



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2023

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**GUENDOUZE Abir    MANSRI Nadia**

Le : lundi 3 juillet 2023

## Etude de l'activité anti oxydante des extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa* L.

---

### Jury :

M.	ZEROUAL Samir	MCA	BISKRA	Président
M.	DERRADJI Yacine	MAA	BISKRA	Promoteur
Dr.	MERABTI Fouzi	Pr	BISKRA	Examineur

Année universitaire : 2022 - 2023

## **Remerciement**

*En premier lieu, nous tenons à remercier Dieu qui nous a aidé et nous a donné le courage, la santé et la patience pour pouvoir réaliser ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promoteur,*

*Mr. DERRADJI Yacine, pour l'aide*

*compétent qu'il nous a apporté, pour sa patience, son encouragement pour structurer ce travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire, nous la remercions vivement.*

*Enfin, nous remercions également tous ceux qui nous ont soutenus, encouragés et rendus service au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.*

# Dédicace

*À mon cher père, pour son encouragement et aide.*

*À la lumière de ma vie, ma super mère, qui m'a entouré d'amour, de confiance et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde.*

*Aux meilleures sœurs du monde: Selma, Besma et Sarah Je n'oublierai jamais votre aide, soutien, encouragement, et votre générosité illimitée pour moi*

*À mon unique cher frère : Hacem*

*À l'amie d'enfance et pour toujours: Djoumana*

*À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin*

*Merci énormément.*

Abir GUENDOUZE

## Dédicace



L'âme de mon père

Ma chère Maman

Ma seule sœur « Hanene »

Mes frères AHMED ET AMOR

Mes chers neveux YUCEF, SIFOU, AMINE, ISHAK

Mon adorable amie « Lakhel Sabrina » ♥

NADIA MANSRI ♥

## Table des matières

<b>Liste des tableaux</b> .....	I
<b>Liste des figures</b> .....	II
<b>Liste des abréviations</b> .....	III
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie bibliographique</b> .....	2
<b>Chapitre 1 Présentation de la plante</b> .....	3
1.1 Nomenclature de la plante .....	2
1.2 Classification .....	2
1.3 Origine, répartition géographique et production de la plante .....	2
1.4 Description botanique .....	3
1.5 Ecologie .....	4
1.6 Utilisation traditionnelle .....	4
1.6.1 Utilisation médicale .....	4
1.6.2 Utilisation alimentaire et culinaire .....	5
1.7 Composition chimique des calices d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> .....	5
1.7.1 Composition phytochimique .....	5
1.7.2 Composition nutritionnelle .....	7
<b>Chapitre 2 Activités biologiques étudiées d'<i>Hibiscus sabdariffa</i></b> .....	8
2.1 Activité antioxydante .....	8
2.2 Activité antimicrobienne : .....	9
2.3 Activité anti-inflammatoire .....	9
2.4 Activité anticancéreuse .....	9
2.5 Potentiel Anti-hypertenseur .....	10
<b>Chapitre 3 Stress oxydant</b> .....	11
3.1 Stress oxydant .....	12
3.2 Radicaux libres .....	12
3.2.1 Qu'est-ce qu'un radical libre .....	12
3.2.2 Principaux radicaux libres .....	12
3.2.3 Source des radicaux libres .....	13
3.3 Principales dommages oxydants .....	14
3.4 Systèmes antioxydants .....	15
3.4.1 Système antioxydant enzymatique .....	15
3.4.2 Système antioxydant non enzymatique .....	15
<b>Partie expérimentale</b> .....	10
<b>Chapitre 1 Matériel et méthodes</b> .....	10
1.1 Matériel biologique .....	18

1.2 Equipement et produits chimiques .....	18
1.3 Obtention des extraits .....	19
1.4 Dosages des composés phénoliques totaux .....	21
1.5 Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH .....	21
1.6 Statistiques.....	22
<b>Chapitre 2 Résultats et discussion .....</b>	<b>23</b>
2.1 Rendements de l'extraction .....	24
2.2 Teneur en polyphénols totaux .....	25
2.3 Évaluation de l'activité antioxydante par test DPPH .....	26
<b>Conclusion.....</b>	<b>24</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>30</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>24</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1. Produits chimiques et équipements utilisés.

Tableau 2. Caractéristiques des extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa*.

Tableau 3. Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits et de l'acide ascorbique.

## Liste des figures

Figure 1. Calice de la plante *Hibiscus sabdariffa* L.

Figure 2. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.

Figure 3. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les systèmes de défenses antioxydants.

Figure 4. Calices utilisés pour l'extraction.

Figure 5. Schéma récapitulatif des étapes de l'extraction.

Figure 6. Réaction du radical libre DPPH· avec un antioxydant.

Figure 7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 8. Histogramme présentant la teneur en polyphénols EqAG (mg/g E)) dans chaque extrait.

Figure 9. Courbes d'inhibition du radical libre DPPH par les trois extraits étudiés et l'acide ascorbique.

## Liste des abréviations

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EEt : extrait éther de pétrole

EEa : extrait éthanolique

EA : extrait aqueux

AAs : Acide ascorbique

## Introduction

Depuis des milliers d'années, et jusqu'à aujourd'hui l'être humain a utilisée diverses ressources trouvées dans son environnement, essentiellement les plantes médicinales, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Une particularité de ces plantes est d'avoir un réservoir très vaste de composés bioactives potentiels qui sont caractérisés par leur grande diversité structurelle ainsi qu'ils ont un éventail énorme d'activités biologiques (Falleh *et al.*, 2021).

Parmi ces plantes, *Hibiscus sabdariffa L.* et ses calices ont fait l'objet de beaucoup d'attention de la part des chercheurs en raison de leurs valeurs médicinales et nutritionnelles potentielles (khan *et al.*, 2022). Elle est utilisée efficacement dans la médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies tel que les maladies inflammatoires et du cancer (Lin (b) *et al.*, 2005). Ainsi que ses calices sont utilisés pour traiter les maladies cardiovasculaires et réduire l'hypertension (Christian *et al.*, 2006). En plus, plusieurs études ont prouvé la richesse de cette plante en composés phénolique qui contribuent principalement à son activité antioxydante (Aurelio *et al.*, 2007).

Dans ce contexte, s'inscrit notre travail qui a comme objectif d'effectuer une extraction de substances contenues dans les calices de la plante *Hibiscus sabdariffa*, de doser les composés phénoliques puis d'évaluer le pouvoir antioxydant de ces extraits par le test DPPH.

Notre manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie consacrée à l'étude bibliographique au sein de laquelle nous apportons des généralités sur l'espèce étudiée *Hibiscus sabdariffa L.*, sa composition chimique et ses activités biologiques.
- La seconde partie, la partie pratique, contient deux chapitres : le premier décrit le matériel biologique et la méthodologie de travail et le deuxième abordera les différents résultats ainsi que leurs discussions.
- Enfin, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi que les perspectives sont dégagées.

# **Partie bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Présentation de la plante**

## 1.1 Nomenclature de la plante

*Hibiscus sabdariffa* L., est une plante médicinale, de grande taille, vigoureuse, peu ramifiée et très fibreuse. Cette plante est connue sous diverse appellations et noms vernaculaires :

Arabe : الكركدية.

Français : Oseille de Guinée.

Anglais : Roselle, Rozelle, Sorrel, Sour-sour.

Espagnol: Flore de Jamaica, Rosa de Jamaica (Morton, 1987).

Africain : Karkadé, Bissap, Sorrel (Shruthi *et al.*, 2016).

Autres dénominations : Thé rose, thé de l'Empire (Endrias, 2006).

## 1.2 Classification

*Hibiscus sabdariffa* L. appartient à la famille des Malvacées, qui représentent une grande famille de plantes à fleurs qui contient 244 genres et 4225 espèces différentes, dont font partie l'Hibiscus. Le genre d'Hibiscus comporte une diversité de 200-300 espèces (Grubben et Denton, 2004).

Règne : Plantae

Sous-embranchement : Angiospermes

Clade: Eudicots

Ordre : Malvales

Famille : Malvaceae

Genre : *Hibiscus*

Espèce : *Hibiscus sabdariffa* L. (Islam, 2019).

## 1.3 Origine, répartition géographique et production de la plante

Il y a un grand débat sur l'origine d'*Hibiscus sabdariffa* L. parmi les différents chercheurs Grubben et Denton (2004) ont suggéré qu'à l'origine l'espèce *H. sabdariffa* était cultivée en Afrique où elle a peut-être été domestiqué au Soudan il y a environ 6000 ans, de là elle a été transportée dans d'autres parties du monde telles que l'Asie et l'Amérique. Alors que d'autres pensent que *H. sabdariffa* est originaire d'Inde orientales Duke (1993) et d'Arabie saoudite (Abu-Tarboush *et al.*, 1997).

Cette plante est disséminée pour la culture dans toutes les régions du monde (Nkumah, 2015), elle est largement distribuée dans les zones tropicales, subtropicales, en Afrique, aux Indes occidentales à l'Amérique centrale et en Asie où l'espèce s'est adaptée (Savio *et al.*, 2020).

Des spécimens d'apparence vraiment sauvage d'*Hibiscus sabdariffa* ont été récoltés au Ghana, Niger, Nigeria et en Angola (Grubben et Denton, 2004).

Les principales zones de production en Afrique étant le Soudan, le Sénégal, le Mali et l'Égypte. Il est très cultivé et distribué dans la partie nord du Nigeria en raison du climat favorable (Nkumah, 2015). Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, les plus grands producteurs mondiaux d'*H. sabdariffa* sont la Chine et la Thaïlande, à noter que la FAO classe Roselle du Soudan comme de la meilleure qualité avec un emballage et une distribution médiocre (Shruthi et Ramachandra, 2019).

#### 1.4 Description botanique

*Hibiscus sabdariffa* est un arbuste annuel ou bisannuel, herbacé, buissonnant à port de sous-abrisseau, pouvant atteindre de 1 à 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (Félix *et al.*, 2013), et a une racine pivotante pénétrant profondément (Shruthi *et al.*, 2016), la tige est glabre à peu pubescente, cylindrique, parfois légèrement piquante, verte ou rougeâtre, ces feuilles sont alternes simples, stipules étroitement lancéolées à linéaires, atteignant 1,6 cm de long (Grubben et Denton, 2004), son calice est typiquement rouge, se compose de 5 grands sépales avec un collier (épicalice) de 8–12 bractées minces et pointues (ou bractéole) autour de la base, ils commencent à grossir en fin de journée, 3,2–5,7 cm de long et entièrement enfermer les fruits (Figure 1), le fruit de la plante est une capsule veloutée, de 1,25 à 2 cm de long, qui est verte lorsqu'elle est immature, à 5 valves, chaque valve contenant 3 à 4 graines, ses graines sont généralement réniforme, brun clair, de 3 à 5 mm de long et couvertes de poils minuscules, robustes et étoilés (Shruthi et Ramachandra, 2019).



