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides, inhibant ainsi leurs fonctions par oxydation des composés à travers la réaction avec les groupements sulfhydryles. De plus, les phénols possèdent des noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupements hydroxyyles pouvant entraîner la formation des réactions d'ubiquitination favorisant leur activité antimicrobienne (**Singh et al., 2007**). Les saponines agiraient à la surface des cellules fongiques et altèrent la perméabilité de la paroi fongique facilitant ainsi la perte des constituants vitaux de la cellule ou l'entrée des agents toxiques dans celle-ci. Ils inhibent aussi la croissance des hyphes, favorisent la dégradation de la membrane cellulaire ce qui entraînent une exposition des composantes cellulaires et par conséquent la mort (;. Les flavonoïdes favorisent la rupture de la membrane cytoplasmique et l'inhibition de la synthèse de l'ADN. (**Onwuliri et Wonang, 2005**)

La présence des alcaloïdes dans les feuilles de *V. rivularis* justifierait assez bien leur utilisation comme boisson tonique, rôle que pourrait jouer également les feuilles de *V. grandifolia* de même que les brindilles et les écorces des deux espèces. La richesse en composés polyphénoliques laisserait présager beaucoup d'autres propriétés thérapeutiques, entre autres anti-inflammatoire et anti-allergique, vasoconstrictrice, veinoactive et anti-AVC (activité vitaminique P), antioxydante et antiradicalaire, antithrombotique, antimittotique, antihépatotoxique et anticancéreuse, hypocholestérolémiant et antidiabétique, anti-ostéoporotique et anticataracte, anxiolytique et inhibitrice enzymatique, anti-ulcéreuse et régénératrice des tissus, antidiarrhéique et gastroprotectrice, anti-carie dentaire, bref de vraies panacées (**Cowan, 1999 ; Sati et Joshi, 2011**)

III.3 Fractionnement de l'extrait des racines de *V. rivularis*

Etant donné que l'extrait des racines de *V. rivularis* (Vrr) a présenté de façon globale la meilleure activité antifongique, il a été sélectionné pour le fractionnement en vue de concentrer et si possible d'identifier les principes actifs.

Les différentes fractions collectées ont été analysées par chromatographie sur couche mince (CCM). Le tableau XI ci-dessous résume le profil des fractions et composés purs obtenus.

Au regard du tableau XI, 169 fractions ont été obtenues. Ces dernières ont été regroupées en 30 fractions (F1 à F30) puis en 10 composés purs (Vr1 à Vr10) et 11 fractions (F'1 à F'11) en fonction de leur profil CCM.

Les fractions à l'hexane pur ont conduit à un concentré huileux vert, non cristallisé. Le système solvant Hexane-Acétate d'Ethyle (20:80 v/v) a permis d'obtenir deux composés purs (Vr1 et Vr2) et trois fractions (F'1 à F'3 partiel) de couleur jaune. Le système solvant hexane-acétate d'éthyle (10:90 v/v) a permis d'obtenir deux composés purs (Vr3 et Vr 4 le composé majoritaire: 7,64 mg) ainsi que trois fractions (F'3 à F'5) toutes de couleur jaune. Le système acétate d'éthyle (100%) donne un composé pur (Vr5 à 2,65 mg) de couleur blanche et une fraction F'6. Le système solvant acétate d'éthyle-méthanol (95:5 v/v) a donné deux composés purs Vr 6 (traces) et Vr7 (0,60 mg), tous deux de couleur blanche puis deux fractions F'6 et F'7. Le système solvant acétate d'éthyle-méthanol (90 :10 v/v) a conduit à deux composés purs Vr8 (2,72 mg) et Vr9 (1,85 mg), de couleur brune puis deux fractions F'8 et F'9. Le système solvant acétate d'éthyle-méthanol (85:15 v/v) a donné une fraction F'10 alors que le système solvant acétate d'éthyle-méthanol (82:18 v/v) a donné un composé pur Vr10 de couleur brune et la fraction F'11. Les autres systèmes solvant acétate d'éthyle-méthanol (80:20, 70:30 et méthanol pur v/v) ont donné une seule fraction, F'11.

La variation de couleur des cristaux (jaune, blanc, brun) laisse présager au moins trois composés distincts après identification. Les fractions de F'1 à F'11 ont été de couleur jaune (F'1 à F'5), claire limpide (F'6 et F'7), violette (F'8) et brune (F'9 à F'11). Le poids total des fractions a été de 27,9364 g (22,05 g + 5,8165 g), soit un pourcentage de 66,64% pour 41,92g d'extrait au départ.

Tableau XI: Fractionnement de l'extrait des racines de *V. rivularis*

N°	Fractions collectées	Masses Fraction (mg)	Rendement (%)	Système solvant (%)	Système d'élution (%)	Observation
1	F'1: F1-F4	F'1: 0,819	1,95	Hex/AE: 20/80	Hex/AE: 17/83	Fraction F'1
2	F'2: F5-F7: 65-79	F'2 :0,20	0,4	Hex/AE: 20/80	Hex/AE: 17/83	Composé Vr1+F'2
3	F'3: F8-F11: 56-60	F'3: 0,66	1,57	Hex/AE: 20/80	Hex/AE: 17/83	Fraction F'3
4	F7:81			Hex/AE: 20/80	Hex/AE: 8/92	Composé Vr2+F'3
5	F10:84			Hex/AE: 10/90	Hex/AE: 2/98	Composé Vr3+F'3
6	F6-F9 :80-83	F'4: 7,64	18,22	Hex/AE: 10/90	Hex/AE: 2/98	Fraction F'4
7	F14-F15: 61-66	Composé		Hex/AE: 10/90	Hex/AE : 2/98	Fraction F'4
8	F16: 88			Hex/AE: 10/90	Hex/AE: 2/98	Composé Vr4 +F'4
9	F17-F18: 90 ; 91	F'5: 3,01	7,18	Hex/AE: 10/90	Hex/AE: 2/98	Fraction F'5
10	F19: 91	F'6: 2,65	6,33	AE pur:	AE/MeOH: 95/5	Composé Vr5+F'6
11	F20: 92			AE/MeOH: 95/5	AE/MeOH: 91/9	Composé Vr6 +F'6
12	F21: 93	F'7: 0,60	1,43	AE/MeOH: 95/5	AE/MeOH : 91/9	Composé Vr7+F'7
13	F23: 94	F'8: 2,72	6 ,48	AE/MeOH: 90/10	AE/MeOH: 87/13	Composé Vr8+F'8
14	F24: 94	F'9: 1,85	4,41	AE/MeOH: 90/10	AE/MeOH: 85/15	Composé Vr9+F'9
15	F22-F27: 92-96	F'10: 1,61	3,84	AE/MeOH: 85/15	AE/MeOH: 82/18	Fraction F'10
16	F28: 97			AE/MeOH: 82/18	AE/MeOH: 80/20	Composé Vr10+F'10
17	F29: 147-157	F'11:	0,64	AE/MeOH: 80/20	AE/MeOH: 78/22	Fraction F'10
18	F29': 158-164	0,27		AE/MeOH: 70/30	AE/MeOH: 60/40	Fraction F'11
19	F30:165-169			MeOH pur	MeOH pur	



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Au terme de ce travail donc l'objectif général était d'évaluer le potentiel antifongique des extraits de plantes des familles des Annonacées et des Verbenacées, il ressort que :

Les extraits de la famille des Verbenaceae se sont avérés plus actifs que ceux des Annonacées au regard des CMI obtenus qui variaient de 0,09 mg/ml à 1,56 mg/ml contre 0,625 mg/ml à 10 mg/ml. L'extrait des racines de *V. rivularis* s'est distingué comme le plus actif avec des CMI comprises entre 0,09 et 1,56mg/ml

Onze fractions (F'1 a F'11) et dix composés (Vr1 à Vr10) ont été obtenu à l'issu du fractionnement de l'extrait des racines de *V. rivularis*. L'activité des fractions variait de 0,01 à 0,048 mg/ml et celle des composés de 0,01 à 0,012mg/ml en fonction des microorganismes testés. La combinaison entre la fraction hexanique des tiges d'*U. angolensis* (UAstH) et le kétoconazole a donné une interaction synergique sur *C. albicans*, *C. neoformans* et *C. parapsilosis*.

L'étude phytochimique de *V. rivularis* a permis d'isoler dix composés actifs. Par ailleurs la présence des métabolites secondaires polyfonctionnels tels que les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, saponines, tannins, anthraquinones), les terpénoïdes, les stérols, les xanthoprotéines, les huiles essentielles, les lipides, ainsi que les sucres réducteurs a été mis en évidence dans les extraits et fractions actifs.

Ces résultats supportent l'usage traditionnel de ces plantes. Néanmoins, une étude plus approfondie des composés isolés de l'espèce de racine de *Vitex rivularis* est indispensable en vue de développer un nouveau traitement contre les infections fongiques.

PERSPECTIVES

Ce travail n'étant qu'une introduction dans la recherche d'une nouvelle thérapie contre les mycoses et les dermatophytoses, nous envisageons dans les prochaines étapes de :

- Elucider les structures chimiques des composés actifs
- Combiner ces composés entre eux et avec les antifongiques disponibles pour la recherche d'une combinaison synergique
- Déterminer le profil toxicologique des composés d'intérêt et des combinaisons ayant montré les interactions synergiques ;
- Evaluer l'activité antifongique *in vivo* des composés et des combinaisons, ainsi que leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.



REFERENCES

REFERENCES

- Achoundong G., Guedje N., Nkuinkeu R., Onana J.M. (2003).** Les fruitiers forestiers comestibles du Cameroun: Aspects botaniques et écologiques in *Les Fruitiers Forestiers Comestibles du Cameroun*. IPGRI 2006. ISBN-13: 978-92-9043-707-3, ISBN-10: 92-9043-707-3, 205 p.
- Adjanohoun E., Assi L.A. (1979).** Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte-d'Ivoire. Centre national floristique, 32 p.
- Adjanohoun J.E., Aboubakar N., Dramane K., Ebot M.E., Ekpere J. A., Enoworock E.G., Focho D., Gbile Z.O., Kamanyi A., Kamsu K.J., Keita A., Mbenkum T., Mbi C.N., Mbiele A.C., Mbome J.C., Muberu N.K., Nancy W.L., Kongmeneck B., Satabie B., Sofowor A., Tamze V., Wirmum C.K. (1996).** *Traditional Medicine and Pharmamacopoeia: Contribution to Ethnobotanical and Floristic Studies in Cameroon*. Organisation of African Unity; Scientific Technical and Research Comity, Addis Ababa, PP 194-201.
- Adwan G., Mhanna M., (2008).** Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 3(3):134-139
- Akendengue B., Ngou-Milama E., Roblot F., Laurens A., Hocquemiller R., Grellier P.et Frappier F. (2005).** Activité antiplasmodiale d'Annonaceae du Gabon. *Ann. Univ. M. NGOUABI*. 6 (1) : 190-196
- Alitonou G.A., Tchobo F.P., Sessou P., Avlessi F., Menut C., Sohounhloue D.C.K. (2013).** Chemical composition, antiradical anti-inflammatory activities of four *Annonaceae* from Benin. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 3 (3) : 914-923.
- Antoun M.D., Gerend L., Milhous W.K. (1993).** Screening of the Flora of Puerto Rico for Potential Antimalarial Bioactives. *International Journal of Pharmacognosy*, 31 (4): 255-25.
- Antoun M.D., Martinez E., Caballero R., Quendo I., Proctor G.R., Weislow O.S., McCloud T.G., Kiser R., Staley P., Clanton D. (1999).** Evaluation of the Flora of

Puerto Rico for *In Vitro* Cytotoxic and Anti-HIV Activities. *Pharmaceutical Biology*, **37** (4): 277-280.

Arbonnier M. (2004). *Trees, shrubs and lianas of West African dry zones*. CIRAD, Paris, France; Margraf, Weikersheim, Germany; MNHN, Paris, France.

Audigié C.I., Dupont G., Zonszain F., (1995). *Principles methods of biochemical analysis*. Tome I, Ed. Doin, Paris p.207.

Avis J.T., Belanger R.R., (2001). Specificity and mode of antifungal fatty acid cis-9-heptadecenoic acid produced by *pseudozyma flocculosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, **67** (2): 956-960.

Awono F. A., Ndoye, O., Minlo, Y., Lema Ngono D. (2003). Les Fruitiers Forestiers Comestibles du Cameroun: aspect utilisation in *Les Fruitiers Forestiers Comestibles du Cameroun*. IPGRI 2006. 205 p.

Azokou A., Mamidou W.K., Benjamin G.K., Honora F.T.Bi. (2013). Larvicidal potential of some plants from West Africa against *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Born Diseases*, **50**: 103-110.

Babayi H., Kolo I., Okogun J.I., Ijah U.J.J., (2004). Antimicrobial activities of methanolic extract of *Eucalytus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistry*, **16** (2): 106-111

Bakarnga-Via, Hzounda J.B., Fokou T.P.V., Tchokouaha Y.R.L., Gary-Bobo M., Gallud A., Garcia, M., Walbadet L., Secka, Y., Dongmo, J.M.P., Boyom F.F., Menut C., (2014). Composition and cytotoxic activities of essential oils from *Xylophia aethiopica* (Dunal) A. Rich, *Xylophia parviflora* (A. Rich) Benth.) And *Monodora myristica* (Gaertn) growing in Chad and Cameroon. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14** (125):1-8.

Beghin D., Vanbreuseghem R., (1974). Prévalence et incidence de la teigne scolaire dans la ville de Grombalia, Cap Bon (Tunisie). *Archive de l'Institut Pasteur de Tunis*, **51** : 35-38.

Berenbaum M.C. (1978). A method for testing for synergy with any number of agents. *Journal of Infectious Disease*, **137**(2):122-30.

- Bergemann A., Karstaedt A.S., (1996).** The spectrum of meningitis in a population with high prevalence of HIV disease. *Quarterly Journal of Medicine*, **89**: 499-504.
- Betancur-Galvis L., Saez J., Granados H., Salazar A., Ossa J. (1999).** Antitumor and Antiviral Activity of Colombian Medicinal Plant Extracts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **94** (4): 531-5.
- Betoni J.E.C., Mantovani R.P., Barbosa L.N., Stasi L.C.D., Junior A.F., (2006).** Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **101**(4): 387-390
- Betti J.L. (2004).** An ethnobotanical study of medicinal plants among the Baka Pygmies in the Dja Biosphere Reserve, Cameroon. *African Study Monographs*. **25**(1): 1-27.
- Betti J.L., Lejoly J. (2009).** Contribution to the knowledge of medicinal plants in the DjaBiosphere Reserve, Cameroon: plants used for treating jaundice. *Journal of Medicinal Plants Research* **3**(12):1056-1065.
- Blumenthal, U.J., Peasey, A., Ruiz-Palacios, G., Mara, D.D. (2000).** Guidelines for wastewater reuse in agriculture and aquaculture: recommended revisions based on new research evidence. WELL Resource Centre, London School of Hygiene and Tropical Medicine and WEDC, Loughborough University, UK (WELL Study No. 68 Part I).
- Boiron P., (2008).** http://ispb.univLyon1.fr/mycologie/Site_labo_myc/Enseignement/uv_pathologie_tropicale/mycologies_medical.htm. Consulté le 13/04/08 à 18 heures.
- Bolou G.E.K., Attioua B., N'guessan A.C., Coulibaly A., N'guessan J.D., Djaman A.J.,(2011).** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **80**: 772-790
- Bouchet P., Legin H., Gassita J. N., Issembe S., Bobichon H., Quirin F., 1986.** Isolement d'un composé actif sur les dermatophytes. *Bulletin de la Société Française de Mycologie Medicale*, **15**(2) : 509-512.
- Boukachabine K., Agoumi A., (2005).** Les onychomycoses au Maroc. *Annales de Biologie Clinique*, **63**(6): 639-642.

- Bouquet Arg. A. (1969).** Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville) — Mémoires O.R.S.T.O.M., n° 36, Paris, 109.
- Boyom F.F. (1992).** *Huiles Essentielles de Quelques Annonaceae du Cameroun : Teneur, Caractéristiques Chimiques et Propriétés Pharmacodynamiques.* Thèse de Doctorat 3^e Cycle en Biochimie, Université de Yaoundé, Cameroun. PP 136-148.
- Boyom F.F. (2004).** *Huiles essentielles d'annonacées camerounaises: Analyses chimiques, Activités antioxydantes et Antiplasmodiales.* Thèse de Doctorat d'Etat en Biochimie, Université de Yaoundé I, Cameroun. 194 p.
- Boyom F.F., Madiesse K.E., Tepongning R., Ngouana V., Mbacham F.W., Tsamo E., Amvam Zollo P.H., Gut J., and Rosenthal P.J. (2009).** Antiplasmodial activity of extracts from seven medicinal plants used in malaria treatment in Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, **123**:483-488
- Boyom F.F., Ngouana V., Amvam-Zollo P.H., Menut C., Bessiere J.M, Gut J., Rosenthal P.J. (2003).** Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry*, **64**: 1269-1275.
- Boyom F.F., Tsouh F.P.V., Tchokouaha Y.L.R., Ngoutane M.A., Madiesse E. K., Wilfred Fon Mbacham W.F., Tsamo E., Amvam Zollo P.H., Gut J., Rosenthal P.J.(2011).** Potent antiplasmodial extracts from Cameroonian *Annonaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*, **134**:717-724.
- Bredenkamp C.L. et Botha D.J. (1993).** A synopsis of the genus *Vitex* L. (Verbenaceae) in southern Africa. *South African Journal of Botany*, **59**(60):611-622.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ème} édition revue et augmentée. TEC et DOC Paris, France 1120p
- Burabai W., Amula E., Daworiye P., Suowari T., Nimame, P. (2009).** Proximate composition and some technological properties of African Nutmeg (*Monodora myristica*) seeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **8** (5): 396-402.
- Burkill H.M. (1985).** *The Useful Plants of West Tropical Africa*, 2nd Ed., Royal Botanic Gardens Kew, London, UK. PP 98-135.

