

Composition phénolique et évaluation du potentiel antiradicalaire des extraits de feuilles de *Cassia sieberiana* DC Cronquist (Fabaceae) : une plante couramment utilisée en médecine traditionnelle au Nord de la Côte d'Ivoire

KONE Monon^{1,*}, OUATTARA Logopho Hyacinthe², KONE Nawolo Christian¹, Kablan Ahmont Landry Claude²

¹ Département de Biochimie-Génétique, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

² Département de Mathématiques-Physique-Chimie, UFR Sciences Biologiques, Université Peleforo GON COULIBALY, BP 1328 Korhogo, Korhogo, Côte d'Ivoire.

Date de réception : 11 Février 2024 ; Date de révision : 28 Mars 2024 ; Date d'acceptation : 26 Mai 2024.

Résumé :

Dans l'optique de formuler des substances thérapeutiques accessibles à toutes les classes sociales, les feuilles de *Cassia sieberiana* du Nord de la Côte d'Ivoire ont été utilisées pour déterminer la composition phénolique et évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux et éthanolique préparés à partir de ces feuilles. La détermination de la teneur en composés polyphénoliques a été effectuée selon les méthodes de Folin-Ciocalteu, du trichlorure d'aluminium et à la vanilline sulfurique. Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence de flavonoïdes, de tanins et de coumarines dans les feuilles de *Cassia sieberiana*. Le dosage de composés phénoliques a montré une forte teneur en tanins ($90,88 \pm 2,73$ mg EAT/g) dans l'extrait éthanolique. Cependant, les polyphénols totaux ($32,04 \pm 0$ mg EAG/g) et flavonoïdes ($20,80 \pm 3,09$ mg EQ/g) ont des teneurs statistiquement identiques dans les deux extraits organiques testés. L'évaluation de l'activité antioxydante montre que les deux extraits végétaux possèdent un potentiel antiradicalaire statistiquement identique, IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) = $57,67 \pm 0,01$ et $64,17 \pm 0$ respectivement CSE et CSD. Ces valeurs sont plus élevées que celle de la vitamine C ($IC_{50} = 33,33 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$). Ces extraits végétaux possèdent un bon pouvoir antiradicalaire mais qui reste faible que celui de la vitamine C. Les feuilles de *Cassia sieberiana* pourraient être utilisées pour traiter des pathologies liées au stress oxydatif.

Mots clés : *Cassia sieberiana*, antiradicalaire, composés phénoliques, Côte d'Ivoire.

Phenolic composition and evaluation of the anti-radical potential of leaves extracts of *Cassia sieberiana* DC Cronquist (Fabaceae) : plant commonly used in traditional medicine in northern Ivory Coast

Abstract :

With the aim of formulating therapeutic substances accessible to all social classes the leaves of *Cassia sieberiana* from northern Côte d'Ivoire were used to determine the phenolic composition and evaluate the antioxidant activity of the aqueous and ethanolic extracts prepared from these leaves. The determination of the content of polyphenolic compounds was carried out according to Folin-Ciocalteu, Aluminum Trichloride and Sulfuric Vanillin methods. Phytochemical screening highlighted the presence of phenolic compounds (flavonoids, tannins and coumarins) in the leaves of *C. sieberiana*. The dosage of these phenolic compounds showed high content of tannins (90.88 ± 2.73 mg EAT/g) in the ethanolic extract. However, total polyphenols (32.04 ± 0 mg EAG/g) and flavonoids (20.80 ± 3.09 mg EQ/g) have statistical identical contents in the two organic extract tested. The evaluation of the antioxidant activity shows that the two plant extracts have a statistically identical radical potential, IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) = 57.67 ± 0.01 and 64.17 ± 0 respectively CSE and CSD. These values are higher than that of vitamin C IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) = 33.33 ± 0.01 . These plant extracts have a good antiradical power but it remains weak than that of vitamin C. The leaves of *Cassia sieberiana* could be used to treat pathologies linked to oxidative stress.

Key words: *Cassia sieberiana*, antiradical, phenolic compounds, Ivory Coast.

Introduction

Les plantes médicinales constituent depuis très longtemps une source importante d'agents thérapeutiques (Medour, 2020). Elles continuent d'être un premier recours pour les populations à faible revenu pour leurs soins de santé primaire. Cette utilisation courante des plantes médicinales est due en partie au coût élevé des prestations de santé dites conventionnelles et des médicaments pharmaceutiques (Agban et al., 2013). De plus, de nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées aux plantes (Lee, 2004), lesquelles sont

généralement liées à la richesse des plantes en phytomolécules appelées métabolites secondaires (Karmakar et al., 2011). Ces métabolites secondaires renfermant plusieurs classes de composés sont généralement d'origine phénolique et les plus abondants dans les plantes (Nawaz et al., 2006). Ces composés phénoliques sont dotés d'une importante activité antioxydante déjà reconnue (Okamura et al., 1993 ; Hitara et al., 2009). Ainsi, ils sont susceptibles de traiter de nombreuses pathologies émergentes

(*) Correspondance : KONE M. ; e-mail : konemonon2017@gmail.com ; tél. : (+225) 0707387569/ 0554986598.

