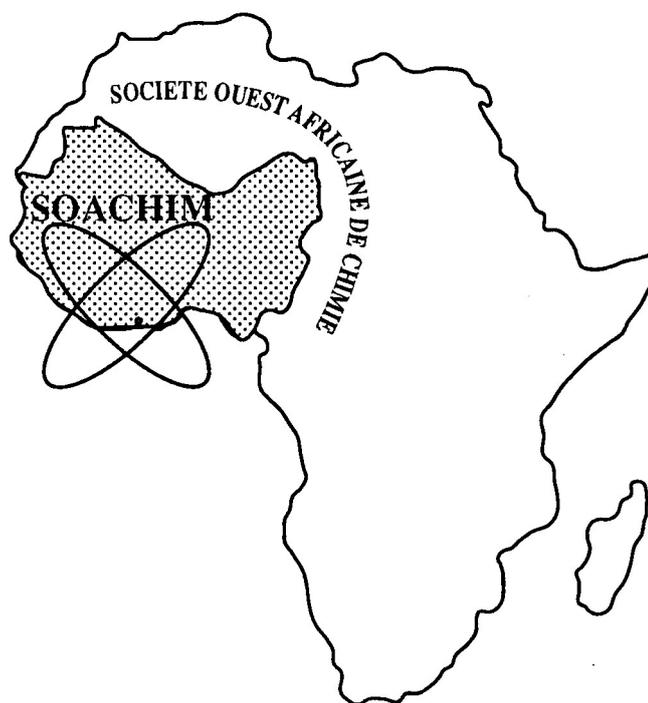


*Identification des composés majoritaires de la fraction à l'acétate d'éthyle de Anogeissus leiocarpa Guill. & Perr. (Combretaceae) par la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse*

**Benjamin Ouédraogo, Jean Claude W. Ouédraogo, Félix B. Kini,  
Irène Semay, Pascal Gerbaux,  
Yvonne Bonzi-Coulibaly**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*  
*J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2020), 049 : 46 - 53*  
25<sup>ème</sup> Année, Juin 2020



ISSN 0796-6687

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

## Identification de polyphénols dans les écorces de *Anogeissus leiocarpa* Guill. & Perr. (Combretaceae) par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse.

Benjamin Ouédraogo<sup>1</sup>, Jean Claude W. Ouédraogo<sup>1</sup>, Félix B. Kini<sup>1,2\*</sup>, Irène Semay<sup>3</sup>,  
Pascal Gerbaux<sup>3\*</sup> et Yvonne Bonzi-Coulibaly<sup>1</sup>

1- Laboratoire de Chimie Analytique Environnementale et Bio Organique (LCAEBiO), Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

2- Institut de Recherche en Sciences de la Santé, 03 BP 7192 Ouagadougou 03, Burkina Faso

3- Service de Synthèse et de Spectrométrie de Masse Organiques (S<sup>2</sup>MOs), Université de Mons Place du parc, 23 B-7000 Mons, Belgique

(Reçu le 15/09/2020 – Accepté après corrections le 27/12/ 2020)

**Résumé :** L'identification de composés bioactifs d'une plante suscite beaucoup d'intérêt pour justifier ses propriétés biologiques. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse a été utilisée dans la présente étude, pour identifier les composés phénoliques extraits de l'écorce de tronc de *Anogeissus leiocarpa*. Après décoction d'un échantillon de poudre d'écorce, extraction à l'acétate d'éthyle de la phase aqueuse obtenue et détaniification de l'extrait organique, les analyses LC-MS(MS) en mode négatif ont permis d'identifier cinq composés majoritaires parmi lesquels quatre, *i.e.* le 2,3,4,6-tétra-O-galloyl-D-glucose, l'acide tri-O-galloyl shikimique, la myricétine et l'acide ellagique trihydroxyphényléther, n'avaient jamais été décrits dans les extraits de cette plante. Ces acides phénoliques et ces flavonoïdes sont des composés bioactifs que nous proposons en tant que traceurs chimiques pour le contrôle qualité de formulations préparées à base de *Anogeissus leiocarpa*.

**Mots-clés :** *Anogeissus leiocarpa*, 2,3,4,6-tétra-O-galloyl-D-glucose, acide tri-O-galloylshikimique, myricétine, acide ellagique trihydroxyphényléther, LC-MS.

## Identification of polyphenols in *Anogeissus leiocarpa* Guill. & Perr. (Combretaceae) bark extracts, using Liquid chromatography coupled with mass spectrometry method

**Abstract:** Identification of bioactive compounds extracted from a plant is a prerequisite to explain the biological properties of the extracts. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry is used in the present study to identify the phenolic compounds extracted from the trunk bark powder of *Anogeissus leiocarpa*. After aqueous extraction of a powder sample of trunk barks, ethyl acetate extraction and detanification, the ethyl acetate fraction is subjected to LC-MS(MS) analyses in the negative ionization mode. Five major compounds were identified. Amongst them, four compounds, *i.e.* 2,3,4,6-tetra-O-galloyl-D-glucose, tri-O-galloylshikimic acid, myricetin and ellagic acid trihydroxyphenylether, had never been reported from this plant. We here propose that these phenolic acids and flavonoids could serve as chemical tracers in quality/control assays performed with formulations based on *Anogeissus leiocarpa*.

