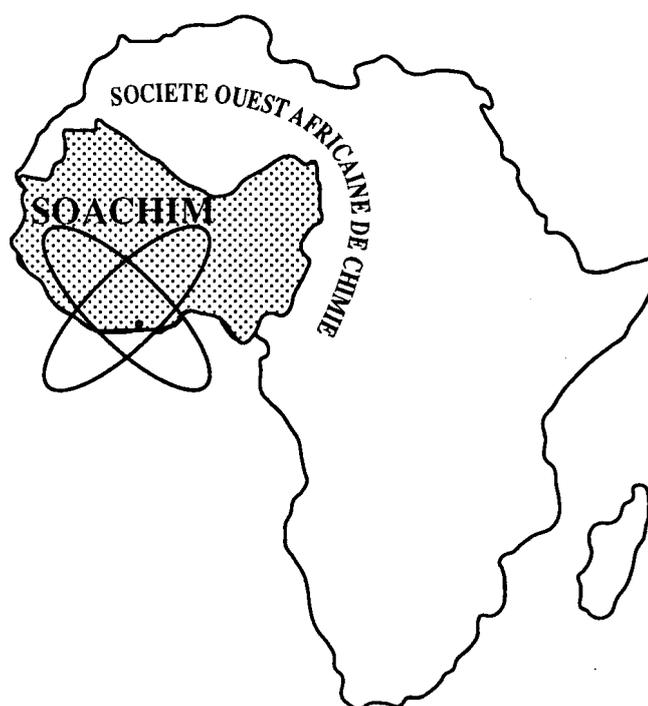


# *Effets du stade de croissance de *Cleome gynandra* L. sur les teneurs en polyphénols des extraits de tiges feuillées*

**Jonas Mano , Jean Claude W. Ouédraogo , Martine Koné ,  
Yvonne L. Bonzi-Coulibaly**

*Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*  
*J. Soc. Ouest-Afr. Chim. (2023), 052 : 1 - 8*  
28<sup>ème</sup> Année, 2023



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

<http://www.soachim.info>

## Effets du stade de croissance de *Cleome gynandra* L. sur les teneurs en polyphénols des extraits de tiges feuillées

Jonas Mano <sup>1</sup>, Jean Claude W. Ouédraogo <sup>1\*</sup>, Martine Koné <sup>2</sup>,

Yvonne L. Bonzi-Coulibaly <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie Analytique, Environnementale et Bio-Organique (LCAEBiO), Département de Chimie, UFR/SEA, Université Joseph KI-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

<sup>2</sup> Département de Substances Naturelles, Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies (IRSAT), Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), 03 BP 7047 Ouagadougou 03, Burkina Faso

(Reçu le 22/11/2022 – Accepté après corrections le 20/03/2023)

**Résumé :** *Cleome gynandra* L. est une plante alimentaire très prisée. Sa préparation consiste à faire bouillir ses tiges feuillées et jeter l'eau de cuisson, malgré la présence de phytoconstituants qui peuvent être utilisés dans des applications biopesticides. Pour évaluer la variation du profil phytochimique selon le stade de croissance, les tiges feuillées ont été récoltées à différentes périodes de la culture (30, 45 et 60 jours après semis). Des décoctions aqueuses et des macérations hydroalcooliques sont ensuite réalisées. L'analyse des phytoconstituants a été réalisée par le dosage des flavonoïdes et des polyphénols totaux, l'activité antiradicalaire ainsi qu'une analyse par la Chromatographie sur Couche Mince (CCM). Les résultats ont montré que les extraits de plants des 30 jours contenaient plus de phytoconstituants que les plus âgés. L'extrait éthanolique des plants de 30 jours a présenté la plus forte teneur en flavonoïdes totaux, soit 25,68 milligrammes équivalent quercétine par gramme d'extrait sec. L'hydrolyse acide de cet extrait éthanolique a permis de déceler par analyse CCM, la rutine comme flavonoïde majoritaire. Pour une exploitation de l'espèce *Cleome gynandra* L. pour ses polyphénols, la période de récolte préconisée est de 30 jours après le semis ou avant floraison.  
**Mots clés :** *Cleome gynandra* L. ; composés polyphénoliques ; flavonoïdes ; Rutine ; stade phénologique.

## Growth stage effects of *Cleome gynandra* L. on polyphenol of leafy stems extracts

**Abstract:** *Cleome gynandra* L. is a food plant very prized. Its cooking consists of boiling its leafy stems and discard the cooking water despite the presence of phytoconstituents that can be used in biopesticide applications. To assess phytochemical profile variation according to the growth state, its leafy stems were harvested at different periods of cultivation (30, 45 and 60 days after sowing). Aqueous decoctions and hydroalcoholic macerations were then performed. The phytoconstituents analysis consisted of the determination of total flavonoids and polyphenols contents, scavenging activity and qualitative analysis using Thin Layer Chromatography (TLC). The results showed that extracts from 30-day-old plants contained more phytoconstituents than those from older plants. The 30-day ethanolic extract presented the highest content of total flavonoids with a value of 25.68 milligram quercetin equivalent per gram of dry extract. The acid hydrolysis of this ethanolic extract, allowed to detect by TLC analysis, rutin as the major flavonoid. For an exploitation of the specie *Cleome gynandra* L. for its polyphenols, the recommended harvest period is 30 days after sowing or before flowering.