liées au stress oxydatif telles que le cancer, le diabète, l'asthme, le vieillissement prématuré, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires (Cheurfa et Allem, 2016, Kamkara et al., 2010). En effet, les antioxydants agissent en bloquant ou en inhibant à la fois la formation et la propagation des radicaux libres (Shah et Modi, 2015). Ces substances antioxydantes suscitent de nos jours beaucoup d'intérêts dans divers domaines mais particulièrement dans celui de la pharmacologie des substances naturelles. En Côte d'Ivoire, la prise en charge des maladies vénériennes, des infections urinaires, de la gonorrhée et de la stérilité est faite en médecine traditionnelle. Les

tradipraticiens utilisent plusieurs remèdes dont les feuilles de *Cassia sieberiana* (Atindehou et al., 2002). Selon ces auteurs, la décoction des feuilles de cette plante se prend pour traiter les vers intestinaux. L'infusé d'écorce de racine s'emploie contre les maladies vénériennes, la stérilité et la dysménorrhée (Atindehou et al., 2002). Cette étude qui se situe à l'interface de la chimie et de la biologie s'est donc fixée pour objectif de déterminer la composition phénolique et d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits de feuilles de cette plante afin de justifier d'une part son usage dans la prise en charge des pathologies ci-dessus citées.

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de *Cassia sieberiana* récoltées au mois de février 2023 à Korhogo dans la région du Poro, Côte d'Ivoire. L'identification de cette plante a été faite en 2010 par le Professeur AKE-ASSI, au Centre National Floristique de l'université Félix Houphouët Boigny, Abidjan. Les feuilles ont été séchées à l'abri du soleil, pulvérisées et la poudre obtenue a été utilisée pour faire les extractions.

1.2. Extraction par décoction

La décoction a été réalisée selon Bohui et al. (2018), légèrement modifié. Une prise d'essai de 50 g de poudre des feuilles de la plante a été introduite dans un ballon contenant 1000 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 20 minutes. Après refroidissement et filtration, les différents filtrats ont été placés dans une étuve à 50°C pendant 3 jours. L'extrait décocté de *C. sieberiana* a été obtenu puis conservé dans un flacon stérile hermétiquement fermé (Zirihi et al., 2003). Cet extrait (CSD) a été utilisé pour le dosage des composés phénoliques, l'évaluation de l'activité antioxydante par spectrophotométrie et la préparation des fractions.

1.3. Extraction par macération éthanolique

Une masse de 50 g de poudre végétale a été introduite dans un blender contenant 1000 mL d'éthanol (95%). Après filtration, le filtrat a été ensuite mis à l'étuve à 50°C pendant 24 heures. L'extrait obtenu a été conservé dans un flacon stérile hermétiquement fermé (Zirihi et al., 2003). Cet extrait (CSE) a été utilisé pour préparer les fractions, doser la teneur en composés phénoliques et évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie.

1.4. Préparation des fractions

Une masse de 2 g de chaque extrait brut a été dissout dans 30 mL d'eau distillée. Un volume de

30 mL de chaque solution préparée a été lessivée par fractionnements successifs avec 3 x 10 mL de dichlorométhane (CH_2Cl_2) et 3 x 10 mL d'acétate éthylique (AcOEt) (Ouattara et al., 2016).

1.5. Criblage phytochimique des composés phénoliques sur plaque CCM

La mise en évidence des grands groupes de composés chimiques (coumarines, flavonoïdes et tanins) a été réalisée au moyen de tests de chromatographie sur couche mince (CCM) réalisés sur des chromatoplaques en gel de silice 60 F254, sur support aluminium (Merck). Le criblage par CCM des fractions a été réalisé suivant les méthodes décrites par Mamyrbékova-Békro et al., (2008). À l'aide de tubes capillaires, 2 μL de chaque fraction est déposé sous forme de point et distant de 0,5 cm des deux de la plaque chromatographique. Les plaques CCM sont ensuite placées dans la cuve de migration contenant un mélange de solvants composé comme suit :

- Dichlorométhane (CH_2Cl_2) /acétate d'éthyle (AcOEt)/hexane (C_6H_{14}) (2:2:1 ; V/V/V) ; pour les extraits dichlorométhanes ;
- $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{C}_6\text{H}_{14}$ (3:4:2) (V/V/V) et $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{CH}_3\text{COOH}$ (1 : 3,5 :1) (V/V/V) pour les extraits acétate-éthyliques.

Après développement, les chromatogrammes ont été visualisés grâce aux révélateurs (AlCl_3 , FeCl_3 et KOH) pour les flavonoïdes, les tanins et les coumarines respectivement. Puis, les plaques ont été observées à l'UV 365 nm. Les colorations apparaissant sous forme de spots, sont enregistrées et les rapports frontaux (Rf) calculés.

1.6. Dosage par spectrophotométrie des composés phénoliques

1.6.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits est estimée par la méthode de Folin-ciocalteu (Adesegun et al., 2007). Au cours de cette méthode, 1 mL de l'extrait est ajouté à 5 mL du réactif de Folin-ciocalteu auxquels ont été ajoutés 4 mL d'une solution de bicarbonate de sodium. L'extrait a été vigoureusement agité et incubé à l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante. L'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc préparé sans extrait. La teneur des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g de l'extrait).