**Keywords:** *Anogeissus leiocarpa*, 2,3,4,6-tetra-O-galloyl-D-glucose, tri-O-galloylshikimic acid, myricetin, ellagic acid trihydroxyphenylether, LC-MS.

---

\* Auteurs de correspondance : [phyto00123@yahoo.fr](mailto:phyto00123@yahoo.fr) , [pascal.gerbaux@umons.ac.be](mailto:pascal.gerbaux@umons.ac.be)

## 1. Introduction

*Anogeissus leiocarpa* est une plante originaire d'Afrique appartenant à la famille des Combretaceae [1]. Elle est rencontrée dans les zones à pluviométrie annuelle comprise entre 200–1200 mm. Au Burkina Faso, *Anogeissus leiocarpa* constitue l'une des principales espèces du couvert végétal [2].

Les différentes parties de *Anogeissus Leiocarpa*, à savoir les racines, les écorces ainsi que les feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle en Afrique pour le traitement de plusieurs pathologies [3-9]. En effet, les différentes préparations artisanales présentent de nombreuses propriétés biologiques, i.e. antibactériennes, antivirales, hépatoprotectrices, cytotoxiques, antioxydantes, antifongiques et antihypertensives. Ces propriétés sont souvent suspectées d'être inhérentes à la présence de métabolites secondaires, notamment les polyphénols, dans la plante [10-12].

Les écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa* sont réputées riches en acides phénoliques, en coumarines, en tanins et en flavonoïdes [13]. Des études antérieures ont mis en évidence la présence de polyphénols, notamment de flavonoïdes, dans la fraction organique (acétate d'éthyle) obtenue au départ du décocté d'écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa*. Cette fraction présente également l'activité antioxydante la plus importante par rapport aux extraits obtenus avec d'autres solvants [13,14].

Ce travail a pour objectif principal d'identifier en ayant recours aux techniques de spectrométrie de masse les composés phénoliques majoritaires de la fraction acétate d'éthyle en vue de déceler les composés potentiellement responsables des propriétés biologiques. Par ailleurs, les impératifs actuels de contrôle qualité (Quality Control - QC) requièrent l'utilisation de traceurs chimiques pour valider la composition de formulations mises sur le marché. Nous proposons que les composés phénoliques puissent servir de composés traceurs pour les analyses QC des formulations à base de *Anogeissus leiocarpa*.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa*, récoltées en mars 2016 dans la zone de Loumbila, localité située à 15 km à l'Est de Ouagadougou (zone de savane).

Un échantillon de la plante a été identifié au Laboratoire d'Ecologie de l'UFR/SVT de l'Université Joseph KI-ZERBO sous la référence N° 361.

Les écorces récoltées ont été séchées à l'abri de la lumière, du soleil et de la poussière (pendant 4 semaines) et ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur à lames. La poudre a été conservée dans un endroit sec à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation

### 2.2. Solvants et standards

L'eau milliQ pour HPLC est fournie par CHEM-LAB. Le méthanol, le diméthylsulfoxyde et l'acétonitrile de grade HPLC ont été fournis par VWR. Les standards : quercétine, myrcétine et acide ellagique sont de grade analytique (pureté 99%) et sont fournis par EXTRASYNTHÈSE, (Lyon/France). L'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, le 1-butanol de grade analytique sont fournis par SIGMA ALDRICH.

### 2.3. Préparation de la fraction à l'acétate d'éthyle

Une prise d'essai de 2 g de lyophilisat obtenu à partir du décocté de la poudre d'écorce de tronc de *Anogeissus leiocarpa* a été solubilisée dans 40 mL d'eau distillée à l'aide d'un bac à ultra-son. La solution obtenue est successivement extraite avec de l'hexane (3 x 20 mL), du dichloro-méthane : DCM (3 x 20 mL), de l'acétate d'éthyle (3 x 20 mL) et du 1-butanol (3 x 20 mL). Chaque fraction recueillie a été évaporée à sec sous pression réduite. L'extrait obtenu et étudié est appelé « fraction acétate d'éthyle ».

### 2.4. Détanification de la fraction acétate d'éthyle

La fraction « acétate d'éthyle » est soumise à la précipitation des tanins suivie par la séparation par chromatographie liquide sur Sephadex pour obtenir une fraction plus concentrée en flavonoïdes. Pour la précipitation des tanins, la procédure utilisée est simple et reproductible et comprend différentes étapes : sonication à l'aide d'un bac à ultrasons, filtration, centrifugation, dissolution dans le méthanol, refroidissement, évaporation et précipitation [15]. La chromatographie sur colonne de Séphadex, en élution isocratique avec du méthanol 100 %, permet d'obtenir un extrait de teneur élevée en composés phénoliques en vue de leur identification en LC-MS.

### 2.5. Préparation des échantillons pour les analyses en MS

La fraction « acétate d'éthyle » détanifiée est utilisée pour la préparation de la solution stock de concentration 100 µg/mL dans du méthanol.

Pour les standards, des solutions stock dans le méthanol à 10 µg/mL ont été préparées.

