



## Huile essentielle de *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) du Maroc: Composition chimique et isolement des deux principaux constituants (Essential oil of *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) of Morocco: Chemical composition and isolation of the two major constituents)

I. Lmachraa<sup>1</sup>, R. Fdil<sup>1\*</sup>, N. Fdil<sup>2</sup>, A. Mouzdahir<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie bio organique, Faculté des Sciences, Université Chouaïb Doukkali, BP 299, 24000, El Jadida, Morocco

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie, CHU Mohammed VI, Hôpital Ibn Tofaïl, Gueliz, 40000, Marrakech, Morocco

Received 23 Feb 2013, Revised 11 Sept 2013, accepted 11 Sept 2013.

\*Auteur correspondant. E-mail : [fdilrabia@yahoo.fr](mailto:fdilrabia@yahoo.fr) (Rabiah Fdil)

### Résumé

L'huile essentielle de *Santolina africana*, plante médicinale marocaine a été analysée par CG-SM, puis soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice. Les deux principaux constituants ont été isolés et identifiés comme étant le (+)-camphre **1** et le (1*S*-endo)-bornéol **2**, par l'analyse de leurs données spectroscopiques (SM, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C et DEPT).

*Mots clés* : *Santolina africana*, huile essentielle, isolement, camphre, bornéol.

### Abstract

The essential oil of *Santolina africana*, a Moroccan medicinal plant, was analyzed by GC-MS and subjected to column chromatography on silica gel. The two main components have been isolated and identified as the (+) camphor **1** and (1*S*-endo)-borneol **2**, by analysis of their spectroscopic data (SM, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and DEPT).

*Key words*: *Santolina africana*, essential oil, isolation, camphor, borneol.

### 1. Introduction

Le genre *Santolina* (Asteraceae, Anthemideae, Santolininae) est représenté par plusieurs espèces largement répandues dans la zone méditerranéenne [1]. C'est un groupe complexe constitué d'espèces botaniques dont la classification chimiotaxonomique est périodiquement révisée [2]. *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) appartient à ce genre de plantes [3].

*Santolina africana* Jord. & Fourr. (= *Ormenis africana* (Jord. & Fourr.) Litard. & Maire = *Ormenis pseudosantolina* Maire = *Santolina ascensionis* Sennen = *Santolina chamaecyparissus* auct.) semblent très proche de *S. chamaecyparissus* L., espèce variable dont on a proposé plusieurs sous-espèces et variétés [2,4].

*Santolina africana* est une espèce endémique d'Afrique du Nord. Elle est très commune dans le Moyen et le Haut Atlas marocain [4]. C'est un sous-arbrisseau à odeur forte qui pousse spontanément parmi les rochers, sur les coteaux arides et les crêtes élevées en terrain calcaire [4,5]. En médecine populaire marocaine, *Santolina africana* est utilisé essentiellement comme stomachique, abortive, emménagogue et vermifuge [5]. Elle est également connue pour ses propriétés antidiabétiques [5].

Depuis plus de trois décennies, plusieurs espèces de santoline de différentes origines ont été décrites, mais il apparaît que l'on revienne souvent à un nombre d'espèces principales plus limité. Parmi les plus connues on peut citer *S. chamaecyparissus* L. [6-15], *S. oblongifolia* [16], *S. ligustica* [17], *S. rosmarinifolia* [18,19], *S. canescens* [20], et *S. corsica* [21]. Toutes ces espèces produisent des huiles essentielles riches en monoterpènes, et font état d'une importante variabilité génotypique. À celle-ci, s'ajoute une variabilité due à l'environnement, aux conditions de culture, de récolte, d'extraction et d'analyse [2].

La recherche bibliographique que nous avons effectuée a montré qu'en dehors de notre récente étude [22] consacrée à la composition des huiles essentielles provenant des tiges, des feuilles et des fleurs de *S. africana* de la vallée de Tahanaout, les espèces *Santolina* originaires du Maroc ont été très peu décrites. En effet, seule une étude ancienne a été reportée dans la littérature, sur la phytochimie d'*Ormenis africana* (= *S. chamaecyparissus* L. var. *africana*) [23].

