

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie appliqué

Présenté par :

MEDJEKANE Ouahiba & SAHILI Sarah

Thème

**Activité antioxydante et antibactérienne de la plante
Hibiscus sabdariffa L.**

Soutenu le : 30 / 09 / 2020

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>LAMINE Salim</i>	<i>Prof.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>SALHI Omar</i>	<i>MCD.</i>	<i>Univ. de Blida I</i>	<i>Examineur</i>
<i>BOUTELDJA Razika</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>LIBDIRI Farid</i>	<i>MCB.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>

Année Universitaire : 2019/2020

*L'homme ne trouvera jamais une invention plus
belle, plus simple
ou plus directe que la nature,
car dans ses inventions, rien ne manque
et rien n'est excessif.*

*(Léonard de Vinci, artiste et savant italien, 1452-
1519)*

Remerciements

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le tout Puissant » le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la force, la patience, la volonté, la santé et le courage pour l'achèvement de ce mémoire.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **Mr. LIBDIRI Farid** qui nous a proposé ce sujet.*

*On remercie monsieur le président **Mr. MOUNI Lotfi** et aussi les membres du jury **Mr. LAMINE** et **Mr. SALHI Omar** qu'ont accepté d'examiner notre mémoire.*

*Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants de l'université **Akfi Mohand Oulhadj de Bouira** particulièrement de la faculté de Science de la Nature et de la Vie et Science de la Terre qui ont contribué à notre formation.*

*On remercie aussi **Dr SAILI Linda** pour ses aides, ses encouragements et ses conseils judicieux durant toute la période du travail.*

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un remerciement à tous nos amis et tous les étudiants de master 2 spécialité Biochimie Appliquée de la promo 2020.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace :

Je dédie ce mémoire

A dieu de tout puissant de m'avoir donnée le courage, la santé et m'accordée son soutien durant les périodes les plus difficiles.

A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, Ma mère « Djedjiga ». Que dieu te préserve et te procure santé et longue vie inshallah.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, Mon père « Hammouche ». Que dieu te garde de tout mal et te protègempour moi.

A mon frère et mes sœurs, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessé(e)s de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les gardes en bonne santé.

Sans oublier le petit de la famille « yanice » que j'aime beaucoup.

A mon oncle, à ma très chère tante et à toutes les personnes de ma grande famille SAHILI.

A celle qui a partagé ce travail avec moi, ma très chère « Ouahiba », je te remercie pour ton amitié et je te souhaite tout le bonheur du monde.

A mon très cher ami « Ayman », j'aime tant passer de temps avec toi, tu trouves toujours les mots pour me faire rire, tu es la personne sur qui je peux toujours compter, tu es surtout la personne avec qui je peux parler de tout et de rien. Notre amitié fait partie des choses que je ne veux jamais voir changer.

A mes ami (e)s qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé et avec qui j'ai passée des années inoubliables.

A tout ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

SARAH

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents « Zohra » et « Abdellah » vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessée ni diminué. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours, j'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fières de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.

A mes très chers frères « Mohamed », « Ali » et « Rabah » et mes Sœurs « Nabila », « Nassima » et « Hafida » Merci de m'avoir soutenu et témoigné votre affection durant tout ce temps. J'ai toujours pu compter sur vous quel que soit le moment, je vous souhaite une très bonne continuité et réussite dans la vie.

A mes nièces « Ryhem » et « Nihel » que j'aime beaucoup, A tout la famille MEDJEKANE et BELKADI.

A ma très chère binôme « Sarah » avec qui j'ai partagée tous les moments de stress mais aussi des moments de rires et de joies.

A mon amie d'enfance, ma chérie « Tiziri » qui est avec moi dans mes joies et mes plaies.

A mes amies : Sihem, Faiza, Asma, Rania.

A tous les enseignants de la faculté science de la nature et de la vie et science de la terre qui étaient toujours pour nous aider et soutenir.

A toute promotion Biochimie Appliquée 2020.

A tous ceux qui m'ont donné sans rien en retour et ceux que j'aime et que respecte.

Ouahiba

Liste des abréviations

O₂ : Oxygène
ERO : Espèces réactives oxygénées
O₂^{o-} : Anion superoxyde
H₂O₂ : peroxyde d'oxygène
OH^o : Radical hydroxyle
¹O₂ : Oxygène singulet
ONOO⁻ : Peroxynitrite
NO^o₂ : Dioxyde nitrique
H⁺ : Proton
ADN : acide désoxyribonucléique
Fe³⁺ : Fer ferrique
NO : Oxyde nitrique
Cu⁺ : Cuivre
NOS : Oxyde nitrique synthase
HOCL : L'acide hypochloreux
H₂O : Monoxyde de dihydrogène
Cl⁻ : Ion Chlorure
NO⁻ : Monoxyde d'azote
NO₂ : Dioxyde d'azote
N₂O₃ : Trioxyde d'azote
NO₂⁻ : Ion nitrate stable
e⁻ : électron
ONOOH : Nitroperoxyde
AGPI : Acide gras polyinsaturé
ROOH : Peroxydes organique
MDA : Malondialdéhyde
NADPH : Nicotinamide adénine diphosphate
ERN : Espèce réactive de l'azote
% : Pourcentage
ROS : Reactive oxygen species
SOD : Superoxyde dismutase
Cu/Zn-SOD : Superoxyde dismutase à Cuivre et à Zinc
Mn-SOD : Superoxyde dismutase à manganèse
CAT : Catalase
GPX : Glutathion peroxydase
SH : Groupement sulfhydryl
LDL : Lipoprotéine de basse densité
ROOH : Peroxyde organique ou hydroperoxyde
Se : Sélénium
Zn : Zinc
Cu : Cuivre

PH : potentiel d'hydrogène

C° : Degré Celsius

nm : Nanomètre

Classification APG III : classification établie par l'Angiosperm Phylogeny Group.

mm : millimètre

Kg : kilogramme

Cm : centimètre

g : gramme

µg : microgramme

mg : milligramme

Ca : calcium

Fe : fer

H.sabdariffa : Hibiscus sabdariffa

E. coli : Escherichia Coli

S.aureus : Staphylococcus aureus

B.cereus : Bacillus cereus

TG : Triglycérides

HDL : High Density Lipoproteins

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ABTs : Acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

ABTs^{°+} : Acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

Fe (III)-TPTZ : Tripyridyltriazine ferrique

Fe (II)-TPTZ : Tripyridyltriazine ferreux

AH : Antioxydant

FRAP : Ferric reducing antioxydant power

DPPH-H : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine

DPPH° : 1,1-diphényl-2'-picrylhydrazyle

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ATPase : adénosine-triphosphate hydrolase

NOS : L'oxyde nitrique synthas

S.mutans : *Streptococcus mutans*

Liste des figures :