## 2.6. Analyses LC-MS

Le dispositif LC-MS utilisé consistait en une Waters Alliance 2695 couplée à un spectromètre de masse de type Waters Q-ToF API-US (Manchester UK). La colonne utilisée à une température de 40°C était la Phenomenex Kinetex C18, 150×2.1 mm, 5 µm. La phase mobile, à un débit de 0,25 mL/min, était constituée d'un mélange d'eau (0,1 % HCOOH) (éluant A) et d'acétonitrile (éluant B) selon le gradient présenté dans le tableau I. L'échantillon (1 mg/mL dans l'eau) était injecté à raison de 10 µL.

Les paramètres utilisés pour les analyses MS étaient : tension de capillaire – 3.1 kV ; tension de cône – 40 V ; température de la source – 120 °C ; température de désolvatation – 300 °C – gaz de désolvatation – N<sub>2</sub> sec (500 l/h) ; mode d'ionisation négatif. Les spectres de masse en mode full scan (LC-MS) étaient enregistrés au moyen de l'analyseur de type Time-of-Flight (ToF) opérant à une résolution (FWHM) de 10.000 sur une gamme de masse  $m/z$  100-1500. Pour les analyses LC-MSMS, les ions précurseurs sont sélectionnés en masse au moyen de l'analyseur quadrupolaire et sont soumis à des collisions contre de l'argon dans la cellule de collision hexapolaire à une énergie de collision suffisante que pour induire un taux de décomposition suffisant (voir texte). Les ions issus de la cellule de collision sont alors analysés en masse par l'analyseur ToF.

## 3. Résultats et discussion

L'identification des composés phénoliques majoritaires contenus dans la fraction « acétate d'éthyle » détanifiée d'écorce de tronc de *Anogeissus leiocarpa*, a été réalisée par la réalisation d'analyses LC-MS et LC-MSMS en mode d'ionisation négatif. Les différentes molécules apparaissent dès lors sous leur forme déprotonée, à savoir [M-H]<sup>-</sup>. L'ensemble des données générées par les analyses LC-MS(MS) sont compilées dans le tableau II. Les différentes molécules rassemblées dans le tableau II ont été mises en évidence par une analyse manuelle des données brutes LC-MS.

Cinq composés majoritaires **1**, **2**, **3**, **4** et **5** sont ainsi détectés par LC-MS au sein de la fraction « acétate d'éthyle » détanifiée de l'écorce de *Anogeissus leiocarpa*. Les ions correspondants sont observés en  $m/z$  317, 425, 457, 629 et 787 et leurs compositions

élémentaires sont confirmées par mesure des masses exactes (Tableau II).

L'identification des composés sera réalisée suite à la réalisation d'expériences LC-MSMS, c'est-à-dire en soumettant les ions à des collisions énergisantes au sein de la cellule de collision du spectromètre de masse de type Q-ToF. L'enregistrement des ions fragments permet d'obtenir des informations structurales importantes quant aux groupements présents au sein des ions. Les ions dérivés des flavonoïdes ont en particulier été abondamment étudiés en MSMS et les schémas de décomposition sont actuellement bien connus<sup>[16]</sup>.

### Composé 1 – TR = 7,5 min

Le spectre LC-MS/MS des ions  $m/z$  457, spécifiques au composé **1**, est présenté à la figure 1. Les ions fragments les plus intenses sont détectés en  $m/z$  331,  $m/z$  305,  $m/z$  169 et  $m/z$  125.

Les ions fragments détectés en  $m/z$  305 correspondent à la perte de 152 unités de masse (152 u), suggérant la perte d'une unité galloyle<sup>[17, 18]</sup>. Le signal majoritaire de ce spectre de masse est observé en  $m/z$  169 et correspond donc aux ions précurseurs ayant subi une perte de 288 u caractéristique de l'unité flavanol. La perte consécutive de 44 u est attribuée à un processus de décarboxylation (perte de CO<sub>2</sub>) provenant du groupement carboxylate créé au cours de la première fragmentation au sein des ions  $m/z$  169. Il est à noter que les deux décompositions principales, i.e. perte de 288 u et de 152 u, concernent la liaison ester présente au sein des ions précurseurs. Ces ions correspondent probablement aux ions de l'(-)épigallocatechin-3-*O*-gallate,<sup>[19]</sup> molécule qui a déjà été observée dans l'écorce de *Anogeissus leiocarpa* et dans les écorces de plusieurs autres plantes du genre *Terminalia*<sup>[19, 20]</sup>.

Dans la figure 2 (b), la fragmentation menant aux ions  $m/z$  169 et 617 est associée spécifiquement à une des liaisons esters. Ceci n'a pas été vérifié et cette proposition doit être considérée à titre indicatif.