1.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantité de flavonoïdes contenus dans les extraits a été déterminée par la méthode du Trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Ayoola et al., 2008). Dans cette méthode, 0,5 mL de la solution d'AlCl₃ (2% m/v) est mélangé à 0,5 mL de l'extrait de la plante, à cela sont ajoutés 0,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution d'acétate de sodium. Après 30 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance du mélange est lue à 430 nm contre un blanc préparé sans extrait. La quercétine est utilisée comme standard. La quantité des flavonoïdes est estimée en milligramme équivalents de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

1.6.3. Dosage des tanins

Dans un tube à essai contenant 0,5 mL de l'extrait, sont ajoutés 2,5 mL d'une solution du réactif à la vanilline phénolique (1%) préparée dans de l'acide sulfurique concentré. Le mélange est incubé durant 30 min et l'absorbance est lue à 500 nm contre un blanc préparé sans extrait (Cleriana, 2020). La quantité de tanins est déduite à partir de la droite d'étalonnage établie avec l'acide tannique et est exprimée en milligramme d'équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/g d'extrait).

1.7. Evaluation de l'activité antioxydante

1.7.1. Evaluation du pouvoir antioxydant par CCM

La détection du pouvoir antioxydant par CCM a été menée selon la méthode décrite par Takao et al. (1994). Au cours de cette opération, un volume de 10 µL de chaque solution d'extrait est déposé sur une chromatoplaque (gel de silice 60 F254, sur support aluminium (Merck)). La chromatoplaque est placée dans une cuve à chromatographie et l'éluant utilisé est le même

2. Résultats et Discussion

2.1. Résultats

2.1.1. Rendement des extraits totaux

que celui du criblage phytochimique. Après développement, le chromatogramme est séché puis révélé à l'aide d'une solution éthanolique de DPPH (0,2 mg/mL). Après 30 min de temps optimal, les constituants des fractions présentant une activité antiradicalaire potentielle sont révélés sous forme de spots jaune-pâle sur fond violet.

1.7.2. Evaluation du pouvoir antioxydant par spectrophotométrie

Le potentiel antioxydant des extraits a été évalué suivant la méthode (Bohui et al., 2018). Le DPPH est solubilisé dans de l'éthanol (EtOH) absolu pour obtenir une solution de concentration 20 µg/mL. Différentes concentrations (2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL et 62,5 µg/mL) de l'extrait sont préparées dans l'éthanol (EtOH) absolu. Dans des tubes secs sont introduits 2,5 mL d'extrait et 1 mL de solution éthanolique de DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm contre un blanc formé de 2,5 mL l'éthanol (EtOH) pur et 1 mL de solution de DPPH. Le témoin positif de référence est l'acide ascorbique (vitamine C), préparé dans les mêmes conditions que l'essai. Les pourcentages d'inhibition du DPPH sont calculés suivant la formule :

$$\%I = (Abs_{S_{blanc}} - Abs_{S_{extrait}}) / Abs_{S_{blanc}} \times 100\%$$

%I : Pourcentage d'inhibition ;

$Abs_{S_{blanc}}$: Absorbance du blanc ;

$Abs_{S_{extrait}}$: Absorbance de l'extrait.

Les concentrations nécessaires pour piéger 50% (CI50) du DPPH sont déterminées sur les graphiques représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits et de la vitamine C.

1.8. Analyses statistiques

Le logiciel GraphPad Prism version 8.0.2 a permis de tracer les graphiques. Les analyses statistiques des résultats ont été effectuées à l'aide du logiciel statistica version 7.1. Le test de différence significative minimale (LSD) de Fisher a été utilisé pour déterminer les différences significatives entre plusieurs moyennes et le test T de Student pour comparer deux moyennes. Pour toutes les analyses statistiques, les différences ont été considérées significatives au seuil de significativité de 5 %.

Les rendements d'extraction sont consignés dans le Tableau I. Le plus grand rendement a été obtenu avec le macéré éthanolique (CSE), de

couleur vert-foncé ($39,11 \pm 1,63 \%$) et le plus faible avec le décocté aqueux CSD) coloré en marron ($38,67 \pm 0,44 \%$). En effet, l'analyse

statistique indique qu'il n'y a pas de différence significative entre ces rendements d'extraction ($p \leq 0,05$).

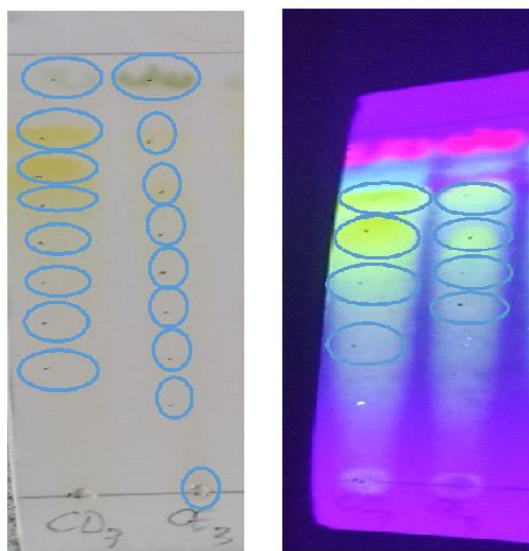
Tableau I : Rendements d'extraction

Types Extraction	Solvant d'extraction	Couleur des extraits	Rendement (%)
Décoction (CSD)	Aqueux	Marron	$38,67 \pm 0,44^a$
Macération (CSE)	Éthanol	Vert-foncé	$39,11 \pm 1,63^a$

(Moyenne \pm déviation standard de 3 essais ; a : variation en pourcentage du rendement à la différence significative $P \leq 0,05$).