Figure 1: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	2
Figure 2: Tige, feuille et calice de la plante <i>Hibiscus sabdariffa</i>	5
Figure 3: la fleur d' <i>Hibiscus sabdariffa</i>	5
Figure 4: Les graines d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> obtenue manuellement à partir de la capsule in Terengganu. Malaisie	6
Figure 5: La partie calice et fruit	6
Figure 6: Adroite thé d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> et à gauche les sachets de thé d' <i>Hibiscus</i>	10
Figure 7: L'infusion d' <i>H. sabdariffa</i> " le Bissap"	10
Figure 8: Squelette de base des flavonoïdes	14
Figure 9 : Quelques exemples des structures chimiques des coumarines	17
Figure 10: Quelques exemples des structures des Stilbènes	17
Figure 11: Principaux constuants de Lignine	18
Figure 12: Exemples des structures chimiques des Lignanes. (A) Unité de phénylpropane (C6-C3), (B) Sauriol (lien β,β'), (C) rufescidride.....	19
Figure 13: La voie shikimique	20
Figure 14: Stress oxydant.....	23
Figure 15: Origine des différents radicaux libres (ERO) impliqués en biologie	24
Figure 16: Principaux sites cellulaires de production des ERO	27
Figure 17: Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les ROS.....	29
Figure 18 : Mécanisme de peroxydation des acides gras polyinsaturés et la nature des produits terminaux.....	30
Figure 19: Les modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après l'attaque radicalaire.....	31
Figure 20: Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires.....	32
Figure 21: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants	34
Figure 22: Structure chimique du radicale DPPH et de sa forme réduite	35
Figure 23 : les mécanismes réactionnels intervenant lors du test FRAP entre les complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant.....	36
Figure 24 : Composés phénoliques totaux de l'extrait d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	43

Liste de tableaux

Tableau 1 : Classification phylogénétique de l'espèce <i>Hibiscus sabdariffa</i>	3
Tableau 2 : Analyse chimique de calices séchés rouge et blanc de la plante <i>Hibiscus sabdariffa</i>	8
Tableau 3 : Les principales classes des flavonoïdes.....	14
Tableau 4 : Evaluation de composition phytochimique de l'extrait de calices de la plante <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	39
Tableau 5 : Estimation de l'activité antioxydante de l'extrait d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	39
Tableau 6 : Estimation de l'activité antibactérienne de l'extrait d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. conte les souches bactériennes indiquées par le diamètre de zone d'inhibition.....	40
Tableau 7 : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et alcoolique d' <i>Hibiscus sabdariffa</i>	40
Tableau 8 : Activité antibactérienne de l'extrait de plante évalué par des zones d'inhibitions des souches bactériennes.....	40

Liste d'abréviation

Liste de figures

Liste de tableaux

Table des matières

Introduction	1
I. <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	2
I.1 Généralités	2
I.2 Classification	3
I.3 Ecologie et répartition géographique	3
I.3.1 Ecologie	3
I.3.2 Répartition géographique	4
I.3.3 Culture	4
I.4 Description botanique de la plante	4
I.4.1 Tiges	4
I.4.2 Feuille	4
I.4.3 Calices	5
I.4.4 Fleurs	5
I.4.5 Graines	6
I.4.6 Fruit	6
I.7 La composition nutritionnelle des différentes parties du plant <i>d'Hibiscus sabdariffa</i>	7
I.8 Phytochimie d' <i>Hibiscus sabdariffa</i>	7
I.9 Domaines d'utilisations d' <i>H.sabdariffa</i>	8
I.9.1 Utilisation alimentaire	9
I.9.2 Utilisations médicinales	10
I.9.2.1 Maintien un bon niveau de cholestérol et de triglycérides	11
I.9.2.2 Prévention du stress oxydant	12
II.Les polyphénols	12
II.1 Classification	13

II.1.1	Les flavonoïdes	13
II.1.1.1	Les tannins	16
II.1.2	Non flavonoïdes	16
II.1.2.1	Acide phénolique	16
II.1.2.2	Coumarines	16
II.1.2.3	Stilbènes.....	17
II.1.2.4	Lignines	18
II.1.2.5	Lignanes (C6-C3) ₂	18
II.2	Biosynthèse des polyphénols	19
II.2.1	La voie de l'acide shikimique	19
II.2.2	La voie de l'acétate/malonate	20
II.3	Propriétés biologiques et intérêts des polyphénols	20
II.3.1	Chez les végétaux	21
II.3.2	Chez l'être humain	21
III.	Stress oxydant	22
III.1	Les radicaux libres	23
III.1.1	Qu'est-ce qu'un radical libre ?.....	23
III.2	Types des radicaux libres	23
III.2.1	Espèces réactives de l'oxygène	23
III.2.2	Espèces réactives azotées (ERN)	24
III.2.2.1	Espèces radicalaires azotées.....	24
III.2.2.2	Espèces non radicalaires azotées	25
III.3	Production des radicaux libres	25
III.4	Intérêts biologiques des radicaux libres dans physiologie cellulaire	27
III.4.1	Phagocytose	27
III.4.2	Signalisation cellulaire	28
III.5	Conséquences biologiques de stress oxydant	28

III.5.1	Oxydation des lipides	29
III.5.2	Oxydation des protéines	30
III.5.3	Oxydation de l'ADN	31
III.5.4	Oxydation des glucides	32
III.6	Maladies liées aux stress oxydant	32
III.7	Les antioxydants	33
IV.	Activité antioxydante	35
IV.1	Test DPPH	35
IV.2	Test ABTS	35
IV.3	FRAP	36
4.2	Les méthodes d'extraction des plantes médicinales	33
V.	Activités antimicrobiennes	35
V.1	Généralités	37
V.2	Définition de l'activité antimicrobienne	37
V.3	Principales substances antibactériennes	37
V.3.1	Antibiotiques	37
V.3.2	Composés phénoliques	38
V.4	Activité antimicrobienne des polyphénols	38
V.5	Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	39
V.5.1	Méthodes de dilution	39
V.5.1.1	En milieu liquide.....	39
V.5.1.2	Sur milieu solide	39
V.5.2	Méthodes de diffusion.....	40
V.5.2.1	Sur milieu solide.....	40
V.5.2.2	Sur disque de cellulose.....	40
V.6	Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'Hibiscus sabdariffa L.	41
	Conclusion et perspectives :	46

Références bibliographiques

Résumé

Introduction

Depuis l'ancien, l'homme a utilisé différentes espèces végétales trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner plusieurs types de maladies. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80 % des individus ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes (GRABSI Wissem, 2016). Dont, ces derniers ayant un réservoir très vaste de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui sont caractérisés par leur grande diversité structurale ainsi qu'ils ont un éventuel énorme d'activités biologiques. Cependant, l'évaluation de ces activités nécessite une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (ZEGHAD Nadia, 2009).

Les plantes aromatiques et médicinales ayant des propriétés antibactériennes qui sont connues depuis l'antiquité. Ce n'est qu'à partir du 20^{ème} siècle que les chercheurs scientifiques commencent à s'y intéresser. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (GRABSI Wissem, 2016).

Les plantes médicinales ont toujours eu une place majeure dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité (Francois Muanda,2010). Parmi ces plantes les plus utilisées, l'*Hibiscus sabdariffa* qui est une plante maraîchère de la famille des Malvaceae. Elle est principalement cultivée pour des raisons thérapeutiques. Les infusions de cette plante sont recommandées dans les traitements de cholestérol, de tension artérielle et de diverses infections microbiennes et comme un antiseptique et cardiorégulatrice. En alimentation, elle est consommée comme légumes, boisson, confiture etc (LEPENGUE Alexis Nicaise, 2011). Cette matière végétale possède un nombre élevé de molécules d'intérêts, dont on retrouve les coumarines, les anthocyanes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, et les flavonoïdes, qui présentent une capacité antioxydante élevée ainsi une activité antimicrobienne (GRABSI Wissem, 2016).