Figure 2. Calice de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. (Castro *et al.*, 2004).

## 1.5 Ecologie

Il est constaté qu'*Hibiscus sabdariffa* L. se développait dans une large gamme de conditions de sol (Shruthi et Ramachndra, 2019). Il peut fonctionner de manière satisfaisante sur des sols relativement infertiles, mais à des fins économiques, un sol bien fourni en matières organiques et en nutriments est essentiel (Shruthi *et al.*, 2016). Les plantes de Roselle sont adaptées aux climats tropicaux avec des précipitations bien réparties de 1500-2000 mm/an, elle nécessite 13 heures d'ensoleillement pour éviter une floraison prématurée, elle tolère un climat plus chaud et plus humide avec une température nocturne non inférieure à 21°C (Ismail *et al.*, 2008). La pluie et une humidité élevée pendant la récolte et le séchage peuvent dégrader la qualité des calices et réduire le rendement (McCaleb *et al.*, 2000). Les parties d'*Hibiscus sabdariffa* telles que les graines, la tige, les feuilles et les calices sont récoltées de fin décembre à février. Les calices sont récoltés après la chute de la fleur mais avant que la gousse ne sèche et ne s'ouvre. Plus la capsule reste longtemps sur la plante après que les graines commencent à mûrir, plus le calice est sensible aux plaies, aux craquelures dues au soleil et à la détérioration générale de la qualité (Nkumah, 2015).

## 1.6 Utilisation traditionnelle

L'utilisation d'*Hibiscus sabdariffa* peut varier considérablement d'un pays à l'autre en fonction des habitudes alimentaires et des traditions de la communauté. Ses calices séchés sont utilisés dans différents types de production d'aliments et de boissons, ainsi dans le traitement des différentes maladies, pour sa richesse en arôme, sa couleur et ses composants bioactifs (Selli *et al.*, 2021).

### 1.6.1 Utilisation médicale

De nombreuses applications médicinales de la plante roselle ont été développées dans le monde entier. Elle est utilisée dans la plupart des médecines traditionnelles. En médecine traditionnelle chinoise, les calices rouges gonflés et séchés sont utilisés pour traiter l'hypertension, la pyrexie et les lésions hépatiques (Odigie *et al.*, 2003). En Afrique, en Inde et au Mexique, les études ethno médicinales ont révélé l'utilisation des infusions de calices ou de feuilles d'*H. sabdariffa* comme hypotenseurs, cholérétiques et diurétiques, pour le traitement de l'hyperlipidémie, de la stimulation du péristaltisme intestinal et pour diminuer la viscosité du sang (Riaz et Chopra, 2018). Au Sénégal, les calices en décoction sont utilisés comme diurétiques et antiseptiques urinaires (Mahmoud, 1994), alors qu'en Egypte, ils sont utilisés pour traiter les maladies nerveuses et cardiaques et pour améliorer la production d'urine. (Leung, 1980). La poudre séchée et l'extrait de calices complétés par du sel commun sont

utilisés pour soigner la diarrhée, les flatulences, les douleurs à la taille, la dysenterie et d'autres troubles gynécologiques chez les humains et les animaux après l'accouchement (Singh *et al.*, 2006).

### 1.6.2 Utilisation alimentaire et culinaire

Les calices séchés sont consommés et utilisés dans l'alimentation humaine, soit sous forme de confitures, gelées, bouillis dans l'eau sous forme de boissons chaude (thé) ou froide rafraîchissante (jus) (Shruthi *et al.*, 2016). La consommation de cette boisson est très répandue en Afrique et en Asie, elle est très populaire au Sénégal, sa consommation est d'autant plus importante durant le mois sacré de Ramadhan (Chikhouné, 2019). Au Nigéria, la boisson, appelée « zobo », est tout autant appréciée par toutes les couches sociales de la population (Cisse *et al.*, 2009). Au Soudan, les calices secs sont utilisés pour produire une boisson savoureuse et saine, sont utilisés pour le thé appelé "thé de karkadé", la gelée, la marmelade, les glaces, la crème glacée, les sorbets, le beurre, les tartes, les sauces et autres desserts (Mohamed *et al.*, 2012). Les extraits de calices sous forme concentré ou de poudre séchée sont utilisés comme colorant naturel dans les industries alimentaires (pâtisserie, jus de fruits, boissons, etc.). Les anthocyanes présents dans les calices d'*Hibiscus sabdariffa* pourraient être utilisés pour l'élaboration de boissons et comme colorant naturel que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans d'autres secteurs tels que les industries pharmaco-cosmétiques (Cisse, 2010).

## 1.7 Composition chimique des calices d'*Hibiscus sabdariffa*

Les extraits d'*Hibiscus sabdariffa* ont révélé la présence de différents métabolites sous forme de composés phytochimiques, et nutritionnels (Nkumah, 2015). Les principaux constituants des composés phytochimiques comprennent les anthocyanes, les flavonoïdes, les composés phénoliques et les acides organiques (Xiaowei *et al.*, 2021). La partie la plus exploitée et utilisée de cette plante est ses calices (Ismail *et al.*, 2008), elle est principalement cultivée pour cela, puisqu'ils sont riches en ces composants (Aurelio *et al.*, 2007).

### 1.7.1 Composition phytochimique

#### 1.7.1.1 Acides organiques

Les calices d'*H. sabdariffa* sont riches en acides organiques, majoritairement les acides succiniques et oxaliques représentant 76 % des acides organiques totaux, ils se distinguent par une teneur élevée en acide ascorbique 141.09mg/100g (Wong *et al.*, 2002). En plus d'autres acides tel que l'acide et malique et l'acide tartrique (Babalola *et al.*, 2001), l'acide hydroxy

citrique, l'acide d'hibiscus et ses dérivés sont des acides organiques majeurs dans les extraits de calices et de feuilles (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

### 1.7.1.2 Composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un groupe des métabolites secondaires que l'on trouve principalement dans les espèces végétales avec d'énormes diversités structurales, ce sont des composés comportent un cycle aromatique ou plus, couplés à un ou plusieurs groupes hydroxyle (Alara *et al.*, 2001).

Selon Formagio *et al.* (2015), les résultats de dosage des phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, des extraits méthanoliques d'*H. sabdariffa* ont montré que les concentrations les plus élevées de phénols ont été observées dans les calices, avec des valeurs allant de 454,66 à 474,09 mg g<sup>-1</sup>. Le contenu phénolique de la plante se compose principalement d'anthocyanes (Aurelio *et al.*, 2007), majoritairement contenu dans les calices qui contiennent également d'autres composés phénoliques notamment de l'acide protocatéchique (Lin (a) *et al.*, 2003), et des polyphénols de type flavonol, flavanol et flavonoïdes ont également été rapporté dans les extraits d'*H. sabdariffa* (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

#### a) Flavonoïdes

Les flavonoïdes, une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, ils représentent un groupe de substances naturelles aux structures phénoliques variables, ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration et l'arôme des plantes (Panche *et al.*, 2016).

Les teneurs en flavonoïdes les plus élevées ont été observées dans l'extrait des calices (148,35 mg g<sup>-1</sup>) en comparant avec les feuilles (Formagio *et al.*, 2015). La sabdaritrine, l'hibiscitrine (hibiscétine-3-glucoside), la gossytrine, la gossypitrine, la quercétine, la lutéoline, l'acide chlorogénique, l'acide protocatéchique, l'acide pélargonidique, l'eugénol et le phytostérol ( $\beta$ -sitostérol et ergostérol) sont quelques-uns des flavonoïdes qui peuvent être trouvés dans les extraits *H. sabdariffa* (Prasetyoputri *et al.*, 2021).

#### b) Anthocyanes

Les anthocyanes sont la classe des flavonoïdes la plus répandue, en raison de la large gamme de couleurs résultant de leur synthèse (Holton et Cornish, 1995).

Une des caractéristiques d'*H. sabdariffa* est sa richesse en anthocyanes (calices rouges) (Mazza, 2018), il s'agit de la delphinidine 3-sambubioside ou hibiscine, de la cyanidine 3-sambubioside ou gossypicyanine, de la delphinidine 3-glucoside et de la cyanidine 3-glucoside

(Aurelio *et al.*, 2007). La delphinidine 3-sambubioside est l'anthocyane majoritaire responsable de la couleur rouge-violette des calices (Wang *et al.*, 2000), il représente 70 % de la teneur totale en anthocyanes (Herrera-Arellano *et al.*, 2004). Selon Juliani *et al.* (2009) la teneur totale en anthocyanes (par HPLC) dans les calices d'*H. sabdariffa* varie de 0,3 à 2,4 %, peut atteindre 1,5 g·kg<sup>-1</sup> de calices secs, suggérant que les calices d'*Hibiscus* peuvent être une source riche de ces composés par rapport à d'autres sources végétales naturelles.

### c) Acide protocatéchique

L'acide protocatéchique est un acide phénolique important présent dans l'extrait de calices d'*H. sabdariffa* (24,24 %), il a également été isolé à partir de ses fleurs séchées et attribué la structure de l'acide (3,4 dihydrobenzoïque) (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

### d) Autres composants phytochimiques

L'extrait aqueux-méthanolique d'*H. sabdariffa* a été étudié pour ses composants phytochimiques et s'est avéré contenir, en plus des flavonoïdes, des saponines, des alcaloïdes et des désoxyoses (sucres désoxy) (Olaleye, 2007). Vingt et un caroténoïdes ont été trouvés et parmi ces composés, 15 ont été identifiés ou provisoirement identifiés. Les principaux caroténoïdes étaient la lutéine tout-trans (316,43 ± 19,92 µg/100 g) et le β-carotène tout-trans (147,76 ± 5,59 µg/100 g) (Piovesana *et al.*, 2019). Des mucilages et des pectines sont des polysaccharides présents en grande quantité dans les calices et dans les fleurs d'*H. sabdariffa*, ainsi que tous les acides aminés essentiels (Forsyth et Simmonds, 1954).