**Keywords:** *Cleome gynandra* L.; polyphenolic compounds; total flavonoids; Rutin; phenological stage.

---

\* Auteur de toute correspondance; Tel: (+226) 70 99 85 11; E-mail: [ouedraclaude@yahoo.fr](mailto:ouedraclaude@yahoo.fr)

## 1. Introduction

Les propriétés pesticides que possèdent plusieurs plantes viennent du fait que pour leur propre défense, elles synthétisent des agents chimiques qui leur permettent de contrôler leurs bioagresseurs en repoussant ou en inhibant leurs actions [1; 2]. Parmi les familles chimiques citées pour leur propriété biopesticide, figurent les polyphénols dont les flavonoïdes du fait de leur pouvoir antioxydant responsable de nombreuses propriétés biologiques [3]. Les vertus attribuées à la plante *Cleome gynandra* L., source naturelle d'antioxydants, sont très nombreuses. En effet, *Cleome gynandra* L. est entièrement utilisée (feuilles, tiges, racines ou graines) pour soigner diverses maladies de la peau, le paludisme, les gastroentérites [4], le diabète et le cancer [5]. Cette plante présente également des propriétés insecticides et répulsives. La baisse du nombre de ravageurs lors de son association en culture, intercalée avec le chou au champ et les rosiers dans les serres de culture a été vérifiée [6]. L'extrait aqueux de *Cleome gynandra* L. peut être pulvérisé sur une culture de riz pour réduire les populations de charançons [7; 8]. Ainsi, les extraits de *Cleome gynandra* L. peuvent être utilisés dans des formulations phytosanitaires pour le contrôle des ravageurs et maladies en agriculture [9]. Cependant, la composition en métabolites spécifiques notamment les composés phénoliques d'une plante, varie quantitativement et qualitativement selon certains facteurs environnementaux [10]. Ces facteurs comme le stade de croissance de la plante ou les conditions environnementales peuvent influencer les voies de biosynthèse des composés et entraîner des variations dans la composition chimique et donc les activités biologiques associées à ces composés [11; 12]. Une variation des composés phénoliques et de l'activité antioxydante des extraits de divers organes de *Cleome gynandra* L. a été mise en évidence à différents stades de croissance [13]. Egalement des plantes telles que *Portulaca oleracea* L. [14], *Amaranthus caudatus* [15] ont montré de tels changements dans leurs profils phénoliques et l'activité antioxydante qui leur est associée à divers stades physiologiques.

Le présent travail a pour objectif de déterminer le stade physiologique de croissance à partir duquel les éléments phytochimiques indicateurs de pouvoir biopesticide sont optimisés dans les tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. pour orienter le choix de la période de récolte pour une application phytosanitaire. Pour ce faire, des extraits de cette herbacée récoltée à différents stades de son

évolution physiologique exprimés en temps après le semis (30 jours, 45 jours, 60 jours) ont été réalisés. La mise en évidence de flavonoïdes, la détermination de teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux dans les extraits obtenus ainsi que l'évaluation des activités antiradicalaires ont été réalisées pour identifier l'extrait le plus riche en ces différents constituants.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Test préliminaire mettant en évidence les propriétés biopesticides de *Cleome gynandra* L.

Pour justifier l'intérêt pour la plante *Cleome gynandra* L. et son étude phytochimique, des tests d'application biopesticide du décocté aqueux de ses tiges feuillées ont été réalisés.

Les tests champs ont été conduits sur deux (02) sites de production maraîchère (Site 1 et Site 2) suivant des dispositifs en bloc randomisé avec deux (02) répétitions de microparcelles amendées avec du compost et ayant subi deux (02) types de traitements.

La variété de tomate TROPIMECH a été utilisée pour sa précocité située entre 60-70 jours après repiquage. Au total 4 récoltes successives ont été réalisées et les masses totales de tomates déterminées par pesée.

Les traitements phytosanitaires ont été réalisés de façon hebdomadaire et ont consisté à une pulvérisation intégrale des plants de tomates avec les extraits aqueux des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. (biopesticide) à l'aide d'un pulvérisateur à pression entretenue.

Pour l'extraction, un mélange de 2 kg de tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. et 10 L d'eau a été porté à ébullition pendant 1 h, et filtré après refroidissement. Le témoin neutre a été de l'eau.

