



**Journal de la Société Chimique de Mauritanie**  
**Journal of the Mauritanian Chemical Society**

## Etude phytochimique de *Pulicaria incisa* origine Mauritanie

Mohamed Samba<sup>a,b</sup>, Abderrahmane Hadou<sup>a</sup>, Ahmed Ismail Boumediana<sup>a</sup>, Abdi Kaihil<sup>a</sup>,  
Mohamed Vadel Deida<sup>a</sup>, El Mokhtar Essassi<sup>b</sup>, et Mohamed Said Minnih<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Unité de Chimie Moléculaire et Environnement, Université de Sciences, de Technologie et de Médecine,  
BP. 5026, Nouakchott, Mauritanie.

<sup>b</sup> Laboratoire de Chimie Organique Hétérocyclique, Associé au CNRST, Pôle de compétence Pharchim,  
Université Mohammed V-Agdal, BP. 1014 Avenue Ibn Batouta, Rabat, Maroc

| Infos  | Abstract - Résumé   |
|--|---|
| Received: 30 June 2018<br>Accepted: 15 August 2018   | La valeur thérapeutique des plantes médicinales qui véhicule une expérience millénaire est de plus en plus acceptée par la communauté scientifique et l'industrie. D'une part, l'industrie (nutritionnelle, cosmétique et pharmaceutique) intègre de plus en plus d'extraits issus des plantes médicinales dans leur activité, et d'autre part, de plus en plus de recherches sont menées pour élucider les principes actifs justifiant l'utilisation tradithérapeutique. Ce travail entre dans le cadre de la recherche de nouveaux composés chimiques qui ont un intérêt thérapeutique. Notre objectif principal était la détermination structurale des substances isolées de plante mauritanienne : <i>Pulicaria incisa</i> . Les résultats obtenus confirment que <i>Pulicaria incisa</i> sont très riches en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, ce qui permet de conclure que les plantes mauritaniennes étudiées ont un potentiel chimique et biologique important qui leur permettrait d'être exploitées dans le domaine pharmaceutique. |
| <b>Keywords - Mots clés</b><br>Isolement, identification, pharmacologiques, plantes médicinales et <i>Pulicaria incisa</i> |   |
| Isolation, identification, pharmacology, medicinal plants and <i>Pulicaria incisa</i>                                      |   |
| <b>Corresponding authors emails</b><br>theldjaoui@yahoo.fr;<br>kettab@yahoo.fr   | The therapeutic value of medicinal plants that conveys a timeless experience is increasingly accepted by the scientific community and industry. On the one hand, industry (nutritional, cosmetic and pharmaceutical) incorporates increasingly extracts from medicinal plants in their activity, and secondly, more and more research is conducted to elucidate the active principles justifying the tradithérapeutic use. This work is a part of the search for new chemical compounds that have therapeutic interest. Our main objective was the structural determination of individual substances of Mauritanian plant: <i>Pulicaria incisa</i> . The results showed the consistency between the rich chemical composition of the extracts produced from Mauritanian medicinal plants and the studied activity.  |

### 1. INTRODUCTION

Jusqu'au 19<sup>ème</sup> siècle, les plantes médicinales avaient constitué presque la totalité des agents thérapeutiques utilisés par les hommes. L'industrie pharmaceutique s'est tournée vers les plantes pour la découverte de nouveaux médicaments et ce malgré le développement spectaculaire des drogues synthétiques. Les plantes supérieures renferment une large gamme de molécules avec diverses bioactivités : antimicrobiennes, antivirales, antitumorales, antioxydante etc.

En Afrique, les plantes médicinales sont largement utilisées par la population et les tradithérapeutes et, de nos jours, les milieux ruraux continuent à se soigner uniquement à l'aide des recettes tradithérapeutiques à base de plantes. L'utilisation tradithérapeutique, les études phytochimiques des principes actifs liés à cette utilisation sont encore limitées.

Les plantes médicinales de Mauritanie sont très peu connues par rapport à celles du Maroc au Nord [1-4] et celles du Sénégal ou du Mali au Sud [5-9].

Un des objectifs de cette contribution est de combler cette lacune en atténuant la méconnaissance de la phytopharmacopée dans notre espace transitionnel entre le Maghreb et l'Afrique subsaharienne.

En Mauritanie, les pratiques médicales traditionnelles remontent à une époque ancienne de l'histoire de ce pays, carrefour de cultures arabo-berbères et négro-africaines; elles constituent même un héritage socioculturel au sein de certaines familles et ce depuis plusieurs siècles.

Le présent travail se résume principalement dans l'investigation phytochimique de l'espèce *Pulicaria incisa* (*Asteraceae*). Il commence par une extraction suivie par le fractionnement et la purification de différents composés par diverses techniques chromatographiques.

La dernière étape, l'élucidation structurale de métabolites secondaires isolés a été faite par la combinaison des techniques d'analyses spectrophotométriques : UV-Visible. et spectroscopie de RMN.

## 2. MATÉRIELS ET MÉTHODES UTILISÉS

### 2.1. Solvants et réactifs

- L'extrait d'acétate d'éthyle de *Pulicaria incisa* : 8,4g
- Solvants utilisés : cyclohexane, chloroforme, acétate d'éthyle et éthanol.
- Chromatographie sur couche mince (CCM), avec une silice utilisée comme une phase stationnaire, la silice est 60 G F254 Merck .0,1mm sur support d'aluminium (20×20cm).
- Chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte (CC).
- Une colonne ouverte (1200×40mm), le gel de silice de granulométrie moyenne
- Chromatographie préparatoire sur couche mince (CCM prép.) est effectuée sur des plaques en verre (20×20cm) pré-étalées de gel de silice Merck 60 F 254 0, 3mm d'épaisseur.
- L'analyse par RMN est faite avec un 300 Ultrashield de la marque Bruker.
- La RMN est effectuée dans du méthanol deutéré (CD<sub>3</sub>OD). Pour injecter les échantillons dans le spectromètre de masse, ils sont solubilisés dans du méthanol de haute pureté 99,9 %.

### 2.2. Echantillon

L'identification de la plante a été réalisée par le botaniste de notre unité de recherche.

La récolte a été faite au mois de mars 2014, en période de floraison, dans la région d'Akjoujt. L'étude chimique a été effectuée sur la partie aérienne de cette espèce.

### 2.3. Extraction

Les tests phytochimiques ont été effectués selon les protocoles habituels de caractérisation. Les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, l'acide ellagique, les flavonoïdes, les proanthocyanidols et les quinones sont caractérisés selon les techniques expérimentales décrites par Trease-Evans (1987) [9], Sofowora (1982) [9]. et Harborne (1973) [9].; les stérols et terpènes sont mis en évidence par les réactions de Libermann-Burchard et de Salkowski.

Le résultat de chaque test phytochimique est exprimé qualitativement par le signe (+) positif ou (-) négatif.