Le but de notre travail c'est l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. mais en raison de la crise sanitaire mondiale (covid-19), tous les événements publics en présentiel sont annulés ou reportés ce qui nous a empêcher de réaliser la partie pratique de notre travail.

Hibiscus sabdariffa L.

I. *Hibiscus sabdariffa* L.

I.1 Généralités

L'Hibiscus comporte une diversité d'espèces, dont plus de 300 espèces sont réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier. L'*Hibiscus sabdariffa* est une espèce largement employée dont elle est composée de plusieurs parties : les calices (contiennent des colorants rouges, utilisée comme nourriture, colorant, boisson), les fleurs, les feuilles, les racines et les tiges. Certaines variétés de cette plante sont employées en tant que plantes ornementales (V.H.Shruthi, 2016).

Ainsi, recommandée contre l'hypertension et le cholestérol, est utilisée comme un antiseptique urinaire, ces fleurs remédient aux douleurs menstruelles, la racine est utilisée pour calmer le toux, comme elle est utilisée le plus souvent dans l'alimentation y a compris les calices rouge charnus pour faire sirop, jus, vin, confiture, pudding, gâteaux, crème glacée ou thé (AL-HASHIMI, 2012).



Figure 1 : *Hibiscus sabdariffa* L.(MADY, 2009).

- **Nom scientifique :** *Hibiscus sabdariffa* L.
- **Dénomination**

Française : oseille de Guinée.

Anglaise : Roselle.

Mexique : La flore de Jamaïque.

Allemagne : Rosellahanf.

Thaïlandaise : kra-chiap.

Africaine : Karkadé, Bissap.

Autres dénomination : thé rose, thé de l'Empire, الكركدية (ENDRIAS, 2006)

- **Préparations et formes d'utilisation** : jus, infusions, tisanes

I.2 Classification

Selon la classification phylogénétique APG III, la classification de l'espèce *Hibiscus sabdariffa* présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Classification de *Hibiscus sabdariffa* (GRABSI, 2016).

Règne	Archéplastides
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédone vraies
Clade	Noyau des Dicotylédone vraies
Clade	Rosidées
Clade	Malvidées
Ordre	Malvales
Famille	Malvacées
Sous-Famille	Malvoïdées
Genre	<i>Hibiscus</i>
Espèce	<i>Sabdariffa</i>

I.3 Ecologie et répartition géographique

I.3.1 Ecologie

La récolte de la roselle ça prend environ 3 à 4 mois pour arriver au stade de maturité, elle admire un climat tropicale ou subtropicale avec une chute de pluie répartie de 1500 à 2000 mm / an. La plante tolère un climat plus chaud et plus humide avec une température nocturne non inférieure à 21 °C. En effet, les premiers mois de croissance, la roselle nécessite l'exposition au soleil environ 13 heures par jour pour empêcher sa floraison prématuré (ISMAIL, 2008).

I.3.2 Répartition géographique

L'*Hibiscus sabdariffa* est trouvée presque dans tous les pays chauds tels que l'Inde, l'Arabie saoudite, la Malaisie, l'Indonésie, la Thaïlande, les Philippines, le Soudan, l'Egypte et le Mexique, mais d'autres écologistes croient que l'origine de cette plante est l'Inde et l'Arabie saoudite (ISMAIL, 2008).

I.3.3 Culture

La culture de cette plante se pratiqué dans divers types de sol, parmi les meilleurs le type sablonneux et terreux. Pour ensemer 1 hectare il faut environ 5 à 8 Kg de graines d'*H.sabdariffa* en fonction de la densité choisie. Les graines sont germées à une température minimale de 10°C et la plante besoin une température optimale entre 20 et 35°C pour développer. Le pH optimum du sol, est de 5-6. La culture d'Hibiscus est favorisée dans le mois d'octobre et février (ENDRIAS, 2006).

I.4 Description botanique de la plante

Hibiscus sabdariffa L. est une plante qui se développe à partir d'un système racinaire profond pouvant atteindre une hauteur de plus de 3,5 mètres, vigoureuse, peu ramifiée et très fibreuse avec des tiges cylindriques lisses rouges ouvertes et un calice rouge ou jaune pâle comestible et possède une racine pivotante à pénétration profonde, plantule à germination épigée ; cotylédons arrondis, atteignant 2,5 cm × 3 cm foliacés (V.H.Shruthi, 2016).

I.4.1 Tiges

Présentent un aspect lisse ou presque lisse glabre à légèrement pubescente et parfois garnie de quelques aiguillons, elles ont une forme cylindrique et une couleur vert foncé à rouge (V.H.Shruthi, 2016).

I.4.2 Feuille

Les feuilles supérieures d'*Hibiscus sabdariffa* sont simples et les feuilles inférieures sont profondément 3 à 5 ou même à 7 lobes et les marges sont étouffées, Généralement les feuilles sont disposées de manière alterne sur la tige avec une longueur de 7,5 à 12,5 cm de couleur verte rouge, rouge violet, avec des nervures rougeâtres (V.H.Shruthi, 2016).

I.4.3 Calices

Le calice est ce qui reste de la fleur lorsque les pétales sont tombés, il est composé de 5 grands sépales avec un collier qui s'appelle epicalyx de 8-12 bractées minces et pointues autour de la base, il commence à s'élargir à la fin de la journée, Il est de 3,2 à 5,7 cm de long et entour complètement le fruit, il est rouge ou blanc (V.H.Shruthi, 2016).



Figure 2 : Tige, feuille et calice de la plante *Hibiscus sabdariffa* (MADY, 2009).

I.4.4 Fleurs

La fleur prend naissance sur les rameaux à l'aisselle des feuilles, peuvent atteindre 12,5 cm de large, avec une couleur jaune et un œil rose ou marron et deviennent rose à la fin de la journée, elle s'ouvre tard dans la matinée et se referme tôt l'après-midi (V.H.Shruthi, 2016).



Figure 3 : la fleur d'*Hibiscus sabdariffa* (MADY, 2009)

I.4.5 Graines

Couvertes de minuscules poils robustes et étoilés, sont des graines réniformes, avec 3 à 5 mm de long et peuvent atteindre le 7 mm, généralement de couleur brun clair ou foncé (V.H.Shruthi, 2016).



Figure 4 : Les graines d'*Hibiscus sabdariffa* obtenue manuellement à partir de la capsule in Terengganu. Malaisie (ISMAIL, 2008).

I.4.6 Fruit

C'est une capsule ovoïde pubescente atteignant 2,5 cm de long, elles sont enfermées dans le calice, contenant de nombreuses graines peut contenir 25 à 35 graines (MADY Cisse et al, 2009).



Figure 5 : Partie calice et fruit (MADY, 2009).

I.7 Composition nutritionnelle des différentes parties du plant d'*Hibiscus sabdariffa*

La partie la plus importante et la plus exploitée et comestible dans la plante d'*H.sabdariffa* est les calices.

