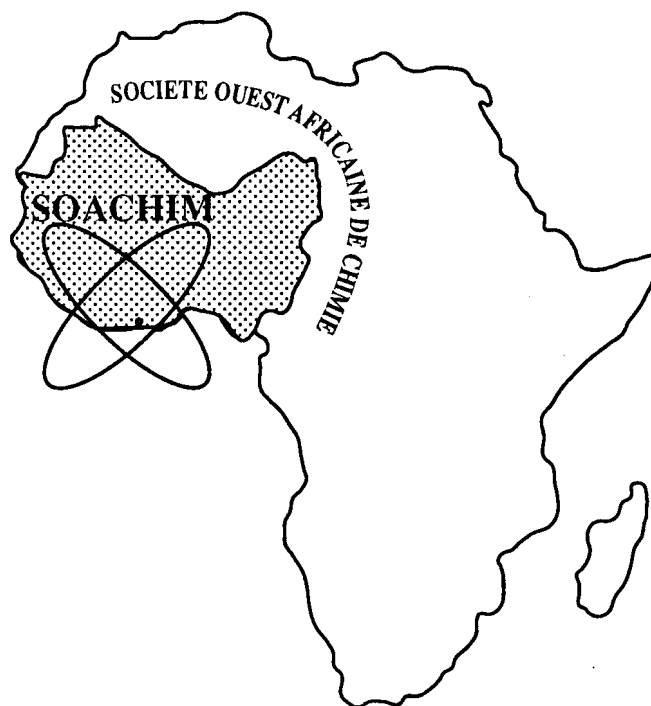


# *Identification par HPLC/MS des flavonoïdes majeurs et potentiel antiplasmodial des extraits de *Tridax procumbens* L. récolté au Burkina Faso.*

**Arouna Ganamé, Constantin M. Dabiré, Harouna Soré,  
Abdoulaye Yougoubo, Assetou Sawadogo, Moumouni Koala,  
Remy K. Bationo, Nebié C.H. Roger, Eloi Palé.**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*  
*J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2024), 053 : 1 - 13*  
29<sup>ème</sup> Année, 2024



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2  
Cote INIST (CNRS France) : <27680>  
Site Web: <http://www.soachim.org>  
<http://www.soachim.info>

## Identification par HPLC/MS des flavonoïdes majeurs et potentiel antiplasmodial des extraits de *Tridax procumbens* L. récolté au Burkina Faso.

Arouna Ganamé<sup>1\*</sup>, Constantin M. Dabiré<sup>1,2</sup>, Harouna Soré<sup>3</sup>, Abdoulaye Yougoubo<sup>1</sup>, Assetou Sawadogo<sup>4</sup>, Moumouni Koala<sup>1,5</sup>, Remy K. Bationo<sup>1,6</sup>, Nebié C.H. Roger<sup>6</sup>, Eloi Palé<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Organique et de Physique Appliquées (L.C.O.P.A.), Université Joseph KI-ZERBO, UFR/SEA, Département de Chimie 03 BP 7021 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie et Energies Renouvelables, Université Nazi BONI, 01 BP 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

<sup>3</sup>Centre National de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP), 01 BP 2208 Ouagadougou 01 Burkina Faso.

<sup>4</sup>Laboratoire de Recherche et d'Enseignement en Santé et Biotechnologie Animale, Université Nazi BONI, 01 BP 1091 Bobo 01, Burkina Faso.

<sup>5</sup>Institut de Recherche en Sciences de la Santé, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (IRSS/CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>6</sup>CNRST/IRSAT, Département Substances Naturelles, 03 BP 7047 Ouagadougou 03 Burkina Faso.

(Reçu le 19/11/2023– Accepté après corrections le 07/08/2024)

**Résumé :** *Tridax procumbens* est une plante répandue au Burkina Faso et beaucoup utilisée en médecine traditionnelle par les populations locales pour traiter le paludisme. Le présent travail est une contribution à une meilleure connaissance de cette plante comme source de composés bioactifs présentant des propriétés antiplasmodiales. Après un screening phytochimique, le potentiel antiplasmodial des extraits à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol de cette plante a été évalué sur les souches chloroquino-sensibles (3D7, D10) et chloroquino-résistante (Dd2) de *Plasmodium falciparum*. Les flavonoïdes majeurs ont été identifiés par HPLC/MS. Les résultats obtenus indiquent que cette plante renferme des flavonoïdes, des tanins, des caroténoïdes, des saponines et des alcaloïdes à des teneurs variables selon le type d'extrait préparé. Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont présenté une activité antiplasmodiale modérée sur la souche 3D7 et une faible activité antiplasmodiale sur la souche D10 ainsi que sur la Dd2. Les flavonoïdes majoritaires identifiés par HPLC/MS dans l'extrait au dichlorométhane étaient la catéchine 3-O-phénylgallate, le 4'-phénylcatéchine 3-O-gallate, la quercétine 7-méthyl-3-O-épigallocatechine tandis que la quercétine 7-méthyl-3-O-sinapate, la quercétine 7-méthyl-3-O-arabino-galactose ont été retrouvés dans l'extrait à l'acétate d'éthyle. Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle de *Tridax procumbens* contiennent des composés bioactifs et peuvent être utilisés dans la formulation de nouveaux antipaludéens.

**Mots clés :** *Tridax procumbens*, Flavonoïdes, HPLC-MS, Activité antiplasmodiale.

## Identification by HPLC/MS of major flavonoids and antiplasmodial potential of extracts of *Tridax procumbens* L. collected in Burkina Faso.

**Abstract:** *Tridax procumbens* is a plant widespread in Burkina Faso and widely used in traditional medicine by local populations to treat malaria. The present work is a contribution to a better knowledge of this plant as a source of bioactive compounds with antiplasmodial properties. After a phytochemical screening, the antiplasmodial potential of the hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol extracts of this plant was evaluated on chloroquine-sensitive (3D7, D10) and chloroquine-resistant (Dd2) of *Plasmodium falciparum*. The major flavonoids were characterized by HPLC/MS. The results obtained indicate that this plant contains flavonoids, tannins, carotenoids, saponins and alkaloids at varying levels depending on the type of extract prepared. The dichloromethane and ethyl acetate extracts showed moderate antiplasmodial activity on strain 3D7 and weak antiplasmodial activity on strain D10 as well as Dd2. The major flavonoids identified by HPLC/MS in the dichloromethane extract were catechin 3-O-phenylgallate, 4'-phenylcatechin 3-O-gallate, quercetin 7-methyl-3-O-epigallocatechin while quercetin 7-methyl-3-O-sinapate, quercetin 7-methyl-3-O-arabino-galactose were found in the ethyl acetate extract. Dichloromethane and ethyl acetate extract of *Tridax procumbens* contain bioactive compounds and can be used to formulate new antimalarials.

**Key words:** *Tridax procumbens*, Flavonoids, HPLC-MS, Antiplasmodial activity.

---

\* Auteur de correspondance : [arouna.ganame@ujkz.bf](mailto:arouna.ganame@ujkz.bf)

## 1. Introduction

Le paludisme est une maladie parasitaire qui touche non seulement la santé de milliards d'individus à travers le monde mais affecte également le développement des pays pauvres où il sévit de manière endémique [1]. Le coût global d'un accès palustre à *Plasmodium falciparum* est estimé à environ la rémunération de 21 jours de travail en moyenne d'une personne dans la plupart des zones d'endémie [1]. Plusieurs moyens de lutte sont engagés dans la lutte contre le paludisme. *Plasmodium falciparum* est aujourd'hui résistant à de nombreux antipaludiques utilisés, même aux plus récents tels que les associations à base d'artémisinine [2][3].