L'objectif du présent travail est de décrire pleinement l'huile essentielle de la partie aérienne de *S. africana* originaire du Maroc afin de pouvoir la situer par rapport à celles décrites dans d'autres pays du pourtour méditerranéen. A cet effet, un échantillon collectif d'huile essentielle, a été analysé par CG-SM puis soumis à un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal et extraction de l'huile essentielle

Les parties aériennes de 15 pieds de *S. africana* ont été recueillies de façon aléatoire au stade de la floraison en août 2011 près de Tahanaout (Marrakech, Maroc).

Le matériel végétal a été séché puis passé au broyeur électrique. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation, utilisant un appareil de type Clevenger [24] en accord avec les recommandations de la Pharmacopée Européenne pendant 4 h. Les rendements ont été déterminés par rapport à la matière sèche, évaluée à partir de trois échantillons de 50 g séchés pendant 48 heures à l'étuve. Les huiles essentielles ont été conservées à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre brun fermé en présence de sulfate de sodium anhydre. Un échantillon d'huile collectif a été utilisé pour le fractionnement chromatographique.

### 2.2. Analyse CG et couplage CG-SM

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent-HP 6890, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm d'épaisseur de film), d'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 260°C et alimenté par un mélange H<sub>2</sub>/air et d'un injecteur split-splitless réglé à 240°C. Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min. Le mode d'injection est split (1:50). La température de la colonne est programmée de 60 à 280°C à raison de 2°C/min, puis maintenue 10 min à 280°C.

Les constituants ont été déterminés sur la base de leurs indices de rétention (IR) et par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent-HP 6890 avec un spectromètre de masse HP 5973. La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. On utilise une colonne capillaire de type DB-5 (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm d'épaisseur de film). La température de la colonne est programmée de 60 à 280°C à raison de 2°C/min. Le gaz vecteur est l'hélium à 2 mL/min. Le mode d'injection est split (1:70). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse NIST 98.

### 2.3. Fractionnement de l'huile essentielle de *Santolina africana*

L'huile essentielle (6g) a été soumise à une chromatographie d'adsorption sur colonne (CC) de gel de silice 60 (70-230 mesh, Fluka), en utilisant un gradient du solvant éther de pétrole-éther diéthylique. Six fractions ont été obtenues. Les fractions F3 (2410 mg, éther de pétrole-éther diéthylique (99:1) et F5 (989 mg, éther de pétrole-éther diéthylique (98:2) ont donné deux composés purs respectivement **1** et **2**, alors que les fractions F1 (400 mg, l'éther de pétrole 100%), F2 (710 mg, éther de pétrole-éther diéthylique (99:1), F4 (880 mg, éther de pétrole-éther diéthylique (98:2), et F6 (403 mg, éther de pétrole-éther diéthylique (98:2) sont des mélanges de composés volatils.

### 2.4. Analyse par RMN

Les spectres RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker Avance 300, à 300.14 MHz pour <sup>1</sup>H et 75,47 MHz pour <sup>13</sup>C

Les déplacements chimiques δ sont donnés par rapport à la référence usuelle (TMS). Le solvant utilisé est le chloroforme deutéré.

### 2.5. Identification des composés majoritaires

#### (+)-Camphre **1**

Solide blanc; PF: 175-176°C. SM-EI 70 eV, m/z 152: 95 (100); 81(72); 41(41,2); 108(44,5); 83(36,3); 69(32,8); 109(31,7); 55(28,3).

RMN <sup>1</sup>H δ (ppm): 2,34 (1H, Ha) ; 2,08 (1H, Hb) ; 1,94 (1H, Hc) ; 1,83 (1H, Hd) ; 1,67 (1H, He) ; 1,38 (1H, Hf) ; 1,37 (1H, Hg) ; 0,95 (3H, H-8) ; 0,90 (3H, H-10) ; 0,83 (3H, H-9).

RMN <sup>13</sup>C δ (ppm): 219,74 (C-1); 57,72 (C-2); 46,80 (C-3); 43,31 (C-4); 43,06 (C-5); 29,93 (C-6); 27,06 (C-7); 19,79 (C-8); 19,15 (C-9); 9,25 (C-10).

*(1S-endo)-bornéol 2*

Solide blanc; PF: 206-207°C. SM-EI 70 eV, m/z: 154: 95(100); 110(19,2); 41(16); 55(10,4); 93(9); 96(8,7);

RMN <sup>1</sup>H δ (ppm): 3,98 (1H, Ha) ; 2,25 (1H, Hb) ; 1,55 à 1,95 (4H, Hc, Hd, H-OH, Hf) ; 1,22 (2H, Hg) ; 0,93 (1H, Hj) ; 0,848 (3H, H-8) ; 0,837 (3H, H-9) ; 0,829 (3H, H-10).