Ils sont riches en acide organique tels que l'acide succinique, oxalique (deux acides organiques majoritaires 76 % des acides organiques totaux), l'acide tartrique, malique et une importante concentration de vitamine C (il est rapporté que chaque 100 g de calices frais contiennent 2.85 µg vitamine D, 0.04 mg vitamine B1 et 0.6 mg vitamine B2) (MADY, 2009).

Les sucres présents dans les calices d'*H.sabdariffa* sont glucose, fructose et saccharose où le glucose présente 40 % des sucres totaux. Globalement, les calices d'*H.sabdariffa* connue comme une source importante d'éléments essentiels (Ca, Cu, Fe, K, Mn, Zn) ainsi que les polyphénols, les pectines, les carotènes et les fibres (MADY, 2009).

Le colorant extrait des calices séchés contient différents anthocyanes principalement le delphinidine-3-sambubioside et le cyanidine-3-sambubioside dont les quantités sont relativement élevées : 1,5 g d'anthocyanes pour 1 00 g de calices séchés (ENDRIAS, 2006).

Les graines d'*H.sabdariffa* également contiennent des concentrations très importantes en protéines (26 %), lipides (20 %) et sucres totaux (40 %), des acides aminés essentiels majoritaires tels que l'acide glutamique, aspartique, la leucine et l'arginine. L'huile des graines d'*H.sabdariffa* est connue par leur composition idéale de matières grasses tels les acides gras insaturés aussi riche en tocophérols, acide linoléique/acide oléique, palmitique, stéariques et l'acide arachidonique (MADY, 2009).

La partie feuille est connue comme une importante source de calcium, magnésium, fer et de zinc (ENDRIAS, 2006).

I.8 Phytochimie d'*Hibiscus sabdariffa*

La chimie d'*Hibiscus sabdariffa* représente une valeur très élevée en anthocyanes et l'acide 3,4-dihydroxybenzoïque. Chaque partie de la plante représente une composition chimique diverse comme les calices séchés qui sont riches en flavonoïdes et la gossypétine qui est un composé organique de la famille des flavonols, l'hibiscétine et la sabdarétine également la présence de petites quantités de delphinidine, chrysanthénine (cyanidine 3-monoglucoside) et myrtilline (delphinidine 3-monoglucoside). (V.H.Shruthi, 2016).

De grandes quantités d'acides organiques, à savoir l'acide citrique, l'acide tartrique et l'acide malique. La teneur de ces acides augmentent pendant la croissance mais diminuent quand ils atteints la maturité ou mûrit (V.H.Shruthi, 2016).

Concernant l'extrait de calice d'*H.sabdariffa* qui présent une pigmentation rouge très riche d'anthocyanes et des propriétés antioxydantes. Une bonne source des antioxydants liposolubles tels le tocophérol est présent dans les graines d'*H.sabdariffa*. La plante riche en minéraux en particulier le potassium et le magnésium, les Vitamines (ascorbiques, niacine et pyridoxine) (V.H.Shruthi, 2016).

La composition des calices séchés est indiquée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Analyse chimique des calices séchés rouge et blanc de la plante *Hibiscus sabdariffa* (BAHAELDEEN, 2012).

Composant	Calice rouge (%)	Calice blanc (%)
Humidité	11.00	9.30
Protéine brute	7.88	7.53
Fibre brute	13.20	12.00
Matière grasse brute	0.16	0.12
Carbohydrates totaux	57.16	61.55
Acide ascorbique (mg / 100 g)	11.00	15.50
Total des solides solubles (%)	5.00	5.50
Acidité titrable (mg / 100g)	9.00	11.00
Calcium (mg / 100 g)	60.00	50.00
Fer (mg / 100 g)	25.00	20.00

I.9 Domaines d'utilisations d'*H.sabdariffa*

L'*H.sabdariffa* est une plante qui présente plusieurs domaines d'utilisation soit dans l'industrie agroalimentaire, l'alimentation humaine et dans le domaine médicale grâce à ses propriétés thérapeutiques. Dont, toutes les parties de la plante sont exploités les calices, les feuilles et les graines.

I.9.1 Utilisation alimentaire

Les calices qui sont parfois appelés « fleurs d'Hibiscus », connus comme la partie de la plante la plus exploitée dans l'alimentation humaine, qui est utilisée pour faire des différentes boissons rouge carmins, tonifiantes et fraîches, l'extrait des calices obtenu après trempage dans de l'eau chaude de façon artisanale où les transformatrices utilisent 1 kg de calices secs pour 35 litres d'eau. Après 3 heures de macération, l'extrait est filtré et sucré à une dose de 150 g de sucre il peut être mélangé avec d'autres jus de fruits, aromatisants ou des morceaux de fruits (ananas, fraise) **(ENDRIAS, 2006)**.

Cette boisson est connue sous plusieurs appellations, en Afrique et en Asie largement répandue. Au Sénégal nommée « bissap », au Mali est appelée « da bilenni ». En Égypte elle est dénommée « boisson des pharaons », Au Soudan « thé de karkadé », Au Nigéria « zobo », cette boisson consommée soit froide où chaude selon la saison. Au Mexique la production du sirop d'Hibiscus à partir des sépales est connu sous le nom « flor de jamaïca », utilisé pour parfumer et colorer des cocktails où être simplement mélangé avec l'eau bien fraîche et du sucre **(ENDRIAS, 2006)**.

Les calices sont utilisés également pour fabriquer du vin, de confiture, gelée et dessert. L'extrait de calice séché (concentrés ou de poudre) est employé comme colorant naturel dans les industries alimentaires (pâtisserie, jus de fruits, boissons, etc.). Les graines d'*H.sabdariffa* sont utilisées dans la fabrication de condiments traditionnels et la production de farine par la cuisson et la fermentation de ces graines **(MADY, 2009)**.

Au nord du Nigéria, les graines sont fermentées et mélangées avec d'autres épices pour préparer un aliment appelé « mungza ntusa », d'autre part, elles sont utilisées pour préparer un produit de remplacement de la viande connu sous le nom « viande d'oseille », l'huile résultante utilisée essentiellement en cuisine en Tchad, en Tanzanie et en Chine et également dans la fabrication de savon et de produits cosmétiques **(MADY, 2009)**.

Les feuilles d'*H.sabdariffa* sont aussi propices à leur utilisation dans l'alimentation humaine pour fabriquer une sauce aigre, épaisse, appelée « bĕkĕj », servie avec le riz au poisson **(MADY, 2009)**.



Figure 6 : Thé d'*Hibiscus sabdariffa* et les sachets de thé d'Hibiscus (BAHAELDEEN, 2012).



Figure 7 : L'infusion d'*H.sabdariffa* " le Bissap" (ENDRIAS, 2006).

I.9.2 Utilisations médicales

De nombreuses propriétés thérapeutiques présentées par l'espèce *H.sabdariffa* où elle est utilisée dans la médecine traditionnelle (MADY, 2009).

Elle est connue comme un antiseptique, antimicrobienne et antifongique, hypotenseur, sédatif, digestif, diurétique, maintien un bon niveau de cholestérol et de triglycérides, antioxydant, prévention de certains cancers et réduction des troubles diabétiques, antibiotique et protecteur cardiovasculaire (MADY, 2009).