La tendance actuelle est la recherche de fractions riches en composés bioactifs, notamment les alcaloïdes et les composés phénoliques, dont les flavonoïdes, ayant une activité antiplasmodiale. De nouvelles molécules issues des fractions actives de plantes locales pourraient faire l'objet d'une identification afin de disponibiliser de nouvelles molécules antipaludiques efficaces. Des études ethnobotaniques révèlent que *Tridax procumbens* est cité parmi les plantes potentielles à activité antiplasmodiale [4] [5][6] [7]. Les travaux de Appiah-Opong et al., sur les feuilles de *Tridax procumbens* récoltées au Ghana, ont révélé que les extraits aqueux et éthanolique ont présenté une bonne activité antiplasmodiale [8] contre la souche chloroquino résistante Dd2. L'activité antiplasmodiale des extraits au dichlorométhane des feuilles de cette même plante récoltées en Afrique du Sud a été également rapportée par Claskson et al., [9]. Selon Ikewuchi, *Tridax procumbens* contient de la nitidine, un alcaloïde reconnu pour ses vertus anti-malariales [10].

Cependant, à notre connaissance, peu de travaux ont été consacrés à l'identification des flavonoïdes ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antiplasmodiale sur les souches chloroquino sensibles 3D7 et D10 des extraits à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol de *Tridax procumbens* récolté au Burkina Faso.

Le présent travail est une contribution à une meilleure connaissance de cette plante comme source de composés bioactifs présentant des propriétés antiplasmodiales ; il s'agira, après un screening phytochimique, de doser quelques métabolites secondaires d'intérêt, notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes et les alcaloïdes totaux, d'évaluer le potentiel antiplasmodial et d'identifier les flavonoïdes majeurs des extraits organiques de *Tridax procumbens* récolté au Burkina Faso.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Tridax procumbens* récoltées en Octobre 2020 à Ouagadougou, au Burkina Faso. Après la récolte les feuilles ont été lavées, séchées puis réduites en poudre. Une masse de 100 g de la poudre végétale a subi une extraction par macération avec un volume de 3 x 300 mL successivement à l'hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol. Les extraits ont été évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif et conservés au congélateur à 4 °C.

#### 2.1.2 Matériel biologique

Les souches 3D7 (chloroquino sensible), D10 (chloroquino sensible) et Dd2 (chloroquino résistante) du *Plasmodium falciparum* ont été utilisées dans cette étude. Les souches ont été cultivées dans des milieux adéquats (Albumax II 1% dans du Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) et du gaz mixte (2% de O<sub>2</sub>, 5% de CO<sub>2</sub> et 93% de N<sub>2</sub>) au laboratoire de pharmacognosie du Centre Nationale de Recherche et de Formation sur le Paludisme (CNRFP) de Ouagadougou au Burkina Faso. La détermination de la densité parasitaire ainsi que la vérification de l'état des cultures s'effectuent à travers des frottis sanguins confectionnés, colorés au Giemsa puis lues à l'aide d'un microscope.

### 2.2. Méthodes

#### 2.2.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique des extraits a été réalisé en utilisant des plaques chromatographiques (F<sub>254</sub>, support-aluminium, 20×20, Fluka-Silica /gel de silice 60) et suivant les méthodes décrites dans la littérature [11][12]. Les groupes de composés recherchés étaient les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes et les caroténoïdes. Selon le type de métabolites secondaires recherchés, un réactif spécifique et un système de solvants appropriés ont été utilisés [13][14].

#### 2.2.2. Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été évaluée suivant la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et décrite par Singleton et al., [13]. A un volume de 60 µL de chaque extrait convenablement dilué, 60 µL du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) sont ajoutés. Le mélange est incubé à la température ambiante pendant 8 min. Ensuite, un volume de 120 µL de la solution de

carbonate de sodium à 7,5% est additionné au mélange réactionnel. Les absorbances ont été déterminées à 760 nm, après 30 min d'une nouvelle incubation à la température de 37°C.

Les teneurs en composés phénoliques totaux ont été déterminées en rapportant les absorbances à l'équation de la courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) [15].

### **2.2.3. Evaluation des teneurs en flavonoïdes totaux**

La méthode décrite par Woisky et Salatino a été utilisée pour estimer les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits [15].

A un volume de 120 µL de chaque extrait convenablement dilué, 120 µL d'une solution de  $AlCl_3$  à 2 % dans l'éthanol sont ajoutés. L'absorbance a été mesurée à 420 nm après 1 h d'incubation à la température ambiante. Les teneurs en flavonoïdes totaux ont été calculées en rapportant les absorbances lues sur l'équation de la courbe de calibrage de la quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ / g d'extrait).

### **2.2.4. Evaluation des teneurs en alcaloïdes totaux**

La méthode décrite par Manjunath Ajanal et al., a été utilisée pour déterminer la teneur en alcaloïdes totaux [16]. Les différents extraits sont dissous dans le méthanol acidifié (HCl, 2 N) à la concentration de 40 mg/mL. Un volume d'un mL de chaque solution préparée est prélevé puis filtré. Le pH est ajusté au neutre avec du NaOH 0,1 N. Le filtrat neutre est introduit dans une ampoule à décanter puis additionner 5 mL de vert de bromocrésol à la concentration de 69,8 mg/L et 5 mL de tampon de phosphate à 2 M. Après agitation, un volume total de 10 mL d'extrait chloroformique est obtenu suite à une extraction par épuisement successif avec 1, 2, 3 et 4 mL de chloroforme. L'absorbance des extraits est mesurée à 470 nm. La quinine a été utilisée comme standard pour tracer une courbe d'étalonnage. Les teneurs en alcaloïdes totaux sont calculées en rapportant les absorbances lues sur l'équation de la courbe d'étalonnage de la quinine et exprimées en microgrammes d'équivalent de quinine par gramme d'extrait (µg Eq/g).

### **2.2.5. Evaluation des teneurs en antioxydants**

La méthode utilisant le radical DPPH• et décrite par Brand-Williams et al., a été suivie pour la

détermination des teneurs en antioxydants totaux des extraits [17].

A 50 µL de chaque solution convenablement diluée des différents extraits, un volume de 200 µL de la solution méthanolique de DPPH• de concentration  $4 \cdot 10^{-2}$  mg/ mL sont ajoutés. Les absorbances sont mesurées à 510 nm, après 10 min d'incubation à la température ambiante. Les teneurs en antioxydants sont calculées en rapportant les absorbances lues sur l'équation de la courbe d'étalonnage du trolox et les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de trolox par gramme d'extrait (mg ET/g).

### **2.2.6. Evaluation de l'activité antiplasmodiale**

L'activité antiplasmodiale des extraits et de la référence a été évaluée suivant la méthode décrite par Olivier Jensen et al., et Willcox et al. [18][19].

Les extraits sont mis en solution puis convenablement dilués avec le milieu de culture complet (MCC) de 50 µg/mL à 0,78 µg/mL. Un volume de 100 µL de chaque solution à différentes concentrations est introduit dans les puits de la microplaque de 96 puits puis 100 µL de sang parasité à la parasitémie de 2 % sont ajoutés dans les différents puits. Chaque extrait est testé en triplicata. Un témoin positif composé d'hématies parasitées ne contenant pas d'extrait et un témoin négatif composé d'hématies saines ne contenant pas d'extrait ont également été préparés.

Les plaques sont incubées dans une chambre (la jarre) à 37°C et alimentée d'un gaz mixte  $CO_2$  à 5 % pendant 72 heures.

Après les 72 h d'incubation, une nouvelle plaque est préparée en introduisant des volumes de 100 µL de la solution de MALSAT (Triton X100 + L-Lactato + Trizma base), 20 µL de la solution de NTB/PES (Nitrotetrazolium Blue Chloride / Phenazine ethosulfate) et 25 µL de la contenance (sang parasité et les extraits) de chaque puits bien homogénéisé de la plaque précédente. Le nouveau mélange est incubé pendant 10 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière. Les absorbances sont lues à l'aide du spectrophotomètre de type ELx808-BIOTEX [18][19].

Les résultats sont exprimés en Concentration Inhibitrice de 50 % (en anglais  $IC_{50}$ ) de la prolifération des parasites à l'aide du logiciel Table Curve 2D Jandel Scientific version 3.0.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antiplasmodiale sont obtenus en rapportant les  $IC_{50}$  dans le tableau de classification de Willcox M et al., [20].