## 1.7.2 Composition nutritionnelle

Des études ont rapporté que les calices d'*Hibiscus sabdariffa* contient des protéines (1,9 g/100 g), des matières grasses (0,1 g/100 g), des glucides (12,3 g/100 g) et des fibres (2,3 g/100 g), elles sont riches en vitamine C (14 mg/100 g) et b-carotène (300 mg/100 g) (Ismail *et al.*, 2008). Des études chimiques ont montré la présence, dans les calices secs de cette plante de l'aluminium, du chrome, du cuivre, du nickel (Wróbel *et al.*, 2000), du calcium (25 mg/100 g) et de fer (55,5 mg/100 g) (Ahmed *et al.*, 2019). Selon Cisse *et al.* (2011) l'analyse des éléments minéraux indique que les teneurs en potassium et calcium sont assez intéressantes. Comme dans la plupart des produits végétaux, le composé minéral qui prédomine est le potassium.

**Chapitre 2**  
**Activités biologiques**  
**étudiées d'*Hibiscus***  
***sabdariffa***

De nombreux rapports de recherche ont mis en évidence les calices séchés comme la source potentielle de molécules bioactives qui exercent une puissante activité antioxydante-antiradicalaire, une action anti-inflammatoire, anti-obésité, anti-hyperlipidémie, antihypertenseur, inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines, diurétique (Riaz et Chopra, 2018). On se focalisant sur les principales activités de cette plante.

## 2.1 Activité antioxydante

Les antioxydants sont des composés capables de ralentir ou d'empêcher les processus d'oxydation qui se produisent sous l'influence de l'oxygène atmosphérique ou d'une espèce réactive oxygénée (Pisoschi et Negulescu, 2011).

Selon Yang *et al.* (2012) en étudiant la capacité antioxydante des extraits de calices d'*H. sabdariffa* par des différents solvants et à partir les résultats des IC<sub>50</sub>s, les extraits sont de puissants antioxydants naturels, c'est-à-dire qu'ils possèdent des capacités de neutralisation du radical libre DPPH puisque, à la concentration de 200 µg/ml, les extraits ont montré un pourcentage d'inhibition significativement supérieur à celui de l'acide ascorbique (antioxydant de référence). Selon Formagio *et al.* (2015) des teneurs importantes en composés phénoliques et flavonoïdes ont été observées dans les extraits de la plante notamment dans celles des calices (474,09 et 148,35 mg g<sup>-1</sup>, respectivement). Cisse *et al.* (2011) ont rapporté que les teneurs élevées en anthocyanes, polyphénols et vitamine C sont très probablement à l'origine du pouvoir antioxydant élevé des calices d'*Hibiscus sabdariffa*, cette affirmation a été prouvée par l'étude de Apak *et al.* (2004) qui ont établies à travers leurs recherches que les composés polyphénoliques comme les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins ont une structure chimique idéale pour des activités efficaces de piégeage des radicaux libres. D'ailleurs Aurelio et ses collaborateurs (2007) ont prouvé la forte capacité antioxydante des composés anthocyaniques qui sont le principal constituant phénolique des calices de la plante *Hibiscus sabdariffa*. Azza A *et al.* (2007) ont affirmer que cette activité est très probablement dû au fait que ses calices contiennent une riche source de fibres alimentaires, de vitamines, de minéraux et de composés bioactifs tels que des acides organiques, des phytostérols et des polyphénols, dont certains ont des propriétés antioxydantes. En effet Yang *et al.* (2012) ont trouvé une corrélation positive entre la teneur totale en phénols et la capacité antioxydante et de cela les calices pourraient être utilisés comme source antioxydante efficace et sûre. Une autre étude sur l'effet antioxydant de l'extrait d'*H. sabdariffa* réalisée par Yin et al (2008) a rapporté que l'extrait de calice de cette plante a diminué les niveaux d'oxydation des lipides dans le bœuf haché.

Selon Juliani *et al.* (2009) le calice d'*Hibiscus sabdariffa* fournit des niveaux plus élevés d'antioxydants que les sources traditionnelles telles que les myrtilles et les framboises.

## 2.2 Activité antimicrobienne :

D'après Das (2014), l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des deux extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa*, l'un d'éther de pétrole et l'autre d'éthanol par un test de diffusion sur disque, a révélé que les deux extraits ont montré des activités antimicrobiennes similaires contre toutes les souches testées parmi lesquelles *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Lactobacillus brevis*, l'extrait d'éther de pétrole a montré la plus forte activité. Dans une étude similaire de Olaleye (2007) l'extrait hydro-méthanoïque des calices séchés a montré un effet inhibiteur *in vitro* contre plusieurs souches bactériennes, telles que *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Clostridium sporogenes*, et *Pseudomonas fluorescens*.

Les extraits d'*H. sabdariffa* ont également montré un effet antibactérien contre *Streptococcus mutans*, bactéries cariogènes de la cavité buccale, avec une concentration minimale inhibitrice de 2,5 mg/ml (Afolabi *et al.*, 2008), et des espèces de *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et *Campylobacter fetus*) qui contamaine la viande comme la volaille, le bœuf et le porc à une concentration de 96 à 152 µg/ml. D'autre part l'extrait aqueux frais des calices d'*Hibiscus sabdariffa*, l'extrait d'éthanol et l'acide protocatéchique (20 mg/ml) ont été efficaces pour inhiber la croissance des bactéries d'altération des aliments telles que *Salmonella typhimurium* DT104, *Listeria monocytogenes* (Yin *et al.*, 2008).

## 2.3 Activité anti-inflammatoire

Dans l'étude de Shallangwa *et al.* (2017), l'effet anti-inflammatoire *in vitro* des extraits de calices d'*Hibiscus sabdariffa* a été évalué contre la dénaturation de l'albumine d'œuf causée par un processus inflammatoire. D'après les résultats on peut conclure que le calice d'*H. sabdariffa* possède des effets anti-inflammatoires marqués car ils peuvent limiter le processus de dénaturation de la protéine *in vitro*. Cela peut contribuer à la validation de l'activité anti-inflammatoire de cette plante.

## 2.4 Activité anticancéreuse

Dans l'étude de Lin (b) *et al.* (2005), des investigations ont été menées pour examiner le mécanisme de l'activité anticancéreuse d'*H. sabdariffa*, des extraits riches en polyphénols d'*Hibiscus* (HPE). HPE a induit la mort cellulaire de huit types de lignées cellulaires d'une

manière dépendante de la concentration. Parmi elles, les cellules de carcinome gastrique humain (AGS) étaient les plus sensibles à l'HPE (0,95 mg/mL d'HPE inhibait sa croissance de 50 %). Les résultats ont révélé que les cellules AGS subissaient une fragmentation de l'ADN et présentaient une augmentation de la distribution de la phase hypo diploïde (pic apoptotique, 52,36 %) après un traitement de 24 h avec HPE (2,0 mg/mL). Le mécanisme par lequel il exerce des propriétés anticancéreuses pourrait être la promotion antitumorale en réduisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Un groupe de composés présents dans les extraits des calices d'*H. sabdariffa* sont les anthocyanes telles que la delphinidine-3-sambubioside ont induit l'apoptose des cellules leucémiques humaines (Chang *et al.*, 2005).

## 2.5 Potentiel Anti-hypertenseur

Jalalyazdi *et al.* (2019) Ont mis en œuvre une étude qui vise à évaluer l'effet antihypertenseur du thé aigre (*Hibiscus sabdariffa*), sur l'hypertension de stade 1, l'expérience a été menée sur deux groupes de patients, selon les résultats de cette étude, la consommation de ce thé deux fois par jour pourrait abaisser efficacement la tension artérielle chez les patients souffrant d'hypertension de stade 1, avec modification du mode de vie et de l'alimentation. Ces résultats ont été renforcés à travers une approche globale d'interprétation des essais cliniques randomisés ECR effectuée par Hopkins *et al.* (2013), suggérant que la consommation quotidienne d'un thé ou d'un extrait produit à partir des calices d'*H. sabdariffa* a considérablement abaissé la pression artérielle chez les adultes souffrant d'hypertension essentielle pré à modérée. Des études ont également été menées sur des rats et les résultats ont confirmé la croyance populaire selon laquelle l'extrait de roselle contient des constituants antihypertenseurs (Onyenekwe *et al.*, 1999). Les anthocyanes trouvées en abondance dans les calices HS sont généralement considérées comme les composés phytochimiques responsables des effets antihypertenseurs et hypocholestérolémiant, mais des preuves ont également été fournies pour le rôle des polyphénols et de l'acide d'hibiscus Hopkins *et al.* (2013).

## 2.6 Activité antipyrétique

Selon Reanmongkol et Itharat (2007) les deux extraits éthanolique et aqueux des calices d'*H. sabdariffa* ont diminué la fièvre induite par la levure chez les rats. D'après les résultats, l'extrait à l'éthanol a montré un effet anti-fièvre plus fort que celui de l'extrait aqueux. Ainsi, il est possible que plus de composé(s) actif(s) pour l'action antipyrétique puissent être inclus dans l'extrait éthanolique que dans l'extrait aqueux.

# **Chapitre 3**

## **Stress oxydant**

### 3.1 Stress oxydant

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre les radicaux libres et les antioxydants, dû soit à la défense antioxydante défailante, soit à un état pro-oxydatif accru (Berger, 2006). Ce déséquilibre potentiellement conduisant à des dégâts structuraux et fonctionnels et provoque plusieurs pathologies telles que le vieillissement, le cancer et les maladies cardiovasculaires (Haleng *et al.*, 2007).

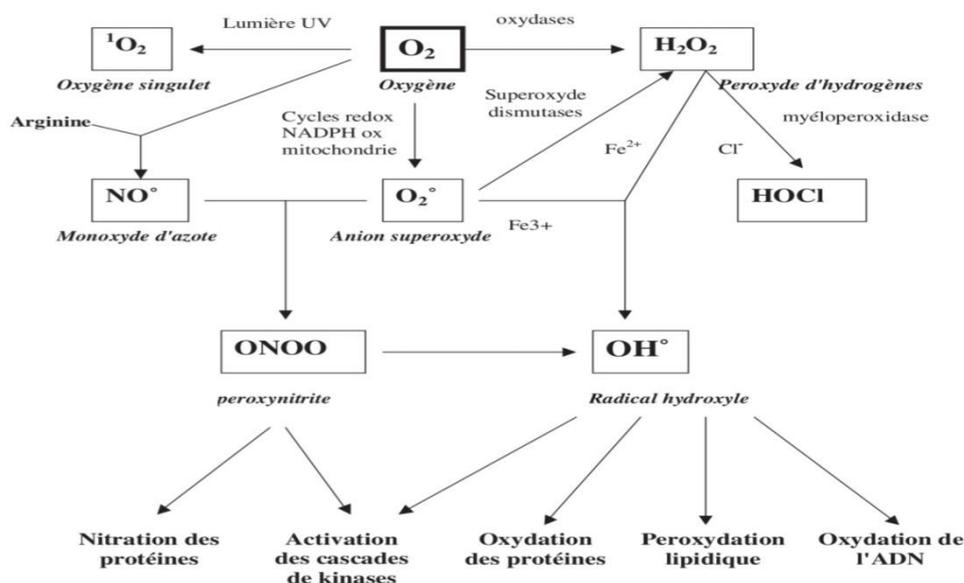
### 3.2 Radicaux libres

#### 3.2.1 Qu'est-ce qu'un radical libre

Un radical libre est défini comme une entité chimique (atome ou molécule) possédant un électron célibataire sur leur couche externe (Fontaine, 2007). Ça leur donne une forte instabilité et haute réactivité et une demi-vie extrêmement courte ( $10^{-9}$  -  $10^{-6}$  S) (Tessier, 1995). Ce déséquilibre n'est que transitoire et est rempli soit par l'acceptation d'un autre électron (il est oxydant dans ce cas), soit par le transfert de cet électron libre à une autre molécule (il est alors réducteur) (Fontaine, 2007). En biologie, les radicaux libres sont principalement des corps oxydants, considérés comme toxiques potentiels (Garrel *et al.*, 2017).