### Composé 2 – TR = 10,5 min

Le spectre MSMS des ions [M-H]<sup>-</sup> provenant de la molécule éluant après 10.5 min est présenté dans la figure 3. Les ions précurseurs de  $m/z$  787 subissent diverses réactions de décomposition suite à l'activation collisionnelle et les principaux ions fragments sont détectés en  $m/z$  617,  $m/z$  465,  $m/z$  313,  $m/z$  295,  $m/z$  169 et  $m/z$  125. Les ions  $m/z$  617 sont issus d'une perte de 170 u, à savoir une molécule d'acide gallique.<sup>[17, 21]</sup>

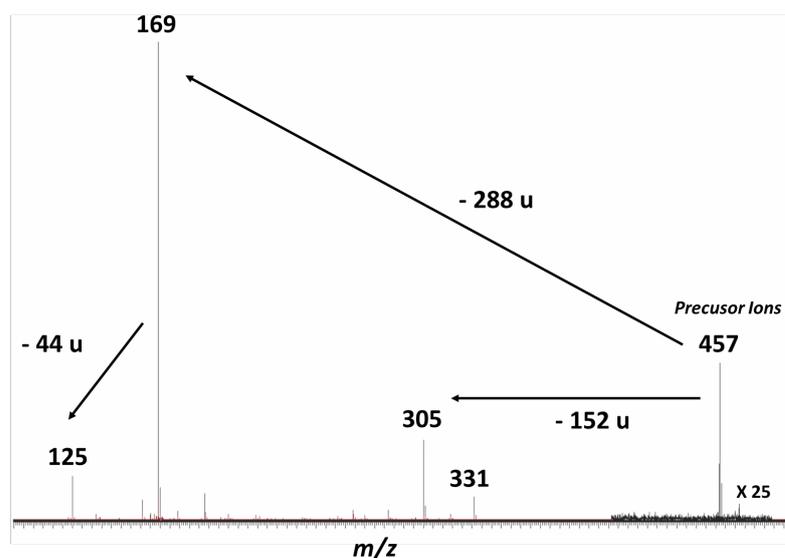
**Tableau I :** Conditions du gradient d'analyse HPLC couplée à la spectrométrie de masse

Temps (min)	% Solvant A (H <sub>2</sub> O mQ 1% HCOOH)	% Solvant B (MeOH HPLC)
0	90	10
6	70	30
11	65	35
18	50	50
23	10	90
25	00	100
27	00	100
30	90	10

**Tableau II :** Analyse LC-MS(MS) en mode négatif des composés majoritaires de la fraction « acétate d'éthyle » détanifiée des écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa* (TR : temps de rétention)

Composés	TR (min)	Composition élémentaire	[M-H] <sup>-</sup> Exact mass <i>m/z</i> (mDa) <sup>a</sup>	Ions fragments principaux en LC-MSMS <i>m/z</i>
Fraction « acétate d'éthyle »				
<b>1</b>	7,5	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>	457,0685 (8,6)	331 ; 305 ; 169 ; 125
<b>2</b>	10,5	C <sub>34</sub> H <sub>28</sub> O <sub>22</sub>	787,0837 (15,7)	617 ; 465 ; 313 ; 295 ; 169 ; 125
<b>3</b>	11,4	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> O <sub>17</sub>	629,0630 (14,9)	477 ; 459 ; 289 ; 169 ; 137 ; 125
<b>4</b>	14,2	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	317,0298 (55) <sup>a</sup>	289 ; 288 ; 271 ; 227 ; 192 ; 173 ; 151 ; 137 ; 107
<b>5</b>	16,71	C <sub>20</sub> H <sub>10</sub> O <sub>11</sub>	425,0090 (5,5)	299 ; 301 ; 284 ; 271 ; 257 ; 244 ; 229 ; 216 ; 200 ; 185
Molécule de référence				
<b>Myricétine</b>	14,3	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	317,0297 (33)	288 ; 271 ; 227 ; 171 ; 151 ; 137 ; 107

<sup>a</sup> La mesure des masses exactes a été réalisée en utilisant la myricétine en tant que référent interne. Ceci a été permis après la confirmation que la molécule éluant après 14,2 min est de la myricétine.



**Figure 1 :** Analyse LC-MSMS : spectre MSMS des ions *m/z* 457 (Argon, CE = 50 V)

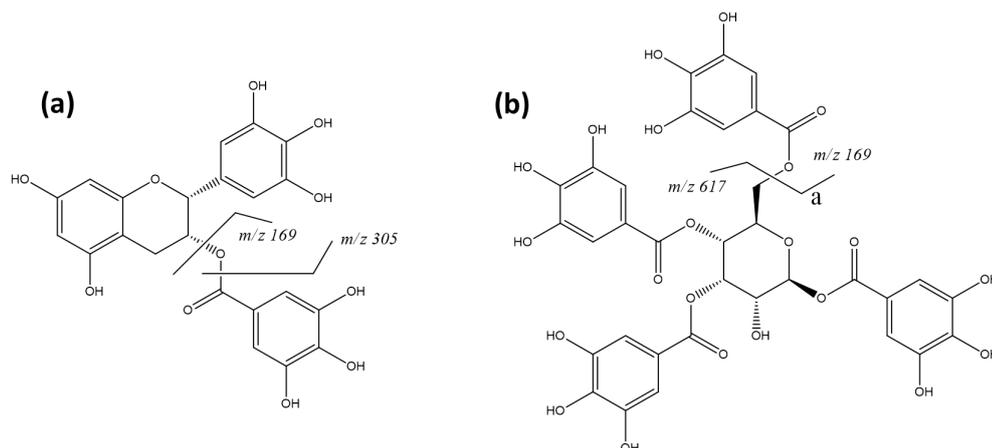


Figure 2 : Structure moléculaire de (a) (-) épigallocatechin-3-O-gallate et (b) 2,3,4,6-Tetra-O-galloyl-D-glucose et fragmentations caractéristiques des ions [M-H].