### **2.2.7. Evaluation de l'activité hémolytique**

L'évaluation de l'activité hémolytique *in vitro* est réalisée suivant la méthode décrite par Olivier Jensen et al., [18]. Un volume de 5 mL de sang conservé dans un bain de glace est lavé avec la solution tampon Phosphate Buffer Saline (PBS) à un pH de 7,4 puis centrifugé pendant 15 minutes à 2200 tr/min à la température de 4 °C. Après le lavage à deux reprises, la densité optique est ajustée à 1,5 à la longueur d'onde de 550 nm et les globules rouges sont dilués à 10 % (V/V) dans le PBS à la température de 25 °C.

Une analyse préliminaire de la viabilité des hématies est réalisée en introduisant 10 µL de PBS dans un cryotube A et 10 µL de triton X-100 à 20 % (V/V) dans l'eau distillée dans un cryotube B. Un volume de 190 µL de globules rouges est additionné dans chaque cryotube.

L'ensemble est centrifugé pendant 5 minutes à 2200 tr/min. Le cryotube contenant A ne présente pas de culot. Par contre le cryotube B présente un culot au fond.

Le premier cryotube A est le témoin négatif et le deuxième cryotube B est le témoin positif.

L'analyse de l'activité hémolytique des extraits a été faite à partir d'une solution mère de chaque extrait dissout dans le solvant adéquat (RPMI) à des concentrations de 100 µg / mL et 50 µg / mL. Un volume de 10 µL de la solution mère aux deux différentes concentrations est placé, chacun dans un cryotube puis complété à 200 µL avec une solution de globules rouges à 10 %. Après 1 heure d'incubation à la température ambiante, les mélanges sont centrifugés pendant 5 minutes à 2200 tr/min. un volume de 150 µL du surnageant est prélevé puis placé dans un puits de la plaque de lecture à 96 puits et la lecture des absorbances est faite à 550 nm à l'aide du spectrophotomètre ELx808-BIOTEX [18]. Le taux d'hémolyse est calculé suivant la formule :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{A(\text{échantillon testé}) - A(\text{témoin négatif})}{A(\text{témoin positif}) - A(\text{témoin négatif})}$$

A est l'absorbance lue à 550 nm.

### 3. Identification des flavonoïdes majeurs par HPLC/MS

L'identification des flavonoïdes a été réalisée par chromatographe liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS). Le chromatographe est de type HP-1200 équipé d'une pompe quaternaire, d'un échantillonneur automatique, d'un détecteur DAD et d'un détecteur API- électrospray quadripolaire MS-6110. Le mode d'ionisation positive a été appliqué pour détecter les composés phénoliques. La colonne utilisée est de type Kinetex XB-C18 (5 µm ; 4,5 x 150 mm i.d.) de Phenomenex, USA.

La phase mobile était constituée de deux types de solution nommée A et B. La solution A est de l'eau acidifiée par de l'acide formique à 0,1 % et la solution B est de l'acétonitrile acidifié par de l'acide formique à 0,1 %. Le mode gradient linéaire allant de 5 % à 90 % de la solution B a été utilisé. L'élution a commencé avec 5 % de la solution B pendant 2 minutes ; puis varier de 5 % à 90 % au cours des 18 minutes suivantes, puis maintenue à 90 % pendant 4 minutes. La proportion de la solution B est à nouveau variée pour ramener à 5 % durant 6 minutes. Le temps total d'analyse était de 30 min, le débit était de 0,5 mL/min et la température du four était de 25 ± 0,5 °C.

La détection par spectrométrie de masse des ions chargés positivement, a été effectuée en utilisant le mode Scan. Les conditions expérimentales d'analyse appliquées étaient :

- La température du gaz (azote) était égale 350 °C avec un débit de 7 L/min,
- La pression du nébuliseur 35 Psi (Pound per Square inch) soit 2,413 bars, et la tension du capillaire était égale à 300 V,
- Les fragmenteurs avaient une tension de 100 V et les rapports masse sur charge des ions (m/z) ont été enregistrés entre 120 -1500.

Les chromatogrammes ont été enregistrés aux longueurs d'onde  $\lambda = 280 \text{ nm}$ , et  $\lambda = 350 \text{ nm}$  et l'acquisition des données a été effectuée avec le logiciel Agilent ChemStation.

L'acétonitrile, gradient HPLC, a été fourni par Merck (Allemagne) et l'eau a été purifiée avec un système UV Direct-Q de Millipore (USA).

## 4. Résultats et discussion

### 4.1. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique sont consignés dans le tableau 1. Les groupes de composés mis en évidence dans les extraits étudiés sont les caroténoïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines et les alcaloïdes.

Après l'élution suivie de la révélation avec des réactifs spécifiques, des fluorescences jaune, orange, jaune-orangé, verte, bleu, violette et rouge sont observées à UV-366 nm ou au visible.

Les alcaloïdes, les tanins, caroténoïdes et les saponines sont présents dans tous les extraits, excepté l'extrait hexanique. Les flavonoïdes sont uniquement présents dans l'extrait méthanolique. Ces résultats corroborent ceux rapportés par Edeoga et al. qui avait déjà montré la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponosides et des tannins dans les extraits aqueux des feuilles de *Tridax procumbens* [21] [22].

**4.2. Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux, alcaloïdes totaux et antioxydants.**

**- Teneurs en composés phénoliques**

Les teneurs en composés phénoliques totaux de l'ensemble des extraits varient de 4,45 à 31,56 mg EAG/ g d'extrait (Tableau 2).

L'extrait à l'acétate d'éthyle renferme la meilleure teneur en composés phénoliques totaux avec une teneur de 31,56 mg EAG/ g d'extrait, suivi de l'extrait au méthanol avec une teneur de 29,06 mg EAG/ g d'extrait.

Selon Edeoga et al., les feuilles de *Tridax procumbens* contiennent en moyenne 0,06 % de composés phénoliques [22]. La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait à l'acétate d'éthyle reste faible par rapport à celle obtenue par Edeoga et al. En outre Hamia Chahrazed et al. ont montré dans leurs travaux portés sur les fleurs et les tiges de *Rhanterium adpressium* que les extraits à l'acétate d'éthyle renfermaient les plus fortes teneurs en composés phénoliques totaux allant de 7,33 à 10,50 mg EAG/ g de matière sèche [23]. Les résultats de nos travaux ont montré également que l'extrait à l'acétate d'éthyle renferme la plus forte teneur en composés phénoliques avec une teneur encore plus

élevée que celle rapportée antérieurement.

**- Teneurs en flavonoïdes totaux**

Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits sont comprises entre 0,75 et 33,05 mg EQ/ g (Tableau 2). L'extrait à l'acétate d'éthyle enregistre la plus forte teneur en flavonoïdes totaux avec une valeur de 33,05 mg EQ/ g d'extrait, suivi de l'extrait au méthanol avec une teneur de 18,94 mg EQ/ g.

Les travaux de Yougoubo Abdoulaye et al. et Hamia Chahrazed et al. ont montré que les extraits à l'acétate d'éthyle renfermaient les meilleures teneurs en flavonoïdes totaux, respectivement de 348,34 mg EQ/g extrait pour les feuilles de *G. maderaspatana* et 3,25 mg EQ/ g de matière sèche pour les tiges de *Rhanterium adpressium* [24] [23]. Ces résultats sont en accord avec ceux de notre travail qui indique que c'était l'extrait à l'acétate d'éthyle qui renfermait la meilleure teneur en flavonoïdes totaux. Les teneurs en flavonoïdes totaux obtenus avec *T. procumbens* sont faibles comparativement aux résultats des travaux de Yougoubo mais restent plus élevées que celles de Hamia Chahrazed. Les travaux de Edeoga et al., réalisés sur les feuilles de *Tridax procumbens*, ont montré également la présence de flavonoïdes dans les feuilles de la plante avec une teneur totale de 6,1 mg /g dans les extraits aqueux [21].

**Tableau 1 :** groupes chimiques mis en évidence par CCM dans différents extraits.

Plantes	Extraits	Groupes chimiques mis en évidence				
		Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins	Saponines	Caroténoïdes
<i>Tridax procumbens</i>	Hexane	-	-	-	-	-
	Dichlorométhane	-	+	+	+	+
	Acétate d'éthyle	-	+	+	+	+
	Méthanol	+	+	+	+	+

**Légende :** - absence ; + présence

**Tableau 2 :** Teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux, alcaloïdes totaux et antioxydants totaux dans les extraits de *Tridax procumbens*.