#### 3.2.2 Principaux radicaux libres

De toutes les espèces radicales qui peuvent se constituer dans les cellules, il faut distinguer une série limitée de composés radicaux qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons : Radicaux libres primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  et le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote  $NO^{\bullet}$  (Yoshikawa *et al.*, 2000). Les autres, appelés radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires avec les composés biochimiques de la cellule dérivées de l'oxygène dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde (ONOOH). Ce ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. Tous les radicaux libres ainsi que leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives d'oxygène (ROS) (Favier, 2003) (Figure 2).



**Figure 2. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).**

### 3.2.3 Source des radicaux libres

Les radicaux libres (ROS) sont soit d'origine endogène ou exogène

#### 3.2.3.1 ROS d'origine endogène

##### a) Chaîne respiratoire mitochondriale

La dernière étape de ce processus réduit la molécule d'oxygène par quatre électrons sans libérer d'espèces radicalaires. Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, la chaîne respiratoire mitochondriale produit un faible pourcentage de superoxyde radical, cette production reste faible et ne concerne qu'un faible pourcentage de l'oxygène utilisé par la respiration (environ 2 %), par contre elle peut s'amplifier lorsque la respiration devient plus intense (effort physique, hyperoxie), ou lorsque interviennent des désordres inflammatoires (effet du TNF  $\alpha$ ) ou nutritionnels (carence en ubiquinone), qui augmentent avec l'âge (Favier, 2003).

##### b) Cellules phagocytaires

Les cellules phagocytaires sont le site d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant à activer le complexe oxydase NADPH, une enzyme capable de produire de grandes quantités d'anions superoxydes dans la membrane cellulaire à l'aide d'oxygène moléculaire.

##### c) Les mécanismes de cycles redox

Ce sont une source importante de radicaux libres que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome P450. Ainsi que par le monoxyde d'azote et l'acide lévulinique et surtout les catécholamines (Favier, 2003), xanthines oxydases, neutrophiles et par la peroxydation lipidique (Mahantesh *et al.*, 2012).

### 3.2.3.2 ROS d'origine exogène

#### a) Fumée de cigarettes

Après avoir été inhalé dans les poumons, elle active l'accumulation de neutrophiles et de macrophages, ce qui accroît la lésion oxydante (Birben, 2012).

#### b) Métaux lourds

Les métaux lourds toxiques (chrome, cuivre, vanadium), ainsi que le cuivre et le fer libres génèrent des radicaux hydroxyles très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive  $H_2O_2$ , par une réaction appelée réaction de fenton (Favier, 2003).

#### c) Rayonnements

Sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants X ou  $\gamma$ , soit en activant des molécules photo sensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des anions superoxydes et de l'oxygène singulet (Haleng *et al.*, 2007).

## 3.3 Principales dommages oxydants

#### a) Oxydation des acides nucléiques

L'ADN est une cible privilégiée pour les espèces réactives de l'oxygène (Haleng *et al.*, 2007) susceptibles d'entraîner des modifications des bases azotées, des fragmentations de l'ADN, des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases (Algeciras-Schimnich *et al.*, 2003).

#### b) Oxydation des protéines

Les acides aminés possèdent des susceptibilités différentes vis-à-vis les radicaux libres, les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine. Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques et

des ponts bi-tyrosine. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (Haleng *et al.*, 2007).

### c) Peroxydation des lipides

Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras poly-insaturés (AGPI) (Haleng *et al.*, 2007), qui sont facilement oxydables, aboutissant à la désorganisation complète de la membrane cellulaire, altérant de ce fait ses fonctions d'échanges, de barrières et d'informations (Koechlin, 2006).

## 3.4 Systèmes antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des radicaux libres, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Figure3).

### 3.4.1 Système antioxydant enzymatique

Les trois principaux représentants de l'équipement enzymatique antioxydant : superoxydes dismutases (SOD), catalases et glutathion peroxydase (GPx), constitue la première ligne de défense de l'organisme. Le rôle de ce système consiste à piéger les radicaux libres sur place et, au moment de leur formation et de les neutraliser en les transformant en molécules stables et non réactives (Garrel *et al.*, 2017).

### 3.4.2 Système antioxydant non enzymatique

C'est la deuxième ligne de défense, « les piègeurs de radicaux libres », d'une importance cruciale lorsque les activités enzymatiques sont insuffisantes. Son rôle est de capter l'électron célibataire du radical qu'il rencontre et former un nouveau radical qui sera à son tour régénéré par des systèmes spécifiques en aval, ou détruit et éliminé (Garrel *et al.*, 2017). Ces piègeurs de radicaux libres peuvent être d'origine endogène synthétisée par l'organisme et se composent de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine), ou pour la majorité apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes et les protéine ou de quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

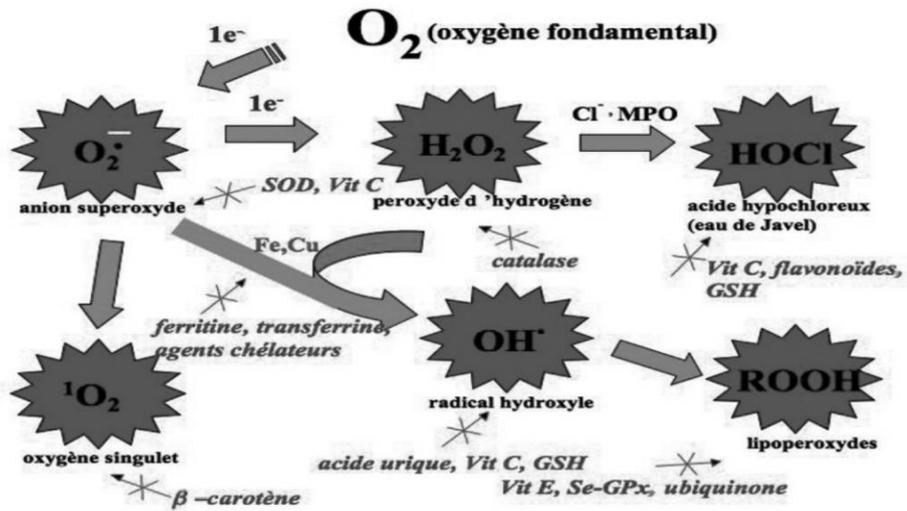


Figure 3. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les systèmes de défenses antioxydants (Haleng *et al.*, 2007).

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre 1**

## **Matériel et méthodes**

### 1.1 Matériel biologique

L'étude de l'activité antioxydante de la plante *Hibiscus sabdariffa* a été réalisée sur les calices. Nous les avons obtenus d'une herboristerie dans la Wilaya de Biskra, l'origine de la plante selon l'herboriste est l'Irak. Le matériel biologique a été lavé avec l'eau distillée, et laissé sécher à l'air et à l'abri du soleil, puis nous l'avons broyé avec un broyeur électrique, jusqu'à ce que nous obtenions une poudre fine de calices pour faciliter l'extraction (Figure 4).



Figure 4. Calices utilisés pour l'extraction.

### 1.2 Equipement et produits chimiques

Les principaux produits chimiques et équipement utilisés sont cités dans le (Tableau 1).

Tableau 1. Produits chimiques et équipements utilisés.

Equipement	Produits chimiques
- Evaporateur rotatif (ISOLAB Laborgerate GmbH)	-DPPH (Sigma-Aldrich)
- Spectrophotomètre (P Selecta UV-2005)	-Folin-ciocalteu
- Vortex (SCIENTIFIC FB15024)	-Acide gallique (Sigma-Aldrich)
- Etuve (MEMMERT UF110)	-Acide ascorbique (Sigma-Aldrich)
- Balance de précision (ScoutTM SE402F)	-Carbonate (Sigma-Aldrich)
- Balance analytique (KERN ABT 220-5DM)	-Ether de pétrole (Sigma-Aldrich)
- Broyeur électrique (SAYONA ratissier SZJ-1306)	-Ethanol 96%
	-Méthanol.

### 1.3 Obtention des extraits

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules chimiques contenues dans les calices de la plante *Hibiscus sabdariffa* en utilisant trois solvants pour trois extractions différentes. La polarité croissante des solvants (éther de pétrole (0,1), éthanol 96 % (4,3), l'eau distillée (10)) permet à chacun d'extraire des molécules de polarité proche.

Nous avons utilisé la méthode de macération à froid, à température ambiante ce qui est recommandé pour conserver l'intégrité des molécules. Cette méthode consiste à laisser la poudre du matériel biologique en contact prolongé avec le solvant, pour en extraire les molécules d'intérêts.

#### ➤ **Extraction**

500 gr de poudre préparée des calices ont été macérés dans le solvant avec un rapport de 1/4 (P/V) pendant 72 heures avec agitation, ceci est suivi d'une filtration du mélange avec du papier filtre. Ce processus a été répété deux fois pour chaque solvant et les extraits obtenus des deux répétitions ont été combinés. La poudre restante après chaque extraction est utilisée dans l'extraction suivante, après qu'elle a été séchée dans une étuve à 40°C pendant 1 heure.

#### ➤ **Concentration**

Les extraits obtenus ont été concentrés dans un évaporateur rotatif sous pression réduite à 40°C (50°C pour l'eau distillée) afin d'éliminer le solvant et obtenir un extrait sèche. Le solvant récupéré est utilisé dans la répétition d'extraction (sauf pour l'eau distillée).

Une étape de séchage supplémentaire pour les extraits éthanolique (EEa) et aqueux (EA) est réalisée dans une étuve à 40°C pendant une semaine. Après la concentration, les extraits (EEt (éther de pétrole), EEa et EA) ont été récupérés dans des flacons, puis conservés à une température 4°C jusqu'à l'utilisation (Figure 5).