- Cabral, C., Chen K.N., Krusin-Elbaum. (2007).** Irreversible modification of Ge₂Sb₂Te₅ phase change material by nanometer-thin Ti adhesion layer in a device compatible stack. *Applied Physic Letter* **90**, 051908.
- Carbajall D., Casaco A., Arruzabaca L., Conzalez R., Fuentes V. (1991).** Pharmacological Screening of Plant Decoctions Commonly Used in Cuban Folk Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **33**(1/2): 21-24.
- Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinong G., Vague R. (1987).** Bactériologie médicale, techniques usuelles. Edition SIMPEP, Paris, 330p,
- Carriere M. (2000).** Flore de Guinée : Appellations vernaculaires et usages traditionnels de quelques plantes. 130 p.
- Chabasse D., Bouchara J.P., De gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P., (2002).** Les moisissures d'intérêt médicales. *Laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU d'Anger*, **25** :157p.
- Chabasse D., Bouchara J.P., De gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P., (2004).** Les Dermatophytes. *Laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU d'Anger*, **31** :143p.
- Chabasse D., Guiguen C.L. Contet-Audonneau N., 1999.** Mycologie médicale. *Masson. Paris.* p. 324.
- Cheek, M. 2014.** *Xylopiya africana*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T45423A3001846.<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-.RLTS.T45423A3001846.en>
- Choumessi A.T., Danel M., Chassaing S., Truchet I, Penlap V.P., Pieme A.C., Tazoacha AT., Ducommun B., Valette A. (2012).** Characterization of the antiproliferative activity of *Xylopiya aethiopica*. *Cell Division*, **7**:1-8.
- Clark T.A., Hajjeh R.A., (2002).** Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Current Opinion in Infectious Diseases*, **15**:569-574
- Cowan M.M., (1999).** Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*, **12**(4):564-582
- Cravo L, Perineau F, Delmas M, et Bessiere J-M. (1991).** Chemical composition of the leaf and fruit oil of *Polyalthia suaveolens* Eng. et Diels. *Journal of Essential Oil Research* **3**:459–461.

- Dannaoui E., (2007).** Principaux antifongiques systémiques. Mécanismes d'actions et résistance, spectre, indications. *Centre National de Référence de la Mycologie et Antifongiques, Institut Pasteur Paris*, 38p
- De Billerbeck G. (2000).** Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur *Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Institut National Polytechnique de Toulouse, 236p
- Diamond R.D., (1995).** *Cryptococcus neoformans*. In principles and practice of infectious diseases. Mandell G. L., Douglas R. G., Bennett J. E. (Ed). 4th edition Churchill Livingstone, New York, 2331-2340.
- Dismuke W.E.D., (2000).** Introduction to antifungal drugs. *Clinical Infectious Diseases*, 30: 653-657.
- Doctorfungus., (2009).** Titre www.doctorfungus.org. Mise à jour le 1/27/2007 : consulté le 22/09/2009 à 17h30.
- Donkeng D.V.F., Roque S., Trigo G., Tsouh Fokou P.V., Yamthe Tchokouaha L.R., Tsabang N., Amvam Zollo P.H., Correia-Neves M., Fekam Boyom F., (2014).** Antimycobacterial activity of selected medicinal plants extracts from Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(1): 273-288
- Douglas S., Turnburg M., (1998).** Note on medical bacteriology. 5th edition, Churchill Livingston, 482p.
- Dromer F, Lortholary O., (2004).** Cryptococcose. *EMC Maladies Infectieuses. Paris : Elsevier*, 8-613-A-10.
- Duke J.A., JoBogenschutz-Godwin M.J.D., Duke P.A.K., (2003).** CRC Handbook of Medical Plant. CRC press, Boca Raton, FL. 348 p
- Dupont B., (2002).** An epidemiological review of systemic fungal infections. *Journal de Mycologie Médicale*, 12(4) : 163-173.
- Dzoyem J.P., Kechia F.A., Ngaba G.P., Lunga P.K., Lohoue P.J. (2012).** Prevalence of cryptococcosis among HIV-infected patients in Yaounde, Cameroon. *African Health Sciences*, 12(2): 129-133.
- Eggimann P., Garbino J., Pittet D., (2003).** Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infectious Diseases*, 3: 685–702

- Ekundayo F.O., Adeboye C.A, Ekundayo E.A. (2011).** Antimicrobial activities and phytochemical screening of pignut (*Jatropha curcas* Linn.) on some pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5(7)**:1261-1264.
- Eliopoulos G.M., Moellering R.C.Jr., (1991).** Antimicrobial combinations. In: Lorian V, ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore, Edition: Williams and Wilkins. Pp 432-492
- Esimone C.O., Iroha I.R., Ibezim E.C., Okeh C.O., Okpana E.M., (2006).** In vitro evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Biotechnology*, **5**: 1082-1086.
- Etoundi E., (1982).** Les mycoses ou maladies provoquées par les champignons pathogènes au Cameroun. *Edition CEPER, Yaoundé*, 7-68.
- Farzad A., Umi Kalsom Y., Sassan R., Behroz D., Farnaz A., (2011).** In vitro antifungal effects of aqueous garlic extract alone and in combination with azoles against dermatophytic fungi. *Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, **1(9)**: 226-231
- Feuilhade de Chauvin M., Bazex J., Claudy A., Roujeau J.C., 2003.** Infections à Dermatophytes de la peau glabre, des plis et des phanères. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, **130** : 59-63.
- Focho D.A, Egbe E. A., Chuyong G. B., Fongod A. G. N., Fonge B. A., Ndam W. T., Youssoufa B. M. (2010).** An ethnobotanical investigation of the annonaceae on Mount Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. **4(20)**, pp. 2148-2158.
- Fournier G, Leboeuf M, and Cave A.** Constituants terpéniques des huiles essentielles d'Annonaceae, *Rivista italiano Eppos*, **753**, (1997)
- Frimpong E.H., Lartey R.A., (1998).** Study of the aetiologic agents of meningitis in Kumasi, Ghana, with special reference to *Cryptococcal neoformans*. *East African Medical Journal*, **75**: 516-529.
- Garcia H.D., Neuville S., Dromer F., (2001).** Actualités épidémiologiques de *Cryptococcus neoformans*. *La lettre de l'infectiologue*, **3**:67-72.
- Garry R.P., Chalchat J.C., Menut C., Lamaty G., Malhuret R., Chopineau J. (1997).** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity of some African essential oils. *Journal of Essential oils Research*, **9**: 67-75.

- Gbeassor M., Kedjagni A.Y., Koumaglo K., De Souza C., Agbo K., Aklikokou K., Amegbo K.A. (1990).** *In vitro* Antimalarial Activity of Six Medicinal Plants. *Phytotherapy Research*, **4** (3): 115-117.
- Ghannoum M.A., Rice L.B., (1999).** Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4):501-517.
- Ginter-Hansel M.G., Weger W., Ilkit M., Smolle J., 2007.** Epidemiology of tinea capitis in Europe: current state and changing patterns. *Mycoses*, **50**: 6-13.
- Gottlieb O.R., (1990).** Phytochemicals: differentiation and function. *Phytochemistry*, **29**: 1715-1724
- Grover R.K. et Moore J.D., (2008).** Toximetric studies of fungicides against brown rot organism : *S. fruticola* and *S. laxa*. *Phytopathology* **52**:876-880
- Gumbo T., Taege A. J., Mawhorter S., McHenry M. C., Lytle B. H., Cosgrove D. M., Gordon S. M. (2000).** *Aspergillus* valve endocarditis in patients without prior cardiac surgery. *Medicine*. **79**:261-268
- Hackett B.C., O'Connell K., Cafferkey M., O'Donnell B.F., Keane F.M., 2006.** Tinea capitis in a paediatric population. *Ireland Medicine Journal*, **99**(10): 294-295.
- Hadacek, F., Greger H. (2000).** Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and essay choose. *Phytochemistry Ann.*, Londres, pp137-147
- Hammonière M., Fournet A., Leboeuf M., Bouquet A., Cave A., (1976).** Le polycapol, nouveau triterpène isolé de *Polyalthia oliveri* Engl. et de *Meiocarpidium lepidotum* Engl. et Diels, Annonacées. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Série C* (282):1045-1047.
- Hamoir J., Goret M., Mignon B., Gustin P., (2001).** Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses chez les carnivores domestiques. *Annual of Medical Veterinary*, **145**:226-232.
- Harbone J.B., (1976).** Phytochemical methods. A guide of modern techniques of plants analysis. Chapman and Hall, London, 150p
- Harbone J.B., (1984).** Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plants analysis. 2nd edition. Chapman and Hall, London, 1, 19: 37-168 pp

- Hazen K.C., Howell S.A., (2007).** *Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance.* p. 1762-1788. In PR Murray et al. (ed.) *Manual of Clinical Microbiology.* 9th Edition. ASM Press. Washington, DC.
- Heyderman R.S., Gangaidzo I.T., Hakim J.G., Mielke J., Taziwa A., (2001).** Cryptococcal meningitis in human immuno-deficiency virus-infected patients in Harare, Zimbabwe. *Clinical Infectious Diseases*, **32**: 1235-1236.
- Hobson R.P., (2003).** The global epidemiology of invasive *Candida* infections – is the tide turning? *Journal of Hospital Infection*, **55**: 159-168
- Hocquemiller R., Dubois G., Le boeuf M., Cave A., Kunesch N., Riche C., Chiaroni A.(1981).** Alkaloids of the Annonaceae. PartXXXI. Polyveoline, a new indolosesquiterpene isolated from *Polyalthia suaveolens*, Annonaceae. *Tetrahedron Letters*, **22**: 5057-5060
- Horiuchi K., Shiota S., Kuroda T., Hatano T., Yoshida T., Tsuchiya T., (2007).** Potentiation of antimicrobial activity of aminoglycosides by carnosol from *Salvia officinalis*. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, **30**: 287-290
- Hostettman K., Marston A., (1994).** Search for new antifungal compounds from higher plants. *Pure and Applied Chemistry*, **66**: 2231-2234.
- Hufford C.D., Babajide O.O., James S.N. (1987).** Angoluvarin, an antimicrobial dihydrochalcone from *Uvaria angolensis*. *Journal of Organic Chemistry*, **52** (23): 5286-5288.
- Hufford C.D., Oguntimein B.O. (1982).** New dihydrochalcones and flavanones from *Uvaria angolensis*. *Journal of Natural Products*, **45** (3): 337-342.
- Hufford C.D., Oguntimein B.O., (1980).** Dihydrochalcones from *Uvaria angolensis*. *Phytochemistry*, **19**(9): 2036-2038.
- Hutchinson L. L. D., Dalziel J.M. (1963).** Flora of west tropical Africa. *Crown Agent for Oversea Governements and Admin.* **2** :142-352
- Hutchinson, J. & Dalziel, J.M. (1954).** *Flora of West Tropical Africa.* vol 1, part 1, 2nd edition. Crown Agents. London. 498p.

- Inui T., Wang Y., Deng S., Smith D.C., Franzblau S.G., Pauli G.F., (2007).** Countercurrent chromatography based analysis of synergy in an antituberculosis ethnobotanical. *Journal of Chromatography A*, **1151**:211-215
- Jaramillo M.C., Arango G.J., Gonzalez M.C., Robledo S.M. et Velez I.D. (2000).** Cytotoxicity and Antileishmanial Activity of *Annona muricata* Pericarp. *Fitoterapia*, **71** (2): 183-6.
- Jiofack T., Guedje N. Ayissi I., Fokunang C., L. Usongo and B. A. Nkongmeneck (2010).** Upper Nyong valley forest in Cameroon: Ethnobotanical uses and implications for biodiversity conservation. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, **2**(11): 370-381
- Joyeux M., Mortier F., Fleurentin J. (1995).** Screening of Antiradical, Antilipoperoxidant and Hepatoprotective Effects of Nine Plant Extracts Used in Caribbean Folk Medicine. *Journal of Phytotherapy Research*, **9** (3): 228-230.
- Kaul Tej N.; Elliott Middleton Jr., M.D. Pearay L. Ogra.(2005).** Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *Journal of Medical Virology*. 10.1002/ jmv. 1890150110
- Keraudren-Aymonin M. (1980).** *Flore des Mascareignes; Les Annonacées; The Sugar Industry Research Institute; O.R.S.T.O.M.* The Royal Botanic Gardens Kew. PP 1- 4.
- Khan M.R., Koarnine K., Omoloso A.D. (1998).** Antibacterial Activity of Some *Annonaceae*. Part I. *Fitoterapia*, **69** (4): 367-369.
- Koba K., Sanda K., Raynaud C., Guyon C., Chaumont J.P., Nicod L. (2008).** Chemical composition and *in Vitro* cytotoxic activity of *Xylopiya aethiopica* (Dun.) A. Rich. (*Annonaceae*) fruit essential oil from Togo. *Journal of Essential Oil Research*, **20**:354- 367.
- Koenig H., (1995).** Guide de mycology médicale. *Edition Marketing S. A. 32^{ème} rue barque Paris (15^{ème})*, 268p.
- Kouamé, R. O., Coffi, K., Guessend, N., Seri, Y., Koukoua, G., Dosso, M., Yoa, T. N., Figueredo, G., Chalchat J-C. (2004).** Activités antibactériennes des huiles

essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-D'ivoire. *Comptes rendu de Chimie*, 7: 1081-1086.

- Koudou, J., Ossibi, A. W., Aklikokou, K., Gbeassor, M., Abena, A. A., Bessiere, J. M. (2007).** Chemical composition and hypotensive effects of essential oil of *Monodora myristica* (Gaertn). *Journal of Biological Science*, 7(6): 937-942.
- Kpemissi E.A., (2007).** Les Anacardiaceae du Togo: Etudes botaniques, écologiques et propriétés antifongiques. Thèse de Doctorat Université de reims Champagne-Ardenne et de l'Université de Iomé Togo, 198p
- Kuan-Hasting C., Chiz-Tzung C., Chun-Chen Y., (2006).** *Candida parapsilosis* peritonitis has more complications than other *Candida peritonitis* in peritoneal dialysis patients. *Renal Failure*, 28 (3):241-246.
- Kuiate D., Etoundi O.B.C., Soukontoua Y.B., Ngondi J.L., Oben E. J. (2011).** Comparative study of the antioxidant free radical scavenging activity and human LDH oxidation inhibition of three extracts from seeds of a Cameroonian spice *Xylopiaparviflora* (A.Rich) Benth. (*Annonaceae*). *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5 (1) :18-30.
- Kurup V.P., Shen H.D.,BarnerjeB. (2000).** Respiratory fungal allergy. *Microbe and Infection*.2. 1101-1110
- Lamaty G., Menut C., Bessiere J.M., Amvam Zollo P.H., Boyom F.F. (1989).** The essential oil of *Xylopiaparviflora* (A. Rich) Benth. from Cameroon. *Journal of Essential Oil Research*, 1: 247-248.
- Lamaty G., Menut C., Bessiere J.M., Amvam Zollo P.H., Boyom F.F. (1987).** Aromatic plants of Tropical Central Africa. Volatile components of two Annonaceae from Cameroon: *Xylopiaaethiopica* (Dunal) A. Richard and *Monodora myristica* (Gaertn). *Flavour and Fragrance Journal*, 2: 91-94.
- Lamidi M., Digiorgio C., Delmas F., Favel A., Eyele Mve-Mba C., Rondi M.L., Ollivier E., Nze-Ekekang L., Balansard G. (2005).** *In vitro* cytotoxic, antileishmanial and antifungal activities of ethnopharmacologically selected Gabonese plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 102:185-190.

- Lannuzel A., Michel P.P., Caparros-Lefebvre D., Abaul J., Hocquemiller R., Ruberg M. (2002).** Toxicity of Annonaceae for Dopaminergic Neurons: Potential Role in Atypical Parkinsonism in Guadeloupe. *Movement Disorder*, **17** (1): 84-90.
- Lannuzel A., Michel P.P., Höglinger G.U., Champy P., Jousset A., Medja F., Lombès A., Darios F., Gleye C., Laurens A., Hocquemiller R., Hirsch E.C., Ruberg M. (2003).** The mitochondrial Complex I Inhibitor Annonacin is Toxic to Mesencephalic Dopaminergic Neurons by Impairment of Energy Metabolism. *Neuroscience*, **121**: 287–296.
- Le Thomas A. (1969).** *Flore du Gabon, Muséum National d'histoire naturelle*; Laboratoire de Phanérogamie, Paris, **16**: 22-343.
- Leaman D.J., Arnason J.T., Yusul R., Sangat-Roemantyo H., Soedjito H., Angerhofer C.K., Pezzuto J.M. (1995).** Malaria Remedies of the Kenyah of the Apo Kayan, East Kalimantan, Indonesian Borneo: A Quantitative Assessment of Local Consensus as an Indicator of Biological Efficacy. *Journal of Ethnopharmacology*, **49** (1): 1-16.
- Lebœuf M., Cave A., Bhaumik B.K., Muker R. (1982).** The Phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **21**: 2783-2793.
- Leyral G., Vierling E., (2001).** Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaire. 3^{ème} édition, Paris, Doin Bordeaux : CRDP d'aquitaine, 280p.
- Lohoué J.P., Angwafo III F.F., Kechia F.A., Noukeu N.D., (2005).** Candiduria in HIV infected patients in Yaoundé, Cameroon. *African Journal of Urology*, **11**(1): 61-65.
- Lohoué J.P., Kouam P., Kouam L., Kechia F.A., (2003).** Superficial mycoses in pregnant women consulting at University Hospital Center of Yaoundé. *Indian Journal of Dermatology*, **48**(4): 203-205.
- Lohoué J.P., Lando J., Kaptue A., Tchinda L.V., Folefack M., (2004).** Superficial mycoses and HIV infection in Yaoundé. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, **18**: 301-304.
- Lohoue P.J. Ekobo A.S., Nomo O.S.A., (1992).** Cryptococcose et syndrome de l'immunodéficience acquise à Yaoundé. *Médecine et Maladies Infectieuses*, **22** :30-31.
- Mabberley, D.J.(1997).** The Plant-Book. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge. 83p

- Maghrani M., Zeggwagh N., Michel J., Eddoules M., (2005).** Antihypertensive effect of *Lepidium sativum* L. in spontaneously hypertension rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (102): 193-197.
- Mallavarapu, G.R (1994).** Essential oil composition of geranium *Pellargonium Sp. Planta Med* 60: 583-58.
- Maslin J., Morand J.J., Soler C., 2005.** Les teignes tropicales. *Medécine Tropicale*, 65 : 313-320.
- Matias E.F., Santos K.K., Almeida T.S., Costa J.G., Coutinho H.D., (2011).** *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 1:57p
- Mbita M. H.J. (1998).** *Contribution à l'Etude des Plantes Médicinales du Cameroun: Le Cas des Plantes Utilisées en Médecine Traditionnelle pour le Traitement des Maladies Parasitaires.* Thèse de Doctorat 3^eCycle, Université de Yaoundé I, Cameroun. 178 p.
- McTaggart B., Wong G., (2002).** Invasive fungal infection: Review and update of drug management. *Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, 55(suppl 2):S1-S19.
- Melot A., Fall D., Gleye C. et Champy P. (2009).** Apolar Annonaceous Acetogenins from the Fruit Pulp of *Annona muricata*. *Molecules*, 14: 4387–4395.
- Menkem, E. Z., Fokou, J.-B. H., Tsague, I. F. K., Chouadeu, P. M., Bakarnga-Via, I., Kamdem, M. S., ... Boyom, F. F. (2012).** Antifungal and Antioxidant Activities of *Piptostigma calophyllum*, *Uvariadendron calophyllum* and *Uvariadendron molundense* growing in Cameroon. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2(2): 110–118.
- Millogo A., Ki-Zerbo G.A., Andonaba J.B., Lankoandé D., Sawadogo A., Yaméogo I., Sawadogo A.B., (2004).** La cryptococcose neuroméningée au cours de l'infection par le VIH au centre hospitalier de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso). *Bulletin de la Société de Pathology Exotique*, 97(2):119-12.
- Muhammad I., Waterman P.G. (1985).** Chemistry of the *Annonaceae*, 18. Benzylated indoles and dihydrochalcones in *Uvaria angolensis* from Tanzania. *Journal of Natural Products*, 48(4): 571 p.