Extraits de <i>Tridax procumbens</i>	TCPT (mg EAG/ g extrait)	TFT (mg EQ/ g extrait)	TAT (µg Eq/ g extrait)	TAO (mg ET/ g extrait)
<b>Hexane</b>	4,45 ± 1,42	0,75 ± 0,28	11,72 ± 1,64	1,08 ± 0,11
<b>Dichlorométhane</b>	7,2 ± 0,94	13,05 ± 0,83	65,15 ± 4,25	8,21 ± 1,94
<b>Acétate d'éthyle</b>	31,56 ± 2,21	33,05 ± 0,91	194,42 ± 5,72	13,23 ± 0,54
<b>Méthanol</b>	29,06 ± 0,93	18,94 ± 0,50	17,99 ± 0,52	129,06 ± 6,34

**Légende :** TCPT : teneur en composés phénoliques totaux ; TFT : teneur en flavonoïdes totaux ; TAT : teneur en alcaloïdes totaux ; TAO : teneur en antioxydants

**- Teneurs en alcaloïdes totaux**

Les résultats de l'évaluation des teneurs en alcaloïdes totaux des extraits sont consignés dans le tableau 2.

L'extrait à l'acétate d'éthyle renferme la plus grande teneur en alcaloïdes totaux avec une teneur de 194,42 µg Eq/ g d'extrait, suivi de l'extrait au dichlorométhane avec une teneur de 65,15 µg Eq/ g d'extrait. On note des teneurs en alcaloïdes totaux de 11,72 et 17,99 µg Eq/ g d'extrait respectivement pour l'extrait à l'hexane et l'extrait au méthanol. Les alcaloïdes contenus dans le matériel végétal sont mieux extraits avec l'acétate d'éthyle et moyennement avec le dichlorométhane que les autres solvants utilisés.

**- Teneurs en antioxydants**

Les teneurs en antioxydants totaux des différents extraits sont regroupées dans le tableau 2. Les teneurs varient de 1,08 à 129,06 mg ET / g d'extrait. L'extrait méthanolique présente la meilleure teneur en antioxydants totaux qui est de 129,06 mg ET / g d'extrait. Les extraits à l'acétate d'éthyle, au dichlorométhane et à l'hexane sont faibles en antioxydants comparativement à l'extrait méthanolique dont le plus faible est l'extrait hexanique avec une teneur de 1,08 mg ET / g d'extrait.

L'extrait à l'acétate d'éthyle, bien qu'il soit le plus riche en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux, contient moins d'antioxydants que l'extrait méthanolique.

Ce résultat est en encore avec celui de Hamia et al. qui ont montré que l'extrait chloroformique des tiges de *Rhanterium adpressium* était le plus riche en antioxydants par rapport aux autres extraits malgré qu'il soit moins riche en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux [23]. Bien que l'activité antioxydante ne soit pas intimement liée à la teneur en antioxydants, néanmoins la teneur en antioxydants demeure un indice de l'activité

antioxydante. Habila et al. a montré qu'à une concentration de 250 µg / mL, l'extrait éthanolique des feuilles de *Tridax procumbens* a présenté une activité antioxydante sur le DPPH avec un taux de 96,70 % de réduction des radicaux [25]. La forte teneur en antioxydants dans l'extrait méthanolique pourrait justifier le fort taux de réduction des radicaux. L'extrait méthanolique étant riche en antioxydants totaux avec une teneur de 129,06 mg ET / g d'extrait, pourrait justifier son activité antioxydante. Les activités antioxydantes des différents extraits de *T. procumbens* ont été également rapportées par Agrawal et al et Jachak et al. [26]. Ce qui justifierait la présence d'antioxydants dans les feuilles de la plante.

**4.3. Activités antiplasmodiale et hémolytique**

**- Activité antiplasmodiale**

Le tableau 3 présente les résultats de l'activité antiplasmodiale et du taux d'hémolyse des extraits.

En rapportant les résultats de l'activité antiplasmodiale des extraits exprimés en IC<sub>50</sub>, sur l'échelle proposée par Wilcox et al., nous constatons que l'activité antiplasmodiale des différents extraits sur les deux souches chloroquino-sensibles 3D7 et D10 de *Plasmodium falciparum* varie selon le solvant d'extraction utilisé.

L'évaluation de l'activité antiplasmodiale des extraits sur les mêmes souches a montré que l'activité est modérée pour les extraits au dichlorométhane (DCM) et à l'acétate d'éthyle avec des IC<sub>50</sub> de 9,6 µg/mL sur la souche 3D7 et respectivement de 10,86 et 10,16 µg/mL sur la souche D10. L'extrait hexanique a présenté une faible activité antiplasmodiale sur l'ensemble des deux (02) souches sensibles 3D7 et D10. L'extrait méthanolique est inactif sur la prolifération des deux souches chloroquino-sensibles 3D7 et D10 avec une IC<sub>50</sub> supérieure à 50 µg/mL.

**Tableau 3 :** Activité antiplasmodiale sur les souches 3D7, D10 et Dd2 et taux d'hémolyse des extraits.

Extraits de <i>Tridax procumbens</i> et les références	Activité antiplasmodiale [IC <sub>50</sub> (µg/mL)]			Taux d'hémolyse (%)
	Souche 3D7	Souche D10	Souche Dd2	
Hexane	18,1 ± 1,87	25,91 ± 3,86	18,03 ± 3,96	0,12
Dichlorométhane	9,6 ± 2,88	10,86 ± 2,88	14,52 ± 0,32	0
Acétate d'éthyle	9,6 ± 3,88	10,16 ± 1,12	14,89 ± 0,51	0
Méthanol	52,42 ± 0,00	52,42 ± 0,00	52,42 ± 0,00	0
Chloroquine	8,42 ± 0,50	6,39 ± 0,50	Nd	Nd
Dihydroartémisinine	Nd	Nd	0,71 ± 0,00	Nd

Nd : Non déterminé

Les extraits au DCM et à l'acétate d'éthyle possède une activité antiplasmodiale sur les souches sensibles comparable à la chloroquine prise comme référence (Tableau 3).

Le tableau 3 renferme également les résultats des activités antiplasmodiales des extraits et de la référence réalisées sur la souche résistante Dd2 du *Plasmodium falciparum*.

Les extraits à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont présenté une faible activité antiplasmodiale sur cette souche résistante avec des  $IC_{50}$  respectivement de 18,03  $\mu\text{g/mL}$ , 14,52  $\mu\text{g/mL}$  et 14,89  $\mu\text{g/mL}$ .

L'activité antiplasmodiale sur le *Plasmodium falciparum* résistant Dd2 des extraits au chloroforme, à l'acétate d'éthyle et à l'éthanol des feuilles de *Tridax procumbens* a été rapporté par Appiah-Opong et al., avec une  $IC_{50}$  de 24,8  $\mu\text{g/mL}$  pour l'extrait éthanolique [27]. L'activité antiplasmodiale *in vitro* des extraits de la même plante a été également rapportée par Clarkson et al., qui a obtenu une  $IC_{50}$  de 17  $\mu\text{g/mL}$  sur la souche Dd2 [9]. Les valeurs des  $IC_{50}$  de ces travaux antérieurs restent supérieures à celles des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle de la présente étude. Ce qui implique leur faible activité antiplasmodiale comparativement aux résultats de nos travaux.

Selon les données de la littérature, nombreux d'alcaloïdes d'origine naturelle possèdent de bonne activité antiplasmodiale [28]. D'ailleurs, les médicaments les plus utilisés actuellement en thérapeutique antimalarique font partir de la famille des alcaloïdes [28]. Les extraits à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane de *Tridax procumbens*, riche en alcaloïdes totaux avec des teneurs de 194,42 et 65,15  $\mu\text{g Eq/g}$  d'extrait respectivement, possèdent les meilleures activités antiplasmodiales. Selon Ikewuchi en 2012, *Tridax procumbens* contient de la nitidine, un composé de la famille des alcaloïdes, reconnu pour ses vertus anti-malariales [10]. Il pourrait exister une relation entre les teneurs en alcaloïdes totaux et les concentrations inhibitrices des différents extraits sur les trois souches 3D7, D10 et Dd2.