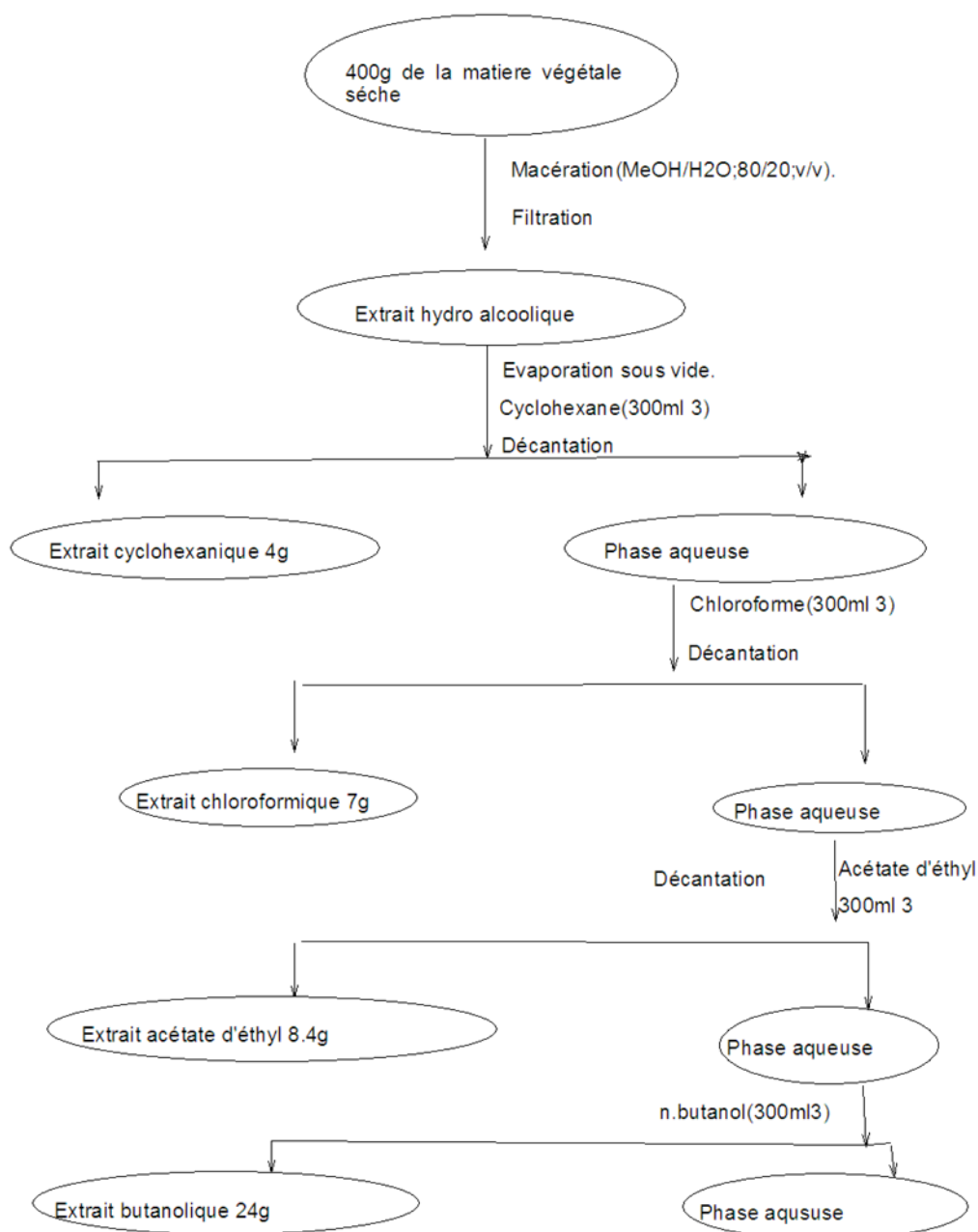
Une quantité de la partie aérienne (400g) de cette plante a été séchée, finement broyée, puis mise à macérer pendant 24 heures dans un mélange méthanol-eau (80 : 20 V /V).

Cette opération est répétée trois fois. Après filtration et concentration à chaque fois, la phase aqueuse obtenue est extraite plusieurs fois au cyclohexane. Les phases cyclohexaniques sont réunies et séchées et sur sulfate de sodium puis évaporées à sec. Une masse de 5,4 g de l'extrait cyclohexanique a été obtenue. La phase aqueuse est alors reprise par le chloroforme et l'acétate d'éthyle selon le même protocole, donnant respectivement 7 g et 8,4 g de l'extrait chloroformique et d'acétate d'éthyle. Enfin, la phase aqueuse est épuisée par le butanol, après séchage par Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et filtration suivie de concentration, 24 g de l'extrait butanolique ont été obtenus (Figure 1).

## 3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques ont été effectués selon les protocoles habituels de caractérisation. Les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, l'acide ellagique, les flavonoïdes, les proanthocyanidols et les quinones sont caractérisés selon les techniques expérimentales décrites par Trease-Evans (1987) [10], Sofowora (1982) [11] et Harborne (1973) [12]; les stérols et terpènes sont mis en évidence par les réactions de Libermann-Burchard et de Salkowski.



**Figure 1** : Différentes étapes de l'extraction des parties aériennes de *Pulicaria incisa*

Le résultat de chaque test phytochimique est exprimé qualitativement par le signe (+) positif ou (-) négatif. Les résultats des tests phytochimiques sont récapitulés dans le tableau 1. Ce dernier tableau montre que la partie aérienne de *Pulicaria incisa* renferment les espèces phytochimiques suivantes: alcaloïdes, stérols et terpènes, saponosides flavonoïdes, acide ellagique, tanins, etc. Néanmoins, cette étude montre que les classes chimiques des quinones, proanthocyanidols ne sont pas présentes (Tableau 1.).

### 3.2. Séparation et purification des composés de l'extrait d'acétate d'éthyle de *Pulicaria incisa*

Les fractions obtenues sont analysées par des plaques CCM dans le but de :

- Ressembler les fractions qui présentent les mêmes taches.
- Chercher un nouveau support chromatographique ainsi qu'un nouveau système de solvant susceptible de mieux séparer les composés.

La richesse de l'extrait et la difficulté de certaines séparations. Nous obligent à diversifier les systèmes chromatographiques.

**Table 1:** Différents groupes de composés mis en évidence dans *Pulicaria incisa*

| phytochemical compounds | Reaction / reagents    | Observations |
|-------------------------|------------------------|--------------|
| Tannins                 | SR, HCl                | +            |
| Saponins                | MT                     | +            |
| Polyphenols             | FeCl <sub>3</sub> à 2% | +            |
| Proanthocyanidols       | HCl                    | -            |
| Ellagic acid            | Acetic Acid            | +            |
| Flavonoids              | RC                     | +            |
| Sterols and terpenes    | LR                     | +            |
| Quinones                | BGR                    | -            |
| Alcaloids               | DR, BR                 | +            |

RS= Reagent Stiasny; MT= Mousse test; RC= Reaction to Cyanidin; LR= Liebermann reaction; BGR = Borntraeger reagent; DR= Dragendorff reagent; BR= Burch.

### Etude de la fraction F2

12 mg de la fraction F2 (12 mg) a été chromatographié sur plaque préparatoire avec comme système d'éluion cyclohexane/acétate d'éthyle : 6/4 ce qui nous a donné une tache bleue sous l'UV (de longueur d'onde 365), avec 4 mg de masse.

### Etude de la fraction F5

La fraction F5 a elle-même subi un fractionnement par chromatographie d'adsorption sur silice, en utilisant un gradient de cyclohexane / acétate d'éthyle permettant ainsi d'obtenir cinq sous-fractions, la sous-fraction F5.3 contenait un produit majoritaire qui a précipité en solution (CHCl<sub>3</sub> / acétate d'éthyle 85 : 15) formant une poudre blanche. Ce précipité a été lavé au chloroforme pour donner le composé 5.

Les autres taches sont des mélanges de produits et leur séparation est difficile avec les moyens que nous avons dans notre laboratoire.

### 3.3. Analyse structurale

Les analyses RMN du <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, COSY, HMQC, HMBC ont permis de déterminer les structures des composés C4 et C-5.