2.1.2. Criblage phytochimique des composés phénoliques par CCM

Les différents composés phénoliques ont été recherchés dans les fractions au dichlorométhane et à l'acétate-éthyliques des feuilles de *Cassia sieberiana*. Les résultats sont indiqués dans les Tableaux II à IV. Ces tableaux renseignent sur les rapports frontaux (Rf), dans le visible et à l'ultra-violet (UV) des différentes colorations. Les réactifs : $AlCl_3$, $FeCl_3$ et KOH ont permis de révéler respectivement les flavonoïdes, les tanins et les coumarines.



A : Dans le visible

B : A l'ultra-violet

Figure 1 : Détection des Flavonoïdes avec $FeCl_3$ dans le développant $CH_2Cl_2/AcOEt/C_6H_{14}$ (3 :4 :2) (V/V/V).



Figure 2 : Détection des tanins dans le visible avec le $FeCl_3$ dans le développant $CH_2Cl_2/AcOEt/CH_3COOH$ (1:3,5:2) (V/V/V).



A : Dans le visible

B : A l'ultra-violet

Figure 3 : Détection des coumarines avec KOH dans le développant $CH_2Cl_2/AcOEt/CH_3COOH$ (1:3,5:2) (V:V:V).

Tableau II : Détection des flavonoïdes dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/C₆H₁₄ (3:4:2) (V/V/V) à partir des fractions acétate-éthylique (AcOEt)

Extraits	R _f (Couleur au visible, couleur à l'UV) : Composé possible
CSD (AcOEt)	0,95 (Vert, Rien) : flavonoïde ; 0,88 (Rien, Bleu) : flavonoïde ; 0,8 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,7 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,63 (Jaune, Rien) : flavonoïde ; 0,58 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,54 (Jaune, Rien) : flavonoïde ; 0,48 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,43 (Jaune, Rien) : flavonoïde ; 0,38 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,28 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,16 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,00 (Rien, Jaune) : flavonoïde
CSE (AcOEt)	0,95 (Vert, Rien) : flavonoïde ; 0,89 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,8 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,65 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,6 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,56 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,48 (Jaune, Rien) : flavonoïde ; 0,4 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,3 (Jaune, Jaune) : flavonoïde ; 0,21 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,18 (Jaune, Rien) : flavonoïde ; 0,1 (Rien, Jaune) : flavonoïde ; 0,00 (Jaune, Jaune) : flavonoïde

CSD : Décocté aqueux de *Cassia sieberiana* ; CSE : Macéré éthanolique de *Cassia sieberiana*

Tableau III : Détection des Tanins dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/CH₃COOH (1 :3,5 :1) (V/V/V) à partir des fractions acétate-éthylique (AcOEt)

Extraits	R _f (Couleur au visible) : Composé possible
CSD (AcOEt)	0,86 (gris) : tanin ; 0,75 (gris) : tanin
CSE (AcOEt)	0,95 (gris) : tanin ; 0,85 (gris) : tanin

CSD : Décocté aqueux de *Cassia sieberiana* ; CSE : Macéré éthanolique de *Cassia sieberiana*

Tableau IV : Détection des coumarines dans le développant CH₂Cl₂/AcOEt/ C₆H₁₄ (2 :2 :1) (V/V/V) à partir des fractions au dichlorométhane (CH₂Cl₂)

Extraits	R _f (Couleur au visible, Couleur à l'UV) : Composé possible
CSD (CH ₂ Cl ₂)	0,95 (Rien, rose) : coumarine, 0,90 (Rien, bleu) : coumarine
CSE (CH ₂ Cl ₂)	0,95 (Jaune, rose) : coumarine, 0,90 (Rien, violet) : coumarine

CSD : Décocté aqueux de *Cassia sieberiana* ; CSE : Macéré éthanolique de *Cassia sieberiana*

2.1.3. Teneur en composés phénoliques

Les résultats de la quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes totaux et des tanins dans les extraits ont été consignés dans le Tableau V.

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées à partir de la droite d'étalonnage d'acide gallique ($Y = 1,645 X + 0,0113$, $R^2 = 0,9945$). Les teneurs des deux extraits sont

statistiquement identiques avec $32,04 \pm 0$ mg EAG/g pour le décocté aqueux et $31,84 \pm 5,54$ mg EAG/g le macéré éthanolique.

Les teneurs en flavonoïdes totaux ont quant à elles été déterminées à partir de la droite d'étalonnage de la quercétine ($Y = 6,2 X + 0,0067$, $R^2 = 0,994$).

Tableau V : Teneurs des différentes classes de composés phénoliques des extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *Cassia sieberiana*

Extraits	Polyphénols totaux (mg EAG /g)	Flavonoïdes (mg EQ/g)	Tanins (mg EAT/g)
Décocté	$32,04 \pm 0^a$	$20,80 \pm 3,09^b$	$79,44 \pm 0,35^c$
Ethanolique	$31,84 \pm 5,54^a$	$18,30 \pm 4,13^b$	$90,88 \pm 2,73^d$

(Moyenne \pm écart type de 3 essais) a, b, c, d : indique les variations de la teneur des différentes classes de composition phénoliques à la différence significative $P \leq 0,05$.

L'extrait aqueux a donné la meilleure teneur ($20,80 \pm 3,09$ mg EQ/g).