- Naoto K., Tetsuaki T. (2009).** Medicinal Chemistry of Annonaceous Acetogenins: Design Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Analogues. *Molecules*, **14**: 3621-3661.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, (1992).** Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Protocole M27-P.
- Ndoye O., Ruiz-Perez M., Mamoun A.D., Ngonu D.L. (1998).** Les effets de la crise économique et de la dévaluation sur l'utilisation des plantes médicinales au Cameroun. Implications pour la gestion durable des forêts. *Séminaire FORAFRI de Libreville - Session 1: états populations et forêts*. 12p
- Neuwinger, H.D., 2000.** African Traditional Medicine A Dictionary of Plant Use and Applications. Med pharm, Stuttgart, Germany, pp. 29–30.
- Ngonu N.A., (1999).** Contribution à l'étude des propriétés antifongiques et analyse phytochimique de cinq plantes médicinales Camerounaises. *Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur de l'université de Reims Champagne-Ardenne et de L'Université de Yaoundé I, Cameroun*. 103p.
- N'Gouemo P., Koudogbo B., Tchivounda HP., Akono-Nguema C., Etoua MM. (1997).** Effects of Ethanol Extract of *Annona muricata* on Pentylentetrazol-Induced Convulsive Seizures in Mice. *Phytotherapy Research*, **11**(3): 243-245.
- Ngoutane M.A., Mbouna J.D.C., Tchokouaha Y.R.L., Tchunte, T.M.A., Kouipou, T.R.M., Fokou T.V.P., Kemgne M.A.E., Kamkumo, G.R., And Boyom F.F. (2017)** *In vitro* and *in vivo* antiplasmodial activity of extracts from *Polyalthia suaveolens*, *Uvaria angolensis* and *Monodora tenuifolia* (Annonaceae). **11**(1):118-130
- Nicola A., Laura A., Natalia A., Monica P., 2010.** A 20-year survey of tinea faciei. *Mycoses*, **53**(6): 504-508.
- Nishiyama Y., Moriyasu M., Ichimaru M., Iwasa K., Kato, A., Mathengue S.G., Patrick B., Mutiso C., Juma, F.D. (2004).** Quaternary isoquinoline alkaloids from *Xylopiya parviflora*. *Phytochemistry*, **65**: 939-944.
- Njunda A.L., Assob N.C.J., Nsagha D.S., Kamga F.L.H., Ndellejong C.E., Kwenti E.T. (2013).** Oral and urinary colonisation of *Candida* species in HIV/AIDS patients in Cameroon. *Basic Sciences of Medicine*, **2**(1): 1-8.

- Noumi E. (1984).** Les plantes à épices, à condiments et à aromates du Cameroun. *Thèse de troisième cycle, Université de Yaoundé, Cameroun.* 166 p.
- Noumi E., Yomi A. (2001).** Medicinal Plants Used for Intestinal Diseases in Mbalmayo Region Province, Cameroon. *Fitoterapia*, **72** (3): 246-254.
- Novak J., Draxler L., Göhler I., Franz C.M. (2005).** Essential oil composition of *Vitex agnus-castus* —comparison of accessions and different plant organs. *Flavour and Fragrance Journal*, **20**: 186-192.
- Nwodo U.U., Ngene A.A., Iroegbu C.U., (2010).** Effects of fractionation on antibacterial activity of crude extracts of *Tamarindus indica*. *African Journal of Biotechnology*, **9**: 7108-7113
- Nyasse B, Nono J, Sonke B, Denier C, Fontaine C., (2004).** Trypanocidal activity of bergenin, the major constituent of *Flueggea virosa*, on *Trypanosoma brucei*. *Pharmazie*, **59**(6):492-4.
- Nyasse B., Ngantchou I., Nono J.-J., Schneider B., (2006).** Antifilarial activity in vitro of polycarpol and 3-O-acetyl aleuritolic acid from Cameroonian medicinal plants against *Onchocerca gutturosa*. *Natural Product Research*, **20**(4), 391-397.
- Nyiligira E, Viljoen AM, Baser KHC, Özek T, van Vuuren SF.,(2004).** Essential oil composition and *in vitro* antimicrobial and anti-inflammatory activity of South African *Vitex* species. *South African Journal of Botany*, **70**(4): 611–617
- Odebeyi O.O., Sofowora E.A., (1978).** Phytochemical screening: Nigeria medical plants. *L.Coydia*, **41**: 234-325
- Okusa N.P. (2012).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne directe et indirecte de *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). Thèse de Doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques. 282p
- Olgica D.S., Dragana D.S., Andljiljana R.C., (2012).** Synergistic antibacterial activity of *Salvia officinalis* and *Cichorium intybus* extracts and antibiotics. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, **69** (3): 457-463
- OMS, (2000).** General guideline for methodologies on research and evaluation of traditional medicine, W.H.O./E.D.M./T.R.M. 1.27-31

- Ondo J. P., Lekana-Douki J. B., Bongui J. B., Zang Edou E. S., Zatra R., Toure-Ndouo F. S., Elomri A., Lebibi J., Seguin E., (2012).** *In vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts and fractions of *Vitex madiensis*, medicinal plant of Gabon.
- Onwuliri F.C., Wonang D.L., (2005).** Studies on the combined antibacterial action of Ginger (*Zingiber officinale* L) and Garlic (*Allium sativum* L) on some bacteria. *Nigerian Journal of Botany*, **18**: 224-228
- Ostrosky-Zeichner L., Marr K.A., Rex J.H., Cohen S.H., (2003).** Amphotericin B: time for a new“goldstandard”. *Clinical Infectious Diseases*, **37**:415-425
- Owoyale J.A., Olatunji G.A., Oguntoye S.O., (2005).** Antifungal and antibacterial activities of an alcoholic extract of *Senna alata* leaves. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, **9**(3): 105-107
- Padma P., Chansauria J.P.N., Khoso RL., Ray A.R. (2005).** Effect of *Annona muricata* and *Polyalthia cerasoides* on Brain Neurotransmitters and Enzyme Monoamine oxidase Following Cold Immobilization Stress. *Journal of Natural Remedies*, **1** (2): 144-146.
- Pankey G., Ashcraft D., Patel N., (2005).** In vitro synergy of daptomycin plus rifampin against *Enterococcus faecium* resistant to both linezolid and vancomycin. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **49**: 5166-5168
- Pappas P.G., Perfect J.R., Henderson H., Kauffmans C.A., Haas D.W., Saccante M., Hammill R.J., Holloway M.S., Warren R.M., Dismukes W.E., (2001).** *Cryptococcus* in human immunodeficiency virus-negative patients in the era of the azolotherapy. *Clinical Infectious Diseases*, **33**:690-699.
- Parekh J., Jadeja D., Chanda S., (2005).** Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish Journal of Biology*, **29**:203-210
- Perea S., Patterson T.F., (2002).** Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clinical Infectious Diseases*, **35**:1073-1080.
- Philipov S., Kandé K.M., Machev K.K. (1995).** Alkaloids of *Annona senegalensis*. *Fitoterapia*, **66** (3): 275-276.

- Pinto A.C., Andrade S.R., Ferreira F.R., Kinpara D.I. (2005).** *Annona* species, International Center for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, SO171BJ, UK. PP 1-281.
- Pinto A.C., Silva E.M. (1994).** *Graviola para Exportação: Aspectos Técnico da Produção* [Portuguese] FRUPEX, Min. Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Sec. de Desenvolvimento Rural SDR, Prog. De Apoio à Prod. E Export. De Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. 41p.
- Pizzorno Joseph E. Jr, Murray Michael T. (2006).** *Textbook of Natural Medicine.* Churchill Livingstone, New York, USA, troisième édition.
- Rani A., Sharma A. (2013).** The genus *Vitex*: A review. *Pharmacognosy reviews*, 7:188-198.
- Rex J.H., Walsh T.J., Sobel J.D., Filler S.G., Pappas P.G., Dismukes W.E., Edwards J. E., (2000).** Practice guidelines for the treatment of candidiasis. *Clinical Infectious Diseases*, 30:662-678.
- Richardson M.D., (2005).** Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56: i5-i11.
- Ryder N., Fabre B., (1997).** Antifungal activity and mechanism of Terbinafine. *Review Chemotherapy and Pharmacotherapy*, 8:175-187
- Saag M.S., Graybill R.J., Larsen R.A., Pappas P.G., Perfect J.R., Powderly W.G., Sobel J.D., Dismukes W.E., (2000).** Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 30:710-800.
- Saha F., (2008).** Evaluation des activités antifongique et antiradicalaire d'une plante de la pharmacopée camerounaise : *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A.) de Biochimie*, 4-6p.
- Same E., 2011.** Projet hydroélectrique de Lom Pangar. Etude Environnementale et Sociale (EES). Evaluation des impacts environnementaux et sociaux. Analyse complémentaire du volet santé. *Oréade-Brèche. Electricity Development Corporation.* p. 54-92.
- Sanglard D., Odds F.C., (2002).** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Infectious diseases*, 2: 73-85.

- Sathiamoorthy, B., Gupta, P., Kumar, M., Chaturvedi, A. K., Shukla P. K., Mauryaa, R., (2007).** New antifungal flavonoid glycoside from *Vitex negundo*. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, **17**:239-242.
- Sati S.C., Joshi S., (2011).** Aspects of antifungal potential of ethnobotanically known medicinal plants. *Research Journal of Medicinal Plant*, **5**(4):377-391.
- Senatore, F. (1996).** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**:1327–1332.
- Shanmugam H., Anil K.K., Mukesh D., (2008).** Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, **15**: 639p
- Sibanda T., Okoh A., (2007).** The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *African Journal of Biotechnology*, **6**(25):2886-2896
- Singh A.K., Pandey M.B., Singh U.P. (2007).** Antifungal activity of an alkaloid allosecurinine against some fungi. *Mycobiology*, **35**:62-64;
- Singh V, Dayal R, Bartley JP., (1999).** Volatile Constituents of *Vitex negundo* Leaves. *Planta Medica*, **65**(6): 580-582.
- Soro S., Ouattara D., Zirihi G.N., Kanko C., N'guessan E.K., Kone D., Kouadio J.Y., Ake S. (2010).** Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* de l'extrait de poudre et de l'huile essentielle de *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) sur *Fusarium oxysporum* sp *Radiciis-lycopersici* (Forl), Champignon Parasite des Cultures de Tomate. *European Journal of Scientific Research*, **39** (2): 279-288.
- Spence Des. (2010).** Candidiasis (vulvovaginal). *Clinical Evidence*, **01**:815.
- Suksamrarn A., Werawattanametin K., Brophy J.J. (1991).** Variation of essential oil constituents in *Vitex trifolia* species. *Flavour and Fragrance Journal*, **6** : 97-99.
- Tabuna H. (2000).** Evaluation des échanges des produits forestiers non ligneux entre l'Afrique subsaharienne et l'Europe, FAO et CARPE, Rome

- Taffou (2008).** Evaluation de l'activité antifongique de deux plantes de la famille des Verbenaceae du genre *Vitex* (*Vitex rivularis* et *Vitex grandifolia*). *DEA en Biochimie*. 84p.
- Tasleem A., Mandal T.K., Rajest D. (2011).** Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry. *Research Signpost*, 283-311.
- Tatsadjieu L.N., Essia N. J.J., Ngassoum M.B., Etoa F-X. (2003).** Antibacterial and antifungal activity of *Xylopia aethiopica* , *Monodora myristica* , *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leperieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, **74**: 469-472.
- Tisserant C., (1956).** Un *Uvaria* peu connu d'Afrique équatoriale : *Uvaria muricata* (Pierre) Engl. et Diels (Annonacées). *Bulletin de la Société Botanique de France*, 103(1904) : 468-470.
- Titanji VP, Evehe MS, Ayafor JF, Kimbu SF. (1990).** Novel *Onchocerca volvulus* filaricides from *Carapa procera*, *Polyalthia suaveolens* and *Pachypodanthium staudtii*. *Acta Leiden*, **59**(1-2) 377-382.
- Troupin G. (1982).** Flore des plantes ligneuses du Rwanda. *Musée Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren (Belgique)*, 107 p.
- Troupin G. (1982).** Flore des plantes ligneuses du Rwanda. *Numéro 12 de Musée Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren, Belgique. Annales, Série In-8°, Sciences Économiques*. P747.
- Tsabang N., Fokou P.V., Tchokouaha L.R., Noguem B., Bakarnga-Via I., Nguépi M.S., Nkongmeneck B.A., Boyom F.F., (2012).** Ethnopharmacological survey of Annonaceae medicinal plants used to treat malaria in four areas of Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology*, **139**(1):171-80.
- Van Der Veen L. J. (1991).** *Etude comparée des parlers du groupe Okani -B 30 (Gabon)*. Thèse de doctorat d'Université (nouveau régime), Université Lumière Lyon 2.
- Van Vuuren S. et Viljoen A. (2011).** Plant-Based Antimicrobial Studies Methods and Approaches to Study the interaction between Natural Products. *Planta Medica*, **77**:1168–1182

- Vivien J., Faure J.J. (1995).** *Fruitiers sauvages d'Afrique - Espèces du Cameroun*. Editions NGUILA-KEROU, France, 416 p.
- Walker A. et Sillams (1961).** *Les Plantes Utiles du Gabon*, Paris.16 p.
- Wallace R.S., Meyer W., Wanke B., Costa S.P.S.E., Trilles L., Nascimento J.L.M., Medeiros R., Morales B.P., Bezerra C.C.F., Macêdo R.C.L., Ferreira S.O., Barbosa G.G., Perez M. A., Nishikawa M.M. et Lazéra M.d.S. (2008).** Primary endemic *Cryptococcus gattii* by molecular type VGII in the state of Pará, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **103**(8): 813-818,
- Wang L.Q., Min B.S., Li Y., Nakamura N., Qin G.W., Li C.J. et Hattori M. (2002).** Annonaceous Acetogenins from the Leaves of *Annona montana*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **10** (3): 561-5.
- Warnock W.D., (2007).** Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Japan Journal of Medical Mycology*, **48**:1-12
- Weems J.J., (1992).** *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clinical Infectious Diseases*, **14**(3):756-66.
- Willcox M.L., Bodeker G. (2004).** Traditional Herbal Medicines for Malaria. *British Medical Journal*, **329**: 1156-1159.
- Woguem V., Fogang H.P., Maggi F., Tapondjou L.A., Womeni H.M., Quassinti L., Bramucci M., Vitali L.A., Petrelli D., Lupidi G., Papa F., Vittori S., Barboni L., (2014).** Volatile oil from striped African pepper (*Xylopiya parviflora*, Annonaceae) possesses notable chemopreventive, anti-inflammatory and antimicrobial potential. *Food Chemistry*, **149**:183-9.
- Xiao L., Madison V., Chau A.S., Loebenberg D., Palermo R.E., McNicholas P.M., (2004).** Three-dimensional models of wild-type and mutated forms of cytochrome P450 14 α -sterol demethylases from *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* provide insights into posaconazole binding. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, **48**:568-74

- Yrjönen T., (2004).** *Extraction and Planar Chromatographic Separation Techniques in the Analysis of Natural Products*, University of Helsinki. 64p.
- Yuan, S.S., Chang H.L., Chen H.W., Yeh Y.T., Kao Y.H., Lin K.H., Wu Y.C., Su J.H . (2003).** Annonacin, a Mono-tetrahydrofuran Acetogenin, Arrests Cancer Cells at the G Phase and Causes Cytotoxicity in a Bax- and Caspase-3 Related Pathway. *Life Sciences*, **72**: 2853-2861.
- Zacchino S., Santecchia C., Lopez S., Gattuso S., Munoz J., Cruanesm, Salinas A., De Ruiz R.E. and Ruiz S. (1998).** In vitro antifungal evaluation and studies of mode of actions of eight selected species from the Argentine flora. *Phytomedicine*. **5(5)**: 389-395
- Zaki S.M., Ibrahim N., Aoyama K., Shetaia Y.M., Abdel-ghany K., Mikami Y., 2009.** Dermatophyte infections in Cairo, Egypte. *Mycopathologia*, **167(3)**: 133-137.
- Zeuko'o Menkem Elisabeth, Jean-Baptiste Hzounda Fokou, Ide Flavie Kenfack Tsague, Pascaline Mejiato Chouadeu, Issakou Bakarnga-Via, Maguerite Simo Kamdem, Prosper Biapa Nya, Valere Patrick Tsouh Fokou, Clauilde Teugwa Mofor, Fabrice Fekam Boyom. (2012).** Antifungal and Antioxidant Activities of *Piptostigma calophyllum*, *Uvariadendron calophyllum* and *Uvariadendron molundense* growing in Cameroon. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, **2** (2): 110 – 118.