En plus des alcaloïdes, de travaux antérieurs ont montré qu'en association ou individuellement, les flavonoïdes possèdent une bonne activité antiplasmodiale [29] [30] [31].

L'extrait à l'acétate d'éthyle est le plus riche en flavonoïdes totaux et possède la même activité antiplasmodiale que l'extrait au dichlorométhane.

Quant à l'extrait méthanolique, il est resté inactif sur les souches sensibles 3D7 et D10, tout comme sur la souche résistante Dd2 du *Plasmodium falciparum*. Les molécules actives sur les souches 3D7, D10 et

Dd2 n'ont certainement pas de bonne affinité avec le méthanol.

#### - **Activité hémolytique**

L'évaluation hémolytique des extraits a donné les résultats présentés dans le tableau 3 ci-dessus.

L'ensemble des extraits, à l'exception de l'extrait hexanique, a présenté un taux d'hémolyse nul. D'après Laurencin et al., et Olivier Jansen et al., un extrait présente un caractère hémolytique lorsqu'il hémolyse au moins 5 % des hématies contenus dans une solution [18][32].

En rapportant les résultats des tests hémolytiques à cette grille, tous les extraits et particulièrement ceux qui ont donné une activité antiplasmodiale modérée ou faible, n'ont aucun effet hémolytique. Une utilisation éventuelle de ces extraits dans une formulation n'affecterait pas la survie des hématies.

### 5. Caractérisation phytochimique par HPLC/MS des flavonoïdes

L'analyse par HPLC de l'extrait au dichlorométhane, enregistré successivement aux longueurs d'onde de 280 nm et 350 nm caractéristiques des flavonoïdes, révèle plusieurs signaux parmi lesquels nous avons pu identifier trois aux temps de rétention respectifs de  $t_{R1} = 23,6$  min,  $t_{R2} = 23,9$  min et de  $t_{R3} = 26,2$  min (Figure 2 et Figure 3).

Les chromatogrammes enregistrés à 280 nm et 350 nm de l'extrait à l'acétate d'éthyle indiquent également plusieurs signaux dont deux aux temps de rétention respectifs de  $t_{R4} = 19,2$  min et  $t_{R5} = 26,2$  min (Figure 4 et Figure 5) ont pu être identifiés.

**Le composé 1** ( $t_{R1} = 23,6$  min) présente un spectre de masse avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  520 (Figure 6). Il perd des unités de masse de 152 et 77 pour donner un ion fragment à  $m/z$  291 qui correspondrait à l'aglycone catéchine selon la base de données sur les composés phénoliques que nous avons utilisée ainsi que les données de la littérature (Figure 1 et Figure 6) [33], [34] [35]. En plus, le spectre UV de composé **1** présente deux bandes ; une à 265 nm et l'autre à 330 nm, toutes caractéristiques des flavonoïdes [36] [37]. D'après la littérature lorsque la bande I est comprise entre 330 et 360 nm et la bande II entre 250 et 280, le flavonol est substitué en position 3 [37]. Le composé **1** est identifié comme étant la catéchine 3-O-phénylgallate (Figure 11).

**Le composé 2** ( $t_{R2} = 23,9$  min) présente également un spectre de masse avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  520 (Figure 7). Cet ion subit les mêmes pertes d'unités de masse de 152 et 77 pour donner un ion fragment à  $m/z$  291 qui correspondrait à l'aglycone catéchine (Figure 1 et Figure 7). Le composé **1** et le composé **2** pourraient être des isomères. En outre, le

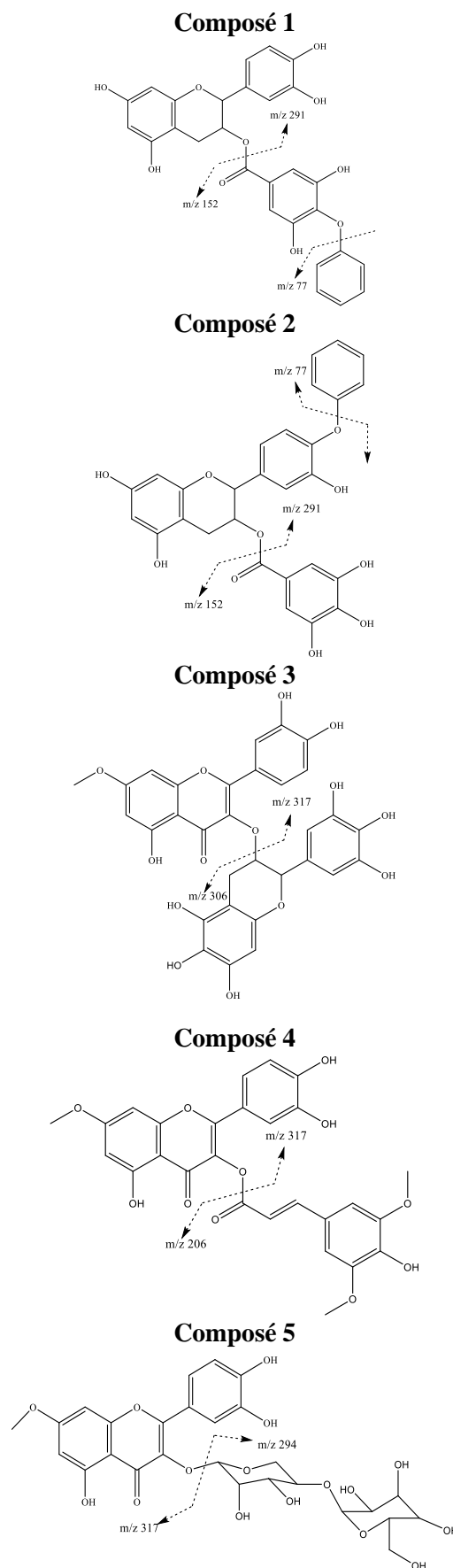


spectre UV de composé **2** présente deux bandes à 275 nm et à 325 nm caractéristiques des flavonoïdes avec un épaulement autour de 285 nm [36] [37]. D'après la littérature lorsque la bande I est comprise entre 330 et 360 nm et la bande II entre 250 et 280, le flavonol est substitué en position 3 [37]. Le composé **2** est identifié comme étant le 4'-phénylcatéchine 3-O-gallate (Figure 11).

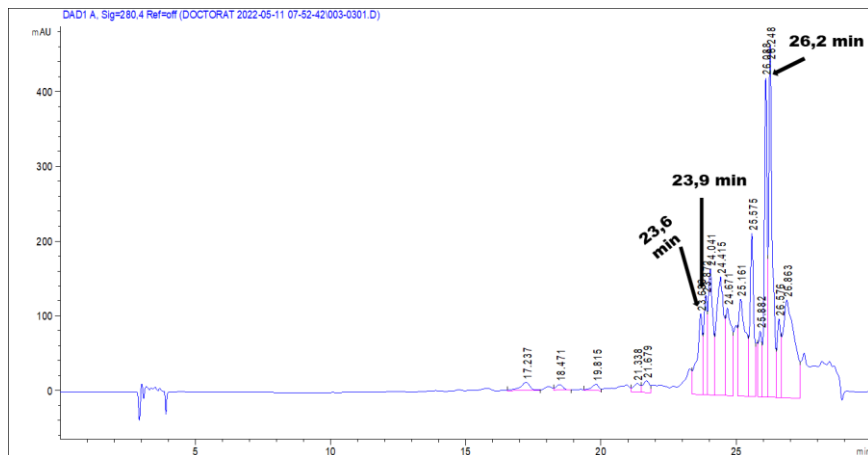
**Le composé 3** ( $t_{R3} = 26,2$  min) présente un spectre de masse avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  623 (Figure 8). Cet ion subit la perte d'une unité de masse de 306 pour donner un ion fragment à  $m/z$  317 (Figure 1 et Figure 8). D'après la base de données sur les composés phénoliques utilisée ainsi que les données de la littérature, l'ion moléculaire à  $m/z$  317 pourrait correspondre à celui de l'aglycone quercétine 7-méthylé [33], [34] [35]. Le spectre UV-visible du composé **3** présente deux bandes, à 280 nm et à 405 nm, caractéristiques des flavonoïdes [36] [37]. D'après la littérature, le composé **3** est substitué en position 3 [37]. Le composé **3** est identifié comme étant la quercétine 7-méthyle-3-O-épigallocatechine (Figure 11).