### 2.2. Réactifs et solvants

Pour les dosages et les analyses chimiques, les solvants utilisés ont été l'eau distillée, l'éthanol, le méthanol, le butanol et l'acide acétique. Les réactifs chimiques utilisés ont été le réactif de Neu, le Folin Ciocalteu, le carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) de qualité analytique. L'acide gallique, la quercétine, le trolox, la rutine, l'apigénine, le kaempférol ont été utilisés comme standards de référence dans les dosages ou sur la plaque CCM.

### 2.3. Matériel végétal

Le matériel végétal constitué de tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. a été collecté sur les parcelles de maraîchage de l'Association pour le Développement Economique et Social du Village de Koala (ADESVK), province du Kadiogo dans la région du centre au Burkina Faso.

Pour la culture, la terre a d'abord été labourée en y ajoutant de la matière organique. Des planches nivelées ont ensuite été confectionnées et espacées de vingt (20) centimètres l'une de l'autre. La production s'est déroulée sur la période allant du 20 août au 19 octobre 2021. La récolte a été réalisée à 03 dates différentes séparées de 15 jours. Au total, trois échantillons de 20 kg de biomasse fraîche ont été prélevés en fonction de l'âge des plants respectivement 30, 45 et 60 jours. Au laboratoire, les racines ont été séparées des tiges portant les feuilles selon les protocoles de cuisson appliqués pour l'alimentation humaine. Les tiges feuillées lavées à l'eau, ont été découpées en petits morceaux et utilisées pour les différents modes d'extractions retenus.

#### 2.4. Préparation des extraits aqueux et éthanoliques

Deux types d'extraits ont été préparés à partir des tiges feuillées et fraîches de *Cleome gynandra* L. en fonction des solvants d'extraction. Les tiges feuillées fraîches des plants dans un rapport 1/5 (100 g de matière végétale fraîche dans 500 mL d'eau distillée) ont été portées à ébullition dans un ballon monocol de 2 L pendant 1 h. Les eaux de cuisson (décocté) recueillies après séparation de la phase solide (marc) ont été concentrées à l'aide d'un rotavapor (BUCHI Rotavapor R-100), congelées à -20 °C dans un congélateur et séchées à l'aide d'un lyophilisateur du type LABCONCO *FreeZone 2.5 Plus* pour fournir les extraits aqueux secs.

Les extraits éthanoliques ont été obtenus par macération des tiges feuillées fraîches à l'éthanol 70%, sous agitation dans un erlenmeyer pendant 24 h dans le même rapport 1/5 (m/v). Après séparation du résidu solide (marc) de la phase liquide (macérat), la phase éthanolique a été concentrée à l'aide d'un rotavapor (BUCHI Rotavapor R-100 à la température du bain à 40 °C sous la pression de 175 mbar), puis le concentré récupéré avec un minimum d'eau, est congelé à -20 °C et enfin séché à l'aide du lyophilisateur (LABCONCO *FreeZone 2.5 Plus*) pour constituer l'extrait éthanolique.

#### 2.5. Dosage des polyphénols totaux (PT)

Les dosages ont été effectués à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à lecteur

multifonctionnel de microplaques (BMG Labtech SPECTRO star Nano).

La teneur totale en polyphénols a été déterminée en utilisant une version modifiée de la méthode Folin-Ciocalteu, adaptée pour les microplaques [16]. Pour chaque échantillon, 200 µL du réactif de Folin-Ciocalteu dilués 10 fois (1 :10 dans H<sub>2</sub>O) ont été ajoutés à 100 µL d'extrait végétal (1 mg/mL dans H<sub>2</sub>O) et mélangés soigneusement avant l'ajout de 800 µL d'une solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,7 M dans H<sub>2</sub>O). Les échantillons ont été transférés sur une microplaque suivant un volume de 200 µL/puits en triplicata et incubés pendant 2 h à 28 °C. L'absorbance du mélange a ensuite été lue à la longueur d'onde de 765 nm en utilisant les réactifs purs sans extrait comme blanc. Cette absorbance est rapportée à une courbe d'étalonnage ( $y = 167,64x + 0,0252$ ;  $R^2 = 0,997$ ) obtenue en mesurant les absorbances de différentes solutions contenant différentes masses d'acide gallique (0,0045455- 0,000142 mg) utilisé comme standard. La teneur totale en polyphénols a été exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g).

#### 2.6. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) décrite dans la littérature et ajustée pour la microplaque [16]. Dans un Eppendorf, un volume de 0,5 mL de AlCl<sub>3</sub> (2% masse/volume dans le MeOH) a été ajouté à 0,5 mL d'extrait végétal (1 mg/mL dans le MeOH); l'ensemble est mélangé et transféré dans une microplaque à 96 puits en triplicata (200 µL/puits). La microplaque a été incubée pendant 10 min à 28 °C avant la lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 420 nm en utilisant le réactif AlCl<sub>3</sub> dans du MeOH comme blanc. L'absorbance a été rapportée à une courbe d'étalonnage ( $y = 190,93 + 0,0362$ ;  $R^2 = 0,999$ ) obtenue avec des solutions contenant différentes masses de quercétine (0,0125 - 0,0003906 mg) pour évaluer la teneur en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g). Tous les échantillons ont été préparés et analysés en triplicata.