ANNEXES

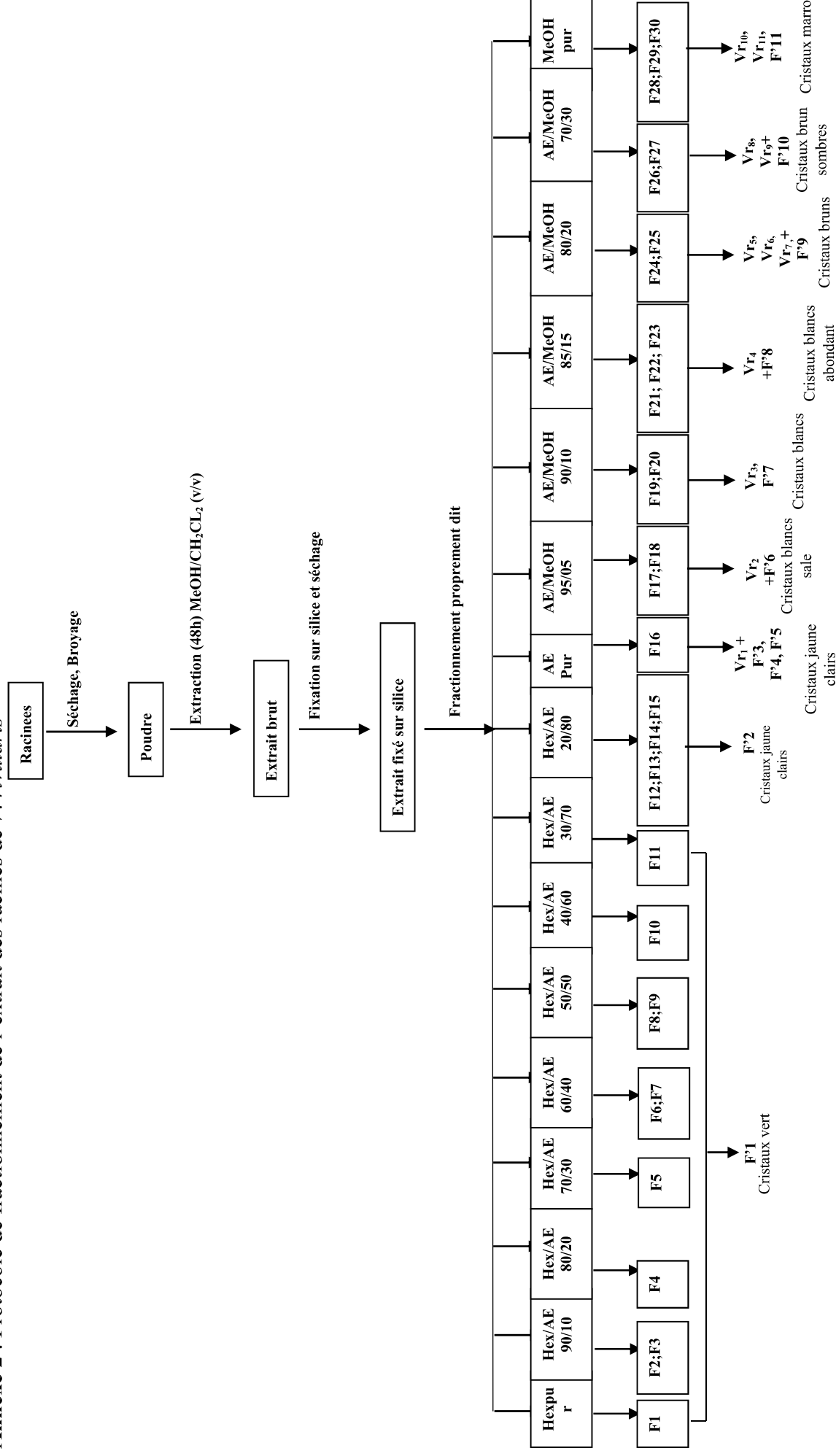
ANNEXES

Annexe 1: Concentration Minimale Inhibitrice obtenue après combinaison de UAst H et le Ketoconazole

Puits de CMI	<i>C. albicans</i>		Puits de CMI	<i>C. neoformans</i>		Puits de CMI	<i>C. parapsilosis</i>	
	Conc UAst H	Conc Keto		Conc UAst H	Conc Keto		Conc UAst H	Conc Keto
A11	2,50	0	A11	2,50	0	A12	5	0
B9	0,62	0,15	B9	0,62	0,15	B9	0,62	0,15
C10	1,25	0,31	C9	0,62	0,31	C9	0,62	0,31
D10	1,25	0,62	D8	0,31	0,62	D9	0,62	0,62
E8	0,31	1,25	E8	0,31	1,25	E9	0,62	1,25
F9	0,625	2,50	F9	0,62	2,50	F6	0,07	2,50
G10	1,25	5	G1	0	5	G1	0	5
H1	0	10						

A11 et A12: CMI de la fraction hexanique des tiges de *U. angolensis* (UAst H) sur *C. albicans*, *Cr. neoformans* et *C. parapsilosis*; H1 et G1: CMI du ketoconazole (Keto) sur les levures testées; B9, C9, C10, D8, D9, D10, E8, E9, F6, F9 et G10: Différentes combinaisons considérées comme CMI.

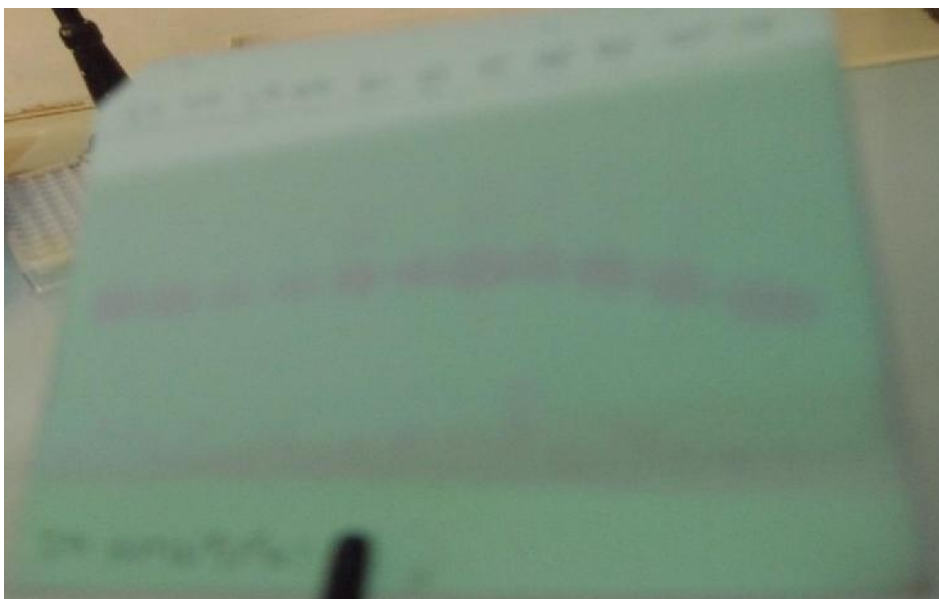
Annexe 2 : Protocole de fractionnement de l'extrait des racines de *V. rivularis*



Annexe 3: Révélation des fractions par (1) le rayonnement U.U, (2) la vapeur d'iode et (3) par les vapeurs d'acide sulfurique.



Révélation UV des fractions



Révélation des fractions à la vapeur d'iode



Révélation à la vapeur d'acide sulfurique

Ces trois étapes intégrées permettent d'affiner la séparation : les positions sur le chromatogramme, (R_f), la couleur des taches, leur nombre sont autant d'éléments permettant de séparer ou rassembler les fractions.

Les cristaux précipitent et sont récupérés, lavés et référenciés. Les produits des lavages sont récupérés et rechromatographiés pour leur positionnement. Les différentes fractions finales et les composés sont séchés, pesés, référenciés et conservés dans un emballage étanche pour la suite des manipulations.

Annexe 4 : Spectres ACD/NMR des composés isolés

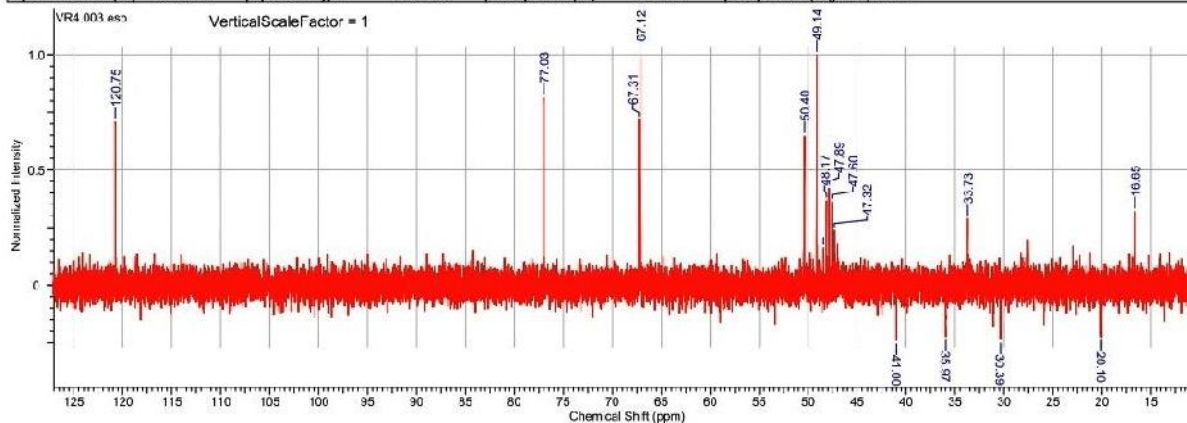
le composé majoritaire VR4 APT2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/01/2005 0:37:39

VR4MEOD C13DEPT135 MeOD (C:\Stumbe) dtumbo 2

Acquisition Time (sec)	1.8219	Comment	VR4MEOD C13DEPT135 MeOD (C:\Stumbe) dtumbo 2	Date	11 Sep 2012 00:47:28
Date Stamp	11 Sep 2012 00:47:28	File Name	L:\SPECTRES\DJMELI\VR4\3\FID		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	13C	Number of Transients	2048
Original Points Count	32760	Owner	stumbc	Points Count	32760
Receiver Gain	16384.00	SW(cyclical) (Hz)	17985.31	Solvent	METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz)	7516.2963	Spectrum Type	DEPT135	Sweep Width (Hz)	17985.06
				Temperature (degrees C)	26.160



This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	16.65	1256.4	0.3205
2	20.10	1517.2	-0.2252
3	30.39	2293.3	-0.2361
4	33.73	2545.8	0.2885
5	35.97	2714.8	-0.2236
6	41.00	3094.1	-0.2394
7	47.32	3571.1	0.2396
8	47.60	3592.5	0.3635
9	47.89	3613.9	0.4233
10	48.17	3635.3	0.3687
11	48.45	3656.7	0.1630
12	49.14	3708.8	1.0000
13	50.40	3803.2	0.6478
14	67.12	5065.6	0.9938
15	67.31	5079.9	0.7201
16	77.03	5813.2	0.8126
17	120.75	9112.5	0.7105

VR4 Carbone 2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

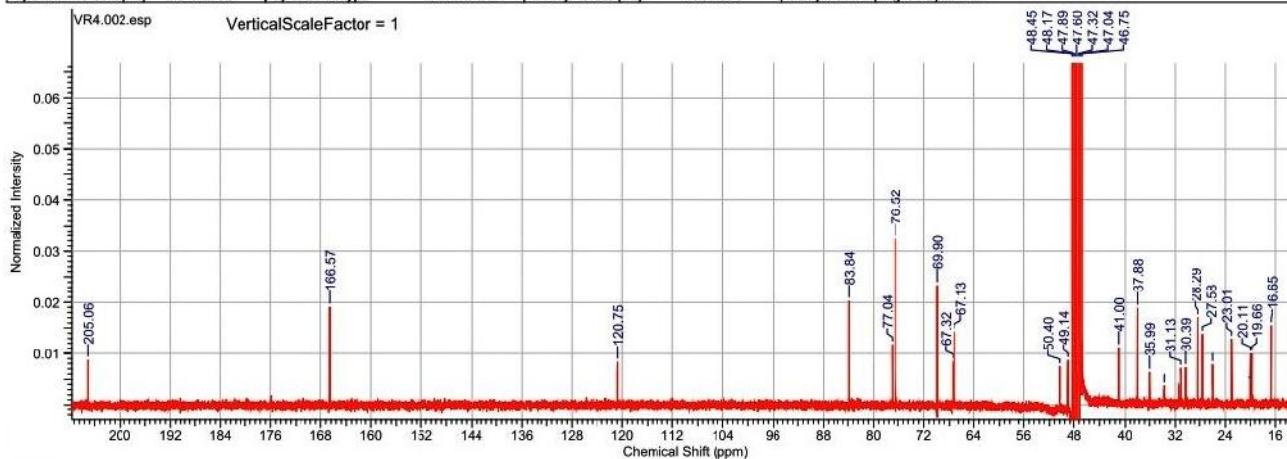
No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	16.65	1256.4	0.0155
2	19.66	1483.7	0.0100
3	20.11	1517.7	0.0099
4	23.01	1736.2	0.0129
5	25.96	1959.0	0.0079
6	27.58	2081.4	0.0139
7	28.29	2135.2	0.0170
8	30.39	2293.3	0.0073
9	31.13	2349.3	0.0072
10	33.73	2545.2	0.0038
11	35.99	2715.9	0.0063
12	37.88	2858.6	0.0189
13	41.00	3094.1	0.0112
14	46.75	3528.2	0.1594
15	47.04	3549.6	0.4596
16	47.25	3565.6	0.0227
17	47.32	3571.1	0.8856
18	47.60	3592.5	1.0000
19	47.89	3613.9	0.8238
20	48.17	3635.3	0.3950
21	48.45	3656.7	0.1239
22	49.14	3708.8	0.0087
23	50.40	3803.8	0.0075
24	67.13	5066.2	0.0143
25	67.32	5080.5	0.0084
26	69.90	5275.3	0.0234
27	76.52	5774.8	0.0323
28	77.04	5813.8	0.0118
29	83.84	6327.5	0.0203
30	120.75	9112.5	0.0084
31	166.57	12571.0	0.0191
32	205.06	15475.1	0.0087

VR4 Carbone

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/01/2005 10:35:33
VR4MEOD C:13CPD MeOD (C:\Stumbo) stumbo 2

Acquisition Time (sec)	1.8219	Comment	VR4MEOD C:13CPD MeOD (C:\Stumbo) stumbo 2	Date	10 Sep 2012 22:33:04
Date Stamp	10 Sep 2012 22:33:04	File Name	L:\SPECTRES\DJMELIVR4\2\FID		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	¹³ C	Number of Transients	7168
Original Points Count	32768	Owner	stumbo	Points Count	32763
Receiver Gain	10321.30	SW(cyclical) (Hz)	17985.61	Solvent	METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz)	7546.2993	Spectrum Type	STANDARD	Sweep Width (Hz)	17983.06
		Temperature (degree C)	27.160		

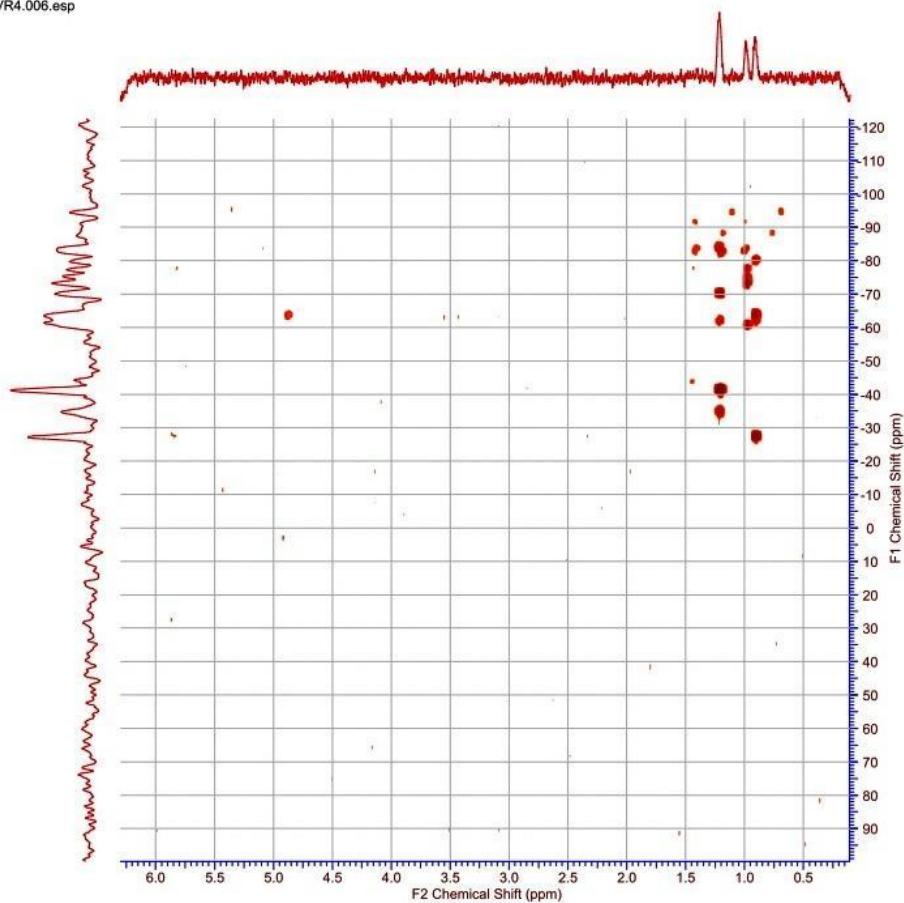


VR4 COSY

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

Acquisition Time (sec)	(1.1010, 0.0123)	Comment	5 mm QNP 1H/15N/13C/31P Z8011/0027
Date	11 Sep 2012 06:53:56		
File Name	L:\SPECTRES\DJIMEL\VR4\6\SER	Frequency (MHz)	(300.13, 75.48)
Nucleus	(1H, 13C)	Number of Transients	24
Original Points Count	(2048, 206)	Owner	stumbo
Pulse Sequence	hmbcgpndgf	Solvent	MeOD
Sweep Width (Hz)	(1859.21, 16762.14)	Temperature (degree C)	27.160
Title	VR4MEOD HMBCGPND MeOD (C:\Stumbo) stumbo 2	Spectrum Type	HMBC