**Le composé 4** ( $t_{R4} = 19,2$  min) présente un spectre de masse avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  523 (Figure 9). Il perd une unité de masse de 206 pour donner un ion fragment à  $m/z$  317 (Figure 1 et Figure 9). D'après la base de données sur les composés phénoliques ainsi qu'avec les données de la littérature, l'ion moléculaire à  $m/z$  317 pourrait correspondre à celui de l'aglycone quercétine 7-méthylé [33], [34] [35]. Le spectre UV de composé **4** présente deux signaux à 260 nm et à 350 nm caractéristiques des flavonoïdes [36] [37] et substitué en position 3 [37]. Le composé **4** est identifié comme étant la quercétine 7-méthyl-3-O-sinapate (Figure 11).

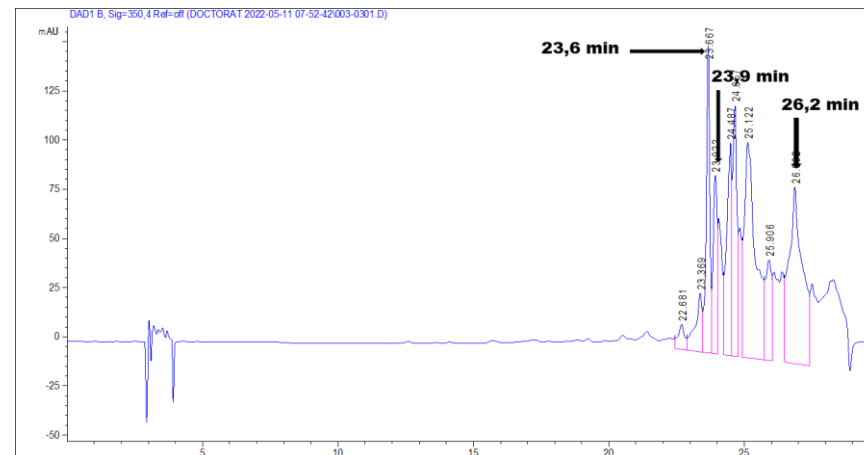
**Le composé 5** ( $t_{R5} = 26,2$  min) présente un spectre de masse avec un ion pseudo-moléculaire à  $m/z$  611 (Figure 10). Cet ion subit une perte de masse de 294 pour donner un ion fragment à  $m/z$  317 (Figure 1 et Figure 10). Selon la base de données sur les composés phénoliques ainsi qu'avec les données de la littérature, l'ion moléculaire à  $m/z$  317 pourrait correspondre à celui de l'aglycone quercétine 7-méthylé [33], [34] [35]. Le spectre UV de composé **5** présente deux signaux à 275 nm et à 410 nm caractéristiques des flavonoïdes avec un épaulement autour de 440 nm [36] [37]. Selon les données de la littérature le composé **5** est substitué en position 3 [37]. Le composé **5** est identifié comme étant la quercétine 7-méthyl-3-O-gaxilose (Figure 11).



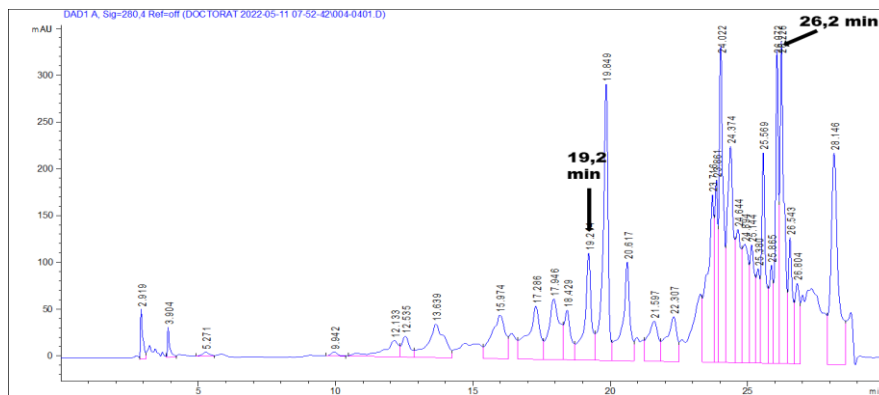
**Figure 1 :** Différentes fragmentations des composés en spectrométrie de masse



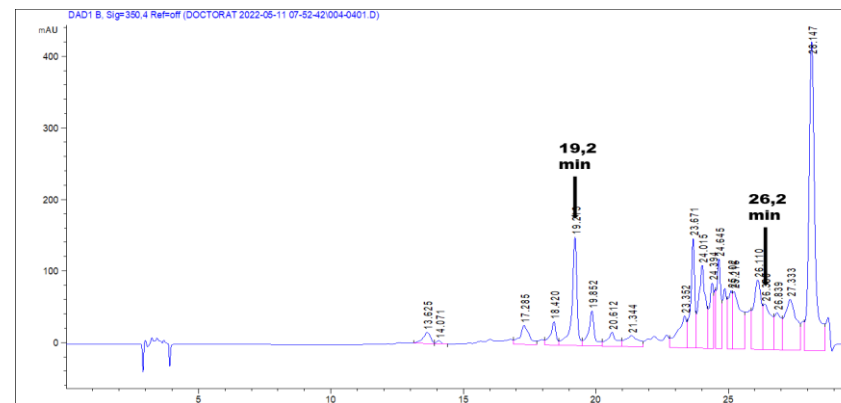
**Figure 2 :** Chromatogramme de l'extrait au dichlorométhane enregistré à 280 nm.



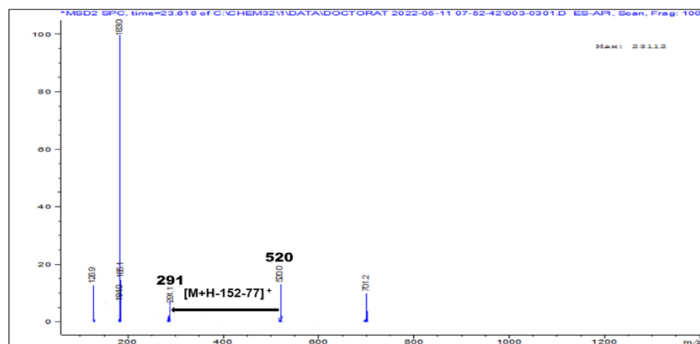
**Figure 3 :** Chromatogramme de l'extrait au dichlorométhane enregistré à 350 nm.



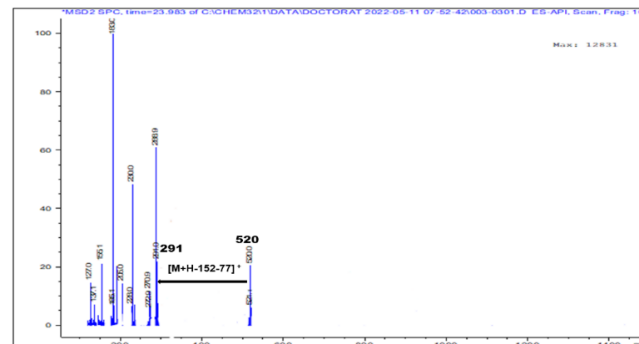
**Figure 4 :** Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle enregistré à 280 nm.