RMN <sup>13</sup>C δ (ppm): 77,34 (C-1); 49,47 (C-2); 48 (C-3); 45,08 (C-4); 38,97 (C-5); 28,26 (C-6); 25,91 (C-7); 20,17 (C-8); 18,67 (C-9); 13,32 (C-10).

### 3. Résultats et discussion

Les pieds individuels de *S. africana* ont été collectés dans la même station de Tahanaout (Maroc) et dans les mêmes conditions. Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des échantillons (parties aériennes) sont visqueuses et de couleur jaune verdâtre.

Le rendement en huile essentielle est de 0,86 % (par rapport à la matière sèche). Ce rendement est relativement faible comparé à celui plus élevé (1,6 %) observé pour les parties aériennes de *S. chamaecyparissus* var. *insularis* [25]. Les résultats de l'analyse par CG et CG-SM de l'huile collective, sont reportés dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Composition chimique de l'huile essentielle de *S. africana* de Tahanaout (Maroc)

	Composés	RI <sup>a</sup>	%
1	α-Pinène	940	1,01
2	Camphène	955	1,75
3	2,3-Dehydro-1,8-cinéole	978	tr <sup>b</sup>
4	2-Carène	1001	0,5
5	3-Carène	1011	1,2
6	1,8-Cinéole	1031	5,27
7	γ-terpinène	1061	0,22
8	Campholenal	1125	0,36
9	Camphre	1144	54,30
10	Pinocarvone	1160	0,56
11	Bornéol	1168	17,24
12	α-Terpinéol	1187	0,63
13	Myrténol	1198	0,20
14	Verbénone	1204	tr
15	trans-Carvéol	1217	0,08
16	Carvone	1239	tr
17	β-Citral	1249	0,10
18	Acétate de bornyle	1285	8,61
19	Eugénol	1360	0,21
20	Jasmone	1393	0,29
21	Ar-curcumène	1483	tr
23	β-Eudésmol	1650	1,45
	Monoterpènes oxygénés		79,24
	Hydrocarbures monoterpéniques		4,68
	Sesquiterpènes oxygénés		1,45
	Autres		8,61
	Total (%)		93,98

a: indices de rétention ; b: tr. < 0.05%

23 constituants ont été identifiés représentant 93,98% de la composition globale de l'huile. La fraction oxygénée est très majoritaire (plus de 85%) et principalement constituée de composés cycliques, terpéniques ou non. Dans cette fraction, les monoterpènes oxygénés sont particulièrement abondants (79,24%), le camphre domine (54,30%), suivi par le bornéol (17,24%) et le 1,8-cinéole (5,27%). Les autres composés significatifs, bien que

présents en faibles quantités sont : 2,3-dehydro-1,8-cinéole, campholenal, pinocarvone  $\alpha$ -terpinéol, myrténol, verbénone, trans-carvéol, carvone,  $\beta$ -citral, eugénol et jasmone).

L'acétate de bornyle, composé non terpénique est également présent en quantité importante (8,61%). Les hydrocarbures monoterpéniques contribuent faiblement (4,68%) à la composition totale de l'huile. Le  $\alpha$ -pinène, le camphène, le 2-carène, le 3-carène et le  $\gamma$ -terpinène, sont les représentants de ce groupe. Le contenu de l'huile en sesquiterpènes est également faible, le  $\beta$ -eudésmol est le seul sesquiterpène oxygéné identifié (1,45%). Le ar-curcumène représentant de la fraction des hydrocarbures sesquiterpéniques a été détecté à l'état de traces.