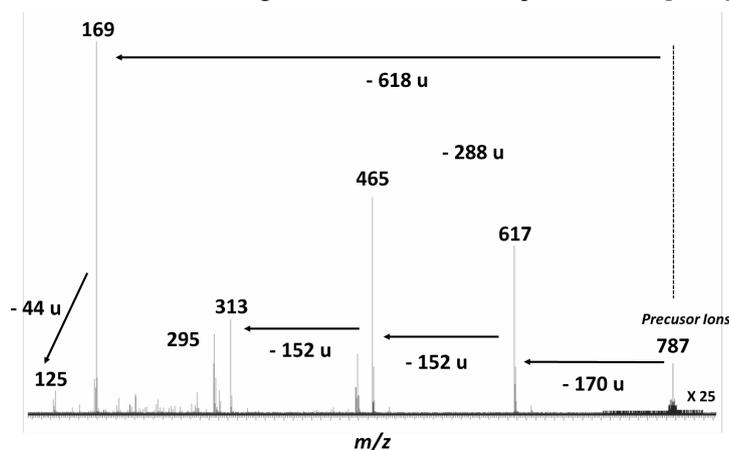


Figure 3 : Analyse LC-MSMS : spectre MSMS des ions  $m/z$  787 (Argon, CE = 50 V)

Les ions fragments en  $m/z$  465 sont générés consécutivement par perte d'une unité galloyle [M-H-170-152]<sup>[17, 21]</sup>. Une troisième décomposition mène aux ions fragments détectés en  $m/z$  313 qui sont donc obtenus par perte d'une unité galloyle additionnelle. Alternativement à cette cascade de décompositions, les ions précurseurs en  $m/z$  787 peuvent éliminer directement 618 u pour mener à l'acide gallique déprotoné en  $m/z$  169. Ces ions perdent également 44 u pour générer les ions  $m/z$  125. Ces données nous permettent de proposer que le composé **2** soit le 2,3,4,6-Tetra-O-galloyl-D-glucose, qui fait partie de la famille des tanins hydrolysable<sup>[19]</sup>. Ce composé a déjà l'objet d'identification dans plusieurs plantes dont *Caesalpinia ferrea* (écorces de tronc).

A notre connaissance, il est identifié pour la première fois dans les écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa*.

Dans la figure 2b, les décompositions menant aux ions  $m/z$  169 et 617 sont proposées comme étant régiospécifiques à une des liaisons esters. Ceci n'a

pas été vérifié et la figure 2b doit être simplement considérée à titre indicatif.

### Composé 3 – TR = 11,4 min

En ce qui concerne les ions  $m/z$  629 provenant du composé **3** éluant après 11.4 min, le spectre MSMS présente des ions fragments détectés en  $m/z$  477,  $m/z$  459,  $m/z$  289,  $m/z$  169 et  $m/z$  137 (Figure 4).

De nouveau, la perte initiale de 152 u permet de confirmer la présence d'au moins un résidu galloyle au sein de la molécule. Une perte compétitive de 170 u, à savoir une molécule d'acide gallique, mène aux ions  $m/z$  459. Une seconde élimination de 170 u est détectée et mène aux ions  $m/z$  289. De nouveau, le signal intense en  $m/z$  169 représente la signature de la présence d'un ester d'acide gallique et les ions obtenus correspondent à l'acide gallique déprotoné. Le composé **3** est identifié comme étant l'acide tri-O-galloylshikimique, présenté sur la figure 5.<sup>[19]</sup> De nouveau, cette molécule est pour la première fois à notre connaissance observée dans des extraits d'écorce de *Anogeissus leiocarpa*.

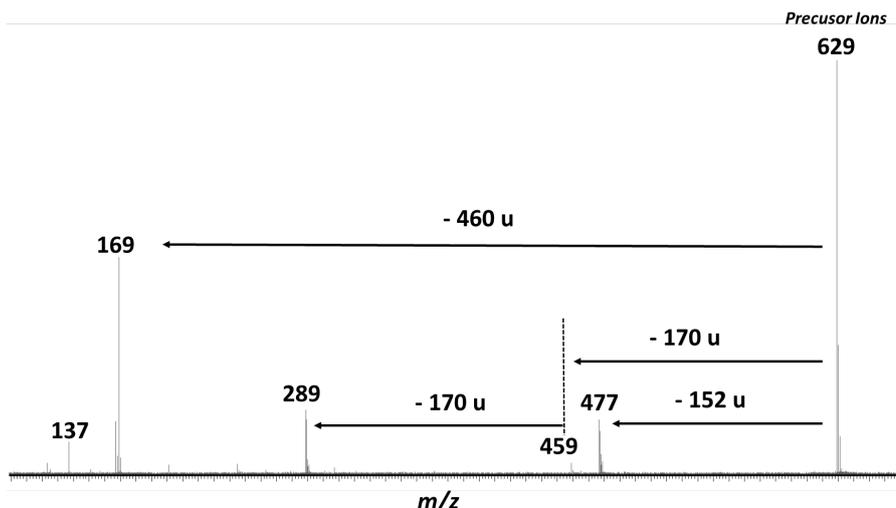


Figure 4 : Analyse LC-MSMS : spectre MSMS des ions  $m/z$  629 (Argon, CE = 50 V)