#### 2.6. Mesure de l'activité antiradicalaire des extraits par la méthode du DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits a été déterminée en utilisant la méthode DPPH ajustée pour la microplaque [17]. Les échantillons en triplicata ont été dilués en série dans la microplaque

à des concentrations finales de 0,1-0,0016 mg/mL pour les extraits aqueux et de 0,25-0,0078 mg/mL pour les extraits éthanoliques. Dans chaque puits, 100 µL de MeOH ou 100 µL d'une solution de DPPH fraîchement préparée (0,2 mM dans le MeOH) ont été ajoutés à 100 µL de l'échantillon. La microplaque a été incubée à 28 °C pendant 20 min suivi de la lecture des absorbances à la longueur d'onde de 515 nm. Le pourcentage d'inhibition a été déterminé en fonction de la concentration de l'échantillon (I), et les valeurs de CI<sub>50</sub> en µg/mL ont été calculées. Les concentrations qui indiquent une saturation avec une inhibition supérieure à 90% ont été exclues de la régression linéaire.

$$\% \text{INHIBITION DPPH} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{MeOH}}) - (A_{\text{Extrait+DPPH}} - A_{\text{Extraits+MeOH}})}{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{MeOH}}} * 100$$

(1)

### 2.7. Tests de mise en évidence de flavonoïdes par CCM

La cuve a été saturée pendant 30 min avec l'éluant Butanol-Acide acétique-Eau (65/15/20 - v/v/v) et un papier filtre. Chaque extrait a été solubilisé dans du méthanol à la concentration 20 mg/mL, puis un volume de 5 mL est déposé sur la plaque de silice sur support aluminium. Après élution, les plaques ont été pulvérisées avec le réactif de Neu et visualisées sous lampe UV à la longueur d'onde de 365 nm pour la révélation des flavonoïdes [18].

Pour la tentative d'identification du flavonoïde majoritaire présent dans tous les extraits, l'extrait éthanolique de 30 jours (CE<sub>30</sub>), ayant présenté la plus forte teneur en flavonoïdes a été utilisé et soumis à une hydrolyse acide. Un volume de 100 mL de la solution d'extrait à 20 mg/mL dans l'acide chlorhydrique 5% est porté à reflux pendant 30 min. Après refroidissement, l'hydrolysate est soumis à une extraction liquide/liquide avec l'acétate d'éthyle (3x25 mL). La phase organique a ensuite été analysée par CCM en comparaison à des standards de flavonoïdes dont l'apigénine (API), le kaempferol (KAE) et la quercétine (QUE).

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Efficacité biopesticide en production du décocté aqueux des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L.

Les résultats obtenus pour l'évaluation du pouvoir biopesticide du décocté de *Cleome gynandra* L. dans la production de la tomate sont consignés sur la **figure 1**.

Le traitement avec la formulation à base du décocté de *Cleome gynandra* L. s'est avéré plus efficace sur les deux sites dans la production de tomates. Sur le

site 1, un poids de 19,60 kg de tomates saines commercialisables sont récoltées sur les parcelles traitées avec le décocté aqueux, contre 10,25 kg pour celles traitées à l'eau. Sur le site 2, c'est un total de 64,41 kg de tomates qui sont collectées sur les parcelles traitées avec la décoction contre 52,57 kg pour celles du témoin eau. L'application du décocté de *Cleome gynandra* L. a permis également de réduire le pourcentage d'avarie des fruits au niveau des parcelles traitées comparativement aux parcelles témoins.

L'effet bénéfique de l'application du décocté de *Cleome gynandra* L. constaté à travers une hausse de la production de tomates et une réduction de l'impact de maladies justifie qu'une investigation chimique soit menée pour identifier les composés majoritaires qui contribueraient significativement à la propriété biopesticide.

### 3.2. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits

Les résultats issus du dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux sont représentés en histogramme sur la **figure 2**.

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des différents extraits sont fournies en fonction des solvants d'extraction et de l'âge des plants. Les extraits éthanoliques contiennent plus de polyphénols que les extraits aqueux pour chaque tranche d'âge. Ces teneurs sont de 33,96, 22,48 et 23,41 mg EAG/g, respectivement pour les extraits aqueux de 30, 45 et 60 jours et de 48,57, 29,86 et 25,76 mg EAG/g, respectivement pour les extraits éthanoliques de 30, 45 et 60 jours. L'éthanol aqueux reste le meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols totaux par rapport à l'eau [18]. Les résultats montrent également que la teneur en polyphénols totaux diminue progressivement au cours de l'évolution physiologique de la plante. Pour les extraits éthanoliques, la teneur de 48,57 mg EAG/g pour l'extrait éthanolique à 30 jours (CE<sub>30</sub>) est réduite à 25,76 mg EAG/g pour l'extrait éthanolique à 60 jours (CE<sub>60</sub>).