Le rendement d'extraction a été calculé selon la relation suivante :

$R\% = (\text{Poids d'extrait obtenue} / \text{poids de la matière végétale totale}) \times 100.$

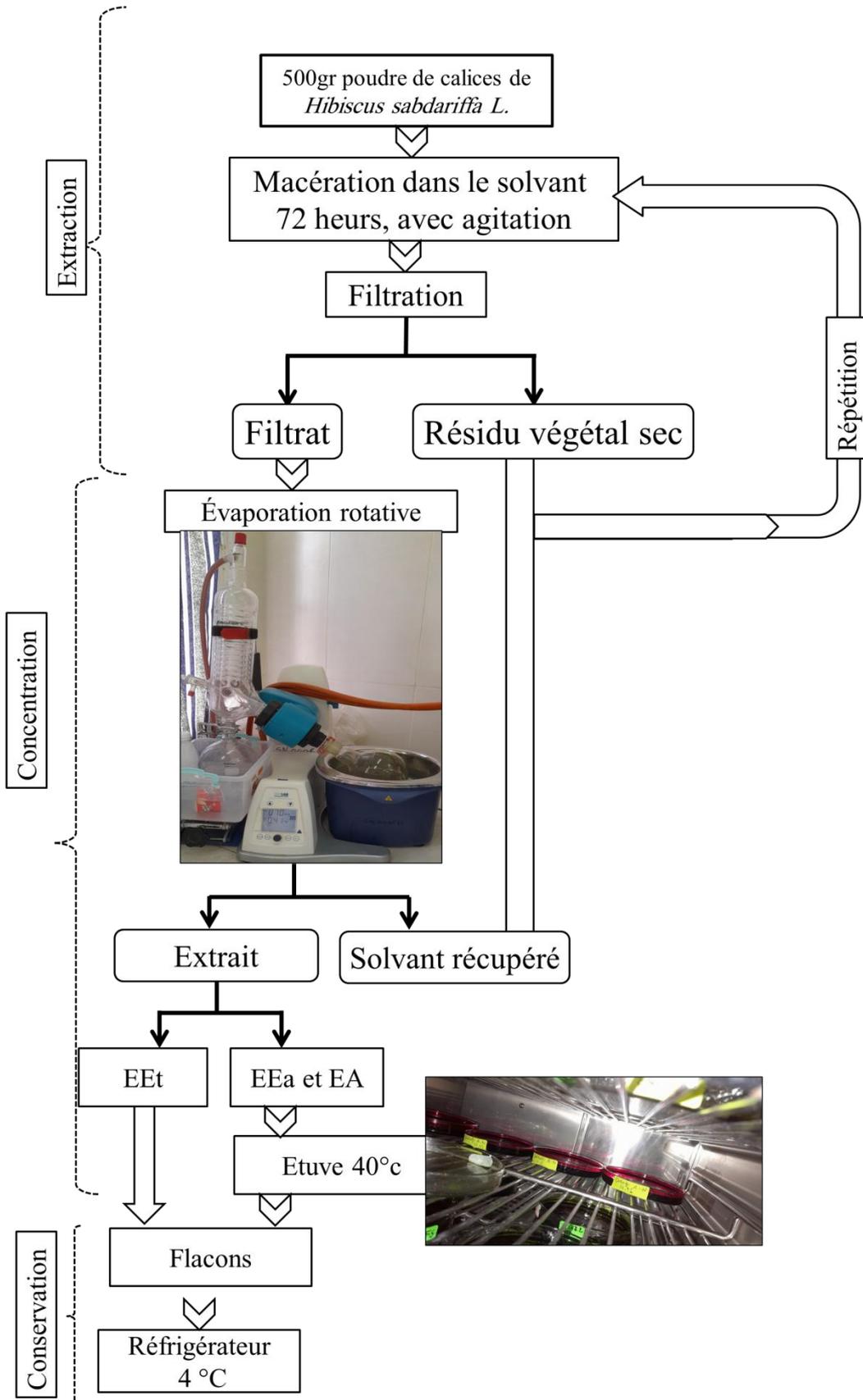


Figure 5. Schéma récapitulatif des étapes de l'extraction.

## 1.4 Dosages des composés phénoliques totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu selon la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965).

### ➤ Principe

Ce réactif est une solution de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui ont une  $\lambda$  max 765nm, l'absorption dépend de la concentration des composés phénoliques (Blouin, 1972).

### ➤ Mode opératoire

Un volume de 200 $\mu$ L de différentes concentrations des extraits, ont été mélangés avec 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement dilué 10 fois dans de l'eau distillée (10%). Après 4 minutes, 800 $\mu$ L de la solution de carbonate de sodium (7,5%)  $NaCO_3$  sont ajoutés et le volume est complété avec l'eau distillée jusqu'à 4mL. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été lue, contre un blanc contenant le solvant à la place de l'extrait, à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.

La courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations (0 – 300 $\mu$ g/ml). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par grammes de l'extrait (mg EAG/g E).

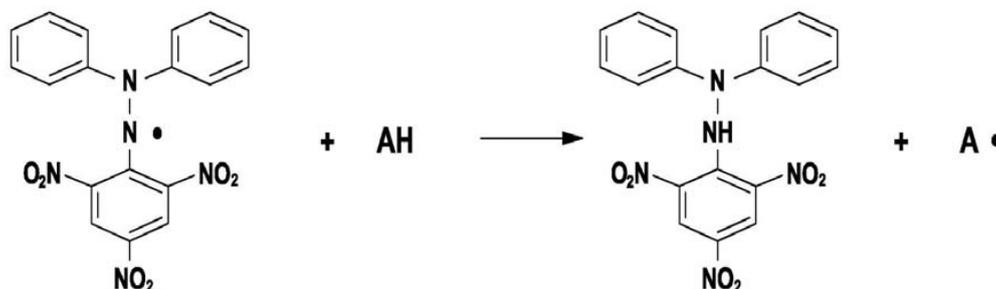
## 1.5 Évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH

La méthode utilisée pour l'étude de l'activité antioxydante est le test DPPH de Blois (1958) avec des modifications (Sharma, 2009).

### ➤ Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable, dû à la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule. Ainsi, le DPPH ne se dimérise pas, comme c'est le cas avec la plupart des radicaux libres. La délocalisation sur la molécule DPPH détermine l'apparition d'une couleur violette, avec une bande d'absorption avec un maximum autour de 520nm (Molyneux, 2004).

Lorsque le DPPH $\cdot$  réagit avec un donneur d'hydrogène, la forme réduite (DPPHH) est générée (Figure 6), accompagnée de la disparition de la couleur violette et l'apparition de la couleur jaune. Par conséquent, la diminution de l'absorbance dépend linéairement de la concentration en antioxydant (Blois, 1958).



**Figure 6. Réaction du radical libre DPPH $\cdot$  avec un antioxydant (Pisoschi *et al.*, 2009).**

### ➤ Mode opératoire

Une gamme de dix concentrations a été préparée pour chaque extrait dans son solvant. 150  $\mu$ l de chaque concentration ont été mélangés avec 1350  $\mu$ l de la solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée ( $6 \cdot 10^{-3}$  mol/L), la concentration finale des extrait est dans l'intervalle (de 0 à 1.5mg/ml). Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante, la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm contre un blanc qui contient le méthanol et 150 $\mu$ l du solvant correspondant. Le test a été effectué comparativement à une gamme d'acide ascorbique testée dans les mêmes conditions.

Remarque :

À cause de la coloration des extraits, un blanc a été préparé en parallèle pour chaque concentration d'extrait en mélangeant 1350 $\mu$ l du méthanol avec 150 $\mu$ l de cette concentration.

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante:

$$\% \text{d'activité anti-radicalaire} = \frac{[\text{Abs}_{517} \text{ contrôle} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}_{517}]}{\text{Abs}_{517} \text{ contrôle}} \times 100$$

## 1.6 Statistiques

Les valeurs dans les courbes de l'activité antioxydante sont la moyenne de deux répétitions. Les IC<sub>50</sub> (la concentration nécessaire pour réduire 50% de radicale libre DPPH), les teneurs en polyphénols ont été déterminées par l'utilisation des logiciels Graph pad et Excel.

# **Chapitre 2**

## **Résultats et discussion**

*Hibiscus sabdariffa* est une plante médicinale largement utilisée, qui contient plusieurs composés bioactifs importants, en effet elle possède un éventail très vaste en propriétés biologiques (Jamini et Islam, 2021). En raison qu'elle possède un taux élevé en antioxydants, elle est utilisée pour traiter plusieurs maladies notamment celles liées au vieillissement, dont le stress oxydant est le facteur déclenchant principal (Apaliya *et al.*, 2021). Des études montrent que les extraits de cette plante notamment de ces calices peuvent prévenir ces maladies comme le cancer et protège contre l'oxydation de la lipoprotéine de basse densité (LDL) (Olvera-García *et al.*, 2008).

Pour contribuer à la compréhension des propriétés biologiques d'*Hibiscus sabdariffa*, notre travail a été consacré à l'étude de l'activité antioxydante des extraits de ses calices. La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par trois solvants de polarité croissante (éther de pétrole, éthanol, eau distillée) pour extraire la majorité des composés bioactifs contenus dans cette plante.

## 2.1 Rendements de l'extraction

Nous avons obtenus trois extraits de couleurs et d'aspects différents : extrait d'éther de pétrole (EEt) a un aspect gras et une couleur vert noirâtre, extrait éthanolique (EEa) se présente sous forme d'une pâte collante de couleur rouge foncé alors que l'extrait aqueux (EA) est obtenu après broyage sous forme d'une poudre de couleur rouge.

Les résultats obtenus montrent que les extraits (EA) et (EEa) représentent les rendements les plus élevés (22,23%, 19,72% respectivement) par rapport au poids total de la plante, tandis que le rendement le plus faible a été obtenu avec (EEt) 0,59% (Tableau 2). Cela indique que la moitié des composés extractibles de cette plante est polaire alors que l'autre moitié est de moyenne polarité, les composés apolaires sont rares.