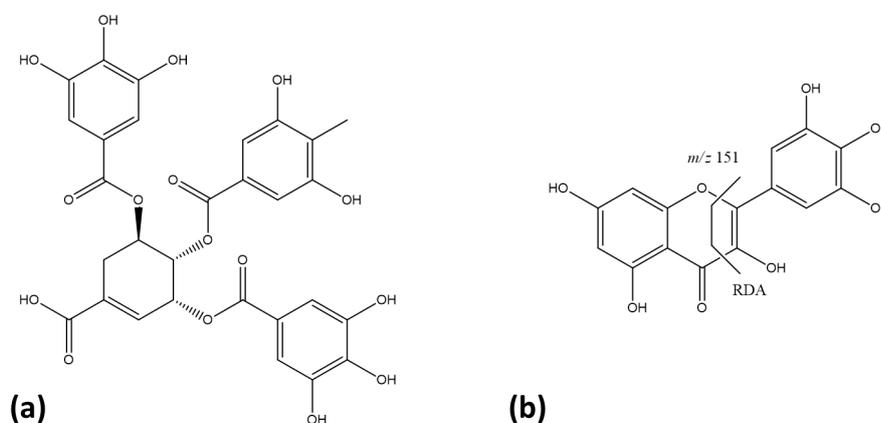


Figure 5 : Structures moléculaires de (a) l'acide tri-O-galloylshikimique, et de (b) la myricétine. RDA signifie rétro-Diels-Alder.

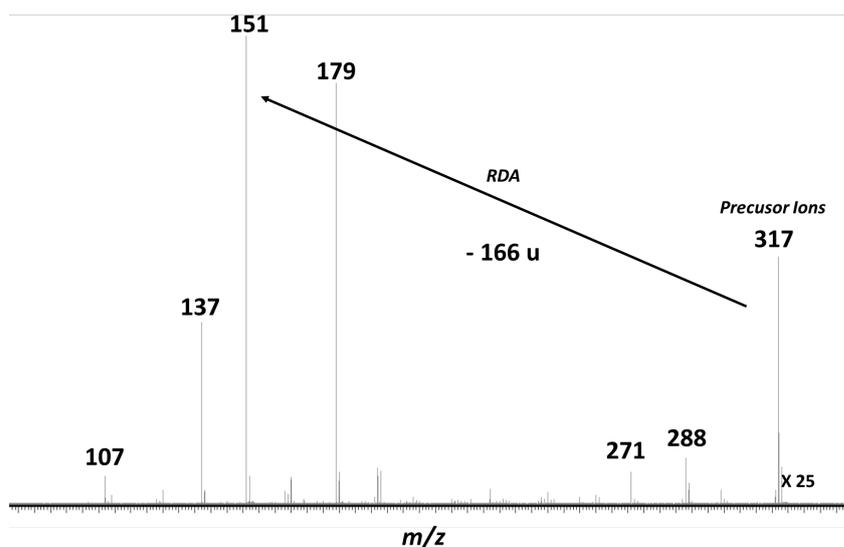
#### Composé 4 – TR = 14,2 min

Le composé 4 présentant un temps de rétention de 14.2 min est détecté en  $m/z$  317 sous sa forme déprotonée,  $[M-H]^-$ . La composition en  $C_{15}H_{10}O_8$  (neutre) correspond à celle de la myricétine (Figure 5) qui est un composé commercialement disponible. L'analyse d'un standard de myricétine confirme la proposition que le composé 4 est la myricétine au vu de l'égalité des temps de rétention. De plus, en LC-MSMS, les ions  $[M-H]^-$  de la myricétine et du composé 4 présentent exactement les mêmes spectres de décomposition qui sont présentés en figure 6. Les ions fragments caractéristiques sont détectés en  $m/z$  288,  $m/z$  271,  $m/z$  179,  $m/z$  151 et  $m/z$  137. La détection des ions  $m/z$  151 est clairement caractéristique de la structure de la myricétine et correspond à une réaction de rétro Diels-Alder (Figure 5). A notre connaissance, la myricétine est également identifiée pour la première fois dans les écorces de *Anogeissus leiocarpa*.

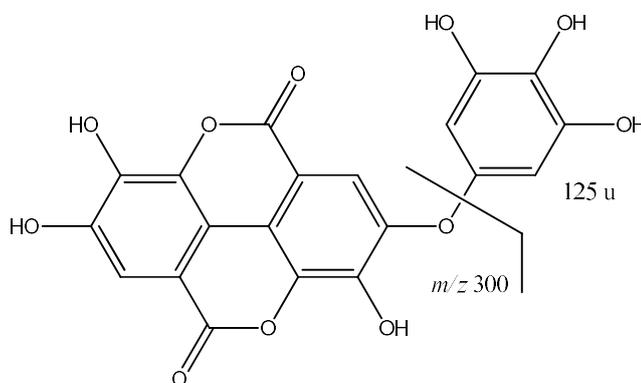
#### Composé 5 – TR = 16,71 min

Finalement, le composé 5 du tableau II, éluant après 16,71 min, présente une composition en  $C_{20}H_{10}O_{11}$  et correspond probablement à l'acide ellagique trihydroxyphényléther (Figure 7). La figure 8 présente le spectre MSMS des ions  $[M-H]^-$  ( $m/z$  425) relevé à 50 eV d'énergie de collision.