La comparaison de cette composition chimique avec celles décrites récemment par notre équipe pour les huiles essentielles obtenues à partir des tiges, des feuilles et des fleurs de *S. africana* de la même région (Tahanaout) [22], montre que le camphre est toujours le constituant prédominant en association avec le bornéol, l'acétate de bornyle et le 1,8-cinéole. Toutefois, cette comparaison fait apparaître des différences qualitatives notables essentiellement dues à la présence ou à l'absence d'un ou plusieurs composés volatils. En effet, aucun des hydrocarbures terpéniques trouvés dans cette huile collective ( $\alpha$ -Pinène, camphène, 2-carène, 3-carène,  $\gamma$ -terpinène et Ar-curcumène) (tableau 1) n'a été détecté auparavant dans les organes aériens de la plante [22]. Curieusement, l'humulène seul hydrocarbure sesquiterpénique signalé à une teneur notable (3,14%) dans l'huile essentielle issue des tiges [22], n'est pas observé dans la présente étude alors que le  $\beta$ -eudésmol et autres composés, notamment des monoterpènes oxygénés (2,3-dehydro-1,8-cinéole, campholenal, pinocarvone  $\alpha$ -terpinéol, myrténol, verbénone, trans-carvéol, carvone,  $\beta$ -citral, eugénol et jasmone) sont identifiés dans cette même huile collective.

Ces différences sont probablement dues à divers facteurs entre autres génétiques, stades de développement, environnements et la période de récolte.

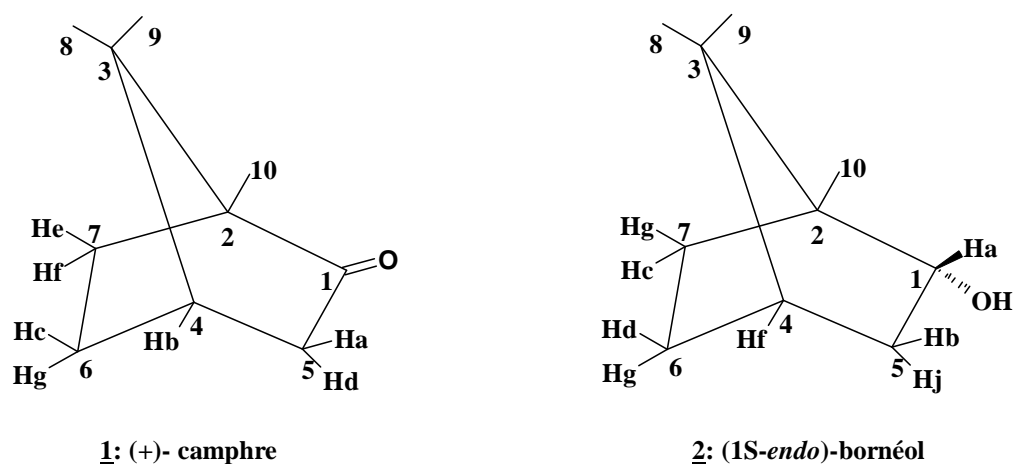
Par ailleurs, la composition chimique de l'huile essentielle de *S. africana* de Tahanaout semble nettement différente des profils chimiques décrits dans la littérature pour l'espèce voisine et la plus répandue à savoir *S. chamaecyparissus*: Ainsi concernant cette espèce, l'artémisia cétone constitue souvent le composé majoritaire [26], associé au myrcène en France [8], au myrcène et au cinéole en Inde [12], au camphre et au  $\beta$ -phellandrene en Turquie [11].

Pour *S. chamaecyparissus* L. var. *corsica* originaire de Sardaigne, le camphre est le composé majoritaire associé au bornéol et à l'aromadendrène [25], alors qu'en Corse, le myrcène domine suivi de santolinatriène et de  $\beta$ -phellandrene [21]. Pour *S. chamaecyparissus* L. en provenance de l'Algérie, le camphre est le constituant majoritaire suivi du cubéol [13]. En Espagne, l'espèce insulaire est riche en camphre et en cubéol alors que pour les sous espèces péninsulaires ssp. *incana* et ssp. *squarrosa*, le camphre est le composé majoritaire, associé au bornéol et au 1,8-cinéole [9]. Il apparaît que cette dernière composition présente quelques similitudes intéressantes avec le profil chimique trouvé pour *S. africana* (Tableau 1). Très récemment, un autre profil chimique a été signalé pour *S. chamaecyparissus* provenant d'Egypte [27] : Pour cette espèce, le santolina alcool, le 1,8-cinéole et l'artémisia cétone sont les principaux constituants de l'huile.