L'infusion de calice utilisée pour soigner les rhumes, les maux de dents, l'anémie et la rougeole. De plus, le jus des feuilles a été exploité pour traiter la conjonctivite et pour traiter les plaies et les ulcères (ENDRIAS, 2006).

L'usage traditionnel d'*H.sabdariffa* est connu dans le traitement des troubles hépatiques aussi pour soigner les troubles rénaux et les infections urinaires (inhibe E. coli, et streptocoque) et conseillé pour traiter les angines et les bronchites et remédier aux douleurs menstruelles en relaxant des muscles utérins (ENDRIAS, 2006).

Les fleurs ont une propriété anti-œdémateuse et antiphlogistique pour réduire et soulager les œdèmes et l'eczéma. Les racines bouillies ont un excellent pouvoir purgatif pour calmer la toux et abaisse les inflammations des voies respiratoires (ENDRIAS, 2006).

Des études suggèrent que le bissap réduit la tension artérielle, car cette plante contient de nombreux composants ayant une activité antihypertensive s'explique via une activité anti-aldostérone et vasodilatateur et les anthocyanines contenant dans la plante inhibe l'enzyme de conversion de l'angiotensine et que l'effet rapide de l'*H.sabdariffa* sur la pression artérielle lié à un mécanisme d'action vasoactif et peuvent être plus efficace quel l'hydrochlorothiazide qui est une molécule utilisée contre l'hypertension artérielle (ENDRIAS, 2006).

D'autres études chez les personnes diabétiques montrent qu'un verre une fois par jour de l'infusion d'Hibiscus aide à lutter contre la résistance à l'insuline. En effet, cette infusion peut aider à maintenir un bon taux de glycémie, l'extrait d'Hibiscus suite à un repas peut diminuer l'absorption d'amidon et de saccharose (ENDRIAS, 2006).

Ainsi que, l'infusion de cette plante joue un rôle d'antidépresseur naturel en agissant contre les signes de la fatigue, le tonus, le manque de motivation grâce aux certains bio-flavonoïdes qui se trouvent dans la fleur d'Hibiscus (ENDRIAS, 2006).

I.9.2.1 Maintien un bon niveau de cholestérol et de triglycérides

Une recherche a montré que l'extrait d'Hibiscus est un remède naturel excellent réduit et équilibré le taux élevé de cholestérol et de triglycérides dans l'organisme pour aider les individus souffrant d'une dyslipidémie. En effet, une étude de 2009 a montré que les personnes souffrant de diabète et buvaient 2 fois/jour l'infusion d'Hibiscus ont une diminution du LDL et TG et l'augmentation du bon cholestérol (HDL) (ENDRIAS, 2006).

I.9.2.2 Prévention du stress oxydant

Une étude a montré que l'infusion d'Hibiscus augmentait le taux d'antioxydants dans le sang également diminue la quantité des radicaux libres qui contribuaient au stress oxydant grâce à leurs compositions riches en antioxydants qui luttent contre ce stress oxydatif. Ceci est dû aux anthocyanes et aux pigments naturels présentent dans la plante (ENDRIAS, 2006).

Polyphénols

II. Polyphénols

Les polyphénols ou les composés phénoliques sont des molécules spécifiques largement répandus dans le règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. Ces composés forment une vaste famille de plus de 8000 molécules naturelles identifiées (**BOUCHOUKA, 2016**). La structure des composés phénoliques caractérisée par la présence d'au moins un noyau phénolique à six carbones lié directement d'au moins un groupe de fonction hydroxyl (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**ACHAT, 2013**).

Les composés phénoliques on les trouve dans toutes les parties des plantes : les racines, les tiges, les fleurs, ils font donc une partie de notre alimentation dont les principales sources sont les légumes les fruits, et les boissons (jus de fruits, thé, vin rouge, café), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (**BELYAGOUBI, 2011**).

Ces molécules jouent un rôle crucial dans la lutte contre les agents pathogènes et dans la croissance des végétaux (**BOUCHOUKA, 2016**).

En fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relie, les polyphénols sont classés en différents groupes (**ACHAT, 2013**).

II. 1. Classification

Il existe différentes classes des polyphénols dont on peut trouver deux catégories : les composés phénoliques flavonoïdiques et les composés phénoliques non flavonoïdiques.

II.1.1 Flavonoïdes

Le terme « flavedo » signifie le nom flavonoïde, qui est la couche externe des écorces d'orange, mais d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été prêté du flavus « flavus=jaune » (**ZEGHAD, 2009**).

Les flavonoïdes sont les composés les plus répandus parmi tous les composés phénoliques (**ACHAT, 2013**). Ces composés ont tous la même structure chimique de base (C6-C3-C6), ils sont formés d'un squelette de quinze atomes de carbones qui possède deux cycles aromatiques (A) et (B) reliés par une chaîne à trois carbones. Cette dernière cyclisée pour former le cycle (C) (**ZEGHAD, 2009**).

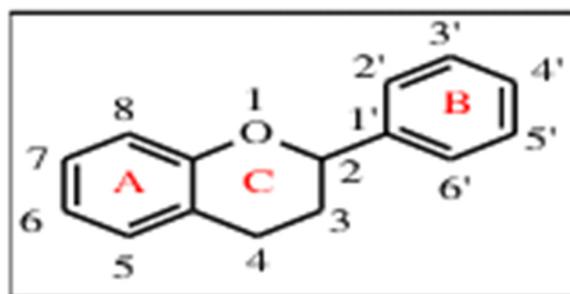
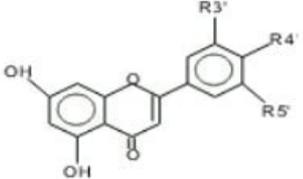
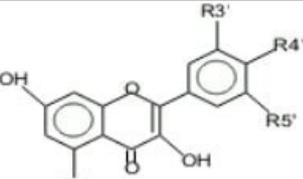
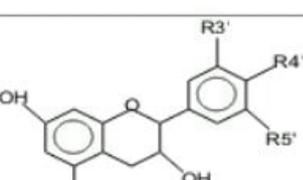
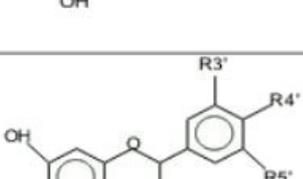
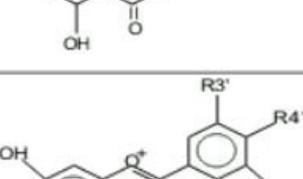
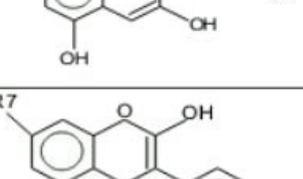


Figure 8 : Squelette de base des flavonoïdes (ACHAT, 2013)

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes dont les principales classes sont : les flavonols, les flavones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes. Leurs caractéristiques structurales sont variables par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle. Les flavonoïdes interviennent dans la pigmentation de différents organes végétaux (BOUBEKRI, 2014).

Ces composés se trouvent généralement dans toutes les parties des végétaux : tiges, racines, fruits, feuilles, grains et bois (ZEGHAD, 2009). Sont présents dans une grande variété d'aliments tels que : fruits et légumes (ACHAT, 2013).