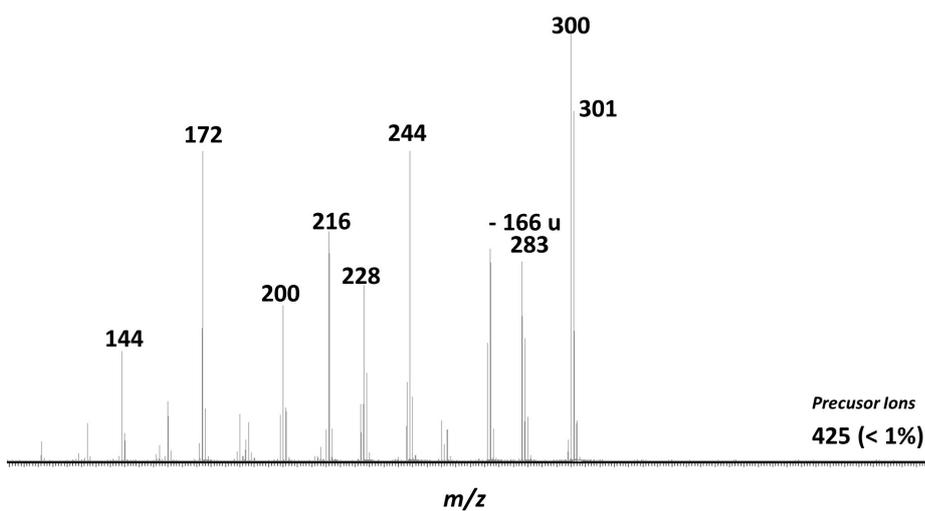
La fragmentation majoritaire à cette énergie de collision correspond à la perte de 125 u, à savoir l'élimination du groupement trihydroxyphényl<sup>[19]</sup>. Cette décomposition radicalaire est rendue possible par l'extrême conjugaison présente sur le cycle de l'acide ellagique. Il est intéressant de noter que des ions  $m/z$  301 sont également très abondants et correspondent aux ions  $[M-H]^-$  de l'acide ellagique obtenus par perte de 124 u au départ des ions précurseurs  $m/z$  425. Tous les ions fragments de plus faible masse sont obtenus au départ des ions  $m/z$  301 (acide ellagique déprotoné) suite à des réactions consécutives de dissociation.



**Figure 6 :** Analyse LC-MSMS : spectre MSMS des ions  $m/z$  317 (Argon, CE = 50 V)



**Figure 7 :** Structure moléculaire de l'acide ellagique trihydroxyphényléther et décomposition principale des ions  $[M-H]^-$ .



**Figure 8 :** Analyse LC-MSMS : spectre MSMS des ions  $m/z$  425 (Argon, CE = 50 V)

#### 4. Conclusions

La chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (LC- MS) a permis d'identifier cinq composés majoritaires dans la fraction « acétate d'éthyle » détanifiée du décocté de poudre d'écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa*. Parmi ces composés, l'(-) épigallocatechin-3-*O*-gallate avait déjà été identifiée dans les écorces de tronc de *Anogeissus leiocarpa*. Cependant, les quatre autres composés majoritaires identifiés, à savoir l'acide tri-*O*-galloylshikimique, la 2,3,4,6-tétra-*O*-galloyl-*D*-glucose, l'acide ellagique trihydroxyphényléther et la myricétine, ont été observés pour la première fois à notre connaissance dans ces écorces. L'isolement de ces composés est actuellement en cours et pourra permettre de mesurer l'activité antioxydante de ces différents composés séparés. Nous proposons aussi que ces différentes molécules soient envisagées dans le futur comme marqueurs pour les tests de contrôle qualité qui impliqueront des formulations différentes de ces extraits.

#### Remerciements

Nous remercions le Programme scientifique international (ISP, Suède), pour son soutien financier à travers le projet BUF 01.