En dehors de notre étude [22], et à notre connaissance, seule une publication a porté sur l'huile essentielle de *S. chamaecyparissus* L. var. *africana* (= *Orménis africana*) d'origine marocaine [23]. Il apparaît que sa composition est très largement dominée par l'ociménone (40 %) et le copaène (38 %). Les pinènes (3 %), les azulènes (4,5 %), le citronellal (2,5 %) et le camphre (2 %) ont été aussi détectés [23]. Ce profil chimique diffère considérablement des compositions décrites dans le présent travail aussi bien pour *S. africana* (Tableau 1) que pour l'espèce voisine *S. chamaecyparissus* L. d'origines différentes.

Suite à l'analyse par CPG/SM, l'échantillon global de l'huile essentielle a été soumis à une chromatographie d'adsorption sur gel de silice en utilisant comme éluant un gradient d'éther de pétrole et d'éther diéthylique. Le fractionnement a conduit à l'isolement de deux composés purs **1** et **2** (Fig. 1) qui représentent les deux principaux constituants de l'huile essentielle, avec les rendements respectifs de 40,16% et 16,48%. Les données spectrales en RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , et DEPT relatives aux déplacements chimiques des différents atomes de carbones et d'hydrogènes pour les deux composés suggèrent un même squelette carboné.

Le composé **1** a été obtenu sous forme de cristaux blancs (PF : 175-176°C). Il présente dans son spectre de masse un ion moléculaire à  $m/z = 152$  (IE-SM) correspondant à la formule moléculaire  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ . Les valeurs des déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et DEPT, mettent en évidence la présence de trois méthyles (9,25 ; 19,15 et 19,79 ppm), trois méthylènes (27,06 ; 29,93 et 43,06 ppm), une méthine (43,31 ppm), deux carbones quaternaires blindés (57,72 et 46,80 ppm) et un autre carbone quaternaire déblindé (219,74 ppm) qui suggère l'existence d'un fragment carbonyle dans la structure de ce composé. L'ensemble des données chromatographiques et spectroscopiques (CG, SM et RMN) suggère pour ce composé la structure du (+)-camphre.



**Fig. 1.** Structures des composés principaux **1** et **2** isolés à partir de l'huile essentielle de *Santolina africana*

Le composé **2** est également un solide blanc (PF : 206-207°C), son spectre obtenu à l'aide de la séquence DEPT permet d'identifier deux carbones quaternaires (49,47 et 48 ppm), deux méthines (45,08 et 77,34 ppm), trois méthylènes (38,97 ; 28,26 et 25,91 ppm) et trois méthyles (20,17 ; 18,67 et 13,32 ppm). Ces données, en jonction avec la valeur du pic moléculaire observé en SM ( $m/z = 154$ ) conduisent à la formule brute  $C_{10}H_{18}O$ . Les valeurs des déplacements chimiques en RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  mettent en évidence la présence d'une fonction alcool à 77,34 ppm. La molécule possède par conséquent une structure cyclique compatible avec celle du (1S-endo)-bornéol.

Les structures proposées pour les composés **1** et **2** (Fig.1) sont confirmées par comparaison de leurs déplacements chimiques en RMN  $^{13}C$  avec ceux de la littérature [28] (Tableau 2).

**Tableau 2.** Comparaison des déplacements chimiques ( $\delta^{13}C$ , ppm) observés pour le (+)-camphre et le (1S-endo)-bornéol avec ceux décrits dans la littérature [28].

n°C	(+) -camphre		(1S-endo)-bornéol	
	$\delta$	$\delta$ [28]	$\delta$	$\delta$ [28]
1	219,74	219,33	77,34	77,21
2	57,72	57,65	49,47	49,49
3	46,80	46,76	48,00	47,99
4	43,31	43,29	45,08	45,20
5	43,06	43,09	38,97	39,01
6	29,93	29,95	28,26	28,32
7	27,06	27,08	25,91	26,01
8	19,79	19,77	20,17	20,20
9	19,15	19,15	18,67	18,71
10	9,25	9,25	13,32	13,33

## Conclusion

En conclusion de cette analyse, nous retiendrons que l'huile essentielle de *S. africana*, du Maroc est caractérisée par un contenu très riche en (+)-camphre, supérieur à 54%. Les autres composés présents à des teneurs importantes sont le (1S-endo)-bornéol (17,24%), l'acétate de bornyle (8,61%) et le 1,8-cinéole (5,27%). A notre connaissance, c'est la plus forte teneur en camphre reportée dans la littérature pour le genre *Santolina*. Cette étude a permis aussi de mettre en évidence la présence de 19 autres composés volatils minoritaires.