Les résultats obtenus pour la quantification des flavonoïdes totaux (FT) présentent les mêmes tendances de variation que celles des polyphénols totaux dans les extraits. En effet, les teneurs décroissent avec l'évolution dans le temps de croissance de la plante. Pour les extraits éthanoliques, la diminution est observée avec la teneur en FT qui passe de 25,68 mg EQ/g pour l'extrait de la biomasse collectée à 30 jours (CE<sub>30</sub>) à 2,63 mg EQ/g pour l'extrait de 60 jours (CE<sub>60</sub>). Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes diminuent

avec la maturité de la plante. Ce constat sur la plus faible teneur en polyphénols et en flavonoïdes d'extraits éthanoliques de plants récoltés au stade mature est cohérent avec les résultats d'une étude récente [13]. De l'analyse des extraits éthanoliques de poudres de feuilles de *Cleome gynandra* L., ces auteurs ont justifié la diminution de polyphénols au cours de la floraison par la différenciation cellulaire accrue pendant le stade de la floraison [13].

La forte teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits des plants de 30 jours pourrait aussi s'expliquer par le caractère juvénile de la plante au stade végétatif de sa croissance, qui induit une tendresse des tiges-feuillées extraites à l'état frais dans la présente étude, rendant facile l'extraction des phytomolécules [19]. Ainsi, nous retenons que l'extrait éthanolique des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. âgées de 30 jours est plus riche en composés phénoliques et en flavonoïdes.

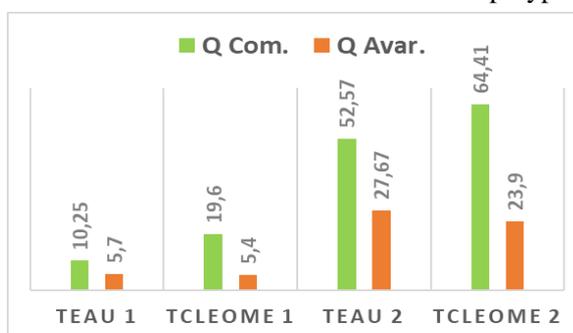
### 3.3. Pouvoir antiradicalaire des extraits

Les pouvoirs d'inhibition du radical DPPH exprimés en  $CI_{50}$  des extraits aqueux et éthanoliques

des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. sont représentés en histogramme sur la **figure 3**.

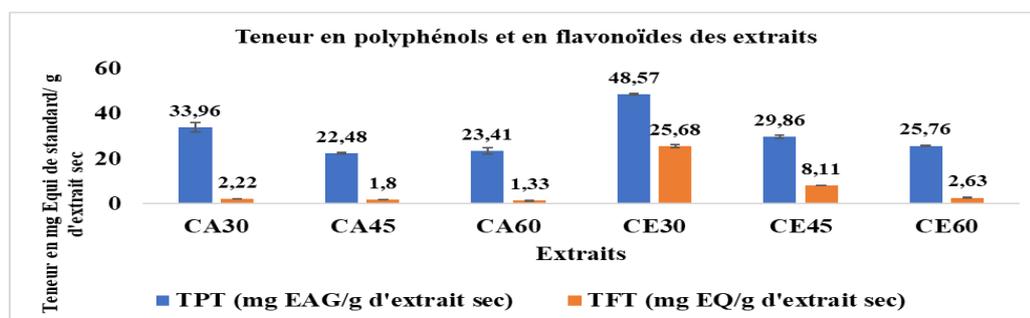
D'une manière générale, les extraits ont montré une faible capacité de réduction du radical DPPH comparativement à celle du témoin (Trolox) dont la  $CI_{50}$  évaluée dans les mêmes conditions vaut 13,73  $\mu\text{g/mL}$ . Pour chaque tranche d'âge des échantillons collectés, les extraits éthanoliques ont montré une plus grande activité antioxydante par rapport aux extraits aqueux.

Il est à noter que l'extrait éthanolique de 30 jours ( $CE_{30}$ ) a présenté les plus grandes teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux mais ne possède pas la meilleure activité antioxydante. Face à l'augmentation de l'activité enzymatique de l'organisme au cours de la maturité de la plante, la diversité dans la composition chimique se renforce et fait suggérer une contribution d'autres métabolites spécifiques à propriétés antioxydantes contribuant à l'activité antiradicalaire. Cela pourrait être à l'origine de l'hétérogénéité dans les valeurs des  $CI_{50}$  des extraits sans corrélation linéaire avec les teneurs en polyphénols.