Cependant, l'analyse statistique indique qu'il n'y a pas une différence significative entre les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits éthanolique et aqueux à ($p \leq 0,05$).

Enfin, les teneurs en tanins des différents extraits ont été déterminées à partir de la droite d'étalonnage de l'acide tannique ($Y = 4,3993X + 0,0212$, $R^2 = 0,9963$).

L'extrait éthanolique a obtenu la meilleur teneur ($90,88 \pm 2,73$ mg EAT/g) contre $79,44 \pm 0,35$ mg

EQ/g pour l'extrait aqueux. L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les teneurs en tanins des deux extraits à $P \leq 0,05$.

2.1.4. Activité antioxydante

▪ **Pouvoir inhibiteur du radical DPPH par CCM**

L'activité antioxydante de ces composés s'est manifestée par l'apparition de couleur jaune pâle sur fond violet et les valeurs de leurs rapports frontaux (R_f) ont été consignées dans les Tableaux VI, VII et VIII.



Figure 4 : Détection de l'activité antioxydante des fractions dans le développant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{C}_6\text{H}_{14}$ (3 :4 :2) (V:V:V) par les flavonoïdes.

Tableau VI : Phytocomposés flavonoïdes, piègeurs du DPPH dans le développant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{C}_6\text{H}_{14}$ (3 :4 :2) (v/v/v) à partir des fractions acétate-éthylque (AcOEt)

Extraits	R_f (Couleur) : Composé possible
CSD (AcOEt)	0,95 (Jaune) : flavonoïde ; 0,88 (Jaune) : flavonoïde ; 0,80 (Jaune) : flavonoïde ; 0,70 (Jaune) : flavonoïde ; 0,63 (Jaune) : flavonoïde ; 0,54 (Jaune) : flavonoïde ; 0,43 (Jaune) : flavonoïde ; 0,38 (Jaune) : flavonoïde ; 0,28 (Jaune) : flavonoïde ; 0,20 (Jaune) : NI ; 0,09 (Jaune) : NI ; 0,00 (Jaune) : flavonoïde
CSE (AcOEt)	0,95 (Jaune) : flavonoïde ; 0,89 (Jaune) : flavonoïde ; 0,80 (Jaune) : flavonoïde ; 0,71 (Jaune) : NI ; 0,65 (Jaune) : flavonoïde ; 0,56 (Jaune) : flavonoïde ; 0,48 (Jaune) : flavonoïde ; 0,38 (Jaune) : NI ; 0,30 (Jaune) : flavonoïde ; 0,18 (Jaune) : flavonoïde ; 0,10 (Jaune) : flavonoïde ; 0,00 (Jaune) : flavonoïde

NI : composé non identifié.

Tableau VII : Phytocomposés tanins, piègeurs du DPPH dans le développant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{CH}_3\text{COOH}$ (1 :3,5 :1) (V/V/V) à partir des fractions acétate-éthylque (AcOEt)

Extraits	R_f (Couleur) : Composé possible
CSD (AcOEt)	0,93 (Jaune) : NI ; 0,86 (Jaune) : tanin ; 0,80 (Jaune) : NI ; 0,75 (Jaune) : tanin ; 0,64 (Jaune) : NI ; 0,56 (Jaune) : NI ; 0,00 (Jaune) : NI
CSE (AcOEt)	0,95 (Jaune) : tanin ; 0,85 (Jaune) : tanin ; 0,79 (Jaune) : NI ; 0,71 (Jaune) : NI ; 0,64 (Jaune) : NI ; 0,55 (Jaune) : NI ; 0,46 (Jaune) : NI ; 0,40 (Jaune) : NI ; 0,30 (Jaune) : NI ; 0,21 (Jaune) : NI ; 0,15 (Jaune) : NI ; 0,06 (Jaune) : NI ; 0,00 (Jaune) : NI

NI : composé non identifié.

Tableau VIII : Phytocomposés coumarines, piègeurs du DPPH dans le développant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{C}_6\text{H}_{14}$ (2 :2 :1) (V:V:V) à partir des fractions au dichlorométhane (CH_2Cl_2)

Extraits	R_f (Couleur) : Composé possible
CSD (CH_2Cl_2)	0,94 (Jaune) : coumarine ; 0,81 (Jaune) : NI ; 0,75 (Jaune) : NI
CSE (CH_2Cl_2)	0,94 (Jaune) : coumarine ; 0,89 (Jaune) : NI ; 0,79 (Jaune) : NI ; 0,69 (Jaune) : NI ; 0,63 (Jaune) : NI ; 0,58 (Jaune) : NI ; 0,50 (Jaune) : NI ; 00 (Jaune) : NI

▪ **Détermination du pouvoir inhibiteur du radical DPPH par spectrophotométrie**

Les courbes de la figure 1 présentent les pourcentages d'inhibition des extraits décocté, éthanolique et de la vitamine C vis-à-vis du radical DPPH. Les résultats font ressortir un effet dose-dépendant aux différentes concentrations du DPPH. L'exploitation des courbes a abouti à

la détermination des valeurs de la CI₅₀, allant de 33,33 ± 0,01 µg/mL (vitamine C) à 64,17 ± 0 µg/mL (CSD) en passant par 57,67 ± 0.01 µg/mL (CSE). Il existe une différence significative entre les valeurs des CI₅₀ de la vitamine C et celles des extraits étudiés qui sont statistiquement identiques.