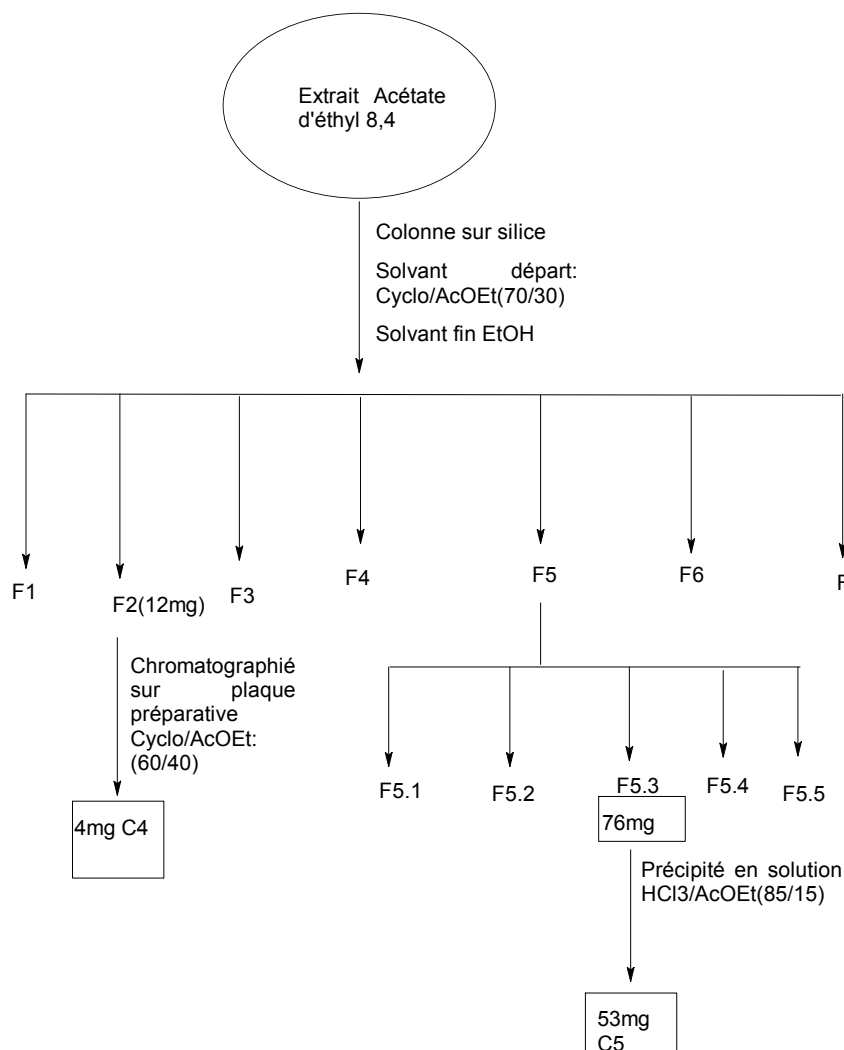
#### 3.3.1. Composé C4

L'intégration des différents signaux constituant le spectre RMN du proton montre que la structure possède douze protons qui résonnent à différents déplacements chimiques. Le spectre RMN HMQC confirme cette constatation en indiquant la présence de deux protons aromatiques, deux groupements méthoxy (-OCH<sub>3</sub>) et un groupement méthyle (-CH<sub>3</sub>).

Le spectre COSY montre les corrélations entre les deux protons aromatiques. Le spectre COSY montre également les corrélations entre les protons de deux groupements méthoxys à déplacements chimiques 3,87 ppm avec les protons aromatiques, tandis que les protons de l'autre groupement méthoxy présentent une petite tache de corrélation avec les protons du groupement méthyle.

Dans la suite de la discussion du spectre HMBC, nous allons adopter la numérotation indiquée sur la structure. Les protons du groupement méthyle corrélerent avec le carbone C7 de la fonction carbonyle à δ=203,18 ppm et C1 (δ =105,99) un carbone quaternaire. Les protons du groupement méthoxy en position 4 présente une corrélation avec le carbone C2 (δ =162,89) alors que les protons portés par le groupement méthoxy en positions 6 corréle avec le carbone C4 (δ =166,07).

Le proton aromatique qui résonne vers 5,94 ppm porté par le carbone en position C3 (δ = 90,74) présente une tache de corrélation avec le carbone C4, le carbone C1 (δ =105,99) et une petite tache de corrélation avec le carbone C5 (δ =93,44), et l'autre proton aromatique porté par le carbone C5 (δ =93,44) présente une tache de corrélation avec les carbonnes C1 (δ= 105,99) et C3 (δ =90,74).

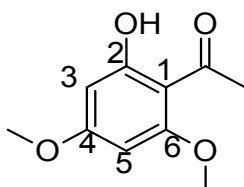


**Figure 2** : Résumé des travaux chromatographiques

La RMN  $^1\text{H}$  a montré deux hydrogènes aromatiques en position méta à  $\delta$  6,06 et 5,92 ( $\delta$ ,  $J=2,2$  Hz). En outre, le groupe acétophénone a été déduit du groupe méthyle à  $\delta =2,63$  et confirmé par RMN  $^{13}\text{C}$  spectre à  $\delta =32,97$  et en acétophénone carbonyle à  $\delta =203,18$ .

Les substituants supplémentaires du cycle aromatique ont été définis comme un groupement hydroxyle à  $\delta$  14.06 et deux méthoxyles observés à  $\delta$  3.87 ( $\delta$  55,57) et  $\delta$  3.84 ( $\delta$  55,57).

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  a montré des signaux correspondant à quatre atomes aromatiques quaternaires de carbone ( $\delta$  105,99 ; 167,59 ; 166,07 ; et 162,89 ) et deux CH aromatiques ( $\delta$  90,74 et 93,44). Ainsi, le composé (4) a été identifié comme la 2-hydroxy -4,6-diméthoxyacetophenone (xanthoxylin) [13].



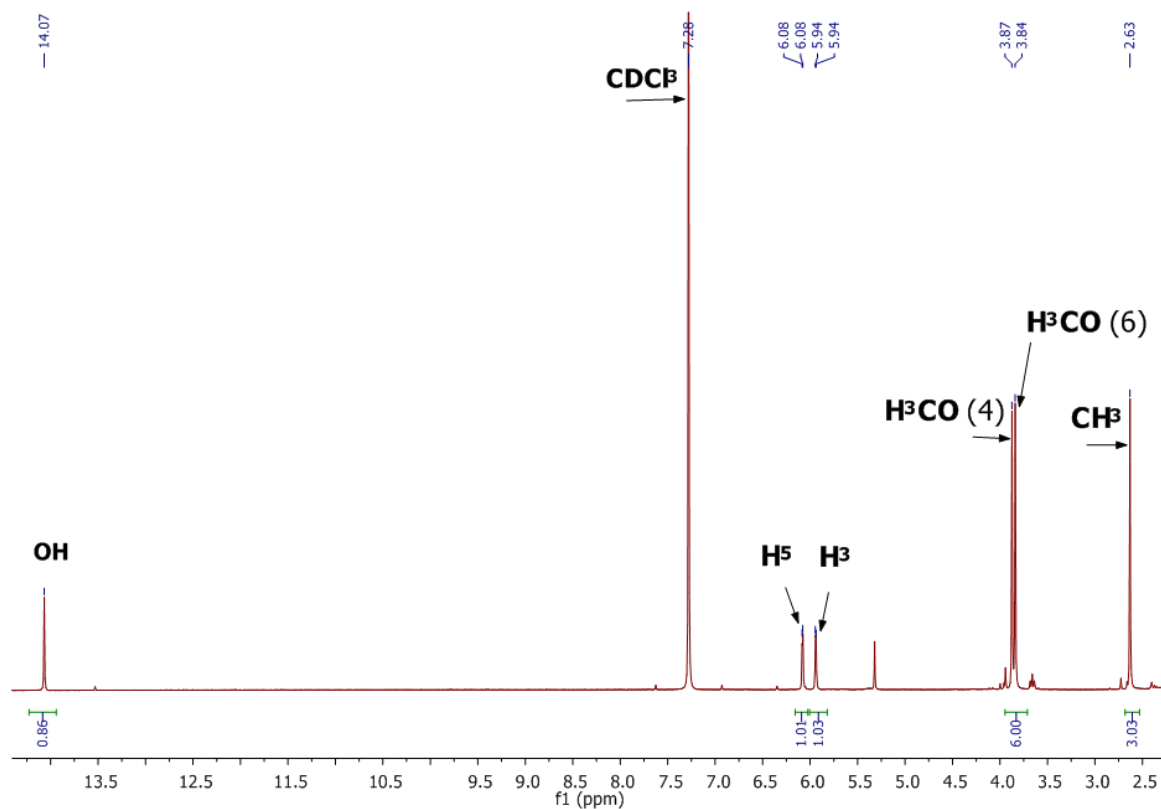
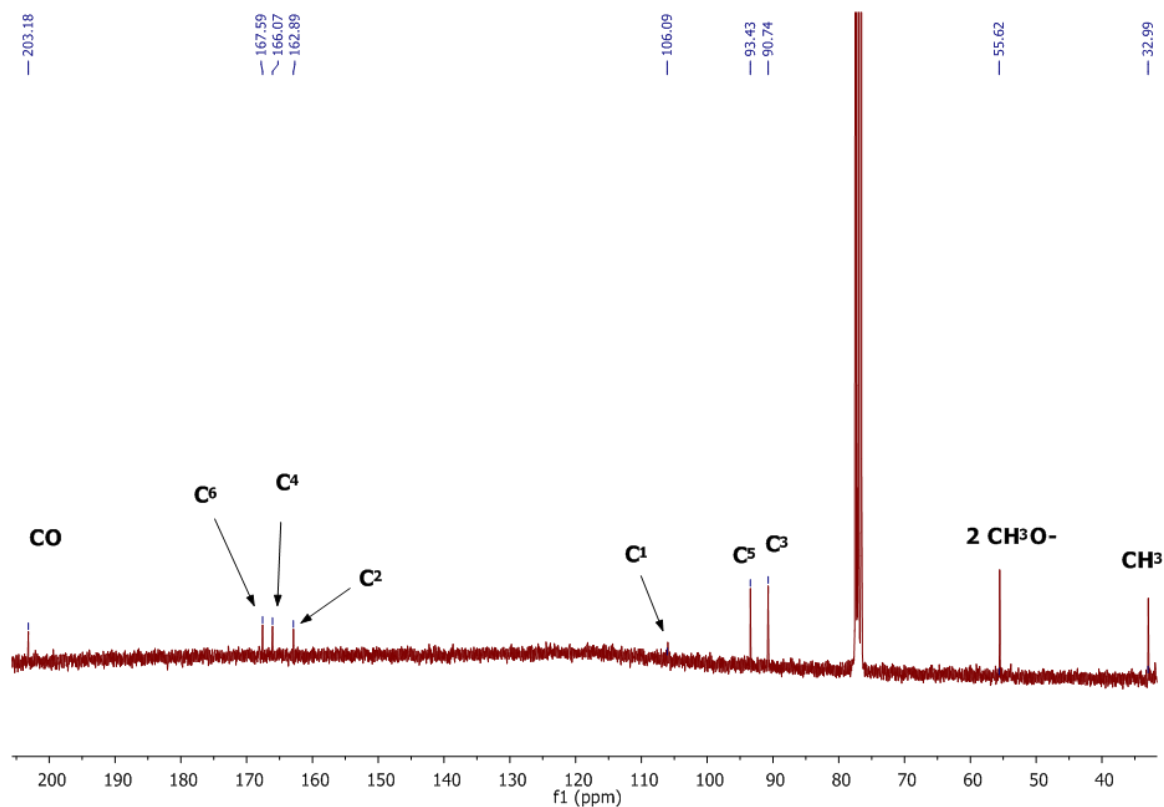
**Figure 3** : 2-hydroxy-4,6-diméthoxyacetophenone