VR4.006.esp

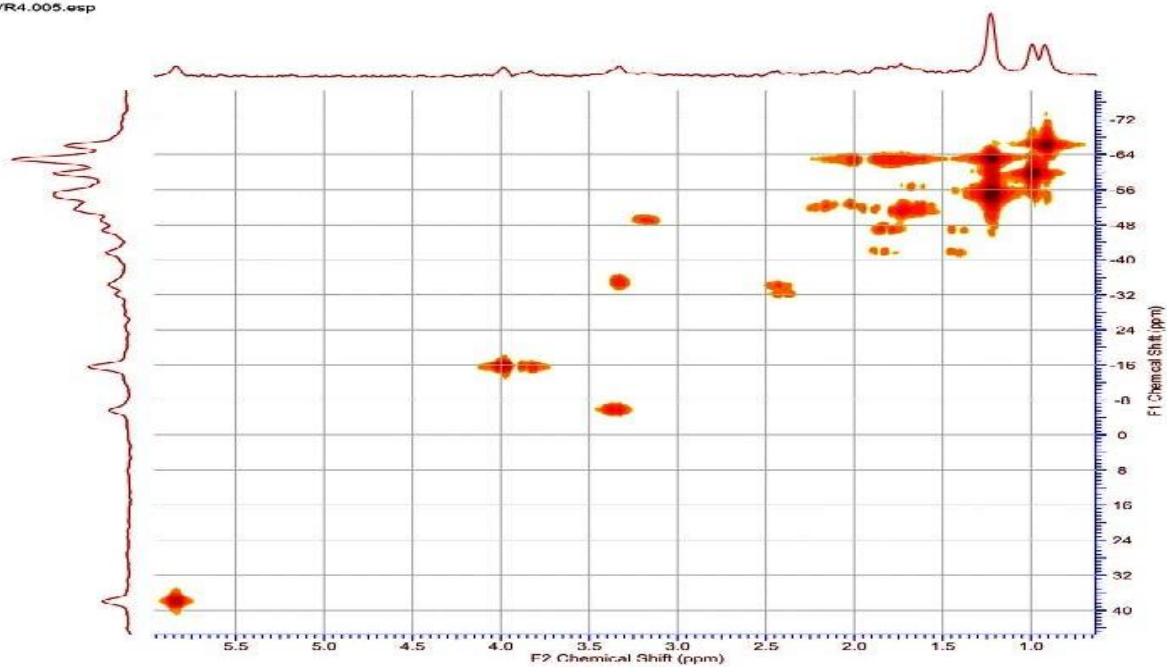


VR4 HMBC

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

Acquisition Time (sec)	(0.2753, 0.0131)	Comment	5 mm QNP 1H/15N/13C/31P Z8011/0027
Date	11 Sep 2012 04:00:48		
File Name	L:\SPECTRES\DJIMEL\VR4\5\SER	Frequency (MHz)	(300.13, 75.17)
Nucleus	(1H, 13C)	Number of Transients	24
Original Points Count	(512, 1024)	Owner	stumbo
Pulse Sequence	hmqcspol	Solvent	MeOD
Sweep Width (Hz)	(1856.19, 12487.79)	Spectrum Type	HMOC
Title	VR4MEOD.HMQCSP MeOD (C:\Stumbo) stumbo.2	Temperature (degree C)	26.160

VR4.005.esp



VR4HSQS

VR4 PROTON 2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	0.92	275.0	0.1508	11	1.46	437.1	0.0249	21	1.82	547.7	0.0222	31	2.40	719.7	0.0162
2	0.99	298.3	0.1451	12	1.50	449.1	0.0170	22	1.84	551.1	0.0260	32	2.42	726.4	0.0235
3	1.22	365.3	0.2096	13	1.59	475.1	0.0092	23	1.88	564.2	0.0128	33	2.44	731.9	0.0123
4	1.23	367.8	0.1994	14	1.62	485.4	0.0141	24	1.93	578.4	0.0102	34	3.15	944.0	0.0087
5	1.23	368.9	0.2033	15	1.65	495.3	0.0122	25	1.93	580.4	0.0114	35	3.17	951.6	0.0081
6	1.32	396.6	0.0057	16	1.69	507.2	0.0166	26	1.97	591.9	0.0129	36	3.21	962.5	0.0061
7	1.34	401.1	0.0050	17	1.72	517.5	0.0266	27	1.99	596.3	0.0148	37	3.85	1154.1	0.0095
8	1.36	407.9	0.0054	18	1.74	522.4	0.0362	28	2.01	603.8	0.0251	38	3.88	1164.8	0.0096
9	1.37	412.4	0.0044	19	1.75	524.9	0.0286	29	2.04	612.1	0.0083	39	3.97	1191.6	0.0191
10	1.41	423.9	0.0152	20	1.79	535.9	0.0326	30	2.18	655.0	0.0474	40	4.59	1377.5	0.0150

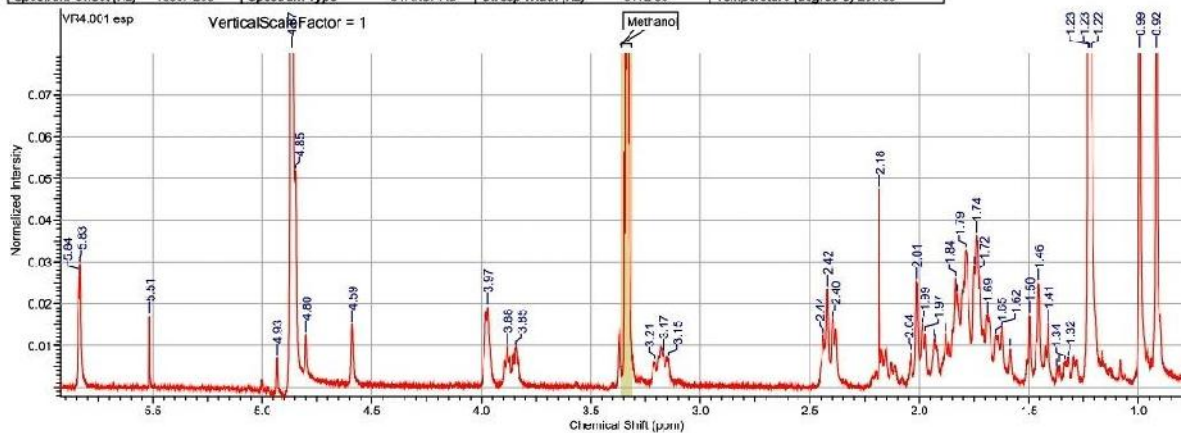
No.	(ppm)	Annotation	Layer No.	Created By	Created At	Modified By	Modified At
1	[3.31 .. 3.36]	Methanol	1	Labu de phytolabij	ver. 07/01/2005 10:31:55		

VR4 PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/01/2005 10:31:17
VR4MEOD PROTON M30C (C:\Stumbo) ctu.mbo 2

Acquisition Time (sec)	5.3064	Comment	VR4MEOD PROTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 2	Date	11 Sep 2012 00:49:36
Date Stamp	11 Sep 2012 00:49:36	File Name	L:\SPECTRES\J.MELIVR4\1\FID	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	spect
Points Count	32768	Pulse Sequence	zg30	Original Points Count	32768
Spectrum Offset (Hz)	1653.4263	Spectrum Type	STANDARD	Receiver Gain	287.40
		Sweep Width (Hz)	6172.65	SW(cyclical) (Hz)	6172.34
				Temperature (degree C)	26.163
				Soivent	METHANOL-d4



VR11 PROTON 2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	0.86	266.7	0.0016	1E	1.37	412.0	0.0014	29	1.34	561.1	0.0059	43	2.44	731.7	0.0030
2	0.92	275.5	0.0052	1E	1.41	423.7	0.0041	30	1.38	564.6	0.0031	44	3.10	930.6	0.0013
3	0.94	282.2	0.0019	17	1.42	427.5	0.0029	31	1.33	560.1	0.0029	45	3.10	947.0	0.0021
4	0.96	289.0	0.0030	1E	1.45	439.5	0.0061	32	1.37	592.1	0.0033	46	3.18	954.0	0.0027
5	0.99	298.3	0.0033	1E	1.50	449.1	0.0038	33	1.99	596.3	0.0038	47	3.21	962.9	0.0020
6	1.08	324.8	0.0019	2C	1.99	475.7	0.0024	34	2.01	603.4	0.0061	48	3.26	979.6	0.0020
7	1.17	349.7	0.0023	21	1.62	487.0	0.0036	35	2.04	612.5	0.0015	49	3.27	981.3	0.0024
8	1.22	365.1	0.0486	22	1.65	495.1	0.0032	36	2.12	635.1	0.0017	50	3.27	982.8	0.0020
9	1.23	367.8	0.0444	23	1.69	507.9	0.0045	37	2.13	638.3	0.0018	51	3.37	1010.7	0.0030
10	1.23	369.1	0.0447	24	1.72	517.2	0.0065	38	2.15	646.0	0.0029	52	3.84	1152.9	0.0030
11	1.28	385.5	0.0017	25	1.74	521.8	0.0087	39	2.18	655.2	0.0608	53	3.86	1157.1	0.0026
12	1.30	388.9	0.0018	26	1.75	525.1	0.0070	40	2.38	714.6	0.0037	54	3.88	1165.0	0.0032
13	1.32	397.0	0.0021	27	1.79	533.7	0.0079	41	2.39	718.5	0.0042	55	3.97	1191.2	0.0046
14	1.36	407.5	0.0017	2E	1.83	549.4	0.0052	42	2.42	726.4	0.0055	56	4.61	1383.3	0.0046

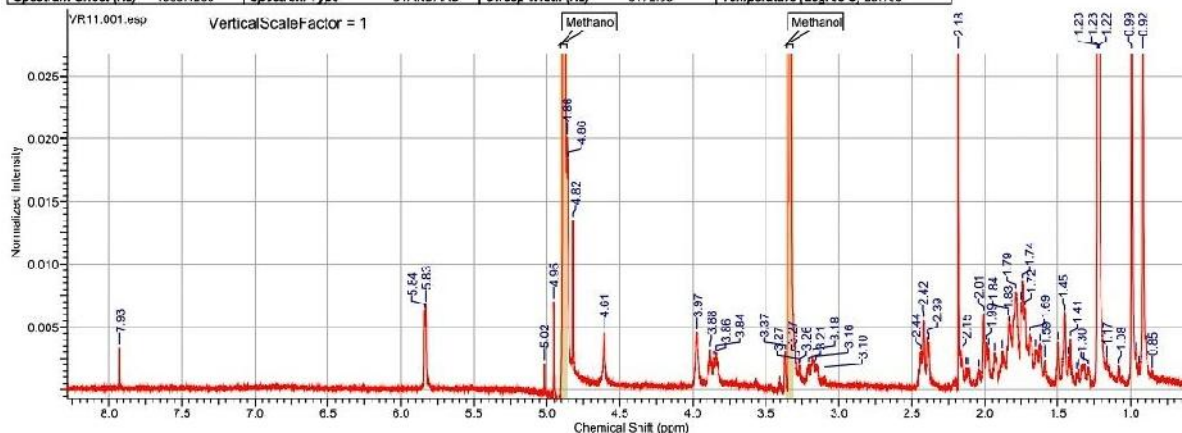
No.	(ppm)	Annotation	Layer No.	Created By	Created At	Modified By	Modified At
1	[3.31 - 3.36]	Methanol	1	Labo de phytochim	ven 07/01/2005 10:44:15		
2	[4.87 - 4.91]	Methanol	1	Labo de phytochim	ven 07/01/2005 10:44:15		

VR11 PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/31/2005 10:44:49
VR11 MECD4 PRCTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 3

Acquisition Time (sec)	5.3084	Comment	VR11 MECD4 PRCTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 3	Date	07 Sep 2012 09:17:20
Date Stamp	07 Sep 2012 09:17:20	File Name	L:\SPECTRES\CJMEI\VR11\VFID	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	1H	Number of Transients	16	Origin	spec1
Points Count	32768	Pulse Sequence	zg30	Receiver Gain	406.40
Spectrum Offset (Hz)	1553.4263	Spectrum Type	STANDARD	SW (cyclical) (Hz)	6172.84
				Temperature (degree C)	25.160
				Original Points Count	32768
				Solvent	METHANOL-d1



VR12PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	0.65	255.7	0.0015	13	1.42	427.5	0.0032	25	1.84	550.0	0.0079	37	2.38	715.0	0.0043
2	0.92	275.5	0.0450	14	1.46	430.7	0.0078	26	1.80	504.4	0.0040	38	2.40	719.3	0.0050
3	0.99	298.3	0.0428	15	1.50	445.5	0.0047	27	1.93	580.4	0.0035	39	2.42	726.4	0.0072
4	1.17	349.9	0.0024	16	1.59	475.9	0.0029	28	1.97	597.8	0.0041	40	2.44	731.9	0.0038
5	1.22	365.3	0.0620	17	1.62	486.8	0.0044	29	1.99	595.9	0.0045	41	3.15	946.3	0.0024
6	1.23	367.8	0.0577	18	1.65	494.9	0.0041	30	2.01	603.8	0.0078	42	3.18	954.6	0.0031
7	1.23	369.1	0.0591	19	1.69	508.3	0.0057	31	2.04	612.5	0.0019	43	3.21	963.8	0.0021
8	1.30	388.7	0.0022	20	1.72	517.3	0.0081	32	2.11	633.2	0.0017	44	3.27	981.3	0.0019
9	1.32	396.8	0.0025	21	1.74	522.0	0.0110	33	2.13	638.1	0.0019	45	3.37	1011.1	0.0040
10	1.36	407.9	0.0017	22	1.75	526.1	0.0090	34	2.15	646.2	0.0028	46	3.84	1152.7	0.0031
11	1.37	412.0	0.0016	23	1.70	536.7	0.0102	35	2.17	660.0	0.0026	47	3.86	1157.3	0.0028
12	1.41	423.9	0.0053	24	1.83	547.9	0.0068	36	2.19	655.2	0.0004	48	3.88	1163.2	0.0031

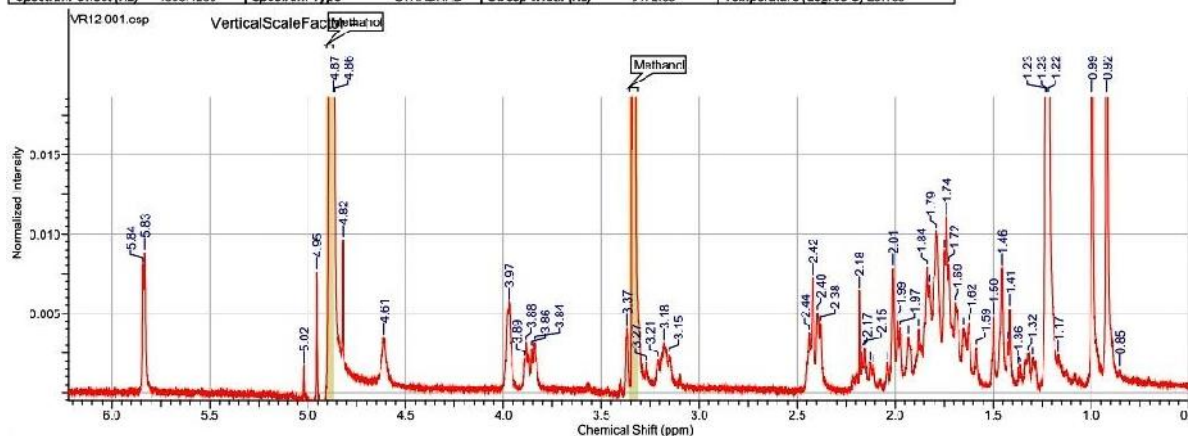
No.	(ppm)	Annotation	Layer No.	Created By	Created At	Modified By	Modified At
1	[3.31 - 3.36]	Methanol	1	Labc de phytochim	ven. 07/01/2005 10:45:58		
2	[4.87 - 4.90]	Methanol	1	Labc de phytochim	ven. 07/01/2005 10:45:58		

VR12 PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/01/2005 10:46:11
VR12MEQC PROT CN MeOD (C:\Stumbo) stumbo 8

Acquisition Time (sec)	Comment	VR:2MEQC PROT CN MeOD (C:\Stumbo) stumbo 8	Date	07 Sep 2012 10:00:00	
5.3084					
Date Stamp	07 Sep 2012 10:00:00	File Name	L:\SPECTRES\DJIME_IVR12\1\FID	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	1H	Origin	spact	Owner	stumbo
Points Count	32768	Pulse Sequence	zg30	Original Points Count	32768
Spectrum Offset (Hz)	1853.4203	Spectrum Type	STANDARD	Receiver Gain	362.00
				SW (cyclical) (Hz)	6172.84
				Sweep Width (Hz)	6172.05
				Temperature (degree C)	25.100