**Figure 1.** Production de tomates (en kg) par site et par traitement

TEAU 1 : traitement eau sur le site 1 ; TCLEOME 1 : traitement décocté de *Cleome* sur le site 1  
 TEAU 2 : traitement eau sur le site 2 ; TCLEOME 2 : traitement décocté de *Cleome* sur le site 2  
 Q com. : Quantité de tomates de qualité commerciale en Kg ; Q Avar. : quantité de tomates avariées en Kg.



**Figure 2.** Histogramme de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux des extraits des tiges-feuillées de *Cleome gynandra* L. ;

CA30 : Extrait aqueux (décocté), récolte de 30 jours ; CA45 : Extrait aqueux (décocté), récolte de 45 jours ; CA60 : Extrait aqueux (décocté), récolte de 60 jours ; CE30 : Extrait hydroalcoolique (macérat) récolte de 30 jours ; CE45 : Extrait hydroalcoolique (macérat), récolte de 45 jours ; CA 60: Extrait hydroalcoolique (macérat), récolte de 60 jours.

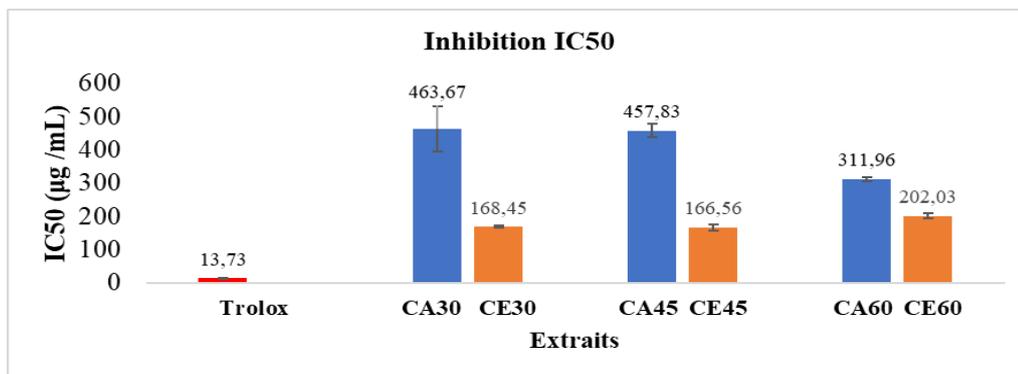


Figure 3. Histogramme des  $IC_{50}$  des différents extraits et du trolox

### 3.4. Mise en évidence des flavonoïdes par CCM

Le résultat de l'analyse chromatographique sur couche mince des extraits (aqueux et éthanoliques) des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. est représenté sur la figure 4.

Les taches de coloration jaune-fluorescentes observées à la longueur d'onde de 365 nm après révélation au réactif de Neu, représentent des flavonoïdes [20; 21]. Deux flavonoïdes dont les spots sont de coloration jaune-orangée sont visibles dans tous les extraits avec des  $R_f$  respectifs de 0,56 et 0,62. Le composé de  $R_f$  0,56 se révèle être le flavonoïde majoritaire des tige feuillées de *Cleome gynandra* L., au regard de l'intensité du spot. Les taches de coloration bleue-fluorescente ( $R_f$  0,25 et  $R_f$  0,81) peuvent être des acides phénoliques ou des flavonoïdes. Les taches à coloration rouge ( $R_f$  0,87) correspondent à la chlorophylle présente dans tous les extraits notamment les extraits éthanoliques, du fait de la solubilité de la chlorophylle beaucoup plus élevée dans l'éthanol que dans l'eau [22]. La CCM, de façon qualitative a permis de mettre en évidence les flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanoliques des tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. avec dominance d'un flavonoïde majoritaire qui serait glycosylé au vu du  $R_f$  0,56.

En effet, des flavonoïdes sont décrits être présents dans les feuilles de *Cleome gynandra* L. [13]. La technique HPLC-DAD a été utilisée pour déceler la rutine ou quercétine-3-*O*-rutinoside ainsi que le kaempferol-3-*O*-glucoside dans des extraits de feuilles, de tiges et des fleurs. Bien que les niveaux de rutine aient été trouvés généralement plus faible dans les feuilles en comparaison aux fleurs (74,20 mg/g) de la plante, la rutine est plus abondante dans les feuilles au stade mature (47,08 mg/g) en comparaison au stade végétatif (39,91 mg/g) ou à celui de floraison (33,48 mg/g). Le stade végétatif correspondant à 30 jours de culture après semis dans la présente étude, fournit pour l'extrait éthanolique, la teneur en flavonoïdes totaux, la plus

élevée et ce en adéquation avec la littérature [13]. Cet extrait a été choisi pour un essai de confirmation du flavonoïde glycosylé majoritaire comme étant la rutine mise en évidence par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Cleome gynandra* L. [23; 24; 13].