**Tableau 2 :** Comparaison de données de **4** et celles de la littérature

| Position | $\delta H$              | $\delta C$ | $\delta H$ littérature  | $\delta C$ littérature |
|----------|-------------------------|------------|-------------------------|------------------------|
| Me(CO)Ar | 2,63                    | 32,97      | 2.61 [3H, s,]           | 32.9                   |
| 6-OMe    | 3,84                    | 55,57      | 3.81 (3H, s,)           | 55.6                   |
| 4-OMe    | 3,87                    | 55,57      | 3.85 (3H, s,)           | 55.6                   |
| 1        |                         | 105,99     |                         | 106                    |
| 2        |                         | 162,89     |                         | 162,9                  |
| 3        | 5,94 (1H, d, J=2.2 Hz,) | 90,74      | 5.92 (1H, d, J=2.4 Hz,) | 90.7                   |
| 4        |                         | 166,07     |                         | 166,11                 |
| 5        | 6,08 (1H, d, J=2.2Hz,)  | 93,44      | 6.06 (1H, d, J=2.4 Hz,) | 93.5                   |
| 6        |                         | 167,59     |                         | 167,6                  |
| 2-OH     | 14,06                   |            | 14.04 (1 H, S,)         |                        |
| CO       |                         | 203,18     |                         | 203,2                  |

**Tableau 3 :** Tableau RMN du composé **4**

| Position | $\delta H$              | $\delta C$ | HMBC       | COSY |
|----------|-------------------------|------------|------------|------|
| Me(CO)Ar | 2,63                    | 32,97      | C7, C1     |      |
| 6-OMe    | 3,84                    | 55,57      | C4         |      |
| 4-OMe    | 3,87                    | 55,57      | C2         |      |
| 1        |                         | 105,99     |            |      |
| 2        |                         | 162,89     |            |      |
| 3        | 5,94 (1H, d, J=2.2 Hz,) | 90,74      | C4, C1, C5 | H5   |
| 4        |                         | 166,07     |            |      |
| 5        | 6,08 (1H, d, J=2.2Hz,)  | 93,44      | C1, C3     | H3   |
| 6        |                         | 167,59     |            |      |
| 2-OH     | 14,06                   |            | C1, C4, C5 |      |
| CO       |                         | 203,18     |            |      |

Figure 4 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du composé 4Figure 5 : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  du composé 4