#### Références

[1] Scott A. J., "A revision of Combretaceae," *Kew Bull.*, vol. 33, pp. 555–566., 1979.  
 [2] Nacoulma I., Marie B., Traoré S., Hahn K., and Thiombiano A., "Impact of land use types on population structure and extent of bark and foliage harvest of *Azelia africana* and *Pterocarpus erinaceus* in Eastern Burkina Faso," vol. 3, no. March, pp. 62–72, 2011.  
 [3] Barku Y. A. V., Abban G., "Phytochemical studies, in-vitro antibacterial activities and antioxidant properties of the methanolic and ethyl acetate extracts of the leaves of *Anogeissus leiocarpa*," *Int. J. Biochem. Res. Rev.*, vol. 3, pp. 137–145, 2013.  
 [4] Ademola I. O., "In vitro anthelmintic effect of *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr. leaf extracts and fractions on developmental stages of *Haemonchus contortus*," *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, vol. 8, pp. 134–139, 2011.  
 [5] Batawila K., Kokou K., Koumaglo K., Gbéassor M., De Foucault B., Bouchet P. Akpagana K., "Antifungal activities of five Combretaceae used in Togolese traditional medicine," *Fitoterapia*, vol. 76, pp. 264–268, 2005.  
 [6] Singh D., "The genus *Anogeissus* : A review on ethnopharmacology , phytochemistry and pharmacology," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 194, pp. 30–56, 2016.  
 [7] Adefegha S. A., "In vitro antioxidant activities of African birch(*Anogeissus leiocarpa* ) leaf and its effect on the  $\alpha$  -amylase and  $\alpha$  -glucosidase inhibitory properties of acarbose," *J. Taibah Univ. Med. Sci.*, vol. 11, no. 3, pp. 236–242, 2016.

[8] Mukhtar Y, K., Abdu K. L., Office, I. D. Hospital, and F. Road, "Efficacy of *Anogeissus leiocarpa* ( DC .) as Potential Therapeutic Agent against Trypanosomiasis Diseases : A Review," vol. 3, no. 3, pp. 1–9, 2017.  
 [9] Ouédraogo S., Belemnaba L., Traoré A., Lompo M., Bucher B., and Guissou I. P., "étude de la toxicité et des propriétés pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Anogeissus Leiocarpa* ( DC ) Guill . Et Perr.," *Pharmacopée Médecine Tradit. Africaines*, vol. 15, no. Dc, pp. 18–22, 2008.  
 [10] Dai J., Mumper R. J., "Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, A Review," *Molecules*, vol. 15, pp. 7313–7352, 2010.  
 [11] Wijngaard H. H., Rößle C., Brunton N. A. "Survey of Irish Fruit and Vegetable Waste and Byproducts As a Source of Polyphenolic Antioxidants," *Food Chem.*, vol. 116, p. 202–207., 2009.  
 [12] Hoye A. T., Davoren J. E., Wipf P., Fink M. P., Kagan V. E. "Targeting Mitochondria," *Acc. Chem. Res.*, vol. 41, pp. 87–97, 2008.  
 [13] Ouédraogo B., Yoda J., Kini F., Ouédraogo J. C., Lompo M. and Ouédraogo S., "Research of Bioactive Chemical Markers in Trunk Bark Extracts of *Anogeissus leiocarpa* , a Traditional Herbal Remedy for Hypertension," vol. 8, no. 1, pp. 6–12, 2020.  
 [14] Ouédraogo B., Yoda J., Kini F. B., Koala M., and Bonzi-Coulibaly Y., "Phytochemical screening and in vitro antioxidant study of six plants used for the treatment of hypertension in traditional medicine," *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 4, pp. 1665–1678, 2019.  
 [15] Lhuillier M. A. "Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* hook.f ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (*ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* baker (*monimiaceae*) et *Embelia concinna* baker (*myrsinaceae*) ", thèse de doctorat, pp 214, 2007  
 [16] Ouédraogo J. C., Koala M., Ouédraogo N., Kini B. F., Gerbaux P. and Bonzi-Coulibaly Y. "Total Phenolics and Total Flavonoid Contents , Antioxidant Activity and Flavonoids Identification by High-Performance Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry of *Odontonema strictum*. Total Phenolics and Total Flavonoid Contents , Antioxidant Activity," *Asian J. Plant Sci. Res.*, vol. 7(5), no. November, pp. 54–63, 2017.  
 [17] Boulekbache-Makhlouf L., Meudec E., Mazauric J.P., Madani K., Cheynier V. "Qualitative and semi-quantitative by analysis of phenolics in *Eucalyptus globulus* leaves Diode, high-performance liquid chromatography coupled with array detection and electrospray ionisation mass spectrometry," *Phytochem. Anal.*, vol. 24( 2 ), pp. 162–170, 2013.  
 [18] Dos R. L., Porto D. D., "Metabolomic UPLC-QTOF-MS, profile of *Schinopsis brasiliensis* via Cytotoxic, for identification of biomarkers and evaluation of its potential," *J. Chromatogr. B*, vol. 1099, pp. 97–109, 2018.  
 [19] Singh A., Bajpai V., Kumar S., Sharma S. K., and Kumar B., "Profiling of Gallic and Ellagic Acid Derivatives in Different Plant Parts of *Terminalia arjuna* by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS," *NPC Nat. Prod. Commun.*, vol. 11(2), pp. 239–244, 2016.  
 [20] Salih E.Y. "South African Journal of Botany Tannins , flavonoids and stilbenes in extracts of African savanna woodland trees *Terminalia brownii* , *Terminalia laxiflora* and *Anogeissus leiocarpa* showing promising antibacterial potential," vol. 108, pp. 370–386, 2017.  
 [21] Hofmann L., Nebehaj E., "Antioxidant European, properties and detailed polyphenol profiling of Antioxidant, hornbeam (*Carpinus betulus* L.) leaves by multiple Chromatography/, capacity assays and high-performance liquid multistage electrospray mass spectrometry," *Ind. Crops Prod.*, vol. 87, pp. 340–349, 2016.