Tableau 3 : Les principales classes des flavonoïdes (ZEGHAD, 2009).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II.1.1.1 Tannins

Le mot « tannin » regroupe les composés polyphénoliques qui ont la propriété de tanner la peau des animaux en la transformant en cuir (**Francois,2010**),ainsi que ont en effet la propriété de combiner aux protéines (**ACHAT, 2013**).

Les tannins sont des composés polyphénoliques à haut poids moléculaire (**Francois,2010**),et de stucture variée, très abondants chez les plantes, ils peuvent exister dans divers parties des végétaux mais plus particulièrement dans les tissus agés ou d'origine pathologique (**BOUBEKRI, 2014**).

Ces composés sont dévisés en deux groupes différents par leur structure et par leur origine biogénétique, dont on trouve : les tannins hydrolysables et les tannins condensées (**BELYAGOUBI, 2011**).

II.1.2 Non flavonoïdes

II.1.2.1 Acide phénolique

La description du terme « acide phénolique » a été utilisée pour décrire tous composés organiques ayant au mooinsune fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**BELYAGOUBI, 2011**). Ils sont dévisés en deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et les dérivés de l'acide hydroxycinamique (**ACHAT, 2013**).

II.1.2.2 Coumarines

Les coumarines sont isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par vogel en 1820 (**BOUBEKRI, 2014**). Sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base de benzo-2-pyrane (**DONATIEN, 2009**)et toutes sont substitués en C7 par un hydroxyle. Ces composés se trouvent dans la nature soit sous forme libre ou bien combiné avec des sucres (**BOUCHOUKA, 2016**).

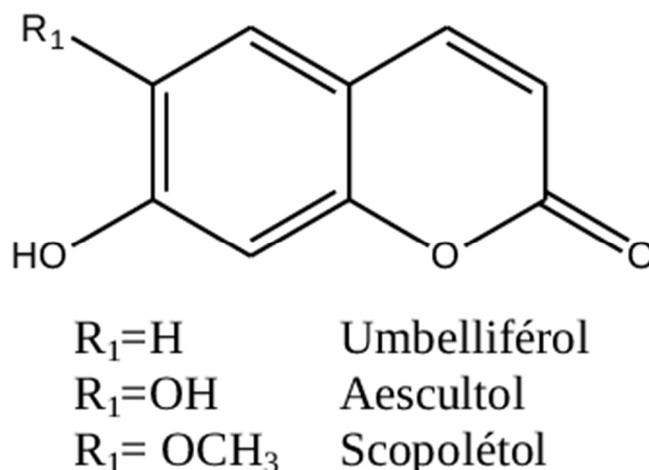


Figure 9 : Quelques exemples des structures chimiques des coumarines (BOUBEKRI, 2014)

II.1.2.3 Stilbènes

Les stilbènes présentent une structure de base en C6-C2-C6 comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines ; produits par les plantes contre les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Dont, les principales sources des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (BOUCHOUKA, 2016). Le resvératrol qui à été largement étudié et le plus connu pour ses propriétés anticoncéreuses (AIRA, 2012).

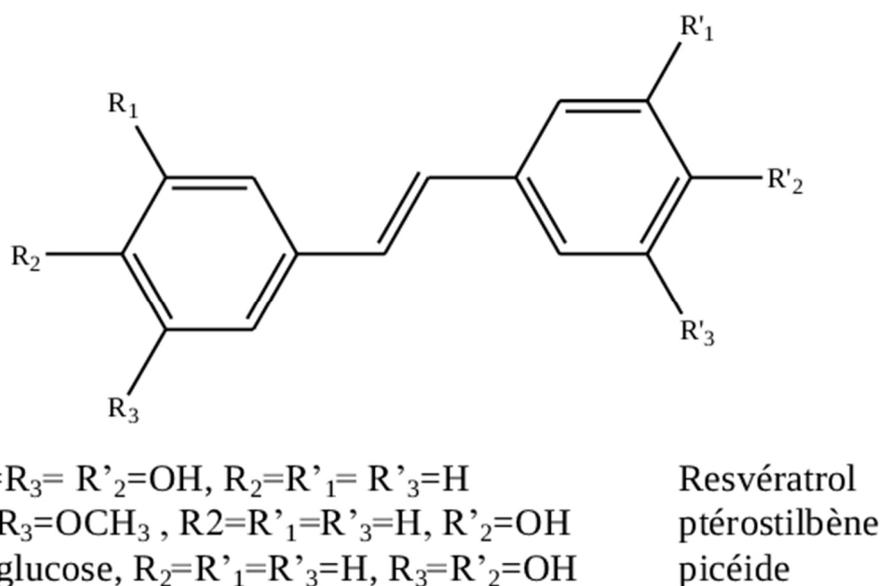


Figure 10 : Quelques exemples des structures des Stilbènes (BOUBEKRI, 2014)

II.1.2.4 Lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formée par trois alcools phénoliques simples tels que : alcool *p*-coumarylique, alcool coniférylique et alcool sinapylique. L'oxydation en radicaux libres de ces derniers se fait par une enzyme ubiquiste chez les plantes ; la peroxydase. En suite, les radicaux libres réagissent spontanément et au hasard pour donner la lignine. Elle est localisée dans les parois secondaires des éléments conducteurs, dont elle contribue à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées. Ce grand polymère présente une insolubilité dans l'eau et dans des solvants organiques, donc impossible de l'extraire sans lui faire subir une dégradation importante (BOUBEKRI, 2014).

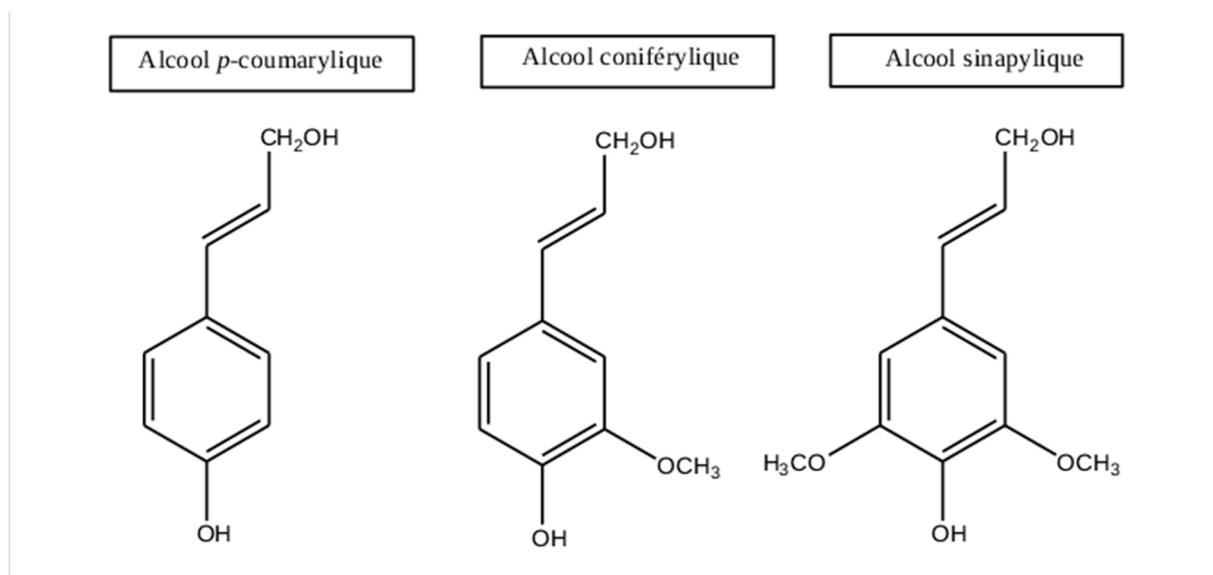


Figure 11 : Principaux constituants de Lignine (BOUBEKRI, 2014).