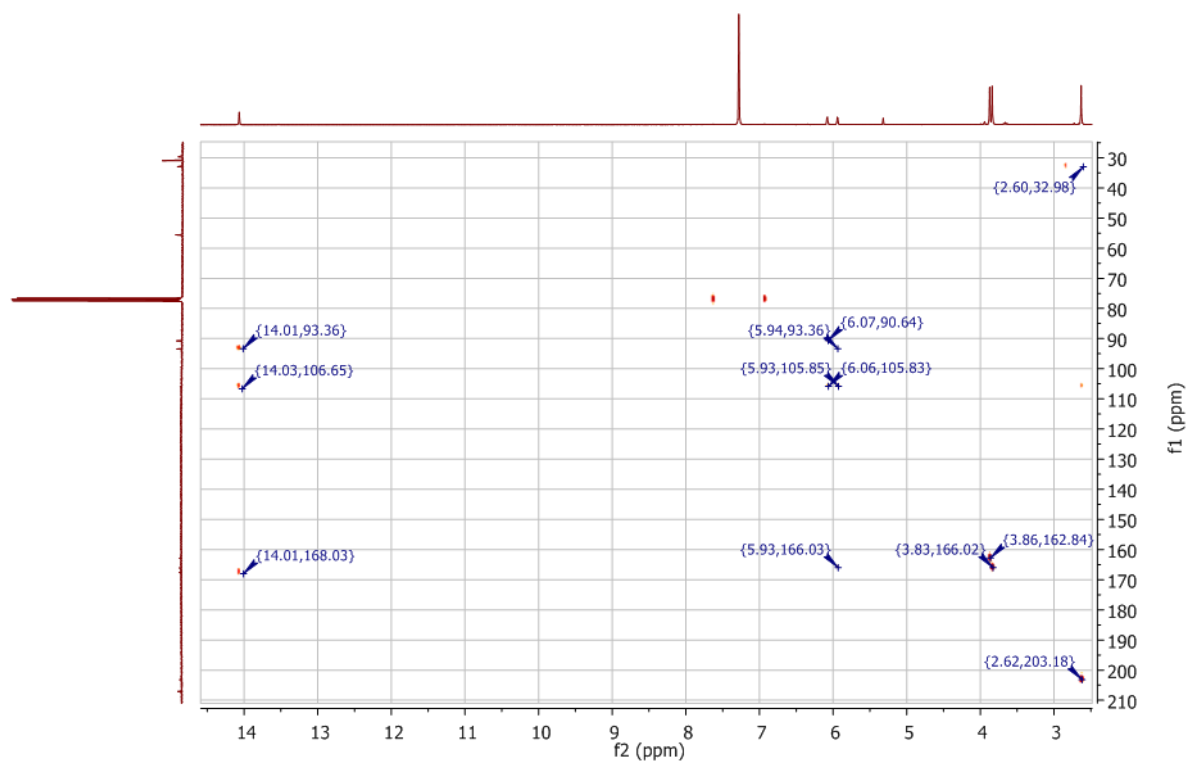


Figure 6 : Spectre RMN HMBC du composé 4

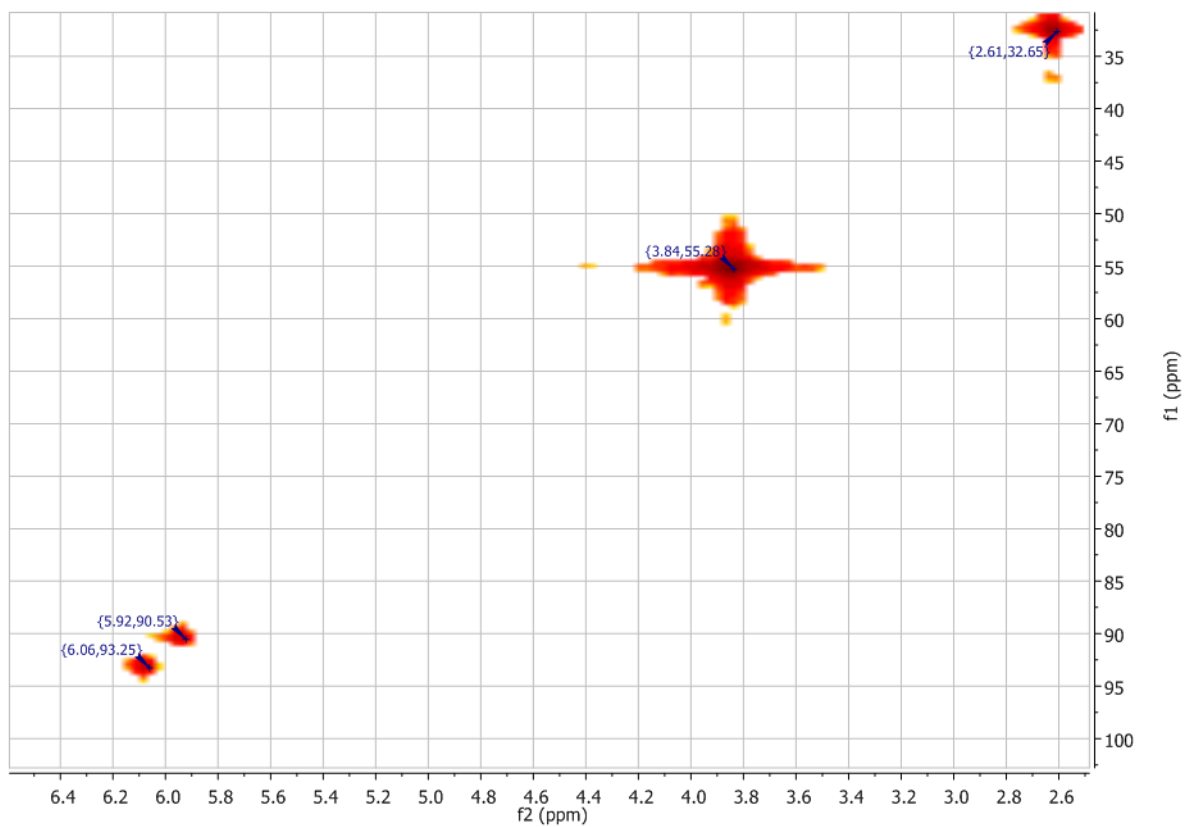


Figure 7 : Spectre RMN HMQC du composé 4



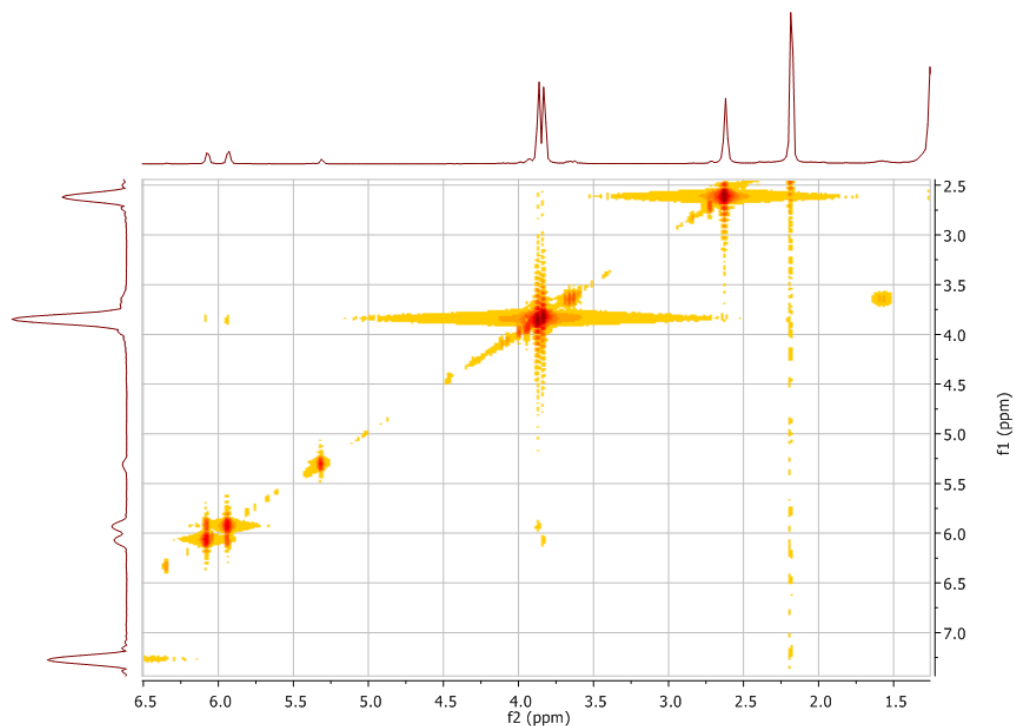
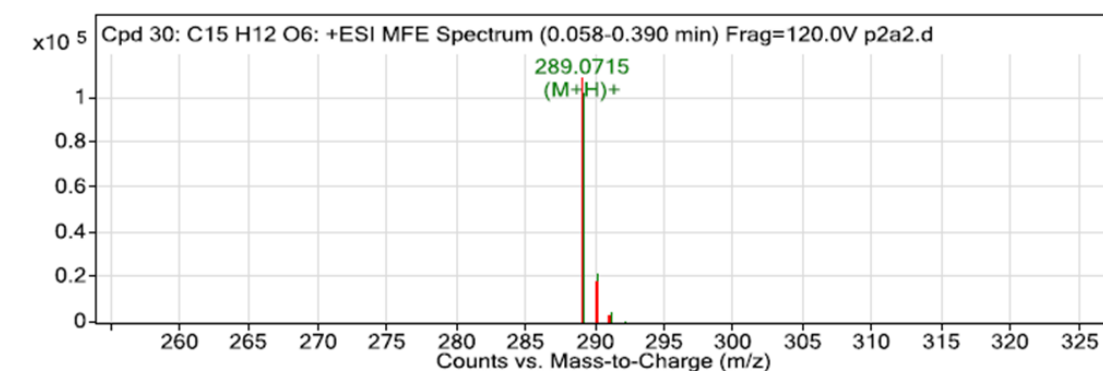


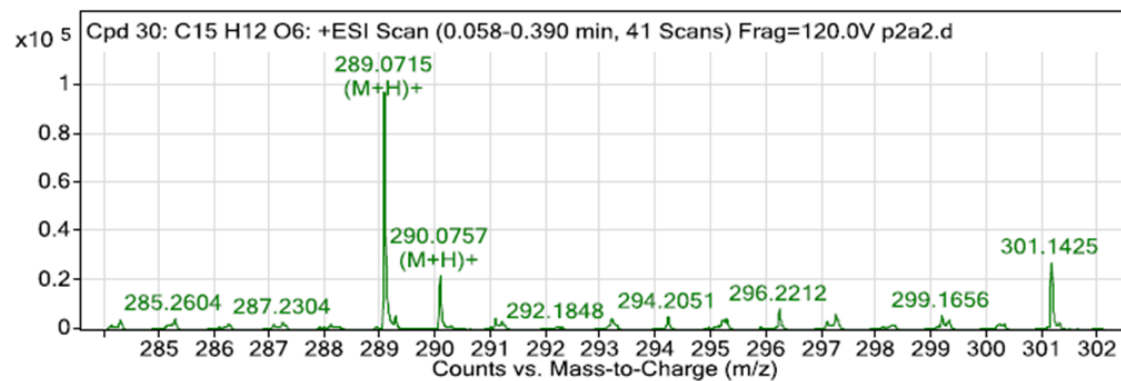
Figure 8 : Spectre RMN COSY du composé 4



MS Spectrum Peak List

| m/z      | z | Abund     | Ion    |
|----------|---|-----------|--------|
| 289.0715 | 1 | 102515.45 | (M+H)+ |
| 290.0757 | 1 | 21919.48  | (M+H)+ |
| 291.0815 | 1 | 5023.21   | (M+H)+ |
| 292.084  | 1 | 760.5     | (M+H)+ |

MS Spectrum



MS Zoomed Spectrum

Figure 9 : Spectrométrie de masse

### 3.3.2. Composé C5

#### Détermination de structure du composé 5

Le composé 5 se présente sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Ce composé réagit avec le réactif de Neu en affichant une fluorescence bleue sous UV à 365 nm laissant envisager une structure de type flavonoïde.