Tableau IX : pouvoir d'inhibition du radical DPPH des extraits et de la Vitamine C

	Vitamine C	Extrait éthanolique	Extrait aqueux
CI ₅₀ (µg/mL)	33,33 ± 0,01 ^a	57,67 ± 0,01 ^b	64,17 ± 0,00 ^b

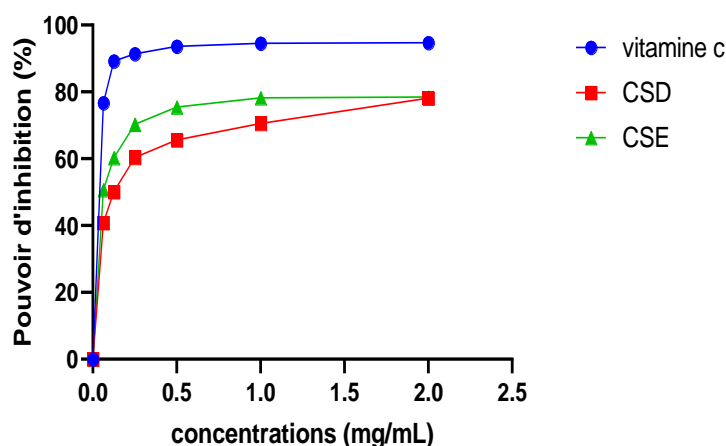


Figure 5 : Pouvoir d'inhibition du radical DPPH des extraits et de la Vitamine C

2.2. Discussion

Les molécules bioactives présentes dans les espèces végétales ont une très grande importance pour le traitement de certaines pathologies. Il a été question au cours de ce travail, de déterminer la composition phénolique et d'évaluer l'activité antioxydante des extraits décocté et éthanolique des feuilles de *Cassia sieberiana*. Ces deux méthodes d'extractions ont été choisies pour se rapprocher des pratiques traditionnelles. Le rendement d'extraction obtenu par macération à l'éthanol est supérieur à celui de la décoction. Cependant l'analyse statistique indique qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux résultats. Plusieurs raisons pourraient expliquer ce résultat. Le rendement d'extraction peut être lié à des facteurs tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Lehout et Laib 2015). Des travaux de recherche ont également montré que la macération à l'alcool extrait mieux les composés phytochimiques que la macération à l'eau et la décoction (Kebièche et al, 2011). Les valeurs des rendements pourraient s'expliquer dans notre cas, par le fait que les substances solubles dans l'eau soient présentes en quantité

importante dans les feuilles de *Cassia sieberiana*. Les résultats obtenus par Lehout et Laib (2015) avec les extraits décocté et hydroalcoolique des feuilles de *Artemisia herba* corroborent ceux de notre essai. De même des travaux réalisés au Mali à partir de feuille de *Cassia siemena* récolté au Togo a abouti a des résultats identiques à ceux de notre essai (Ahonsou, 2011). Ces résultats pourraient justifier l'usage de l'eau et de l'éthanol comme solvants d'extraction couramment utilisés en médecine traditionnelle. En effet ces solvants sont réputés pour extraire un grand nombre de phytoconstitués (Liu et al., 2017).

Le profil CCM, des extraits acétatiques et au dichlorométhane a mis en exergue la présence de flavonoïdes, de tanins, de coumarines. Ce profil indique une forte présence de flavonoïdes dans les deux extraits acétatiques (9 composés) dans le visible et (4 composés) à la lampe UV contrairement aux tanins qui ont présenté que 02 composés dans le visible. Ces résultats traduisent que les extraits acétatiques étaient plus riches en flavonoïdes qu'en tanins. Une comparaison des valeurs des rapports frontaux indique que les flavonoïdes contenus dans les extraits acétatiques

de *Cassia sieberiana* possédaient autant de composés polaires que apolaires alors que les tanins étaient riches qu'en substances apolaires. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Traore, et al, (2017), Evenamede et al., (2017). En effet, Traore, et al, (2017) ont révélé la présence de tanins et de flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles de *C. sieberiana* provenant du Burkina Faso. Ils ont aussi révélé d'autres composés tels que les anthocyanosides, les saponosides, les composés réducteurs et les stéroïdes triterpéniques. De plus, le tri phytochimique réalisé par Evenamede et al., (2017) sur l'extrait éthanolique des feuilles de *C. sieberiana* du Togo a mis en évidence la présence des flavonoïdes, tanins et coumarines. La présence de ces métabolites secondaires dans l'espèce *C. sieberiana* pourrait alors justifier son utilisation traditionnelle dans le traitement de diverses pathologies (Kpegba et al., 2011). Des auteurs ont aussi montré que les différents types de composés chimiques mis en évidence dans les feuilles de cette plante ont des effets thérapeutiques avérés (Nene Bi et al., 2008).