II.1.2.5 Lignanes (C6-C3)₂

Ce sont des composés phénoliques bioactifs, non caloriques et non-nutritifs.

Leur structure est largement notée (C6-C3)₂ et l'unité (C6-C3) est considérée comme un propylbenzène. Sont très abondants dans le lin et les graines de sésame et moins abondants dans les fruits et les légumes, on les trouve généralement dans les plantes sous forme de glucosides (BOUBEKRI, 2014).

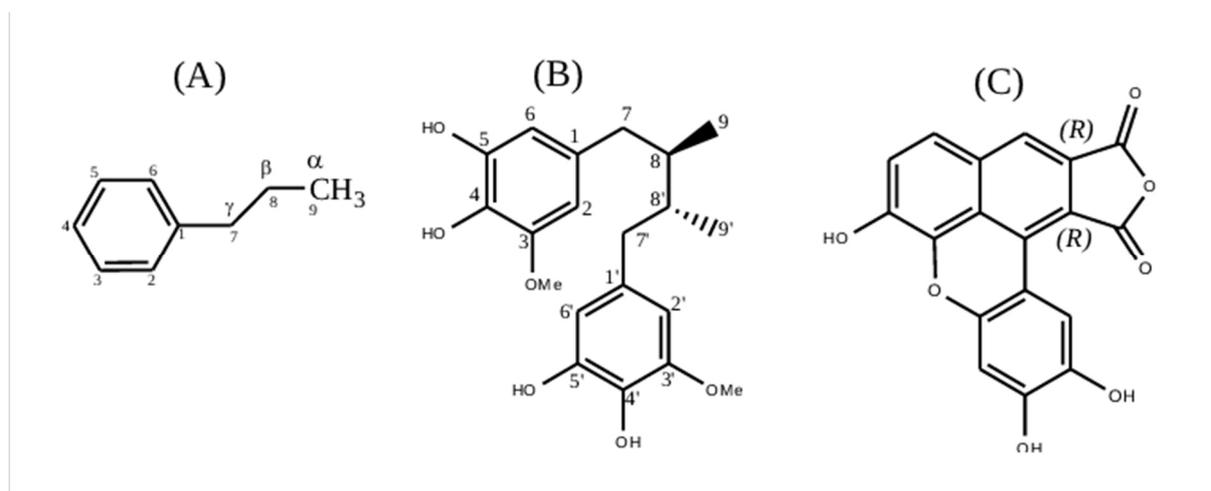


Figure 12 : Exemples des structures chimiques des Lignanes. (A) Unité de phénylpropane (C6-C3), (B) Sauriol (lien β,β'), (C) rufescidride (**BOUBEKRI, 2014**)

II.2 Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont produits par deux grandes voies métabolique : **la voie de l'acide shikimique** et **la voie de l'acide acétate/malonate**.

II.2.1 La voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : **la phénylalanine, la tyrosine et la tryptophane**. Ces derniers sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux de produits naturels (secondaires) tels que : les flavonoïdes, l'acide phénolique, les coumarines, les alcaloïdes...,etc (**BOUBEKRI, 2014**).

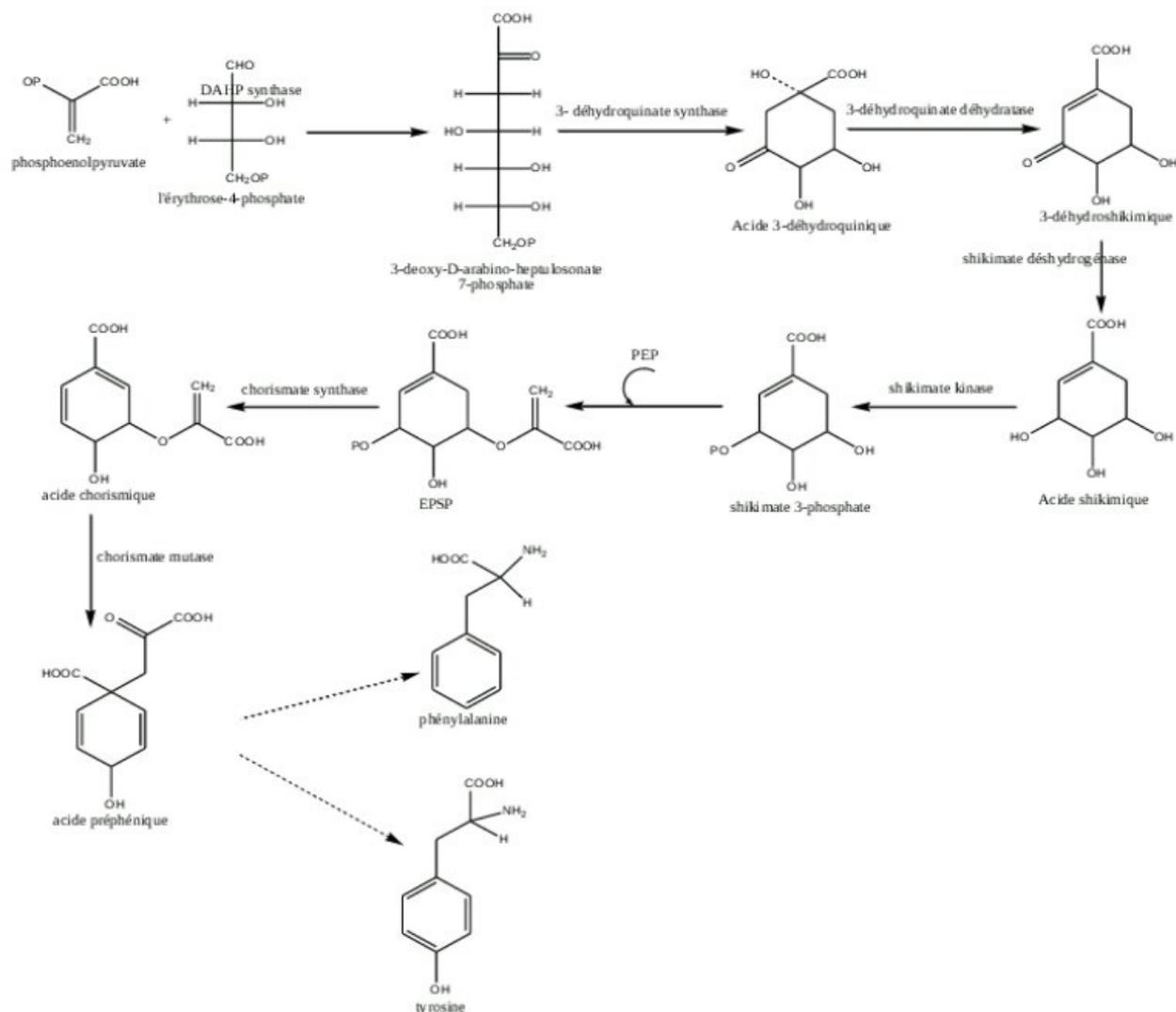


Figure 13 : La voie shikimique (BOUBEKRI, 2014).