#### Spectrométrie de masse

Sur le spectre de masse en electrospray en mode positif (ESI.), nous observons un ion quasi moléculaire à  $m/z$  289  $[M+H]^+$  suggérant une masse atomique de 288. Le composé 5 possède la formule brute  $C_{15}H_{12}O_6$  RFT (figure III 5).

Le spectre RMN du proton du composé C-5 (enregistré à 300 MHz dans le méthanol deutéré) présente trois groupes de signaux caractéristiques des cycles **A**, **B** et **C** des flavonoïdes. L'intégration des signaux du spectre du proton indique que la structure possède 12 protons spectre RMN HMQC confirme cette constatation en indiquant la présence de :

- deux protons aromatiques couplé en méta à  $\delta$  5,94 (1H, d,  $J=1,8$  Hz, H-6),  $\delta$  5,90 (1H,d,  $J=1,9$  Hz, H-8) relatifs au cycle **A** substitué en positions 5 et 7.
- quatre protons aromatiques à 7,37 (2H, d,  $J=8,5$  Hz, H-2', H-6') et  $\delta$  6,85 (2H,d,  $J=8,5$ Hz, H-3', H-6'), formant un système du type A2X2 correspondant au cycle **B** substitué en position para.

Les protons du cycle C d'un flavonoïde sont visibles : nous observons la présence de deux protons correspondant à deux doublets  $\delta$  4,54 et  $\delta$  5,01 (motif AB) caractéristique de trans H2/H3 des protons vicinaux ( $J=11,3$ Hz) dans les dihydroflavonols [14].

Le spectre de RMN  $^{13}C$  du composé **C-5** présente douze signaux distincts correspondant aux signaux d'un flavonoïde. Parmi ceux-ci, nous distinguons sept carbones quaternaires dont un groupement carbonyle détecté vers un déplacement chimique de 197,10 ppm et le carbone 2 et 3 caractéristique d'un dihydroflavonols ( $\delta C$  72,21 et 83.55 ppm respectivement), et quatre CH aromatiques.

Les corrélations hétéronucléaires déduites du spectre HMQC sont récapitulées dans le tableau 6.