S'agissant du dosage des composés polyphénoliques, les résultats ont montré des teneurs statistiquement identiques en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans les deux extraits alors que l'extrait éthanolique a obtenu la teneur la plus élevée en tanins. Ces résultats ne concordent pas avec ceux du criblage phytochimique qui ont montré une forte présence de flavonoïdes contrairement aux tanins. Ces résultats pourraient traduire que les tanins mis en évidence dans les extraits acétatiques par FeCl_3 pourraient être des tanins hydrolysables, différents des tanins condensés dont la teneur a été déterminée. Des travaux réalisés sur l'extrait éthanolique des feuilles de *C. sieberiana* récoltées au Togo ont présenté une forte teneur en polyphénols totaux ($276,62 \pm 26,120$ mg EAG/g) (Evenamede et al., 2017) confirmant ainsi la richesse de ces feuilles en composés phénoliques. La différence de teneurs en polyphénols totaux obtenues dans cette étude ($31,84 \pm 5,54$ à $32,04 \pm 0,00$ mg EAG/g) pourrait s'expliquer à plusieurs niveaux. En effet, différentes études ont montré que les facteurs géographiques, climatiques, génétiques, mais

aussi le degré de maturation de la plante et la durée de conservation des extraits ont une forte influence sur la teneur des composés phytochimiques (Merouane et al., 2014). La présence de ces différents composés phénoliques (flavonoïdes, tanins et coumarines) dans les feuilles de *C. sieberiana* pourrait justifier l'utilisation de cet organe dans le traitement traditionnel de plusieurs pathologies. En effet, les composés phénoliques sont dotés de propriétés antibactériennes, antiulcéreuses (Sannomiya et al., 2005) ; analgésiques (Melagraki et al., 2009) ; anti-inflammatoires, antiparasitaires (Hitara et al., 2009) et antioxydantes (Sarr et al., 2015).

L'évaluation de l'activité antioxydante par des analyses qualitatives et quantitatives a montré que les extraits aqueux et éthanolique des feuilles de *C. sieberiana* possèdent un pouvoir antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH. L'analyse qualitative de l'activité antioxydante a montré que les flavonoïdes, les tanins et les coumarines décelés lors du criblage phytochimique seraient en partie responsables de cette activité observée. Quant à l'aspect quantitatif, les valeurs des CI_{50} des extraits sont statistiquement identiques. Cependant, il existe une différence significative entre la CI_{50} de la vitamine C et celles des extraits. Ce résultat traduit que bien qu'ayant une activité antioxydante mise en exergue par les profils CCM, le potentiel antioxydant des extraits végétaux est faible comparativement à celui de la molécule de référence (vitamine C). Les deux extraits sont donc moins antioxydant par rapport à la vitamine C. Ce résultat corrobore celui de Evenamede et al. (2017), qui ont montré que les extraits éthanoliques des feuilles, écorces et racines de *Cassia sieberiana* avaient un potentiel antioxydant plus faible que celui de la quercétine prise comme molécule de référence. La présence des composés polyphénoliques mis en évidence contribuerait fortement à l'activité antioxydant inhérent à *Cassia sieberiana*. Grâce à la présence de groupement hydroxyle, les composés polyphénoliques peuvent réagir avec les radicaux libres (Sokol-Letowska et al., 2007). Ainsi, les feuilles de *C. sieberiana* pourraient être utilisées pour traiter les pathologies liées aux stress oxydatif.

Conclusion

Les extractions par décoction aqueuse et par macération éthanolique ont obtenu les mêmes rendements d'extraction $38,67 \pm 0,44$ et $39,11 \pm 1,63$ respectivement. L'eau ou l'alcool peuvent être utilisés pour extraire les composés phénoliques

des feuilles de *C. sieberiana*. Ces travaux ont mis en exergue la présence des composés phénoliques flavonoïdes, tanins et coumarines dans les feuilles de *C. sieberiana*. En ce qui concerne le dosage des composés phénoliques

d'intérêt, il a montré une teneur élevée en tanins dans l'extrait éthanolique alors que les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux ont obtenu des teneurs statistiquement identiques dans les deux extraits organiques testés. L'évaluation qualitative et quantitative de l'activité antioxydante a montré que les feuilles de *Cassia sieberiana* sont de bons antioxydants mais présente un potentiel antioxydant faible par

rapport à la vitamine C. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation des feuilles de cette plante dans le traitement traditionnel de plusieurs pathologies liées au stress oxydatif. Cependant, une étude de la toxicité s'avère nécessaire en vue de justifier l'usage traditionnel de *Cassia sieberiana* et d'envisager la formulation de médicament traditionnel amélioré.