L'hydrolyse acide est envisagée pour observer la formation de la quercétine, aglycone de la rutine. Le profil CCM, de l'extrait à l'acétate d'éthyle après la réaction d'hydrolyse est présenté sur la figure 5. La disparition de spots et l'apparition de nouveaux spots dans l'hydrolysate ( $H_{EA}$ ) à des  $R_f$  très différents comparativement aux spots de l'extrait brut non hydrolysé ( $CE_{30}$ ) et de trois standards d'aglycones à savoir l'apigénine (API), le kaempferol (KAE) et la quercétine (QUE) sont des indices d'une hydrolyse effective.

Le spot visible en CCM de l'extrait brut ( $CE_{30}$ ) ayant les mêmes caractéristiques que la rutine ( $R_f$  0,56; coloration orange-fluorescente) a significativement disparu dans l'hydrolysate ( $H_{EA}$ ). Par ailleurs l'apparition d'un nouveau spot dans l'hydrolysate ( $H_{EA}$ ) ayant un  $R_f$  de 0,86, inexistant dans l'extrait brut ( $CE_{30}$ ) correspondrait à la quercétine ( $R_f$  0,86; coloration jaune-fluorescent).

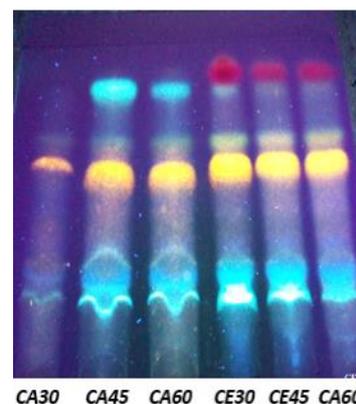
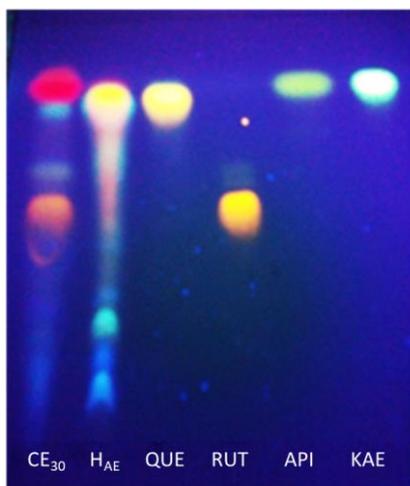


Figure 4. Plaque CCM pulvérisée au réactif de Neu et observée sous lampe UV à 365 nm



**Figure 5.** Mise en évidence par CCM de flavonoïdes d'extrait hydrolysé

#### 4. Conclusion

Les tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. collectées en fonction du stade de maturité de la plante ont montré des différences de teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Les extraits éthanoliques sont les plus riches en composés phénoliques comparativement aux décoctés aqueux. La variation des phytoconstituants au cours de l'évolution physiologique de la plante était plus évidente dans les extraits éthanoliques que dans les extraits aqueux. L'extrait éthanolique des plants de 30 jours a donné la plus forte teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes totaux. L'hydrolyse acide de ce dernier extrait, suivie d'une analyse CCM a permis d'identifier la rutine dans les tiges feuillées de *Cleome gynandra* L. Ces tiges feuillées pourraient être utilisées pour une formulation biopesticide dans l'agriculture biologique. Cependant, une analyse plus poussée en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, est envisagée pour l'identification des polyphénols majoritaires ainsi que d'autres familles chimiques et pour quantifier individuellement les différents constituants selon le stade de maturité de la plante.

#### 5. Remerciements

Les auteurs remercient International Science Programme, ISP (UPPSALA UNIVERSITY, Suède) pour avoir financé ce travail à travers le projet BUF 01.

#### 6. Références

[1] Amoabeng BW, Gurr GM, Gitau CW, Stevenson PC. Cost: Benefit Analysis of Botanical Insecticide Use in Cabbage: Implications for Smallholder Farmers in Developing Countries. *Crop Prot.* (2014) 57, 71-76.  
[2] Anjarwalla P, Belmain S, Ofori DA, Sola P, Jamnadass R, Stevenson PC. Handbook on Pesticidal

Plants. World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi, Kenya (2016) 68 pages.

[3] Schnarr L, Segatto ML, Olsson O, Zuin VG, Kümmerer K. Flavonoids as biopesticides—Systematic assessment of sources, structures, activities and environmental fate. *Sci. Total Environ.* (2022) 824, 153781.

[4] Mishra SS, Moharana SK, Dash MR. Review on *Cleome gynandra*. *Int. J. Res. Pharm. Chem.* (2011) 1(3), 681 – 689.