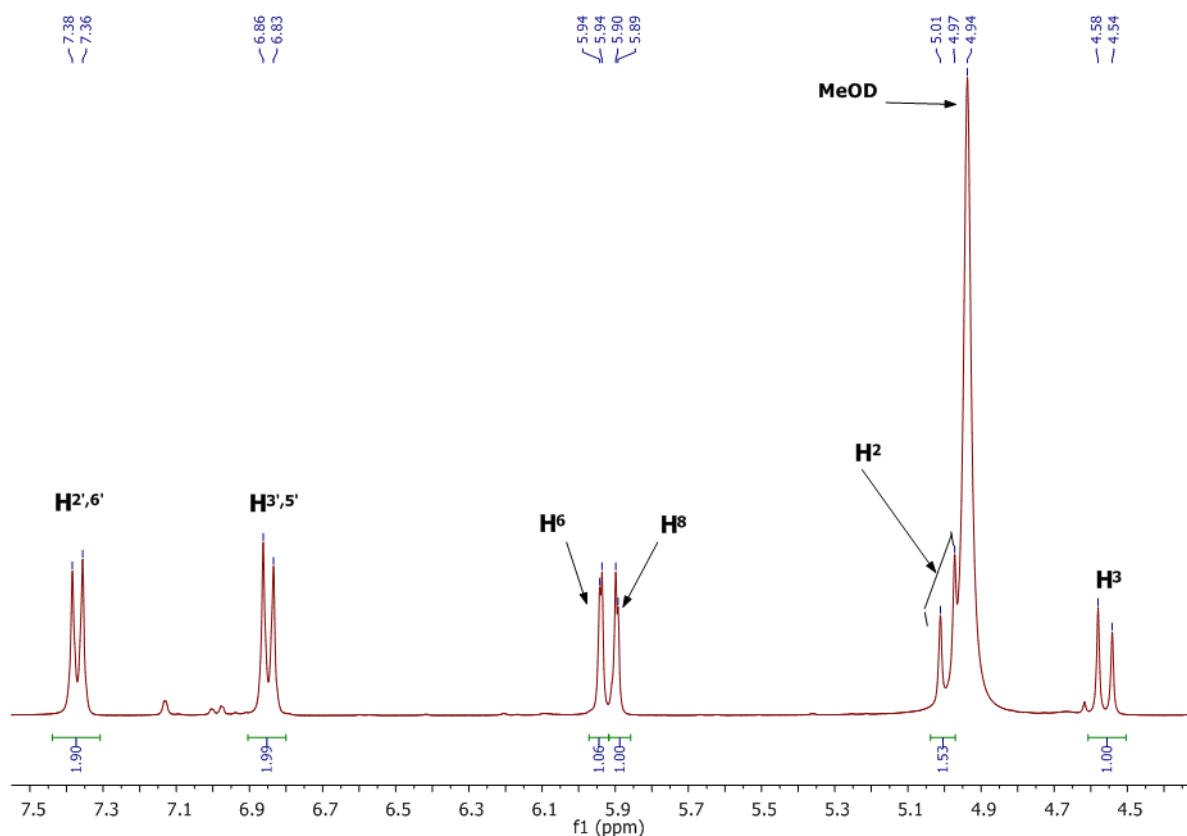


Figure 10 : Spectre RMN 1H du composé 5

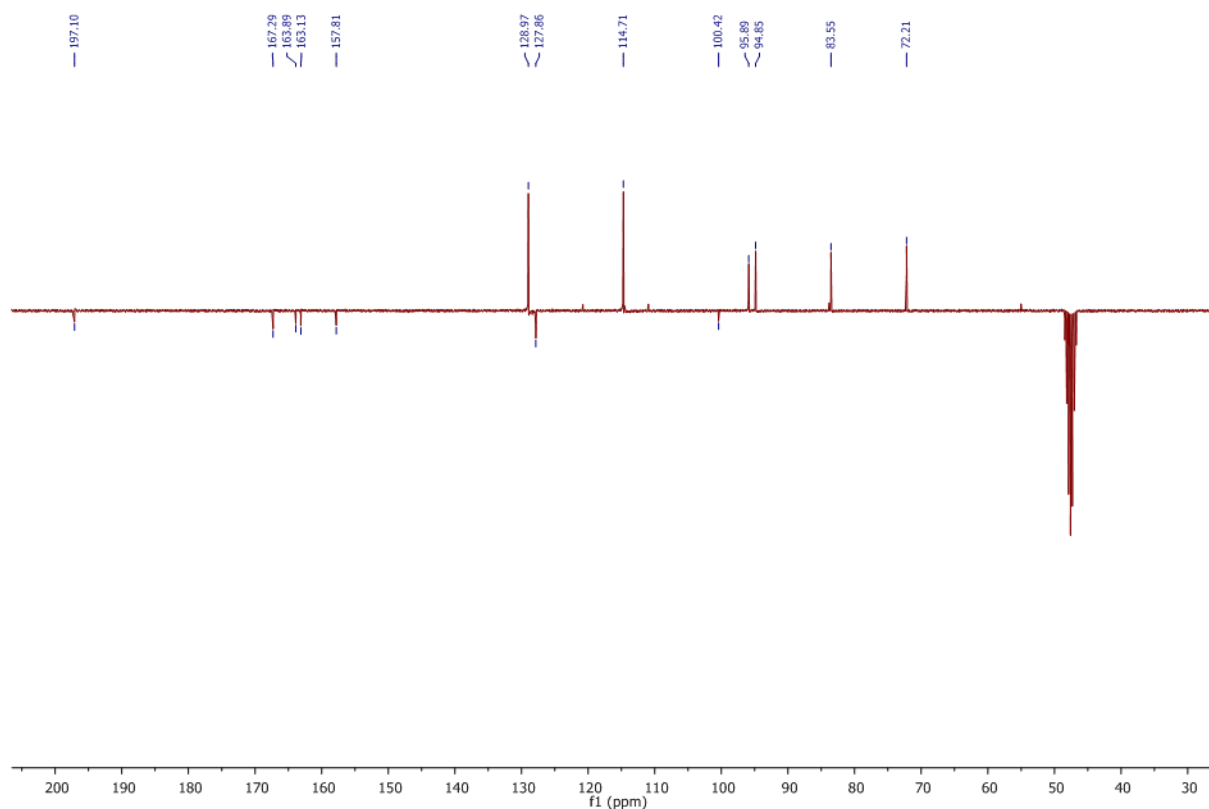


Figure11 : Spectre RMN 13C du composé 5

Tableau 4 : Tableau RMN du composé 5

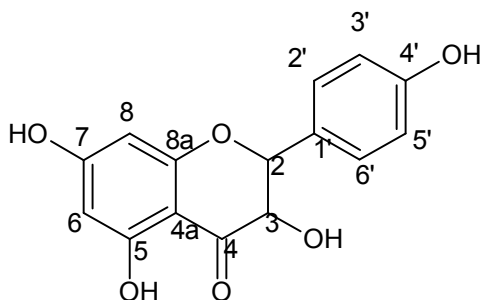
| Position | $\delta C$ | $\Delta h$            | HMBC                       | COSY            |
|----------|------------|-----------------------|----------------------------|-----------------|
| 2        | 83,55      | 5,06(1H,d,J=11,3Hz)   | C-1', C-4, C-3, C-2', C-6' | H-3, H-2', H-6' |
| 3        | 72,21      | 4,54(1H,d,J=11,3Hz)   | C-4, C-1', C-2             | H-2             |
| 4        | 197,10     |                       |                            |                 |
| 4a       | 100,42     |                       |                            |                 |
| 5        | 163,89     |                       |                            |                 |
| 6        | 95,98      | 5,94(1H,d, J=1,8Hz)   | C-7, C-5, C-4a, C-8        |                 |
| 7        | 167,29     |                       |                            |                 |
| 8        | 94,85      | 5,90 (1H,d, J= 1,9H)  | C-7, C-6, C-4a, C-8a       |                 |
| 8a       | 163,13     |                       |                            |                 |
| 1'       | 127,85     |                       |                            |                 |
| 2' et 6' | 128,97     | 7,37(2H, d, J=8,5 Hz) | C-2,C-3', C-5',C-4         | H-3', H-5'      |
| 3' et 5' | 114,71     | 6,85 (2H, d, J=8,5Hz) | C-2', C-6', C-1', C-4'     | H-2', H-6'      |
| 4'       | 157,81     |                       |                            |                 |

**Tableau 5:** Comparaison 4 et littérature

| Position | $\delta C$ | $\delta H$            | $\delta C$ littérature | $\delta H$ littérature |
|----------|------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| 2        | 83,55      | 5,06(1H,d,J=11,3Hz)   | 83,5                   | 5,27(1H,d, J=11,4)     |
| 3        | 72,21      | 4,54(1H,d,J=11,3Hz)   | 77,7                   | 4,95(1H,d,J=11,4)      |
| 4        | 197,10     |                       | 196,6                  |                        |
| 4a       | 100,42     |                       | 102,4                  |                        |
| 5        | 163,89     |                       | 165,6                  |                        |
| 6        | 95,89      | 5,94(1H,d, J=1,8Hz)   | 97,4                   | 5,91(1H,d, J=2Hz)      |
| 7        | 167,29     |                       | 169,1                  | 5,89 (1H, d, J= 2Hz)   |
| 8        | 94,85      | 5,90 (1H,d, J= 1,9H)  | 96,4                   |                        |
| 8a       | 163,13     |                       | 164,2                  |                        |
| 1'       | 127,85     |                       | 128,6                  |                        |
| 2' et 6' | 128,97     | 7,37(2H, d, J=8,5 Hz) | 130,6                  | 7,31 ( 2H,d, J=8,6)    |
| 3' et 5' | 114,71     | 6,85 (2H, d, J=8,5Hz) | 116                    | 6,78 ( 2H,d, J= 8,6)   |
| 4'       | 157,81     |                       | 159                    |                        |

Cette interprétation a été mise en parallèle avec celle de la littérature [15] afin d'évaluer les similitudes et de déterminer la structure (tableau 7).

Il est alors possible de dire que la molécule extraite est un dihydroflavonolaromadendrine.