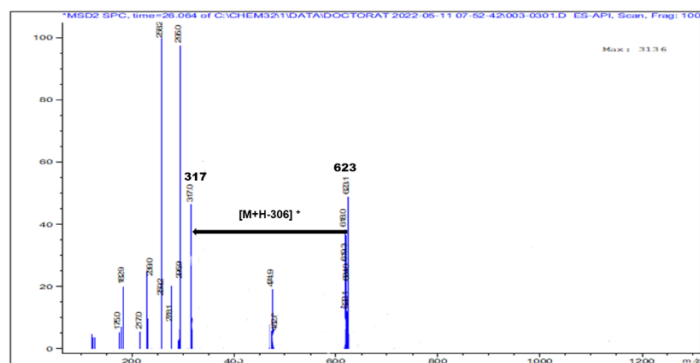
**Figure 5 :** Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle enregistré à 350 nm.



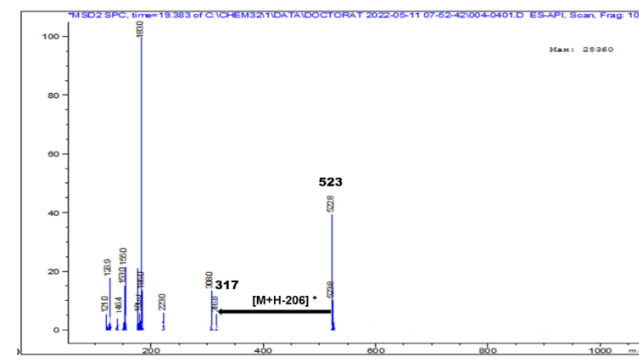
**Figure 6 :** Spectre de masse du composé 1 ( $t_{R1} = 23,6$  min)



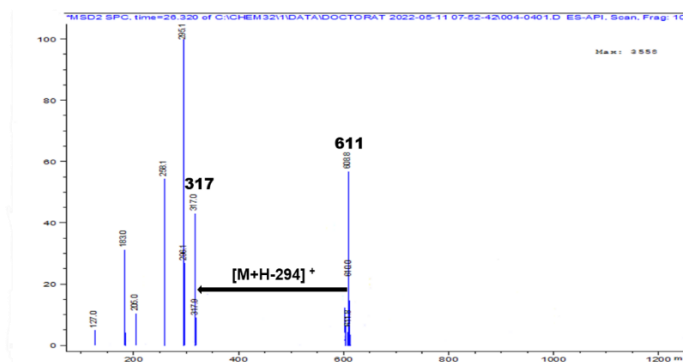
**Figure 7 :** Spectre de masse du composé 2 ( $t_{R2} = 23,9$  min)



**Figure 8 :** Spectre de masse du composé 3 ( $t_{R3} = 26,2$  min)



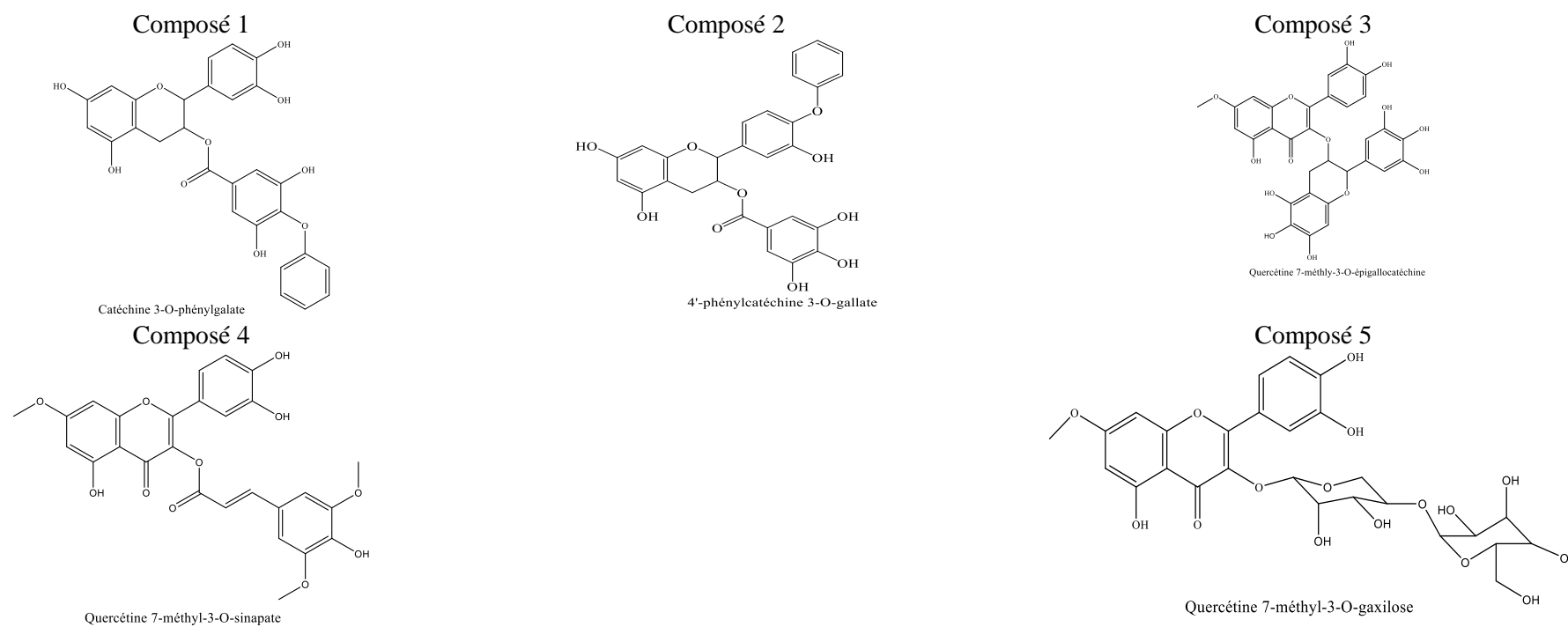
**Figure 9 :** Spectre de masse du composé 4 ( $t_{R4} = 19,2$  min)



**Figure 10 :** Spectre de masse du composé 5 ( $t_{R3} = 26,2$  min)

**Tableau 4 :** Résultats de l'analyse HPLC/MS des extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle de *Tridax procumbens*.

Extrait	Composés	Temps de rétention	Longueur d'onde	m/z de l'ion parent (Dalton)	Perte d'unités de masse (Dalton)	Formule brute du composé	Nom de la molécule
Dichlorométhane	Composé 1	23,6	265 ; 330	520	152 ; 77	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	Catéchine 3-O-phénylgallate
	Composé 2	23,9	285 ; 325	520	152 ; 77	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	4'-phénylcatéchine -3-O-gallate
	Composé 3	26,2	280 ; 405	623	306	C <sub>31</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub>	7-méthylquercétin-3-O-épigallicatéchine
Acétate d'éthyle	Composé 4	19,2	260 ; 350	523	206	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	Quercétine 7-méthyl-3-O-sinapate
	Composé 5	26,2	275 ; 410	611	294	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	Quercétine 7-méthyl-3-O-gaxilose



**Figure 11 :** Noms et formules des cinq molécules identifiées dans les extraits au DCM et à l'acétate d'éthyle.

## 6. Conclusion

*Tridax procumbens* contient des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes et les caroténoïdes. Les composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes sont majoritaires dans l'extrait à l'acétate d'éthyle avec des teneurs respectives de 31,56 mg EAG/g d'extrait et 33,05 mg EQ/g d'extrait.

L'extrait au méthanol était la plus riche en antioxydants totaux avec une teneur de 129,06 mg ET/g d'extrait. Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle contiennent majoritairement les alcaloïdes avec des teneurs de 65,15 et 194,42 µg Eq/g d'extrait respectivement.

Ces derniers ont présenté également les meilleures activités antiplasmodiales sur les souches chloroquino-sensibles 3D7 et D10 de même que sur la souche résistante Dd2 du *Plasmodium falciparum*. Les extraits au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle ont donné une activité antiplasmodiale *in vitro* modérée sur les souches 3D7, D10 et Dd2 pouvant confirmer le potentiel antiplasmodial de ces extraits. Ces extraits peuvent alors être pris en compte dans une formulation de phytomédicaments antipaludiques.

Le test d'hémolyse a révélé que tous les extraits sont sans effets néfastes sur les hématies car aucun taux d'hémolyse n'est supérieur à 5 %.