Références

- Adesegun S. A., Fajana A., Orabueze C.I. et Coker H.A.B., 2007.** Evaluation of antioxidant properties of *Phaulopsis fascispala* C B Cl (Acanthaceae). *Evidence based complementary and alternative medicine*, 6(2): 227-231.
- Ahonsou A.Y.E., 2011.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques des feuilles de *Cassia siamea* Linn&Bar (Caesalpiniaceae) utilisées dans le traitement traditionnel du paludisme au TOGO. Thèse de Pharmacie à la faculté de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Université de Bamako (MALI) :104 p.
- Agban A., Kpemissi K.E.G.A., Tegueni K., Batawila K., Koumaglo K., Akpagana K., 2013.** Evaluation des activités antimicrobiennes de *Tridax procumbens* (Asteraceae) *Jatropha multifida* (Euphorbiaceae) et de *Chromolaena odorata* (Asteraceae). *European Scientific Journal*, 9 (36) : 278-290.
- Atindehou K.K., Koné M., Terreaux C., Traoré D., Hostettmann K. and Dosso M., 2002.** Evaluation of the antimicrobial potential of medical plants from the Ivory Coast. *Journal of Botany*, 16(5): 497-502.
- Ayoola G.A., Ipav S. S., Solidiya M. O., Adepoju-Bello A.A., Coker H.A.B. et Odugbemi T.O., 2008.** Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae). *International journal of health research.*, 1(2): 81-93.
- Bohui P.S.G., Adima A.A., Niamké F.B., N'Guessan J.D., 2018.** Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46 : 50-58.
- Cheurfa, M. et Allem R., 2016.** Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.
- Cleriana G., 2020.** Dosage de Tanins condensés libres dans les aliments. HAL Id : hal-02961619 <https://hal.inrae.fr/hal-02961619>.
- Evenamede K.S., Kpegba K., Idoh K., Agbonon A., Simalou O., Boyode P., Oke O.E. et Gbeassor M., 2017.** Comparative study of the toxicity of hydroethanolic extracts of the root and stem barks of *Cassia sieberiana* D.C. on Wistar rats. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 7(3): 47-52.
- Hitara T., Fujii M., Akita K., Yanaka N., Ogawa K., Kuroyanagi M. et Hongo D., 2009.** Identification and physiological evaluation of the components from Citrus fruits as potential drugs for anti-corpulence and anticancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17: 25- 28.
- Kamkara A., Javana A.J., Asadib F., Kamalinejad M., 2010.** The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7): 1796-1800.
- Karmakar I., Dolai N., Saha P., Sarkar N., Bala A., Kanti P., 2011.** Scavenging activity of *Curcuma caesia* rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental Medicine*, 11: 221-228.
- Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R., 2011.** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*, 9 : 274-282.
- Kpegba K., Agbonon A., Petrovic A. G., Amouzou E., Gbeassor M., Proni G., Nesnas N., 2011.** Epiafzelechin from the root bark of *Cassia sieberiana* : Detection by DART Mass spectrometry spectroscopic characterization and antioxidant properties. *Journal of Natural Products*, 74 : 455-459.
- Lehout R. et Laib M., 2015.** Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba* Asso. Mémoire de Master, Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université des Frères Mentouri Constantine Algérie, 76p.
- Lee K.H. (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead. *Journal of Natural Products*, 67: 273-283.

- Liu Z., Mo K., Fei S., Zu Y. et Yang L., 2017. Efficient approach for the extraction of proanthocyanidins from *Cinnamomum longepaniculatum* leaves using ultrasonic irradiation and an evaluation of their inhibition activity on digestive enzymes and antioxidant activity in vitro. *Journal of Separation Science*, **40**(15) : 3100-3113.
- Mamyrbékova-Békro J. A., Konan M. K., Békro Y. A., Djié Bi M.G., Zomi Bi T. J., Mambo V. et Boua B. B. (2008). Phytochemicals of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography. *European Journal of Scientific Research*, **24** (2): 219-228.
- Medour A., 2020. Etude des activités biologiques des extraits méthanoliques des fruits et des écorces de racines de *Capparis spinosa* L. Thèse de Doctorat en Biotechnologies. Université de Batna 2, Batna (Algérie), 98 p.
- Melagraki G., Afantitis A., Igglessi-Markopoulou O., Detsi A., Koufaki M., Kontogiorgis C., Hadjipavlou et Litina D., 2009. Synthesis and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of Novel coumarin – 3 – aminoamides and their α -lipoic acid adducts. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44**(7): 3020-3026
- Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari B.A.K. et Saadi A., 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *International Journal Biology Chemical Sciences*, **8**(4): 1865-1870.
- Nawaz H., Shi J., Mittal G. S. et Kakuda Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and purification technology*, **48** (2): 176- 181.
- Nene Bi SA, Traore F, Zahoui O.S, Soro T.Y., 2008. Composition chimique d'un extrait aqueux de *bridelia ferruginea* benth. (euphorbiaceae) et études de ses effets toxicologique et pharmacologique chez les mammifères. *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, **04**(2) : 287 - 305.
- Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M. et Takahara Y. (1993). Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. *Phytochemistry*, **33**: 557- 561.
- Ouattara L. H., Kabran M. G. R., Kadja A. B., Tano B. M., Mamyrbekova J. A. et Bekro Y. A., 2016. Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes de Côte d'Ivoire utilisées dans le traitement traditionnel des hémorroïdes. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **15**(4) : 881-893.
- Sannomiya M., Fonseca V., Da silva M., Rocha L., Dos Santos L., Hiruma-Lima C., Britoc A. et Vilegas W., 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leave extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**: 1- 6.
- Sarr S.O., Fall A.D., Gueye R., Diop A., Diatta K., Diop N., NDiaye B. et Diop Y. M., 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **9**(3): 1263-1269.
- Shah P. et Modi H.A., 2015. Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology*, **3** (6): 636-641
- Sokol-Letowska A., Oszmianski J. et Wojdylo A. (2007). Antioxydant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*, **103**: 853-859.
- Takao T., Kitatami F., Watanabe N., Yagi A. et Sakata K., 1994. A simple screening method for antioxydants and isolation of several antioxydants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **58** :17-30.
- Traore A., Ouedraogo S., Belemilga M.B., Kabore A., and Guissou I.P., 2017. Phytochemical analysis and ovicidal activity of *Cassia sieberiana*, *Guiera senegalensis* and *Excoecaria grahamii* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **11**(44) : 554-560.
- Zirih G.N., Kra A.K.M. et Guédé-Guina F., 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) « PYMI » sur la croissance in vitro de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et de Pharmacopées Africaines*, **17** : 11-18.