**Figure 12 :** Aromadendrine

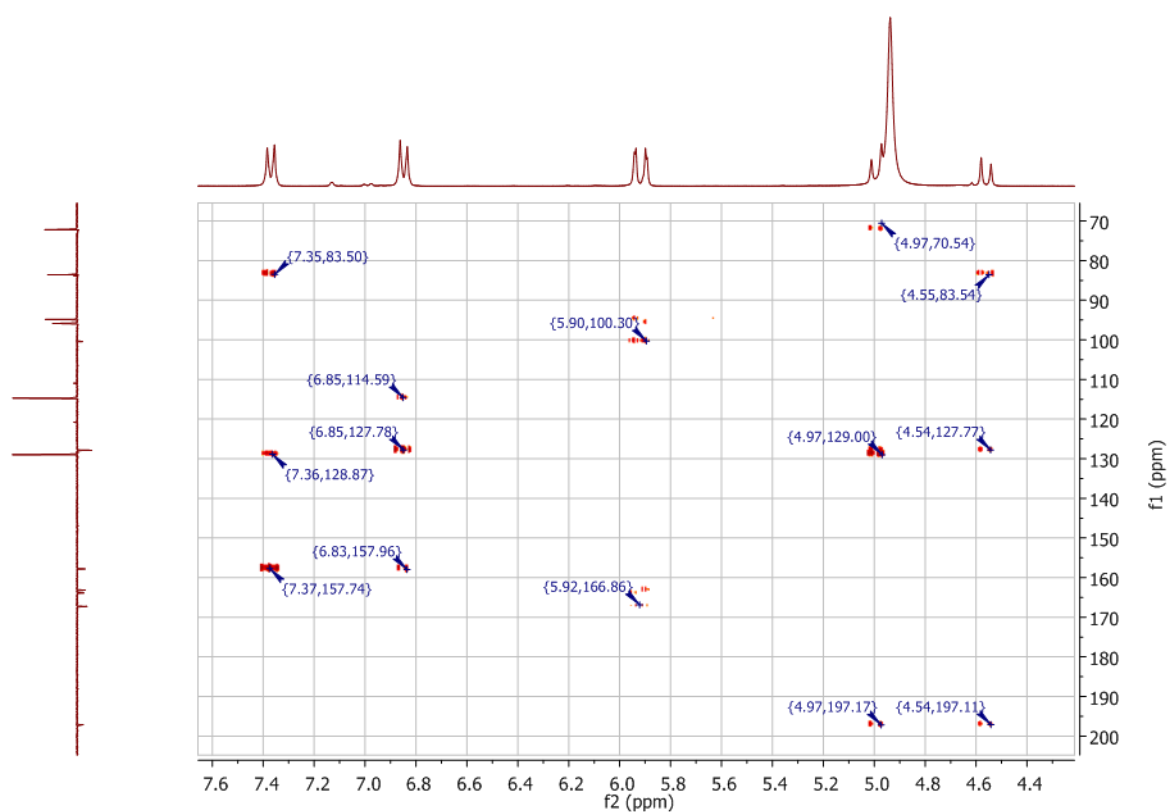


Figure 13 : Spectre RMN HMBC du composé 5

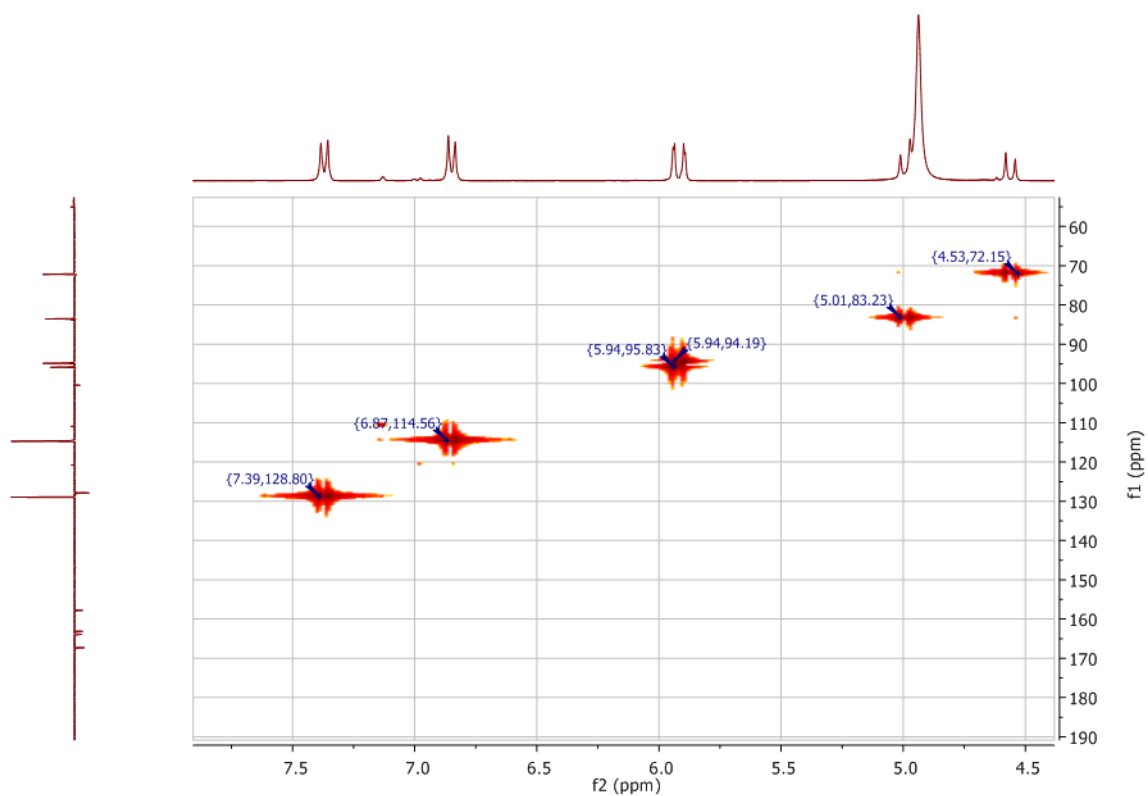


Figure 14 : Spectre RMN HMQC du composé 5

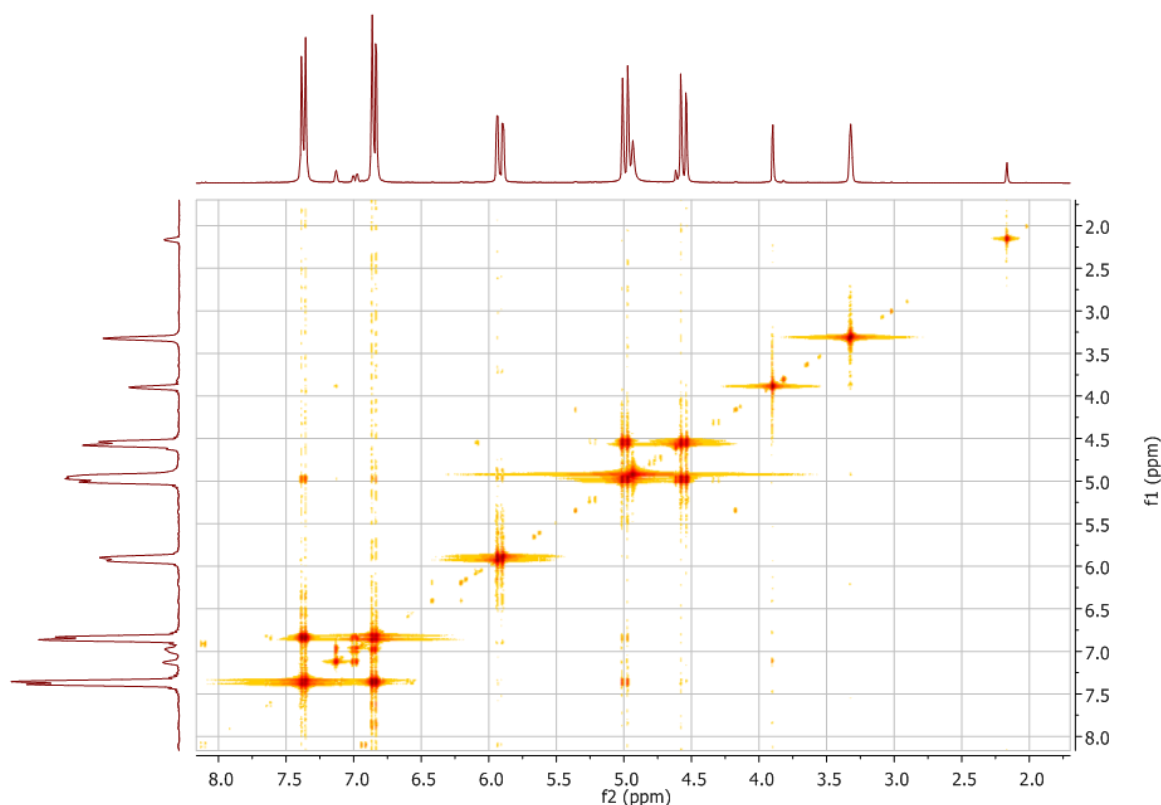


Figure 15 : Spectre RMN COSY du composé 5

#### 4. CONCLUSION

Ce travail entre dans le cadre de la recherche de nouveaux composés chimiques qui ont un intérêt thérapeutique ; notre objectif principal était la détermination structurale des substances isolées de plante mauritanienne *Pulicaria incisa*. L'investigation chimique de l'extrait des parties aériennes a abouti à l'isolement de deux composés de *Pulicaria incisa*. L'élucidation structurale de ces produits a été établie au moyen de méthodes spectrales : la spectrométrie de masse MS, la résonance magnétique nucléaire monodimensionnelle RMN-<sup>1</sup>H1D, RMN <sup>13</sup>C et bidimensionnelle 2D et par la comparaison avec les données de la littérature.

#### RÉFÉRENCES

- [1] J. Bellakhdar, La Pharmacopée marocaine traditionnelle traditionnelle, médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, (1977) 764 p.
- [2] J. Bellakhdar, Médecine traditionnelle et toxicologie Ouest-Sahariennes. Rabat, Editions Techniques Nord-Africaines, (1978) 365 p.
- [3] L. Boulos, Medicinal Plants of North Africa. Référence Publications, Algonac, Inc. Michigan, USA, (1983) 286 p.
- [4] T. El idrissi, Etude chimique et pharmacodynamique d'une Asclépiadacée marocaine, *Pergularia tomentosa*. Thèse Pharm., Univ. Grenoble, (1971) 117 p.
- [5] E. Bassene, Etude de la composition chimique du *Combretum micranthum* G. Don (Kinkéliba), Combretacées. Th. Doct. D'Etat es- sciences pharmaceutiques, Dakar, 13, (1985)
- [6] B.M. Daffé, Recherche sur la flore médicinale du Sénégal, *Antiaris africana* Engl., *Combretum micranthum* G. Don, *Combretum glutinosum* Perr. Th. Doct. D'Etat en Pharmacie, Univ. Bordeaux, France, 11, (1973).
- [7] D. Diabira, *Acacia nilotica* var. *adansonii* Guill. Et Perr, Mimosaceae, intérêt en thérapeutique traditionnelle. Thèse de Doctorat Pharm., Université de Dakar, Sénégal (1984).
- [8] D. Fortin, L.O. Modou, G. Maynard, Plantes médicinales du Sahel. 55 Monographies de plantes utiles pour les soins de santé primaires. CECI, Montréal, Québec / ENDA, Dakar, Sénégal, (1990) 279 p.
- [9] O. Ndir, J.L Pousset, Plantes médicinales africaines: mise au point d'un test in vitro pour vérifier l'action amebicide d'*Euphorbia hirta*. L. *Plantes Méd. et Phytoth.*, 15 (1981) 113.

- [10] G.E. Trease, W.C Evans, A Text Book of Pharmacognosy. ELBS/Bailliere Tindal,( Oxford, 1987).
- [11] E.A. Sofowora, Medicinal Plants and Traditional Medecine in Africa. Wiley, Chichester, 1982.
- [12] J.B. Harborne, I. Chapman, Phytochemical methods, New York, 1973.
- [13] W.B. Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*, 28 (1995) 25-30.
- [14] C. Richard, R.A. Cambie, S.P. Lal, D. Rutledge, W. Paul, *Phytochemistry*, 30 (1991) 287-292.
- [15] K.W. Hiroyoshi, L. Michihiko, K. Yinghua, W. Kazuo, Koike *Phytochemistry*, 71 (2010) 1925-1929.