**Tableau 2. Caractéristiques des extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa*.**

Matière sèche	Extrait	Couleur	Aspect	Poids (g)	Rendement(%)
500 g	Éther de pétrole	Vert noirâtre	Gras	2,97	0,59
	Éthanol	Rouge foncé	Pâte collante	98,61	19,72
	Aqueux	Rouge	Poudre	111,15	22,23

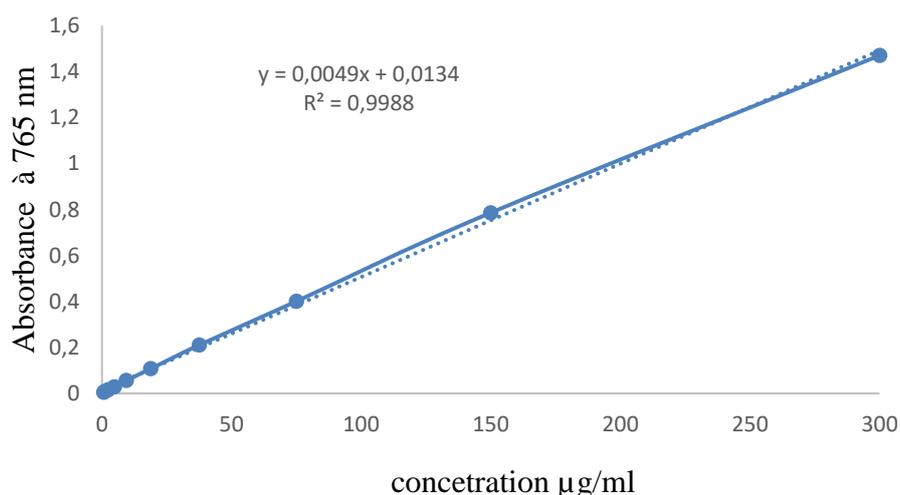
Dans une étude similaire de Singh et ses collaborateurs (2021), le rendement de l'extrait éthanolique et aqueux est estimé 15,01%, 29,96% respectivement, des valeurs qui sont proches

de celles que nous avons trouvées avec les extraits correspondants. L'utilisation de Shallangwa *et al.* (2017) du méthanol, un solvant de polarité comparable à celle de l'éthanol, a donné une valeur double de la nôtre (39,82%).

Par contre les rendements trouvés par Yagi et Hussein (2020) pour l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux sont très loin des nôtres (77,2% et 6,6%, respectivement). En effet, le rendement peut varier d'un travail à l'autre en fonction de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée.

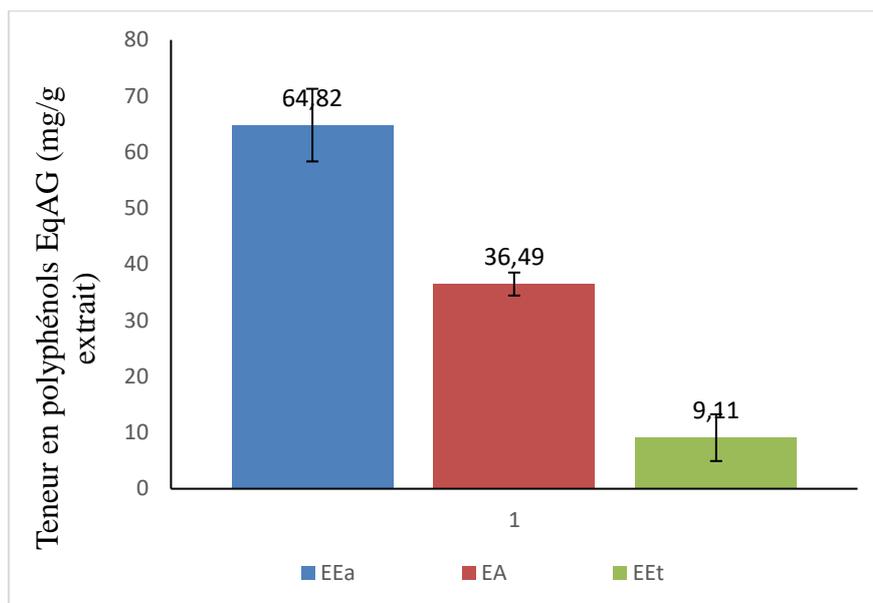
## 2.2 Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits ont été déterminées par la méthode de Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif Folin-ciocalteu. Les résultats sont calculés en se basant sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme standard (Figure 7).



**Figure 7. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.**

Les résultats obtenus montrent des valeurs différentes selon le solvant utilisé. La teneur la plus élevée est obtenue avec l'extrait éthanolique (64,82 EqAG (mg/g E)), suivie par l'extrait aqueux qui a une teneur moyenne en composés phénoliques (36,49 EqAG (mg/g E)) et une teneur faible pour l'extrait éther de pétrole (9,11 EqAG (mg/g E)) (Figure 8). Cela peut être expliqué par la solubilité des composés phénoliques de cette plante, dont la plupart sont probablement soluble dans l'éthanol.

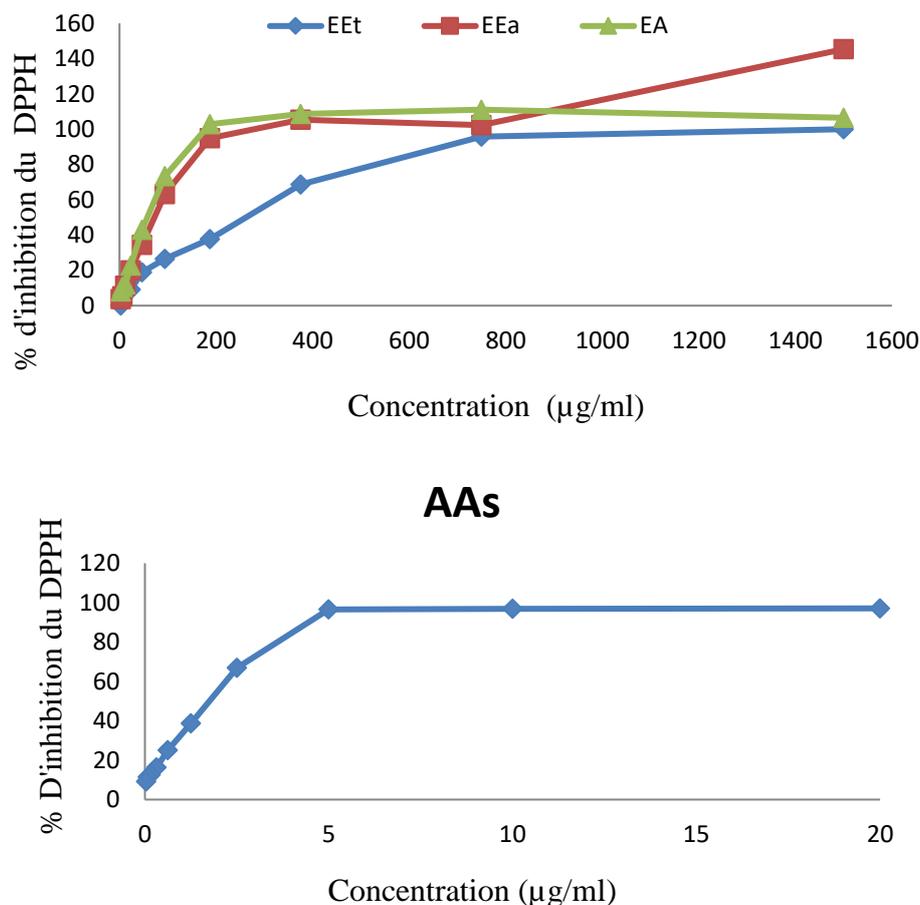


**Figure 8. Histogramme présentant la teneur en polyphénols EqAG (mg/g E) dans chaque extrait.**

La teneur en polyphénols obtenu dans des travaux précédents est totalement différente de nôtre. L'extrait éthanolique ou méthanolique (polarité proche) ont donné des valeurs plus faibles dans le travail de Das (2014) (34 mg EAG/g d'extrait), Shallangwa *et al.* (2017) (21,87 mg d'EAG/g E) et Mohd-Esa *et al.* (2010) (2,91 mg EAG/g E). L'extrait aqueux a donné des valeurs faibles lui aussi dans le travail de Mohd-Esa *et al.* (2010) (1,85 mg EAG/g E). Alors que Das (2014) a obtenu une valeur supérieure pour l'extrait d'éther de pétrole (41 mg EAG/g E). La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Morais *et al.*, 2011).

### 2.3 Évaluation de l'activité antioxydante par test DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydant de la plante a été effectuée par estimation du pouvoir de piéger le radical stable de DPPH par les différents extraits. Les résultats, exprimés en tant que pourcentage d'inhibition, révèlent que tous les extraits testés ont donné une inhibition totale du DPPH avec des concentrations différentes. L'acide ascorbique utilisé comme standard présente une inhibition avec des concentrations très faibles (Figure 9).



**Figure 9. Courbes d'inhibition du radical libre DPPH par les trois extraits étudiés et l'acide ascorbique.**

Après la détermination des valeurs d' $IC_{50}$ , qui est définie comme étant la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH, en utilisant le logiciel GraphPad, nous avons trouvé que parmi les trois extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa*, l'extrait aqueux est le plus actif avec une  $IC_{50}$  égale à 48,88 µg/ml, alors que l'extrait éthanolique est le deuxième avec une  $IC_{50}$  de 60,97 µg/ml. Par contre la capacité antiradicalaire de l'extrait éther de pétrole est la plus faible avec une  $IC_{50}$  de 201,8 µg/ml. Ces valeurs sont faibles par rapport au pouvoir antiradicalaire de l'acide ascorbique (AAs) testé dans les mêmes conditions (1,71 µg/ml) (Tableau 3).

**Tableau 3. Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits et de l'acide ascorbique.**

Extrait	IC <sub>50</sub> (µg/ml) DPPH
EEt	201,8
EEa	60,97
EA	48,88
AAs	1,71

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique dans le travail de Das (2014) est proche à celle de nos résultats (58µg/ml) alors que Formagio *et al* (2015) ont obtenu une activité supérieure (37.86µg/ml). L'extrait éther de pétrole quant à lui a donné une activité trois fois meilleure (64µg/ml) (Das, 2014).

Yang *et al.* (2012) en étudiant la capacité antioxydante des extraits de calices et fruits d'*Hibiscus sabdariffa* ont trouvé une corrélation positive entre la teneur totale en composés phénolique et la capacité antioxydante. Cette association entre polyphénols et activité antioxydante est confirmée par Tsai *et al.* (2002) qui leur attribue 51 % de l'activité antioxydante de la plante. Cela est en désaccord avec nos résultats, nous avons trouvé que la relation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante étudiée n'est pas linéaire. L'extrait éthanolique qui possède la teneur la plus élevée en polyphénols n'est pas forcément le plus actif comme antioxydant. L'extrait aqueux est le plus efficace avec la moitié des polyphénols alors que l'extrait éther de pétrole possède une activité moyenne malgré sa teneur très faible en polyphénols.