VR 14 PROTON 2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height	No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	0.85	255.7	0.0014	14	1.37	411.5	0.0014	27	1.93	547.9	0.0050	40	2.18	655.2	0.0407
2	0.92	275.5	0.0394	15	1.41	423.9	0.0045	28	1.94	550.9	0.0066	41	2.38	714.8	0.0039
3	0.99	298.3	0.0375	16	1.42	427.5	0.0027	29	1.96	559.7	0.0027	42	2.40	719.3	0.0043
4	1.08	324.8	0.0013	17	1.45	436.3	0.0067	30	1.98	564.4	0.0034	43	2.42	726.4	0.0062
5	1.13	333.6	0.0014	18	1.50	449.1	0.0042	31	1.93	579.9	0.0030	44	2.44	731.9	0.0052
6	1.16	349.5	0.0024	19	1.59	475.7	0.0024	32	1.97	587.6	0.0035	45	3.15	946.3	0.0021
7	1.22	365.1	0.0541	20	1.62	486.8	0.0039	33	1.99	596.5	0.0040	46	3.18	954.6	0.0029
8	1.23	367.8	0.0493	21	1.65	494.9	0.0034	34	2.01	603.8	0.0066	47	3.21	963.8	0.0019
9	1.23	369.9	0.0503	22	1.69	507.7	0.0047	35	2.04	612.1	0.0018	48	3.27	981.3	0.0017
10	1.28	384.9	0.0017	23	1.72	517.3	0.0071	36	2.11	633.0	0.0016	49	3.37	1010.7	0.0053
11	1.29	388.3	0.0013	24	1.74	522.2	0.0094	37	2.13	638.3	0.0018	50	3.84	1153.7	0.0029
12	1.32	396.8	0.0021	25	1.75	526.1	0.0075	38	2.15	646.2	0.0026	51	3.86	1157.1	0.0023
13	1.36	407.9	0.0015	26	1.70	536.7	0.0087	39	2.17	661.7	0.0029	52	3.88	1165.0	0.0029

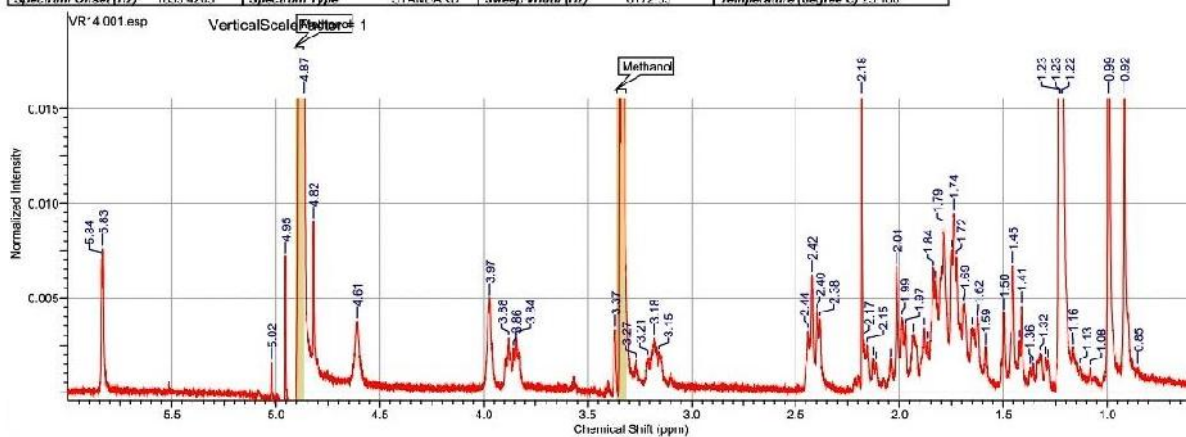
No.	(ppm)	Annotation	Layer No.	Created By	Created At	Modified By	Modified At
1	[3.31 - 3.36]	Methanol	1	Labc de phytochim	ven. 07/01/2005 10:47:24		
2	[4.87 - 4.91]	Methanol	1	Labc de phytochim	ven. 07/01/2005 10:47:24		

VR14 PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

07/01/2005 10:47:51
VR: 4MEQC PROTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 6

Acquisition Time (sec)	Comment	File Name	Date
5.3084	VR14-MEOD PROTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 6	L:\SPECTRES\DJ.MELI\VR14\1\FID	07 Sep 2012 10:38:24
Date Stamp	07 Sep 2012 10:38:24	File Name	L:\SPECTRES\DJ.MELI\VR14\1\FID
Nucleus	¹ H	Number of Transients	16
Points Count	32768	Origin	spect
Spectrum Offset (Hz)	1853.4263	Receiver Gain	362.02
		SW(cyclical) (Hz)	5172.64
		Temperature (degree C)	25.160
		Original Points Count	32768
		Owner	stumbc
		Solvent	MET-1ANOL-14



VR16 PROTON2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	Annotation	Layer No.	Created By	Created At	Modified By	Modified At
1	[3.31 .. 3.36]	Methanol	1	Labo de phytochim	ven. 07/01/2005 10:48:35		
2	[4.85 .. 4.91]	Methanol	1	Labo de phytochim	ven. 07/01/2005 10:48:35		

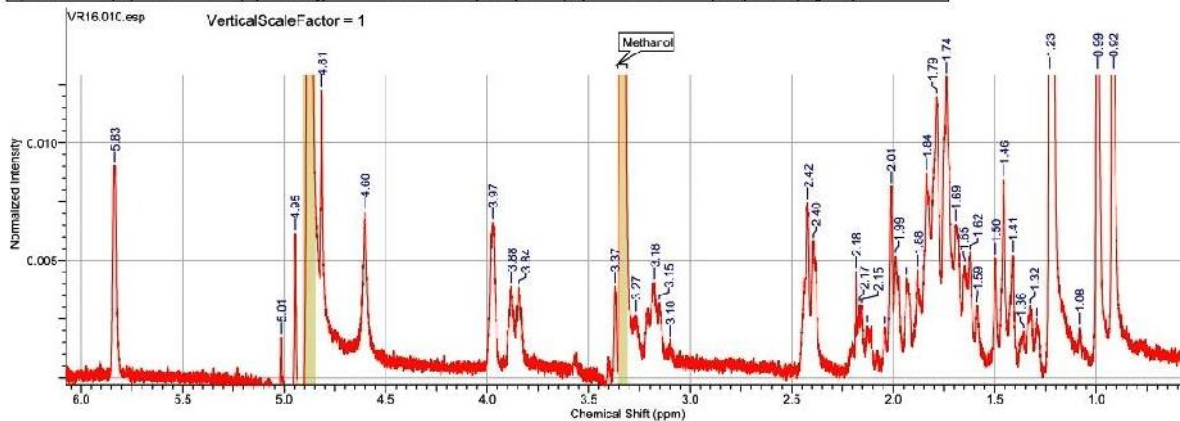
No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	0.92	275.5	0.0395
2	0.99	298.1	0.0375
3	1.08	325.2	0.0022
4	1.23	368.7	0.0640
5	1.30	388.7	0.0025
6	1.32	397.5	0.0031
7	1.36	407.7	0.0020
8	1.41	423.7	0.0052
9	1.46	436.9	0.0085
10	1.50	449.0	0.0051
11	1.59	476.7	0.0031
12	1.62	487.2	0.0053
13	1.65	494.4	0.0048
14	1.69	507.9	0.0065
15	1.74	522.0	0.0128
16	1.79	536.6	0.0120
17	1.84	551.1	0.0087
18	1.88	564.1	0.0046
19	1.93	580.4	0.0043
20	1.99	596.3	0.0052
21	2.01	603.6	0.0082
22	2.04	612.1	0.0022
23	2.13	639.2	0.0022
24	2.15	646.0	0.0031
25	2.17	651.1	0.0031
26	2.18	655.0	0.0045
27	2.40	718.9	0.0058
28	2.42	726.6	0.0075
29	3.10	930.3	0.0016
30	3.15	946.8	0.0032
31	3.18	953.4	0.0041
32	3.27	981.1	0.0027
33	3.37	1011.8	0.0039
34	3.84	1153.5	0.0038
35	3.88	1165.0	0.0039
36	3.97	1192.3	0.0066
37	4.60	1381.8	0.0070
38	4.81	1445.1	0.0122
39	4.95	1484.9	0.0061
40	5.01	1505.0	0.0017
41	5.83	1751.2	0.0090

VR16-PROTON

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

37/01/2005 10:48:58
VR16 MEOD PROTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 11

Acquisition Time (sec)	5.3054	Comment	VR16 MEOD PROTON MeOD (C:\Stumbo) stumbo 11	Date	12 Sep 2012 10:51:12
Date Stamp	12 Sep 2012 10:51:12	File Name	L:\SPECTRES\DJMELIVR16\FID	Frequency (MHz)	300.13
Nucleus	1H	Number of Transients	15	Origin	spect
Points Count	32788	Pulse Sequence	zg30	Receiver Gain	409.40
Spectrum Offset (Hz)	1853.4263	Spectrum Type	STANDARD	Original Points Count	32768
		Sweep Width (Hz)	6172.65	SW(cyclical) (Hz)	6172.84
				Temperature (degree C)	26.160
				Owner	stumbo
				Solvent	METHANOL-d 4



VRU APT2

This report was created by ACD/NMR Processor Academic Edition. For more information go to www.acdlabs.com/nmrproc/

No.	(ppm)	(Hz)	Height
1	16.64	2511.8	-0.2188
2	16.67	2515.1	0.9227
3	19.65	2965.2	0.4033
4	20.10	3033.3	-0.3471
5	23.02	3473.5	1.0000
6	25.94	3914.8	-0.2024
7	27.53	4154.1	0.5135
8	27.54	4156.3	-0.1429
9	28.33	4275.9	0.2806
10	30.38	4585.5	-0.7040
11	31.11	4695.3	-0.6440
12	31.47	4749.1	-0.3264
13	33.69	5083.9	0.3252
14	35.93	5423.1	-0.5010
15	41.00	6188.2	-0.8999
16	47.33	7142.2	-0.2844
17	47.46	7161.9	0.2938
18	47.47	7164.1	-0.3779
19	47.60	7183.9	0.3641
20	47.61	7185.0	-0.5892
21	47.74	7204.8	0.3949
22	47.75	7206.9	-0.4156
23	47.89	7226.7	0.4353
24	48.03	7248.7	0.2820
25	48.18	7270.6	0.1072
26	49.13	7414.4	0.7491
27	50.39	7604.3	0.1743
28	67.11	10128.1	0.9958
29	67.30	10156.6	0.4355
30	77.03	11624.3	0.5243
31	120.73	18220.7	0.6363



Available online at <http://www.ifgdg.org>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 11(1): 15-31, February 2017

ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)

International Journal
of Biological and
Chemical Sciences

Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Anti-yeast potential of some Annonaceae species from Cameroonian biodiversity

TAFFOU, Jean Baptiste HZOUNDA FOKOU, Elisabeth ZEUKO'O MENKEM,
Lauve Rachel TCHOKOUAHA YAMTHE, Alvine NGOUTANE MFOPA,
Marguerite Simo KAMDEM, Vincent NGOUANA, Ide Flavie KENFACK TSAGUE and
Fabrice Fekam BOYOM*

*Antimicrobial and Biocontrol Agents Unit, Faculty of Science, University of Yaoundé 1, P.O. Box 812,
Yaoundé, Cameroon.*

*Corresponding author; E-mail: fabrice.boyom@fulbrightmail.org; Tel.: +237 677 276 585

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the support of Seeding Labs through the Instrumental Access Grant (SL2012-?) to FFB.

ABSTRACT

An increased incidence of candidiasis and cryptococcosis has been recorded within the last two decades, mainly due to the increase in number of immunocompromised patients. Moreover, the emergence of resistant pathogenic yeast strains coupled with the shortcomings of the available antifungal drugs have emphasized the need of new drugs. Within this framework, this study aimed at investigating extracts from fourteen Annonaceae plants species *in vitro* against the major causative agents of mycoses, namely *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Cryptococcus neoformans*. Plant extracts and partitioned fractions were screened by broth dilution method. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of extracts were determined by microdilution method and subculture. Also, the effect of combined active hexane fraction (UAst H) of *Uvaria angolensis* stem extract with the reference ketoconazole was studied. MIC values ranged from 0.625 mg/mL (for the leaf extract of *Uvaria banmanni*- UBI) to ≥ 10 mg/mL. Fraction UAst II showed the broadest spectrum activity with MIC value of 2.5 mg/mL, against all the tested yeasts. Moreover, UAst H exhibited synergistic interaction on *C. albicans*, *Cr. neoformans* and *C. parapsilosis* when combined with ketoconazole. Overall, the results achieved in this study are promising and indicate that plants species from Annonaceae family are possible sources of potent and synergistic anti-yeast extracts.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Annonaceae, Extract, Antifungal, Combination, Synergism.

INTRODUCTION

The HIV pandemic has greatly increased the incidence of fungal infections over the last two decades (Khan et al., 2012; Okonkwo et al., 2013). As the most implicated, *Candida* species are responsible for a variety of infections from superficial to systemic (Nucci and Marr, 2005; Romeo et al., 2013). *Candida albicans* is the most frequently isolated (Ruhnke, 2006), and is responsible for over 50% of candidemias (Hachem et al., 2008), followed by *C. parapsilosis* (10%-20%), *C. glabrata* (20%-30%), *C. tropicalis* (17.3%) and *C. krusei* (1%-5 %) (Horn et al., 2009). In addition, HIV infection has been associated with more than 80% of cryptococcosis cases worldwide (Mirza et al. 2003; Perfect et al., 2010) with 100% mortality rate (Corbett et al., 2002) when untreated. The treatment of candidosis and cryptococcosis is limited to drugs from few classes such as polyenes (amphotericin B, AMB), pyrimidine analogues (fluorocytosine), azoles and 1,3-beta-glucan synthase inhibitors (echinocandins). However, the development of resistant pathogens along with high toxicity of these drugs have significantly impaired the control of fungal infections worldwide, stimulating the search for new, safe and more efficient drug candidates.

Plant-derived products for drugs discovery program have gained attention of scientific community since decades. In fact, medicinal plants have been the sources of variety of biologically active compounds for centuries and are used extensively as crude materials or as pure compounds for treating various conditions (Dias et al., 2012). Within this context, Cameroonian medicinal plants have been investigated against a wide range of microorganisms (Fokou et al., 2014; Sidjui et al., 2014; Kammalac et al., 2015; Kamdem et al 2015; Menkem et al., 2015; Menkem et al., 2016). However, Ammonaceae species although widely investigated for their

antiprotozoal activities, have gained less interest as potential sources of antifungal drugs. To fill this gap in, this study was designed to assess the anti-yeast activity of extracts from *Annona muricata*, *Anonidium marmii*, *Monodora myristica*, *Polyalthia oliveri*, *Polyalthia suaveolens*, *Uvaria angolensis*, *Uvaria banmanni*, *Uvaria muricata*, *Uvariastrum zenkeri*, *Uvariadendron calophyllum*, *Uvariadendron molundense*, *Xylopi aethiopia*, *Xylopi aethiopia*, *Xylopi parviflora* and *Xylopi africana*, using *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Cryptococcus neoformans* isolates as targets.

MATERIALS AND METHODS

Plant collection

Plant materials from Annonaceae family were harvested and identified as *Annona muricata* Linn, *Anonidium marmii* Gaertn (D. Oliver) Engl. & Diels, *Monodora myristica* (Gaertn.) Dunal, *Polyalthia oliveri* Engl., *Polyalthia suaveolens* Engl. & Diels, *Uvaria angolensis* Engl. & Diels, *Uvaria muricata* Engl. & Diels, *Uvaria banmanni* Engl. & Diels, *Uvariastrum zenkeri* Engl. & Diels, *Uvariadendron calophyllum* R.E Fries, *Uvariadendron molundense* (Engl. & Diels), *Xylopi aethiopia* (Dunal) A Rich, *Xylopi africana* (Benth) Oliv, *Xylopi parviflora* A Rich. Voucher specimens were deposited at the National Herbarium of Cameroon, Yaoundé under specific reference numbers. Plants reference numbers, traditional uses, collection site, previous scientific studies and parts used are summarized in Table 1.

Yeasts isolates

Yeast isolates were provided by the Laboratory of Clinical Biology of the Yaoundé Central Hospital (Yaoundé, Cameroon), and consisted of clinical isolates of *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans*. These yeasts were maintained at room temperature (25-27 °C) and cultured at

37 °C for 24 h on Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid) slants prior to use.

Extracts/fractions preparation and preliminary anti-yeast screening

One hundred grams of powder from each plant part were macerated in 1500 mL of ethanol (Merck) for 72 h at room temperature (25-27 °C). Filtrates obtained using filter papers (Whatman no.1) were evaporated to dryness using a rotary evaporator at 80 °C (Büchi 011, Flawil Switzerland). Stock solution for each extract was prepared at 100mg/mL using 10% DMSO. As positive control, ketoconazole (Janssen-cilag) was prepared at 200 mg/mL in sterile distilled water. Each solution was sterilized by filtration through 0.22 µm sterile filter (Acrodisc Syringe Filter).

All extracts were screened by broth dilution method (CLSI, 2008) at 10mg/mL in 96-well microtiter plates. To achieve this, 10 µL of each stock solution of extract were added in triplicate wells followed by 90 µL of yeast inoculum prepared at 2.5×10^3 CFU/mL in sabouraud dextrose broth (Difco) medium. Wells containing 10% DMSO without extracts were used as negative control while ketoconazole was tested as positive control. Plates were incubated at 37 °C for 48 h and extracts showing 100% inhibition of fungal growth against the three tested yeasts ascertained by macroscopic observation were selected and progressed.

Fifteen grams of each selected extract were added to 150 mL of water and further fractionated by liquid-liquid partition between water and hexane (v/v) to yield hexane and aqueous fractions. Hexane fractions were dried using rotavapor while aqueous fractions were freeze dried to obtained powders. In some few cases, interface precipitates were obtained and also tested for biological activity. Stock solution for each fraction was prepared at 100 mg/mL using 10% DMSO.

Determination of Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

MIC values for the selected extracts and fractions were determined according to the CLSI M27-A3 protocol (CLSI, 2008) with little modifications. Briefly, a serial two-fold dilution of each extract using sabouraud dextrose broth medium (Difco) supplemented with 2% glucose was done in 96-wells microtiter plates starting with 10 mg/mL down to 0.04 mg/mL. One hundred microliters of fungal inocula at the final concentrations of 2.5×10^3 CFU/mL were then added into each well of the plate to achieve a final volume of 200 µL. Plates were incubated at 37 °C for 48 h. Ketoconazole was tested as positive control at three concentrations (10, 5, and 2.5 mg/mL). MIC values were determined as the lowest extract concentration exerting complete visible inhibition of the yeasts based on turbidity in plate wells through macroscopic observation. MFC values were determined by transferring 50 µL aliquots of the clear wells (MIC wells) into 150 µL of freshly prepared broth medium and incubated at 37 °C for 48 hours. The MFC was defined as the lowest concentration of test sample which did not produce turbidity, indicating no microbial growth. All tests were performed in triplicates. The MIC cutoff value for fraction progression was ≤ 2.5 mg/mL against all the tested yeasts.