La catéchine 3-O-phénylgallate, le 4'-phénylcatéchine 3-O-gallate, la quercétine 7-méthyl-3-O-épigallocatechine, la quercétine 7-méthyl-3-O-sinapate, la quercétine 7-méthyl-3-O-gaxilose ont été identifiées dans les extraits à l'acétate d'éthyle et au DCM.

Le travail se poursuivra par l'isolement et la caractérisation des différents composés présents dans les extraits actifs et étudier leurs activités antiplasmodiales individuelles et en association.

**Remerciements :** Nous remercions le Centre National de Formation et de Recherche sur le Paludisme (CNRFP) pour le plateau technique offert et pour les différents autres soutiens. Nous remercions également le Projet d'Appui à l'enseignement Supérieur (PAES) pour le soutien financier dans l'exécution de nos activités.

### Références bibliographiques

[1] Pradines B, Dormoi J, Briolant S, Bogreau H, Rogier C. La résistance aux antipaludiques. *Rev. Francoph. des Lab.* (2010) 422, 51–62, doi: 10.1016/S1773-035X(10)70510-4.

[2] Dondorp A, Nosten F, Yi P. Artemisinin resistance in plasmodium falciparum malaria. *N Engl J Med* (2009) 361, 4, 55–67.

[3] Noedi H, Se Y, Schaecher K. Evidence of

artemisinin resistant malaria in western cambodia. *N Engl J Med* (2008) 359, 26, 19–20.

[4] Byavu N, Henrard C, Dubois M, Malaisse F. Phytothérapie traditionnelle des bovins dans les élevages de la plaine de la Ruzizi. (2000) 3, 4, 135–156.

[5] Kpabi I, Agban A, Hoekou Y, Pissang P, Tchacondo T. Etude ethnobotanique des plantes à activités antiparasitaires utilisées en médecine traditionnelle dans la préfecture de Doufelgou au nord du Togo. *J. Appl. Biosci.* (2020) 148, 15176–15189.

[6] Appiah-opong R, Nyarko AK, Dodoo D, Gyang FN, Ayisi NK. Antiplasmodial activity of extracts of tridax procumbens and phyllanthus amarus in in vitro plasmodium falciparum culture systems. *GHANA Med. J.* (2011) 45, 4, 143–150.

[7] Agban A, Tegueni K, Batawila K, Koumaglo K, Akpagana K. Evaluation des activités antimicrobiennes de tridax procumbens (Asteraceae), jatropha multifida (euphorbiaceae) et de chromolaena odorata (Asteraceae). *Eur. Sci. J.* (2013) 9, 36, 278–290.

[8] Appiah-Opong R, Nyarko AK, Dodoo D, Gyang FN, Koram KA, Ayisi NK. Antiplasmodial activity of extracts of Tridax procumbens and Phyllanthus amarus in in vitro Plasmodium falciparum culture systems. *Med. J.* (2011) 45, 4, 143–150.

[9] Clarkson C *et al.* In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *J. Ethnopharmacol.* (2004) 92, 177–191.

[10] Ikewuchi JC. Alteration of plasma biochemical, haematological and ocular oxidative indices of alloxan induced diabetic rats by aqueous extract of Tridax procumbens Linn (Asteraceae). *EXCLI J.* (2012) 11, 291–308.

[11] Ribereau-Gayon P. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. 1968.

[12] Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier T. 2009.

[13] Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* (1999) 299, 152–178.

[14] Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* (1999) 64, 555.

[15] Woisky RG, Salatino A. Analysis of propolis : some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Apic. Res.* (1998) 37, 2, 99–105. doi: 10.1080/00218839.1998.11100961.

[16] Ajanal M, Gundkalle MB, Nayak SU. Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV - Spectrophotometer. *Anc. Sci. Life* (2018) 31, 4, 2–5. doi: 10.4103/0257-7941.107361.

[17] Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use

- of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Leb. Wiss-Technol* (1995) 28, 25–30.
- [18] Jansen O, Tits M, Angenot L. Anti-plasmodial activity of *Dicoma tomentosa* ( Asteraceae ) and identification of urospermal A-15-O-acetate as the main active compound. *Malar. J.* (2012) 11, 289, 1–9. doi: 10.1186/1475-2875-11-289.
- [19] Willcox ML, Graz B, Falquet J, Diakite C, Giani S, Diallo D. A ‘ reverse pharmacology ’ approach for developing an anti-malarial phytomedicine. *Malar. J.* (2011) 10, 1, 1–10. doi: 10.1186/1475-2875-10-S1-S8.
- [20] Willcox ML, Benoit-vical F, Fowler D, Bourdy G, Burford G, Giani S. Do ethnobotanical and laboratory data predict clinical safety and efficacy of anti-malarial plants ? *Malar. J.* (2011) 10,1, 1–9. doi: 10.1186/1475-2875-10-S1-S7.
- [21] Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African J. Biotechnol.* (2005) 4, 7, 685–688.
- [22] Jude I, Catherine I, Igboh Ngoz CM. Chemical Profile of *Tridax procumbens* Linn. *Pakistan J. Nutr.*(2009) 8, 5, 548–550.
- [23] HAMIA C, GUERGAB A, elhouda RENNANE N, BIRACHE M. Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l ’ activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*. *Ann. des Sci. Technol.* (2014) 6, 1, 33–39.
- [24] Abdoulaye Y, Constantin MD, Rémy KB. Phytochemical Screening , Total Phenolics Content and Antioxydants Potential of Different parts of *Grangea maderaspatana* from Burkina Faso. *Int. Res. J. Pure Appl. Chem.*(2021) 22, 10, 36–44. doi: 10.9734/IRJPAC/2021/v22i1030439.
- [25] Habila JD, Bello IA, Dzikwi AA, Musa H, Abubakar N. Total phenolics and antioxidant activity of *Tridax procumbens* Linn. *African J. Pharm. Pharmacol.*(2010) 4, 3, 123–126.
- [26] Ahossi P, Dougnon TJ, Houessionon PKJ. Synthèse des activités biologiques et de l ’ utilisation de *Tridax procumbens* en production animale et en médecine traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* (2014) 8.
- [27] Appiah-Opong R *et al.* Antiplasmodial activity of extracts of *Tridax procumbens* and *Phyllanthus amarus* in in vitro *Plasmodium falciparum* culture systems. (2011) 4, 45, 143–150.
- [28] Frederick M, Angenot PDML. A la recherche de nouveaux alcaloïdes antipaludiques à partir du genre *Strychnos*. (2000) 1, 8–9.
- [29] Elford BC, Roberts MF, Phillipson JD, Wilson RJM. Potentiation of the antimalarial methoxylated activity flavones of qinghaosu by methoxylated flavones. *Trans. ROYAL. Soc. Trop. Med. Hyg.* (1987) 81, 434–436.
- [30] Liu KCSC, Yang SL, Roberts MF, Elford BC, Phillipson JD. Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. *Plant Cell Rep.* (1992) 11, 637–640.
- [31] Lehane AM, Saliba KJ. Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. *BMC Res. Notes* (2008) 1, 26, 1–5. doi: 10.1186/1756-0500-1-26.
- [32] Laurencin M, Amor M, Fleury Y. De Novo Cyclic Pseudopeptides Containing Aza -  $\beta$  3 - amino Acids Exhibiting Antimicrobial Activities. *J. Med. Chem.* (2012) 55, 10885–10895.
- [33] Neveu V *et al.* Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database (Oxford)*.(2010) 2010. doi: 10.1093/database/bap024.
- [34] Umair M *et al.* LC-ESI-QTOF/MS characterization of antimicrobial compounds with their action mode extracted from vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) leaves. *Food Sci. Nutr.*(2022) 10, 2, 422–435. doi: 10.1002/fsn3.2679.
- [35] De Rijke E, Out P, Niessen WMA, Ariese F, Gooijer C, Udo A T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatogr. A.*(2006) 1112, 31–63. doi: 10.1016/j.chroma.2006.01.019.
- [36] Harborne JB. *Methods in Plant Biochemistry*. Academic P. 1989.
- [37] Markham KR. *Techniques of flavonoid identification*. Academic press, 1982.