Cela peut être expliqué par la présence dans la plante d'autres composants qui agissent comme antioxydants. Les calices de cette plante sont riches en acides organiques comme l'acide ascorbique (Prenesti *et al.*, 2005) qui peut atteindre 141.09mg/100g (Wong *et al.*, 2002), cet acide est un antioxydant naturel bien connu.

### Conclusion

Etant donné que les calices de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. sont une source abondante et intéressante de molécules bioactives qui contribuent à ses propriétés biologiques. Dans le cadre de la valorisation de ces propriétés, nous avons orienté notre travail sur l'extraction successive des molécules bioactives par trois solvants de polarité croissante à partir des calices de cette plante, puis l'estimation du taux des polyphénols dans les différents extraits, suivie d'une évaluation de leur activité antioxydante par le test DPPH.

Les résultats du processus d'extraction ont montré que l'extrait aqueux a donné le rendement le plus élevé, suivi par l'extrait éthanolique puis l'extrait d'éther de pétrole.

Le dosage des composés phénoliques a révélé que l'extrait éthanolique est l'extrait le plus riche en polyphénols totaux par rapport aux deux autres extraits, ce que nous supposons est dû à la solubilité élevée de ces composants dans l'éthanol. Alors que l'étude de l'activité antioxydante des extraits par le test de DPPH a montré une forte efficacité à piéger le radical libre par l'extrait aqueux en comparant avec l'extrait éthanolique qui avait le taux le plus élevé en polyphénols. Ce phénomène peut être expliqué par la présence des composants autres que les polyphénols dotés d'une activité antioxydante dans les extraits aqueux et d'éther de pétrole.

Les calices d'*Hibiscus sabdariffa* peuvent donc être utilisés comme source d'antioxydants naturels pour lutter contre les maladies liées au stress oxydatif puisque ces antioxydants naturels présentent un risque minime d'effets secondaires par rapport aux antioxydants synthétiques.

Des recherches complémentaires sur les propriétés antioxydantes et thérapeutiques de la plante *in vivo* et *in vitro* mériteraient d'être menées. Il serait, également, très instructif d'explorer la composition chimique des extraits et de tester leur effet dans la lutte contre les maladies causées par le stress oxydant.

# **Références bibliographiques**

Références bibliographiques

- Abu-Tarboush, H. M., Ahmed, S. A. B., & Al Kahtani, H. A. (1997). Some nutritional and functional properties of karkade (Hibiscus sabdariffa) seed products. *Cereal chemistry*, 74(3), 352-355.
- Afolabi, O. C., Ogunsola, F. T., & Coker, A. O. (2008). Susceptibility of cariogenic *Streptococcus mutans* to extracts of *Garcinia kola*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Solanum americanum*. *West African journal of medicine*, 27(4).
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Algeciras-Schimnich, A., Cook, W. J., Milz, T. C., Saenger, A. K., & Karon, B. S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. *Clinical biochemistry*, 40(16-17), 1311-1316.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Apaliya, M. T., Kwaw, E., Mahunu, G. K., Osei-Kwarteng, M., Osa, R., & Azirigo, M. (2021). Nutritional properties and feeding values of *Hibiscus sabdariffa* and their products. In *Roselle (Hibiscus sabdariffa)* (pp. 137-154). Academic Press.
- Aurelio, D. L., Edgardo, R. G., & Navarro-Galindo, S. (2008). Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion. *International journal of food science & technology*, 43(2), 322-325.
- Mahmoud, B. M., Ali, H. M., Homeida, M. M. A., & Bennett, J. L. (1994). Significant reduction in chloroquine bioavailability following coadministration with the Sudanese beverages aradaib, karkadi and lemon. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 33(5), 1005-1009.
- Babalola, S. O., Babalola, A. O., & Aworh, O. C. (2001). Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.).
- Berger, M. M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19.

- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Blouin, J., Llorca, L., Montreau, F. R., & Dufour, J. H. (1972). Etude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *OENO One*, 6(4), 405-413.
- Castro, N. E. A. D., Pinto, J. E. B. P., Cardoso, M. D. G., Morais, A. R. D., Bertolucci, S. K. V., Silva, F. G. D., Delú Filho, N. (2004). Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 28, 542-551.
- Chang, Y. C., Huang, H. P., Hsu, J. D., Yang, S. F., & Wang, C. J. (2005). Hibiscus anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells. *Toxicology and Applied pharmacology*, 205(3), 201-212.
- Chikhoun, A., & Boudjellal, A. (2019). Effets des antioxydants naturels issus de *Pituranthos scoparius* et *Hibiscus sabdariffa* sur la stabilité oxydative d'émulsions à base de lactosérum et la cristallisation des lipides (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Christian, K. R., Nair, M. G., & Jackson, J. C. (2006). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of food composition and analysis*, 19(8), 778-783.
- Cisse, M. (2010). Couplage de procédés membranaires pour la production d'extraits anthocyaniques : application à *Hibiscus sabdariffa* (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).
- Cisse, M., Dornier, M., Sakho, M., Ndiaye, A., Reynes, M., & Sock, O. (2009). Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): composition et principales utilisations. *Fruits*, 64(3), 179-193.
- Cisse, M., Vaillant, F., Bouquet, S., Pallet, D., Lutin, F., Reynes, M., & Dornier, M. (2011). Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 352-360.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L.—A phytochemical and pharmacological review. *Food chemistry*, 165, 424-443.
- Das, S. (2014). In Vitro Evaluation of Phytochemical, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Calyces of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(8), 3364.

- Duke, J. A. (1993). CRC handbook of alternative cash crops. CRC press.
- Endrias, A. (2006). Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdariffa* L. et à l'*Artemisia annua* (Doctoral dissertation).
- Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R. (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale: *Verbena officinalis*. *Biologie Aujourd'hui*, 215(3-4), 133-142.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Félix, A. A., Florence, N. B., & Augustin, A. A. Couplage de technologies membranaires pour la production d'extraits stables de bissap (*Hibiscus sabdariffa* L., Malvaceae). Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, June 4-6, 2013, 589.
- Fontaine, E. (2007). Radicaux libres. In: *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Springer, Paris. 251-257.
- Formagio, A. S. N., Ramos, D. D., Vieira, M. C., Ramalho, S. R., Silva, M. M., Zárate, N. A. H., ... Carvalho, J. E. (2015). Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *Brazilian Journal of Biology*, 75, 69-76.
- Forsyth, W. G. C., Simmonds, N. W. (1954). A survey of the anthocyanins of some tropical plants. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences*, 142(909), 549-564.
- Garrel, C., Bigard, X. (2017). Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. *Nutrition du sportif*, 151-196.
- Grubben, G. J. H., Denton, O. A. (2004). Plant resources of tropical Africa 2. Vegetables. *Plant resources of tropical Africa 2. Vegetables*.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
- Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chavez-Soto, M. A., Tortoriello, J. (2004). Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine*, 11(5), 375-382.
- Holton, T. A., Cornish, E. C. (1995). Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 1071.

- Hopkins, A. L., Lamm, M. G., Funk, J. L., Ritenbaugh, C. (2013). Hibiscus sabdariffa L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: a comprehensive review of animal and human studies. *Fitoterapia*, 85, 84-94.
- Islam, M. M. (2019). Varietal advances of jute, kenaf and mesta crops in Bangladesh: A review. *Int J Bioorganic Chem*, 4(1), 24-41.
- Ismail, A., Ikram, E. H. K., Nazri, H. S. M. (2008). Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) seeds nutritional composition protein quality and health benefits. *Food*, 2(1), 1-16.
- Jalalyazdi, M., Ramezani, J., Izadi-Moud, A., Madani-Sani, F., Shahlaei, S., Ghiasi, S. S. (2019). Effect of Hibiscus sabdariffa on blood pressure in patients with stage 1 hypertension. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 10(3), 107.
- Jamini, T. S., Islam, A. A. (2021). Roselle (Hibiscus sabdariffa L.): Nutraceutical and Pharmaceutical Significance. In *Roselle* (pp. 103-119). Academic Press.
- Juliani, H. R., Welch, C. R., Wu, Q., Diouf, B., Malainy, D., Simon, J. E. (2009). Chemistry and quality of hibiscus (Hibiscus sabdariffa) for developing the natural-product industry in Senegal. *Journal of Food Science*, 74(2), S113-S121.
- Khan, N. H., Abdulbaqi, I. M., Darwis, Y., Aminu, N., Chan, S. Y. (2022). A stability-indicating HPLC-UV method for the quantification of anthocyanin in Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) spray-dried extract, oral powder, and lozenges. *Heliyon*, 8(3).
- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- Leung, A. Y. (1980). *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics*. Wiley.
- Lin (b), H., Huang, P., Huang, C., Chen, H., Wang, J. (2005). Hibiscus polyphenol-rich extract induces apoptosis in human gastric carcinoma cells via p53 phosphorylation and p38 MAPK/FasL cascade pathway. *Molecular Carcinogenesis*, 43(2), 86-99.
- Lin (a), W. L., Hsieh, Y. J., Chou, F. P., Wang, C. J., Cheng, M. T., Tseng, T. H. (2003). Hibiscus protocatechuic acid inhibits lipopolysaccharide-induced rat hepatic damage. *Archives of Toxicology*, 77(1).
- Mahantesh S.P. & Gangawane A.K. & Patil C.S. (2012). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines in human health: future respects. *World Research Journal of Medicinal & Aromatic Plants*. pp.-06-10.