En vue de la valorisation de *Santolina africana*, mais aussi d'une aide à sa classification taxonomique, il convient d'envisager une étude plus exhaustive de variabilité chimique intra-station et inter-stations afin de déterminer (i) un éventuel polymorphisme et (ii) l'influence des différents facteurs écophysologiques, génétiques ou encore environnementaux sur cette diversité chimique. Vu la teneur élevée en camphre dans cette espèce, Il convient également d'étudier sa toxicité et son activité antimicrobienne.

## Références

1. Derbesy, M., Touche, J., Zola, A. *J. Ess. Oil Res.* 1(1989) 269.
2. Teixeira da Silva, J.A. *Afr. J. Biotechnol.* 3 (2004) 706.
3. Oberprieler C. *Bot. J. Linn. Soc.* 138 (2002) 255.
4. Aït Youssef, M. *Plantes médicinales de Kabylie.* Paris, France (2006).
5. Bellakhdar, J. *La pharmacopée marocaine traditionnelle.* Paris, France (1997).
6. Villar, A., Giner, R.M., Rios, J.L. *J. Nat. Prod.* 49 (1986) 1143.
7. Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A. *Flavour Fragr. J.* 3 (1988) 37.
8. Vernin, G. *J. Essent. Oil Res.* 3 (1991) 49.
9. Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A. *Flavour Fragr. J.* 7(1992) 37.
10. Lawrence, B.M. *Perfum. Flav.* 22 (1997) 78.
11. Demirci, B., Özek, T., Baser, K.H.C. *J. Essent. Oil Res.* 12 (2000) 625.
12. Garg, S.N., Gupta, D., Mehta, V.K., Kumar, S. *J. Essent. Oil Res.* 13 (2001) 234.
13. Djeddi S., Djebil K., Hadjbourega G., Achour Z., Argyropoulou C., SkaltsaH. *Planta Med.* 74 (2008) 151.
14. Grosso C., Figueiredo A.C., Burillo J., Mainar A.M., Urieta J.S., Barroso J.G., Coelho, J.A., Palavra, A.M.F. *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 3215.
15. Gnani, G., Bertera, C.M., Usai, M., Maffei, M.E. *Phytochemistry* 71(2010), 930.
16. De Pascual, T.J., Vincente, S., Gonzalez, M.S., Bellido, I.S. *Phytochemistry* 22 (1983) 2235.
17. Flamini, G.; Bertoli, A.; Taglioli, V.; Cioni, P.L.; Morelli, I. *J. Ess. Oil Res.* 11 (1999) 6.
18. Palà-Paül, J., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Ramos-Vaz-quez, P., Gomez-Contreras, F., Sanz, J. *Flavour Fragr. J.* 14 (1999) 131.
19. Palà-Paül, J., Perez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Palà-Paül, R., Sanz, J., Conejero, F. *Biochem. Syst. Ecol.* 29 (2001) 663.
20. Casado, J.P., Martinez, A., Navarro, M.C., Utrilla, P.M., Jimenez, J. *J. Ess. Oil Res.* 13 (2001) 170.
21. Liu, K., Rossi, P.G., Ferrari, B., Berti, L., Casanova, J., Tomi, F. *Phytochemistry* 68 (2007) 1698.
22. Fdil R., Lmachraa I., Fdil N., Ezoubeir A., Gadhi C.A. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* 150 (2011) 47.
23. Bouayoun, T., Il Idrissi, A., Fkih Tetouani, S., Bellakhdar, J. *Biruniya* 7 (1991) 79.
24. Clevenger J.F. *J. Am. Pharm. Assoc.* 17(1928) 346.
25. Poli F., Bonsignore L., Loy G., Sacchetti G., Ballero M. *J. Ethnopharmacol.* 56 (1997) 201.
26. Haggag, M.Y., El-Tantawy, M.E., Ahmed F.I., Shams, M.M. *Quality Control of Drugs, Vaccines and Natural Products 5th. Scientific Conference, National Organization for Drug Control and Research, Meridien Hotel-Cairo, 1-3 April* 54 (2000).
27. El-Sahhar, K.F., Nassar D. M., Farag, H. M. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.* 7 (2011) 413.
28. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST).  
[AIST:RIO-DB Spectral Database for Organic Compounds,SDBS](#)

(2014) ; <http://www.jmaterenvironsci.com>