Phytochemical screening of the selected fraction

The most active fraction was subjected to phytochemical screening to detect the presence of secondary metabolites with potential antifungal activity, namely saponins, tannins, flavonoids, phenols, alkaloids, triterpenes, anthocyanins, essential oils and steroids as described by (Odebeyi and Sofowora, 1978).

Table 1: Ethnobotanical and scientific information on the investigated plants.

Plants and reference numbers	Local/comm on name	Collection site	Traditional indications	Scientific findings	Organs used
<i>Ammonia muricata</i> 32879/HNC	Graviola or soursop,	Yaoundé	Malaria, sedative, digestive, antipyretic, Boil, cough, diarrhea, dermatosis, hypertension, rheumatism and styptic, worms and parasites, headache, fever, toothache, asthma	anthelmintic, antiplasmodial, antiparasitic, antimicrobial, antipyretic, sedative, antispasmodic, hypotensive, anticonvulsant, digestive, antitumor and anticancer (Tchokouaha et al., 2015; Puro et al., 2005)	Leaves, twigs, flower, pericarp, pulp of fruit, seeds
<i>Anonidium mannii</i> Gaertn. 45582/HNC	/	Mount Kalla	Male infertility, complication of pregnancy and childbirth, treatment of abscess	Antimycobacterial (Donfack et al., 2014)	Leaves, twigs
<i>Monodora muristica</i> 1927/SRFK	Medjeng, pebé, diang, ikoma, ozek	Yaoundé	Witchcraft, stimulant, stomachic, headaches, sores, stomach-aches, febrile, pains, eye diseases and haemorrhoids	Antimalarial (16), Cytotoxic (Bakaranga-Via et al., 2014), Antibacterial and antifungal activities (Tatsadjieu et al., 2003)	Leaves, twigs, stem bark
<i>Polyalthia oliveri</i> 19416SRF/Cam	/	Mount Kalla	Malaria	Antiplasmodial (Boyom et al., 2009)	Leaves, twigs, stem bark
<i>Polyalthia suaveolens</i> 1227/SRF/CAM	Afoumengen	Mount Kalla	Dysmenorrhea	Antimalarial activity (Cushnie and Lamb, 2005)	Leaves, twigs, stem bark
<i>Uvaria angolensis</i> 16797/SRF/CAM	/	Mount Kalla	Abdominal pains, dysentery, digestive	Antiplasmodial, antimicrobial (Hufford et al., 1987)	Leaves, twigs, stem
<i>Uvaria banmami</i> 6427/SRF/Cam	/	Mount Kalla	Fatigue, abscess	Antimycobacterial (Donfack et al., 2014)	Leaves, twigs
<i>Uvaria muricata</i> HNC 6415/SRF/CAM	/	Mount Kalla	Abdominal pains, dysentery, digestive		Leaves, twigs, stem
<i>Uvariastrum zenkeri</i> 57355HNC	/	Mount Kalla	Gun-stock	Antimycobacterial (Donfack et al., 2014)	Leaves, twigs
<i>Uvariadenaron calophyllum</i> 28734/SFR/CAM	Obom ossoé	Mount Kalla	Gun, malaria	Antifungal and Antioxidant activity (Horiuchi et al., 2007) Antiplasmodial activities (Hufford et al., 1987)	Leaves, Twigs Stem bark
<i>Uvariadenaron molundense</i> 41685HNC	Ojobilobe	Mount Kalla	Gun, malaria	Antifungal and Antioxidant activities (Horiuchi et al., 2007)	Leaves, twigs
<i>Xylopiya aethiopica</i> 28725/SFR/Cam,	Netsham, ikoli, ekur, ebongo mbonji, kembare, akwi	Kribi	Buruli ulcer, Cough, carminative, and as a postpartum tonic, Stomach ache, treatment of bronchitis, biliousness and dysentery	Antiplasmodial (Boyom et al., 2004), Cytotoxic, antiproliferative (Bakaranga-Via et al. 2014), Antibacterial and antifungal activities (Tatsadjieu et al., 2003)	Leaves, twigs
<i>Xylopiya africana</i> 38322/HNC,	kojeup	Kribi	Bronchitis, dysentery and febrile pains, Asthma, stomach aches and rheumatism	Cytotoxic, antiproliferative activities (Bakaranga-Via et al., 2014)	Leaves, twigs, roots, stem bark
<i>Xylopiya parviflora</i> 42351HNC	Mbatou'ou, od'obi	Kribi	Stomach disorders and barrenness, Headache, analgesic and antispasmodic purposes	Cytotoxic, antiproliferative activities (Bakaranga-Via et al., 2014)	Leaves, stem, seeds

Plant samples were identified and voucher specimens deposited at the National Herbarium of Cameroon, Yaoundé.

Study of combinations of the promising fraction with ketoconazole

The antifungal effect of combined fraction with ketoconazole was assessed by broth microdilution checkerboard technique. Checkerboard tests were used to determine fractional inhibitory concentration indexes (FICIs) of combinations against each test microorganism. The checkerboard broth microdilution method based on CLSI recommendations (CLSI, 2008) consisted of diluting the fraction and drug in the two directions of a 96-wells microplate. Mixed concentrations in wells ranged from $1/8 \times \text{MIC}$ to $8 \times \text{MIC}$ and $1/128 \times \text{MIC}$ to $8 \times \text{MIC}$ for the fraction and drug respectively. The fungal inoculum was added to give an ultimate concentration of 2.5×10^3 CFU/mL in a final volume of 100 μL . Plates were therefore incubated at 37°C for 48 h and each test performed in duplicate. Changes in the Fractional Inhibitory Concentration Indexes (FICIs) were calculated using the following formula, and the type of interaction was determined according to previously described criteria.

$$\text{FICI}(X1/X2) = \frac{(\text{MICX1 in combination}/\text{MICX1 alone}) + (\text{MICX2 in combination}/\text{MICX2 alone})}{2}$$

(Tobudic et al., 2010). According to the adopted criteria, a combination was considered synergistic when the FICI was ≤ 0.5 , additive when it was > 0.5 to ≤ 1 , indifferent when it was > 1.0 to ≤ 4.0 , and antagonistic when the obtained FICI was > 4.0 .

RESULTS

Yields of plant extraction and anti-yeast potential of fourteen Annonaceae plants

Plant samples were extracted by maceration using ethanol, and the yield of extraction calculated relative to the weight of the starting plant material. Extracts were

screened for activity against yeasts. The data collected are summarized in Table 2.

The plants extraction yields varied from 0.10 to 13.94% and were highly dependent on the plants species and parts used. The preliminary antifungal screening also showed varying susceptibility of the tested yeasts. Amongst the 44 extracts prepared from 14 plants, only 13 (29.54%) inhibited the growth of all the tested yeasts, namely *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans* at 10mg/ml, including AMfr, MMI, POI, POTw, POSb, PSI, UBI, UAI, UAtw, UAst, UMutw, UMust, and XPs. These promising extracts derived from different types of plant organ, including fruit, leaf, twig, stem, stem bark, and seed. They were selected and subjected to liquid-liquid partition coupled with MIC/MFC determination.

Determination of Anti-yeast activity parameters of promising extracts and their fractions

Table 3 below summarizes the activity parameters (MIC and MFC) of 29 fractions derived from the 13 selected crude extracts against three pathogenic yeasts, namely *C. albicans*, *C. parapsilosis*, and *Cr. neoformans*.

The activities displayed spanned from 0.625 mg/mL to >10 mg/mL depending on the plant extracts and yeast species. The highest potency was exhibited by the crude leaf extract of *Uvaria banmanni* (UBI) against *C. albicans* with an MIC value of 0.625 mg/mL and MFC of 1.25 mg/mL. Besides, UBI only showed moderate effect against *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans* with MIC of 10 mg/mL and MFC > 10 mg/mL. The other few active crude extracts inhibited the yeasts with MIC values ranging from 2.5 mg/mL to >10 mg/mL, and MFC from 5 mg/mL to >10 mg/mL. Amongst

those, the more promising were MMI from the leaf of *M. myristica*, UAtw and UMutw from the twig of *U. angolensis* and *U. muricata* respectively and that showed MIC values of 5 mg/mL against the three yeasts. Extract POI from *P. oliveri* significantly inhibited *Cr. neoformans* with an MIC of 2.5 mg/mL and MFC of 5 mg/mL, but only showed moderate action against *C. albicans* and *C. parapsilosis* (MIC= 10 mg/mL).

As shown in Table 3, water/hexane partition of the 13 extracts (AMfr, MMI, POI, POTw, POSb, PSI, UBI, UAI, UAtw, UAst, UMt看, UMst, and XPs) yielded 29 fractions that were equally tested for biological activity, including 3 interface precipitates, MMI I, POI I, and UBI I respectively from *M. myristica* (leaf), *P. oliveri* (leaf), and *U. banmanni* (leaf). The MIC values of these fractions ranged from 2.5 to >10 mg/ml. The most active was the hexanic fraction from the stem of *U. angolensis* (UAst H) that exhibited potent fungicidal effects against *C. albicans* and *Cr. neoformans* (MIC= 2.5 mg/mL; MFC= 5 mg/mL), and to a certain extent against *C. parapsilosis* (MIC= 2.5 mg/mL; MFC > 10 mg/mL). In this particular case, the partition of the mother crude extract has delivered a two-fold more potent hexanic fraction and an aqueous fraction with mother extract-like activity (MIC of 5 mg/mL; MFC > 10 mg/mL against *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans*, and MIC of 10 mg/mL; MFC > 10 mg/mL against *C. albicans*). Besides, it was noticed that fractionation did not show any overall activity improvement from the other partitioned extracts. Consequently, fraction UAst H from the stem of *U. angolensis* was selected for further phytochemical screening and combination studies.

Phytochemical screening of fraction UAst H

Qualitative phytochemical screening using standards methods has revealed the presence of a number of secondary metabolite classes in fraction UAst H that might sustain the observed activity against yeasts. These metabolites included phenols, flavonoids, triterpenes, steroids, saponins, anthocyanins, tannins, and essential oils.

Fraction UAst H and ketoconazole combination studies

Fraction UAst H and ketoconazole were combined at their respective MIC values using the checkerboard format and tested against *C. albicans*, *C. parapsilosis*, and *Cr. neoformans*. Fractional inhibitory concentration indexes (FICI) were calculated and the type of interaction between the two reactants determined. The results obtained are summarized in the Table 4 below.

From the results presented in Table 4, the FICI values were found to range from 0.26 to 0.75 against *C. albicans*, from 0.28 to 0.75 against *Cr. neoformans*, and from 0.15 to 0.51 against *C. parapsilosis*. Overall, synergistic interactions could be achieved with most of the combinations, resulting in average FICI of 0.47 ± 0.19 , 0.38 ± 0.21 and 0.29 ± 0.15 on *C. albicans*, *Cr. neoformans*, and *C. parapsilosis* and significant reduction in MIC values of both UAst H fraction and ketoconazole. Besides, only three additive interactions were observed against *C. albicans*, and one each against *C. parapsilosis* and *Cr. neoformans*. Moreover, the reduction of ketoconazole's MIC ranged from 2 to 32-fold, and from 2 to 64 fold for UAst H.

Table 2: Extraction yield and results of anti-yeast screening of ethanolic extracts.

Plant species	Part	Codes	Extract Yield (%)	C. albicans	C. parapsilosis	Cr. neoformans
<i>Annona muricata</i>	Leaf	AnMl	4.85	-	-	-
	Twig	AnMtw	1.77	-	-	-
	Flower	AnMfl	2.32	-	-	-
	Pericarp	AnMp	2.29	+	-	-
	Pulp of fruit	AnMpf	1.09	-	-	-
	Seed	AnMs	3.49	-	-	-
<i>Anonidium mannii</i>	Leaf	AMl	1.65	+	-	-
	Twig	AMtw	0.55	+	-	-
	Fruit	AMfr	2.94	+	+	+
	Stem bark	AMsb	2.33	-	-	-
<i>Monodora myristica</i>	root	AMr	1.80	-	-	-
	Leaf	MMl	0.63	+	+	+
	Twig	MMtw	0.79	+	-	-
<i>Polyalthia oliveri</i>	Stem bark	MMsb	2.58	-	-	-
	Leaf	POl	2.57	+	+	+
	Twig	POtw	0.64	+	+	+
<i>Polyalthia suaveolens</i>	Stem bark	POsb	1.88	+	+	+
	Leaf	PSl	3.73	+	+	+
	Twig	PStw	0.73	-	-	-
<i>Uvaria banmanni</i>	Stem bark	PSsb	1.70	+	-	-
	Leaf	UBl	1.30	+	+	+
	Twig	UBtw	0.97	+	-	-
<i>Uvariastrum zenkeri</i>	Stem bark	UBsb	2.32	-	-	-
	Leaf	UZl	3.77	-	-	-
<i>Uvariadendron calophyllum</i>	Twig	UZtw	0.59	-	-	-
	Twig	UCTw	0.42	-	-	-
<i>Uvariadendron molundense</i>	Leaf	UMl	1.28	-	-	-
	Twig	UMtw	0.20	-	-	-
<i>Uvaria</i>	Leaf	UAl	9.07	+	+	+

<i>angolensis</i>	Twig	UAtw	8.83	+	+	+
	Stem	UAst	13.94	+	+	+
<i>Uvaria muricata</i>	Leaf	UMul	12.97	-	-	-
	Twig	UMutw	5.30	+	+	+
<i>Xylopia africana</i>	Stem	UMust	4.84	+	+	+
	Leaf	XAl	3.99	-	-	-
	Twig	XAtw	0.75	+	-	-
<i>Xylopia aethiopica</i>	Stem	XAsb	1.57	+	-	-
	bark					
	root	XAr	0.49	+	-	-
<i>Xylopia parviflora</i>	Leaf	XAEI	4.27	+	-	-
	Stem	XAEst	0.10	-	-	-
	seed	XAEs	1.98	-	-	-
Ketoconazole	Leaf	XPl	1.65	+	-	-
	Stem	XPst	0.67	-	-	-
	Seed	XPps	6.38	+	+	+
				+	+	+

-. no inhibition at 10 mg/mL; +: 100% inhibition at 10mg/mL

Table 3: MIC and MFC of extracts and fractions (mg/mL).

Plant species	Part	Extract/fraction	<i>C. albican</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>Cr. neoformans</i>	
			MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Anonidium manii</i>	Fruit	AMfr	10	>10	10	10	10	10
		AMfr H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		AMfr H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Monodora myristica</i>	Leaf	MMI	5	>10	5	>10	5	>10
		MMI I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		MMI H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		MMI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Polyalthia oliveri</i>	Leaf	POI	10	>10	10	>10	2.5	5
		POI I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		POI H	10	>10	>10	>10	5	5
		POI H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	Twig	POtw	10	>10	10	>10	>10	>10
		POtw H	>10	>10	>10	>10	>10	>10

		POtw H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	Stem	POsb	10	>10	10	>10	10	>10
	bark	POsb H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		POsb H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Polyalthia</i>	Leaf	PSl	10	10	10	>10	10	>10
<i>suaveolens</i>		PSl H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		PSl H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Uvaria</i>	Leaf	UBl	0.625	1.25	10	>10	10	>10
<i>banmanni</i>		UBl I	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		UBl H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		UBl H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
<i>Uvaria</i>	Leaf	UAl	10	>10	5	>10	10	>10
<i>angolensis</i>		UAl H	10	>10	10	>10	10	>10
		UAl H ₂ O	10	>10	10	>10	5	>10
	twig	UAtw	5	>10	5	>10	5	>10
		UAtw H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		UAtw H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10
	stem	UAst	10	>10	5	>10	5	>10
		UAst H	2.5	5	2.5	>10	2.5	5
		UAst H ₂ O	10	>10	5	>10	5	>10
<i>Uvaria</i>	twig	UMutw	5	>10	10	>10	5	>10
<i>muricata</i>		UMutw H	5	>10	5	>10	10	>10
		UMutw H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10
	stem	UMust	10	>10	5	>10	5	>10
		UMust H	10	>10	5	>10	2.5	>10
		UMust H ₂ O	5	>10	5	>10	5	>10
<i>Xylopia</i>	Seed	XP _s	10	10	10	>10	10	>10
<i>parviflora</i>		XP _s H	>10	>10	>10	>10	>10	>10
		XP _s H ₂ O	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Ketoconazole			10	10	5	10	5	10

I: interface precipitate; H: hexane fraction; H₂O: aqueous fraction

Table 4: Effect of combined UAst H fraction and ketoconazole on *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *Cr. Neoformans*.

<i>C. albicans</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)		Int	<i>Cr. neoformans</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)		Int	<i>C. parapsilosis</i>		FICI (FIC Keto + FIC UAst H)		Int
FIC UAst H	FIC Keto				FIC UAst H	FIC Keto				FIC UAst H	FIC Keto			
0.25	0.01	0.26		S	0.25	0.03	0.28		S	0.13	0.03	0.15		S
0.50	0.03	0.53		A	0.25	0.06	0.31		S	0.13	0.06	0.18		S
0.50	0.06	0.56		A	0.13	0.06	0.18		S	0.13	0.13	0.25		S
0.13	0.13	0.25		S	0.13	0.25	0.37		S	0.13	0.25	0.37		S
0.25	0.25	0.50		S	0.25	0.50	0.75		A	0.01	0.50	0.51		A
0.25	0.50	0.75		A										
Average of		0.47±0.19		S	Average of		0.38±0.21		S	Average of		0.29±0.15		S
FIC Index					FIC Index						FIC Index			

FICI: Fractional Inhibitory Concentration Index; Int: interaction; A: additivity; S: synergy; keto: ketoconazole; UAst H: hexanic fraction of *Uvaria angolensis* stem extract.

DISCUSSION

Plants species from Annonaceae family are worldwide distributed and used all over the tropics in traditional medicine for the treatment of parasitic and microbial diseases, including fungal and bacterial infections. As reported by Tsabang et al (2012), Annonaceae plants are widely used by Cameroonian traditional healers to cure malaria and related symptoms, and many other infections. Moreover, phytochemical studies of this family have revealed chemical components which could offer new alternatives for the treatment and control of several infectious diseases (Frausin et al., 2014). Of note, secondary metabolites with antimicrobial activity from classes of alkaloids, flavonoids, tannins, phenolic compounds, anthocyanins, saponins, triterpenes, steroids, and acetogenins have been reported from many Annonaceae plant species (Leboeuf et al., 1980; Lewis and Ausubel, 2006; Taha et al 2013; Frausin et al., 2014; Liaw et al., 2016).