- Mazza, G., Miniati, E. (2018). Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. CRC press.
- McCaleb, Robert S., Leigh, Evelyn., Morien, Krista. (2000). An Authoritative Guide to 40 Leading Medicinal Plants. In: The Encyclopedia of Popular Herbs. Prima Lifestyles.
- Mohd-Esa, N., Hern, F. S., Ismail, A., Yee, C. L. (2010). Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. Food chemistry, 122(4), 1055-1060.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. technol, 26(2), 211-219.
- Morais, M., Moreira, L., Feás, X., Estevinho, L. M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. Food and Chemical Toxicology, 49(5), 1096-1101.
- Morton, J. (1987) Roselle. In: Fruits of Warm Climate, Julia F. Morton, Miami, FL, 281-286.
- Nkumah, O. C. (2015). Phytochemical analysis and medicinal uses of *Hibiscus sabdariffa*. International journal of Herbal medicine, 2(6), 16-19.
- Odigie, I. P., Ettarh, R. R., Adigun, S. A. (2003). Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats. Journal of ethnopharmacology, 86(2-3), 181-185.
- Olaleye, M. T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Medicinal Plants Research, 1(1), 9-13.
- Olvera-García, V., Castaño-Tostado, E., Rezendiz-Lopez, R. I., Reynoso-Camacho, R., González de Mejía, E., Elizondo, G., Loarca-Piña, G. (2008). *Hibiscus sabdariffa* L. extracts inhibit the mutagenicity in microsuspension assay and the proliferation of HeLa cells. Journal of Food Science, 73(5), T75-T81.
- Onyenekwe, P. C., Ajani, E. O., Ameh, D. A., Gamaniel, K. S. (1999). Antihypertensive effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and a comparison of its toxicity with that in Wistar rats. Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease, 17(3), 199-206.
- Panche, A., Diwan, A., Chandra, S. (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, E47.
- Piovesana, A., Rodrigues, E., Noreña, C. P. Z. (2019). Composition analysis of carotenoids and phenolic compounds and antioxidant activity from hibiscus calyces

- (Hibiscus sabdariffa L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Phytochemical Analysis*, 30(2), 208-217.
- Pisoschi, A. M., Cheregi, M. C., Danet, A. F. (2009). Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.
  - Pisoschi, A. M., Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106.
  - Prasetyoputri, A., Rahmawati, S. I., Atikana, A., Izzati, F. N., Hapsari, Y., Septiana, E., Putra, M. Y. (2021). A Mini Review on the Antibacterial Activity of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) Phytochemicals. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 1192, No. 1, p. 012017).
  - Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G., Toso, S. (2007). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of Hibiscus sabdariffa flowers. *Food chemistry*, 100(2), 433-438.
  - Reanmongkol, W., Itharat, A. (2007). Antipyretic activity of the extracts of Hibiscus sabdariffa calyces L. in experimental animals. *Songklanakarinn J Sci Technol*, 29(1), 29-38.
  - Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 575-586.
  - Savio, S.E., Issiaka, T., Fatoumata, T. (2020). Activité antioxydante in vitro des extraits des graines de Hibiscus sabdariffa L. récoltées dans quatre localités du Mali. *International journal of applied research*, 6, 557-560.
  - Selli, S., Guclu, G., Sevindik, O., Kelebek, H. (2021). Aroma, Aroma-Active, and Phenolic Compounds of Roselle. In *Roselle* (pp. 143-164). Academic Press.
  - Shallangwa, G A., Ekwumemgbo, P A., Osu, U I., Bolarin, O O., Moyosore, A. (2017). *Algerian Journal of Natural Products*: 5(2), 483-491.
  - Sharma, O. P., Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
  - Shruthi, V. H., Ramachandra, C. T. (2019). Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) calyces: a potential source of natural colour and its health benefits. In *Food bioactives* (pp. 169-190). Apple Academic Press.

- Shruthi, V. H., Ramachandra, C. T., Nidoni, U., Hiregoudar, S., Naik, N., Kurubar, A. R. (2016). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as a source of natural colour: a review. *Plant Archives*, 16(2), 515-522.
- Singh R.K., Sureja A.K., Singh D. (2006). Cultural and agricultural dynamics of agrobiodiversity conservation. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. *Indian J. Tradit. Knowl.* 5 :151–157.
- Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., Adhikari, B. (2021). Extraction and characterization of polyphenolic compounds and potassium hydroxycitrate from *Hibiscus sabdariffa*. *Future Foods*, 4, 100087.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food research international*, 35(4), 351-356.
- Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C. Y., Chou, F. P., Tseng, T. H. (2000). Protective effect of *Hibiscus* anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food and chemical toxicology*, 38(5), 411-416.
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M., Man, Y. C. (2002). Physico-chemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Nutrition & Food Science*.
- Wróbel, K., Wróbel, K., Urbina, E. M. C. (2000). Determination of total aluminum, chromium, copper, iron, manganese, and nickel and their fractions leached to the infusions of black tea, green tea, *Hibiscus sabdariffa*, and *Ilex paraguariensis* (mate) by ETA-AAS. *Biological Trace Element Research*, 78, 271-280.
- Xiaowei, H., Zhihua, L., Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Jiyong, S., Yiwei, X., Xiaodong, Z. (2021). Conventional and rapid methods for measurement of total bioactive components and antioxidant activity in *Hibiscus sabdariffa*. *Roselle (Hibiscus sabdariffa)*, 199-214.
- Yagi, S., Hussain, Z. T. (2020). Chemical profile and scavenging activity of four extracts from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx.
- Yang, L., Gou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zhang, B., Wu, X. (2012). Antioxidant capacity of extracts from calyx fruits of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 11(17), 4063-4068.

- Yin, M. C., Chao, C. Y. (2008). Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx extract and protocatechuic acid in ground beef. *International journal of food microbiology*, 127(1-2), 73-77.
- Yoshikawa T., Yamamoto Y., Naito Y. (2000). *Free radicals in chemistry, Biology and Medicine*, Ed. Oica International, Londres.

الكركية هو نبات طبي، عشبي ينتمي لعائلة Malvacées ويستخدم على نطاق واسع في العديد من المجالات ، لا سيما في المجالات العلاجية.

نهدف في هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المحضرة من كؤوس الكركدية من خلال تحديد محتوى البوليفينول الكلي للمستخلصات متبوعاً بفحص قوتها المضادة للأكسدة بواسطة اختبار DPPH أظهر مردود الاستخلاص أعلى نسبة في المستخلص المائي (EA) (22.23 % ) ، نسبة متوسطة في المستخلص الإيثانولي (EEa) (19.72 % ) ، بينما تم الحصول على أقل إنتاجية في مستخلص الإيثر البترولي (EEt) (0.59 %). تم تحديد مجموع البوليفينول للمستخلصات عن طريق القياس الطيفي ، والذي أظهر أعلى كمية في مستخلص الإيثانول (68,82 مكافئ حمض الغاليك /ملغ / غ مستخلص)) ، وتم العثور على النصف تقريباً (36.49 مكافئ حمض الغاليك / ملغ / غ مستخلص)) في المستخلص المائي، بينما أظهر مستخلص الإيثر البترولي أقل محتوى (9.11 مكافئ حمض الغاليك / ملغ / غ مستخلص)). أظهر تقييم القوة المضادة للأكسدة للمستخلصات التي تم إجراؤه بطريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH ، أن المستخلصات تمارس نشاطاً مضاداً للأكسدة، ولكن أقل من تلك الخاصة بحمض الأسكوربيك الذي تم استخدامه كمرجع مع IC<sub>50</sub> (1.71 ميكروغرام / مل) ، في الواقع ، المستخلص الأكثر نشاطاً هو المستخلص المائي مع قيمة IC<sub>50</sub> تقدر ب (48.88 ميكروغرام / مل) ، يليه مستخلص الإيثانول مع قيمة IC<sub>50</sub> تقدر ب (60.97 ميكروغرام / مل) ، بينما لوحظ أضعف نشاط مضاد للأكسدة عند مستخلص الإيثر البترولي بقيمة IC<sub>50</sub> تساوي (201.8 ميكروغرام / مل). من خلال هذه النتائج ، تم الإستنتاج أن العلاقة بين محتوى البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة غير خطية ، والتي قد تكون بسبب وجود مكونات أخرى في النبات تعمل كمضادات للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الكركدية، الكؤوس، النشاط المضاد للأكسدة، البوليفينولات، DPPH.

## Résumé

*Hibiscus sabdariffa* L., également appelée Karkadé, est une plante médicinale, herbacée de la famille des Malvacées, largement utilisée et valorisée dans plusieurs domaines, notamment dans les domaines thérapeutiques.

Nous nous sommes intéressées dans ce travail à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés à partir des calices d'*Hibiscus sabdariffa* L. par la détermination de la teneur des polyphénols totaux des extraits suivi par l'examen de leur pouvoir antioxydant par le test DPPH. Les rendements d'extraction obtenus ont révélé le taux le plus élevé chez l'extrait aqueux (EA) (22,23%), et un taux moyen chez l'extrait éthanolique (EEA) (19,72%), alors que le rendement le plus bas a été obtenu chez l'extrait éther de pétrole (EEt) (0,59%). Le dosage des polyphénols totaux des extraits a été effectué par spectrophotométrie, qui a révélé la quantité la plus élevée dans (EEa) (64,82 EqAG (mg/g E)), et presque la moitié (36,49 EqAG (mg/g E)) a été trouvée dans (EA), tandis que (EEt) a révélé la plus basse teneur (9,11 EqAG (mg/g E)). L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits réalisé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré que les extraits exercent une activité antioxydante, mais inférieure à celle du standard (Acide ascorbique) avec IC<sub>50</sub> (1,71 µg/ml), en effet l'extrait le plus actif est (EA) avec une IC<sub>50</sub> de 48,88 (µg/ml), s'ensuit par (EEa) avec une IC<sub>50</sub> de (60,97 µg/ml), alors que l'activité antioxydante la plus faible est constaté chez (EEt) d'IC<sub>50</sub> 201,8 (µg/ml). D'après les résultats la relation entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante n'est pas linéaire, ce qui peut être due la présence dans la plante d'autres composants qui agissent comme antioxydants.

Mot clés : *Hibiscus sabdariffa* L., Calices, Activité antioxydante, polyphénols, DPPH.

## Abstract

*Hibiscus sabdariffa* L., also called Karkadé, is a medicinal, herbaceous plant of the Malvaceae family, widely used and valued in several areas, especially in therapeutic areas.

We were interested in this work in the evaluation of the antioxidant activity of the extracts prepared from the calyxes of *Hibiscus sabdariffa* L. by the determination of the content of the total polyphenols of the extracts followed by the examination of their antioxidant power by the DPPH test. The extraction yields obtained revealed the highest yield in the aqueous extract (EA) (22.23%), and an average rate in the ethanolic extract (EEA) (19.72%), while the lowest yield was obtained with the petroleum ether (EEt) extract (0.59%). The determination of the total polyphenols of the extracts was carried out by spectrophotometry, which revealed the highest quantity in (EEa) (64.82 EqAG (mg/g E)), and almost half (36.49 EqAG (mg/g E)) was found in (EA), while (EEt) revealed the lowest content (9.11 EqAG (mg/g E)). The evaluation of the antioxidant power of our extracts carried out by the method of trapping the free radical DPPH, showed that the extracts exert an antioxidant activity, but lower than that of the standard (Ascorbic acid) with IC<sub>50</sub> (1.71 µg / ml) , in fact the most active extract is (EA) with an IC<sub>50</sub> of (48.88 µg/ml), followed by (EEa) with an IC<sub>50</sub> of 60.97 (µg/ml), while the weakest antioxidant activity is observed in (EEt) of IC<sub>50</sub> 201.8 (µg/ml). From the results, we deduced that the relationship between polyphenol content and antioxidant activity is not linear, which may be due to the presence in the plant of other components that act as antioxidants.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa* L., Calyx, antioxidant activity, polyphenols, DPPH.