[5] Onyango CM, Kunyanga CN, Ontita EG, Narla RD, John WK. Current status on production and utilization of spider plant (*Cleome gynandra* L.) an underutilized leafy vegetable in Kenya. *Genet. Resour. Crop Evol.* (2013) 60, 2183-2189.

[6] Ogol CKPO, Makatiani J. Potential of companion crops in managing the diamondback moth in cabbage/kale cropping system in Kenya. *African Crop Science Society*, (2007) 8, 1029–1033.

[7] Somboon S, Pimsamam S. Biological activity of *Cleome* spp extracts against the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Agricultural Sci. J.* (2006) 37, 232-235.

[8] Ed VERHEIJ, Henk WAAIJENBER. Le jardin potager dans les zones tropicales ; Edition 2008, Wageningen, Pays Bas.

[9] Yarou BB, Silvie P, Komlan FA, Mensah A, Alabi T, Verheggen F, Francis F. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest. *Biotechnol. Agron. Soc Environ.* (2017) 21, 288-304.

[10] Tarascou I, Souquet JM, Mazauric JP, Carrillo S, Coq S, Canon F, Fulcrand H, Cheynier V. The hidden face of food phenolic composition. *Arch. Biochem. Biophys.* (2010) 501, 16-22.

[11] Sampaio BL, Edrada-Ebel R, Da Costa FB. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia* : a model for environmental metabolomics of plants. *Sci. Rep.* (2016) 6, 29265.

[12] Esmaili H, Karami A, Maggi F. Essential oil composition, total phenolic and flavonoids contents, and antioxidant activity of *Oliveria decumbens* Vent. (Apiaceae) at different phenological stages. *J. Cleaner Prod.* (2018) 198, 91-95.

[13] Maina, S., Ryu, D. H., Bakari, G., Misinzo, G., Nho, C. W., & Kim, H. Y. (2021). Variation in phenolic compounds and antioxidant activity of various organs of african cabbage (*Cleome gynandra* L.) accessions at different growth stages. *Antioxidants*, 10(12), 1952.

[14] Saffaryazdi A, Ganjeali A, Farhoosh R, Cheniany M. Variation in phenolic compounds,  $\alpha$ -linolenic acid and linoleic acid contents and antioxidant activity of purslane (*Portulaca oleracea* L.) during phenological growth stages. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* (2020) 26, 1519-1529.

[15] Karamać M, Gai F, Longato E, Meineri G, Janiak MA, Amarowicz R, Peirettir PG. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) during Plant Growth. *Antioxidants.* (2019) 8, 173.

[16] Ainsworth E, Gillespie K. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant

- tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nat. Protoc. (2007) 2, 875–877.
- [17] Cheng Z, Moore J, Yu L. High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. J. Agric. Food Chem. (2006) 54, 7429–7436.
- [18] Sripad G, Prakash V, Rao MSN. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. J. Biosci. (1982). 4, 145–152.
- [19] Sauvion N, Calatayub PA, Thiéry D, Marion-Poll F. Interactions insectes-plantes. IRD Éditions 2013, Quae, France.
- [20] Brou KG, Mamyrbekova-Bekro JA, Dogbo DO, Gogbeu SJ, Bekro YA. Sur la Composition Phytochimique Qualitative des Extraits bruts Hydrométhanoliques des Feuilles de 6 Cultivars de Manihot Esculenta Crantz de Côte d’Ivoire. Eur. J. Sci. Res. (2010) 45, 200 – 211.
- [21] N’gaman KCC, Bekro YA, Mamyrbékova-Békro JA, Bénié A, Gooré BS. Sur la Composition en Métabolites Secondaires et L’activité Anti-Oxydante D’extraits Bruts de *Gmelina Arborea* Roxb. (Verbanaceae) de Côte d’Ivoire, Afrique del’Ouest: Analyse par Chromatographie en Couche Mince. Eur. J. Sci. Res. (2009) 36, 161-171.
- [22] Molina AK, Gomes LC, Prieto MA, Ferreira ICFR, Pereira C, Dias MI, Barro L. Extraction of chlorophylls from *Daucus carota* L. and *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* crop by-products. Food Chemistry Advances (2022) 1, 100048.
- [23] Chandradevan M, Simoh S, Mediani A, Ismail IS, Abas F. <sup>1</sup>H NMR-Based Metabolomics Approach in Investigating the Chemical Profile, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Gynura procumbens* and *Cleome gynandra*. Plant Foods Hum. Nutr. (2020) 75, 243–251.
- [24] Chandradevan M, Simoh S, Mediani A, Ismail NH, Ismail IS, Abas F. UHPLC-ESI-Orbitrap-MS Analysis of Biologically Active Extracts from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. and *Cleome gynandra* L. Leaves. Evid. Based Complement. Alternat. Med. (2020) Volume 2020, 3238561, 14 pages.