From the present investigation, fourteen different plants species from eight genera were investigated for their potential to inhibit the growth of *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Cryptococcus neoformans*. The results showed that few extracts and fractions could inhibit the tested yeasts. Of particular interest, the hexane fraction (UAst H) obtained from the water/hexane partition of the stem extract of *Uvaria angolensis* exhibited potent inhibitory effects against the three pathogens, more likely due to its content in secondary metabolites that have been shown to possess antifungal activity. This active fraction has also exhibited remarkable synergistic activity in combination with Ketoconazole (FICI from 0.29-0.47) against the three pathogens.

The qualitative phytochemical screening of fraction UAst H has revealed the presence of phenols, flavonoids, triterpenes, steroids, saponins, anthocyanins, tannins, and

essentials oils. These compounds have the potential to exhibit potent activity against yeasts alone or in combination. For instance, phenolic compounds isolated from natural sources possess antifungal properties of interest. Particularly, phenolic acids have shown promising *in vitro* and *in vivo* activity against *Candida* species. However, studies on their mechanism of action alone or in synergism with known antifungals are still scarce (Teodoro et al., 2015). Also, flavonoids used in combination with fluconazole recently showed significant synergistic activity *in vitro* against *Candida tropicalis* strains resistant to fluconazole (Da Silva et al., 2014). Similarly, condensed tannins from *Stryphnodendron adstringens* showed *in vitro* and *in vivo* effect on *Candida tropicalis* growth and adhesion properties (Morey et al., 2016). Steroidal saponins have also been shown to exert significant activity against *Cr. neoformans* and *Aspergillus fumigatus* (Yang et al., 2006). Limited studies have indicated that phenols, saponins and flavonoids might exert their antimicrobial action through membrane perturbations (Tsuchiya et al 1996; Majorie, 1999; Cushnie and Lamb, 2005). As well, essential oils that are complex volatile compounds, synthesized naturally in different plant parts during the process of secondary metabolism have great potential in the field of biomedicine as they effectively destroy several bacterial, fungal, and viral pathogens. The presence of different types of aldehydes, phenolics, terpenes, and other antimicrobial compounds means that the essential oils are effective against a diverse range of pathogens.

A tentative explanation of the observed synergistic action of fraction UAst H in combination with ketoconazole might be the disruption of cell membrane coupled with the impairing effect of ketoconazole on the synthesis of membrane ergosterol (Ghannoum and Rice, 1999). Furthermore, these results are consistent with previous studies where

plant extracts were reported to increase *in vitro* efficacy of available antimicrobial drugs against bacteria and fungi (Betoni et al., 2006; Esimone et al., 2006; Horiuchi et al., 2007).

Opportunistic fungal infections elicited by *Candida*, *Cryptococcus*, and *Aspergillus* are life-threatening in immunocompromised patients (with AIDS, cancer, or organ transplant) (Liu and Lian, 2003). The currently prescribed antifungal drugs belong to five major drug classes, namely 1) polyenes (ex. Amphotericin B; interacting with fungal ergosterol, thereby disrupting the cytoplasmic membrane); 2) azoles (ex. Ketoconazole, fluconazole; inhibiting 14 α -lanosterol demethylase in ergosterol biosynthesis pathway); 3) allylamines (ex. terbinafine, butenafine; inhibiting squalene epoxidase in ergosterol synthesis pathway), 4) echinocandins (ex. caspofungin, anidulafungin; inhibiting synthesis of β -1,3-glucan, which is a required component of the cell wall of many fungi), and 5) flucytosine (ex. flucytosine; incorporated into RNA and thus inhibiting DNA synthesis) (Ren, 2004). Unfortunately, each of these drug classes have at least one major shortcomings such as significant dose-limiting toxicities for Amphotericin B, rapid development of resistance for the azoles, limitation of the use to dermatophytoses for terbinafine, and lack of effectiveness in cryptococcosis for caspofungin (Marr et al., 2001, 1998; Liang and Wang, 2004). This has emphasized the need to discover new antifungal agents, preferably with new modes of action. In fact, plant extracts can be used as synergistic enhancers even if they don't have any antimicrobial properties alone. They can enhance the effect of standard drugs when they are taken concurrently (Horiuchi et al., 2007). Many attempt to formulate such combinations either with commercially available antifungals, or potent phytochemicals have been described (Sibanda

and Okoh, 2007; Adwan and Mhanna, 2008). In addition to the results described in this study, recent findings also support that plant extracts from Annonaceae have the potential to be further developed as drugs to control fungal diseases. For instance, methanol, chloroform, and aqueous extracts of *Annona squamosa* leaves recently showed activity against five different strains of fungi (*Alternaria alternata*, *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Microsporum canis*, and *Aspergillus niger*) (Kalidindi et al., 2015). Also, antifungal activity of ethanolic, methanolic, and aqueous extracts of *Annona muricata* was recently reported against *C. albicans* and *Cr. neoformans* (Vinothini and Growther, 2016). These previous findings further emphasize the potential of Annonaceae extracts as sources of potent antifungal agents.

Conclusion

The results from this investigation suggest that plants species from Annonaceae family can be used as promising sources for antifungal drug discovery. Moreover, the synergistic interaction of fraction UAst H from *Uvavia angolensis* with ketoconazole against the tested yeasts further suggest the possibility of development of novel synergistic antiyeast therapies from such extracts. However, in an optic to develop new drugs against opportunistic mycosis, further detailed studies of the selected fraction are required.

COMPETING INTERESTS

The authors declare that they have no competing interests.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was designed and supervised by FFB. Taffou, JBHF, EZM, LRYT, ANF, MSK, VN, IFKT collected and extracted the plants materials. They also performed the *in vitro* screening of plant

extracts. All authors contributed to manuscript drafting and revision.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are very grateful for the practical assistance of Mr. Victor Nana of the National Herbarium of Cameroon in identifying and archiving voucher specimens of the investigated plants.

REFERENCES

- Adwan G, Mhanna M. 2008. Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Middle-East J. Sci. Res.*, **3**: 134-139.
- Bakarnga-Via I, Fokou JBH, Fokou PVT, Tchokouaha LRY, Gary-Bobo M, Gallud A, Garcia M, Secka Y, Dongmo PMJ, Boyom FF, Menut C, Walbadet L. 2014. Composition and cytotoxic activity of essential oils from *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich, *Xylopiya parviflora* (A. Rich) Benth.) and *Monodora myristica* (Gaertn) growing in Chad and Cameroon. *BMC Compl. Alter. Med.*, **14**: 125. DOI: 10.1186/1472-6882-14-125
- Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Stasi LCD, Junior AF. 2006. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, **101**: 387-390.
- Boyom FF, Kemgne EM, Tepongning R, Ngouana V, Mbacham WF, Tsamo E, Amvam ZPH, Gut J, Rosenthal PJ. 2009. Antiplasmodial activity of extracts from seven medicinal plants used in malaria treatment in Cameroon. *J. Ethnopharmacol.*, **123**: 483-488. DOI: 10.1016/j.jep.2009.03.008.
- Boyom FF. 2004. Essential Oils of Cameroonian Annonaceae: Chemical Analysis, Antioxydant and Antiplasmodial Activities, Doctorat d'Etat thesis, University of Yaoundé I.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2008. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved standard, third edition M27- A3: Wayne, PA, USA.
- Corbett EL, Churchyard GJ, Charalambos S, Samb B, Moloji V, Clayton TC, Grant AD, Murray J, Hayes RJ, De Cock KM. 2002. Morbidity and mortality in South Africa gold miners: impact of untreated disease due to human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.*, **34**: 1251-1258.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **26**: 343-356.
- Da Silva CR, De Andrade Neto JB, De Sousa Campos R, Figueiredo NS, Sampaio LS, Magalhães HIF, Cavalcanti BC, Gaspar DM, De Andrade GM, Lima ISP, De Barros Viana GS, De Moraes MO, Lobod MDP, Grangeiro TB, Nobre Júnior HV. 2014. Synergistic Effect of the Flavonoid Catechin, Quercetin, or Epigallocatechin Gallate with Fluconazole Induces Apoptosis in *Candida tropicalis* Resistant to Fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **58**(3): 1468-1478.
- Dias DA, Urban S, Roessner U. 2012. A Historical Overview of Natural Products in Drug Discovery. *Metabolites*, **2**(2):303-336. doi:10.3390/metabo2020303.
- Donfack DVF, Roque S, Trigo G, Fokou PVT, Tchokouaha LRY, Tsabang N, Zollo PHA, Correia-Neves M, Boyom FF. 2014. Antimycobacterial activity of selected medicinal plants extracts from Cameroon. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(1): 273-288.
- Esimone CO, Iroha IR, Ibezim EC, Okeh CO, Okpana EM. 2006. *In vitro* evaluation of

- the interaction between tea extracts and penicillin G against *Staphylococcus aureus*. *Afr. J. Biotechnol.*, **5**: 1082-1086.
- Fokou JBH, Jazet DPM, Bakargna-Via I, Ngomback MNL, Menkem EZ, Fall AD, Bassene E, Boyom FF. 2014. Optimized combinations of *Ocimum* essential oils inhibit growth of four *Candida albicans*. *Int. J. Drug Discov.*, **6**(6): 198-206.
- Frausin, Gina, Lima, Renata Braga Souza, Hidalgo, Ari de Freitas, Maas, Paul, & Pohlit, Adrian Martin. (2014). Plants of the Annonaceae traditionally used as antimalarials: a review. *Revista Bras. Fruticult.*, **36**(1): 315-337.
- Ghannoum MA, Rice LB. 1999. Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**: 501-517.
- Hachem R, Hanna H, Kontoyiannis D, Jiang Y, Raad I. 2008. The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia in hematologic malignancy. *Cancer*, **112**: 2493-2499.
- Horiuchi K, Shiota S, Kuroda T, Hatano T, Yoshida T, Tsuchiya T. 2007. Potentiation of antimicrobial activity of aminoglycosides by carnosol from *Salvia officinalis*. *Biol. Pharm. Bull.*, **30**: 287-290.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, Marr KA, Pfaller MA, Chang CH, Webster KM. 2009. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin. Infect. Dis.*, **48**: 1695-1703.
- Hufford CD, Babajide OO, James SN. 1987. Angoluarin, an antimicrobial dihydrochalcone from *Uvaria angolensis*. *J. Org. Chem.*, **52**: 5286-5288.
- Kalidindi N, Thimmaiah NV, Jagadeesh NV, Nandeeep R, Swetha S, Kalidindi B. 2015. Antifungal and antioxidant activities of organic and aqueous extracts of *Annona squamosa* Linn. Leaves. *J. Food & Drug Analys.*, **23**(4): 795-802.
- Kamdem MS, Sameza ML, Dongmo PMJ, Boyom FF, Bakargna-Via I, Fokou JBH, Tsague IFK, Menkem EZ, Zollo PHA, Menut C. 2015. Antiradical, Anti-inflammatory and Antifungal Activities of Essential Oils of Two Aromatic Plants: *Apium graveolens* (Apiaceae) and *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *J. Life Sci.*, **9**: 51-64.
- Kammalac TN, Mbouna CDJ, Kuipou RMT, Tchuenmogne MAT, Menkem EZ, Ngouana V, Mallié M, Bertout S, Boyom FF. 2015. Potent and Synergistic Extract Combinations from *Terminalia catappa*, *Terminalia mantaly* and *Monodora tenuifolia* Against Pathogenic Yeasts. *Medicines*, **2**: 220-235.
- Khan PA, Malik A, Khan HS. 2012. Profile of candidiasis in HIV infected patients. *Iran. J. Microbiol.*, **4**: 204-209.
- Leboeuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. 1980. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochem.*, **21**(12): 2783-2813.
- Lewis K, Ausubel FM. 2006. Prospects for plant derived antibacterials. *Nat. Biotechnol.*, **24**: 1504-1507.
- Liang BB, Wang R. 2004. The adverse reaction and advances in study on antifungal drugs. *Clin. Med. J.* **2**: 5-12.
- Liaw CC, Liou JR, Wu TY, Chang FR, Wu YC. 2016. Acetogenins from Annonaceae. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.*, **101**: 113-228.
- Liu WD, Lian CH. 2003. The early stage diagnosis of deep-seated fungal

- infections. *Chin. J. Lab. Med.*, **26**: 583-584.
- Majorie MC. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**(4): 564-582.
- Marr KA, Lyons CN, Ha K, Rustad T, White TC. 2001. Inducible azole resistance associated with a heterogeneous phenotype in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**: 52-59.
- Marr KA, Lyons CN, Rustad T, Bowden RA, White TC. 1998. Rapid, transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated with increased mRNA levels of CDR. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**: 2584-2589.
- Menkem EZ, Lopez VC, Soto SM, Boyom FF. 2016. Anti-candida biofilm properties of Cameroonian plant extracts. *J. Med. Plants Res.*, **10**(35): 603-611.
- Menkem EZ, Kouipou RMT, Mbouna CDJ, Djouonzo PT, Kammalac TN, Fokou PVT, Boyom FF. 2015. Anti-yeast activity of extracts and fractions from *Uvariadendron calophyllum* (Annonaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(6): 2500-2522.
- Mirza SA, Phelan M, Rimland D, Graviss E, Hamill R, Brandt ME, Gardner T, Sattah M, de Leon GP, Baughman W, Hajjeh RA. 2003. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992-2000. *Clin. Infect. Dis.*, **36**: 789-794.
- Morey AT, de Souza FC, Santos JP, Pereira CA, Cardoso JD, de Almeida RS, Costa MA, de Mello JC, Nakamura CV, Pinge-Filho P, Yamauchi LM, Yamada-Ogatta SF. 2016. Antifungal Activity of Condensed Tannins from *Stryphnodendron adstringens*: Effect on *Candida tropicalis* Growth and Adhesion Properties. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **17**(4): 365-375.
- Nucci M, Marr KA. 2005. Emerging fungal diseases. *Clin. Infect. Dis.*, **41**: 521-526.
- Odebeyi OO, Sofowora EA. 1978. Phytochemical screening: Nigeria medical plants. *L. Ceydia*, **41**: 234-325.
- Okonkwo E, Alo MN, Nworie O, Orji JO, Agah MV. 2013. Prevalence of oral *Candida albicans* infection in HIV seropositive patients in Abakaliki. *Am. J. Life Sci.*, **1**: 72-76. Doi: 10.11648/j.ajls.20130102.18.
- Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, Harrison TS, Larsen RA, Lortholary O, Nguyen MH, Pappas PG, Powderly WG, Singh N, Sobel JD, Sorrell TC. 2010. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, **50**(3): 291-322.
- Pinto AC, Andrade SR, Ferreira FR, Kinpara DI. 2005. *Annona* species. In International Center for under Utilised Crops; University of Southampton: Southampton, UK, pp. 1-281.
- Ren LJ. 2004. The clinical application of common antifungal drugs. *China New Med.*, **3**: 63-64.
- Romeo O, Tietz H-J, Criseo G. *Candida Africana*. 2013. Is it a fungal pathogen? *Curr. Fungal Inf. Rep.*, **1**: 1-6.
- Ruhnke M. 2006. Epidemiology of *Candida albicans* infections and role of non-*Candida albicans* yeasts. *Curr. Drug Targets*, **7**: 495-504.
- Sibanda T, Okoh A. 2007. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *Afr. J. Biotechnol.*, **6**: 2886-2896.
- Sidjui SL, Menkem EZ, Kouipou RMT, Noté PO, Mahiou-Leddé V, Gaëtan H,

- Boyom FF, Ollivier E, Folefoc NG. 2014. Secondary Metabolites from *Jacaranda mimosifolia* and *Kigelia africana* (Bignoniaceae) and their Anticandidal activity. *Rec. Nat. Prod.*, 8(3): 307-311.
- Taha HA, Hamid A, Hadi Mustafa AM. 2013. A Brief Review on Bioactive Compounds from *Pseuduvaria* Species. *Open Conf. Proceed. J.*, 4(2, M2): 3-8.
- Tatsadjieu LN, Essia Ngang JJ, Ngassoum MB, Etoa F-X. 2003. Antibacterial and antifungal activity of *Xylopiya aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxylodes* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, 74: 469-472.
- Tchokouaha LRY, Fokou PVT, Mbouna CDJ, Keumoe R, Ndjakou BL, Djouonzo PT, Mfopa AN, Legac J, Tsabang N, Gut J, Rosenthal PJ, Boyom FF. 2015. Extracts from *Annona muricata* L. and *Annona reticulata* L. (Annonaceae) potently and selectively inhibit *Plasmodium falciparum*. *Medicines*, 2: 55-66.
- Teodoro GR, Ellepola K, Seneviratne CJ, Koga-Ito CY. 2015. Potential Use of Phenolic Acids as Anti-Candida Agents: A Review. *Front. Microbiol.*, 6: 1420. Doi:10.3389/fmicb.2015.01420.
- Tobudic S, Kratzer C, Anrea Lassnigg A, Graninger W, Prester E. 2010. *In vitro* activity of antifungal combinations against *Candida albicans* biofilms. *J. Antimicrob. Chemother.*, 65: 271-274.
- Tsabang N, Tsouh FPV, Tchokouaha LRY, Noguem B, Bakaranga-Via I, Dongmo NMS, Nkongmeneck BA, Boyom FF. 2012. Ethnopharmacological survey of Annonaceae medicinal plants used to treat malaria in four areas of Cameroon. *J. Ethnopharmacol.*, 139: 171-180.
- Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, Tanaka T, Inuma M. 1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Ethnopharmacol.*, 50: 27-34.
- Vinothini R, Growther, L. 2016. Antimicrobial and Phytochemical Analysis of Methanolic and Aqueous Extract of *Annona muricata* (Leaf and Fruit). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 5(10): 617-625.
- Yang C-R, Zhang Y, Jacob MR, Khan SI, Zhang Y-J, Li X-C. 2006. Antifungal Activity of C-27 Steroidal Saponins. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50(5): 1710-1714.