II.2.2 La voie de l'acétate/malonate

La glycolyse et la β -oxydation, deux voies aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonnate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles même obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysés par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (BOUBEKRI, 2014).

II.3 Propriétés biologiques et intérêts des polyphénols

Les polyphénols prennent une importance croissante notamment grâce à leur propriétés et ces effets bénéfiques sur la santé des êtres humains et chez les végétaux.

II.3.1 Chez les végétaux

Les polyphénols sont des pigments responsables de la coloration des fruits, des fleurs et les feuilles des végétaux (jaune, orange, rouge). Ils assurent en premier lieu une interaction direct des plantes avec leur environnement et leur permettent de se défendre contre les radiations UV, le stress oxydant et les agressions microbiennes (**LARABA, 2016**).

Grâce à leur propriétés chimiques ; les composés phénoliques sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la régulation de croissance et le développement des plantes (**LARABA, 2016**).

II.3.2 Chez l'être humain

La consommation des aliments riches en polyphénols possède un impact positif sur la santé de l'être humain. Dont, elle réduit le développement de nombreux maladies telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension. Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés sont capables de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la formation de ces maladies (**LARABA, 2016**).

Plusieurs propriétés biologiques ont été attribuées aux polyphénols : activité anticancéreuses, antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoire, antioxydant, antiallergique et antithrombotiques. Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, les ATPases et les NOS ou cytochrome P450) et agir sur différents types cellulaires (**LARABA, 2016**).

Stress oxydant

III. Stress oxydant

En 1936, l'endocrinologue Hans Selye a décrit le stress en tant qu'une réponse physiologique inadéquate d'un organisme. Ce terme occupe une place importante dans la recherche actuelle. D'après les recherches, le stress est impliqué dans de nombreuses pathologies, notamment le cancer, les pathologies cardiovasculaires et neurodégénératives ce qui explique le grand nombre des recherches biologiques portées sur ce dernier. C'est pourquoi les recherches basées sur le stress oxydant et s'efforcent à déchiffrer les bases moléculaires des agressions oxydatives provoquées par les radicaux libres, ainsi que les systèmes physiologiques de défense et de réparation des dommages oxydatives **(MANSAR, 2017)**.

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense antioxydants et la production des radicaux libres **(GHOUMRANI, 2014)**.

D'autre part, le stress oxydant est un fonctionnement normal de l'organisme tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène synthétisent des radicaux libres qui sont des molécules chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, dont les cellules de l'organisme savent normalement très bien se débarrasser. Le stress oxydant apparaît et devient anormal soit lorsque les cellules sont dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer **(RAHALI)**, soit ce déséquilibre peut être dû à une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants **(MANSAR, 2017)**. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses biomolécules telles que : protéines, lipides et acides nucléiques **(GHOUMRANI, 2014)**.

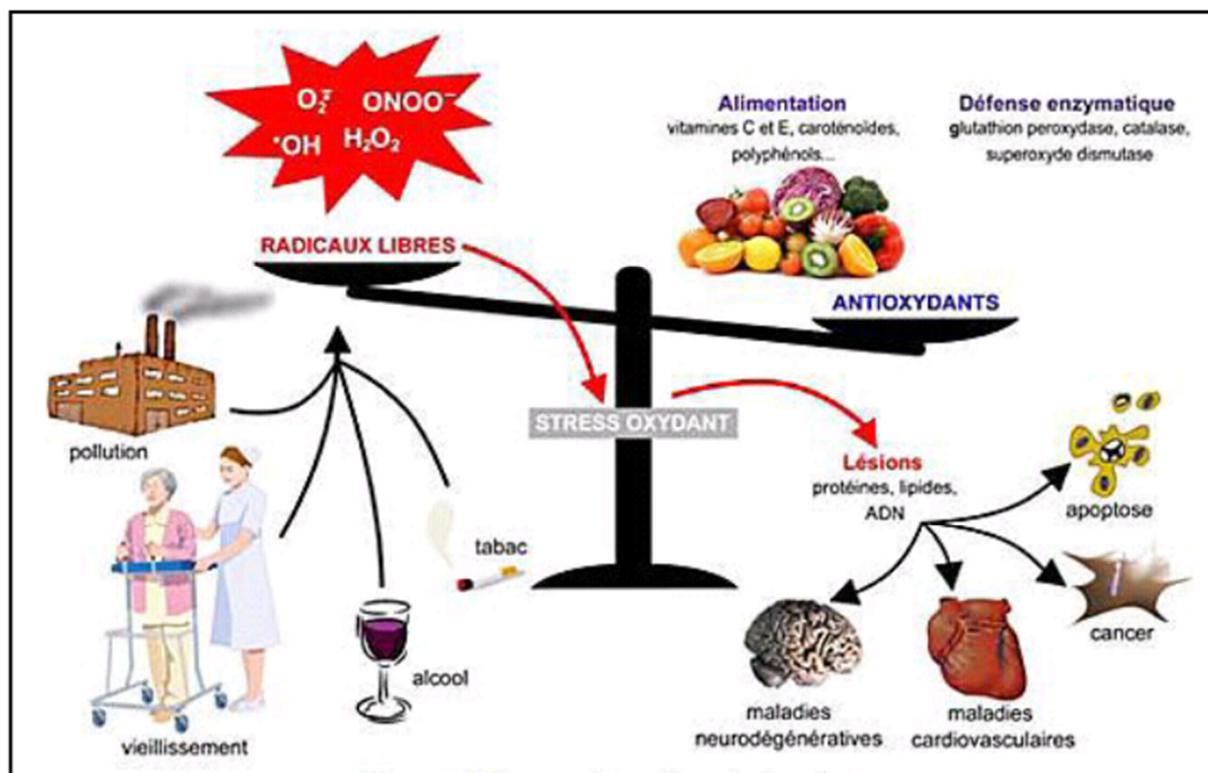


Figure 14 : Stress oxydant (GHOUMRANI, 2014).

III.1 Radicaux libres

III.1.1 Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Un radical libre est défini comme une molécule possédant en périphérie un électron célibataire ou non apparié. Il est très instable et réagit rapidement avec d'autres molécules pour capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité, une réaction en chaîne, lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche ; cette dernière devient elle-même un radical libre (KESSOUM, 2014).

III.2 Types des radicaux libres

III.2.1 Espèces réactives de l'oxygène

Le dioxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires par-ce-qu'il permet de synthétiser de l'énergie en oxydant de la matière organique. Cependant, nos cellules convertissent une faible partie d'O₂ en métabolites toxiques : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (ACHAT, 2013). Ces derniers sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, c'est la classe la plus importante d'espèces réactives générés dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (LARABA, 2016).

Les espèces réactives de l'oxygène forment un ensemble plus large de molécules dont on distingue deux grands groupes : les espèces radicalaires tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$), le radical hydroxyle (OH°) et oxyde nitrique (NO) et les espèces non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydite ($ONOO^{\circ}$) et l'oxygène singulet (1O_2) (BOUCHOUKA, 2016).

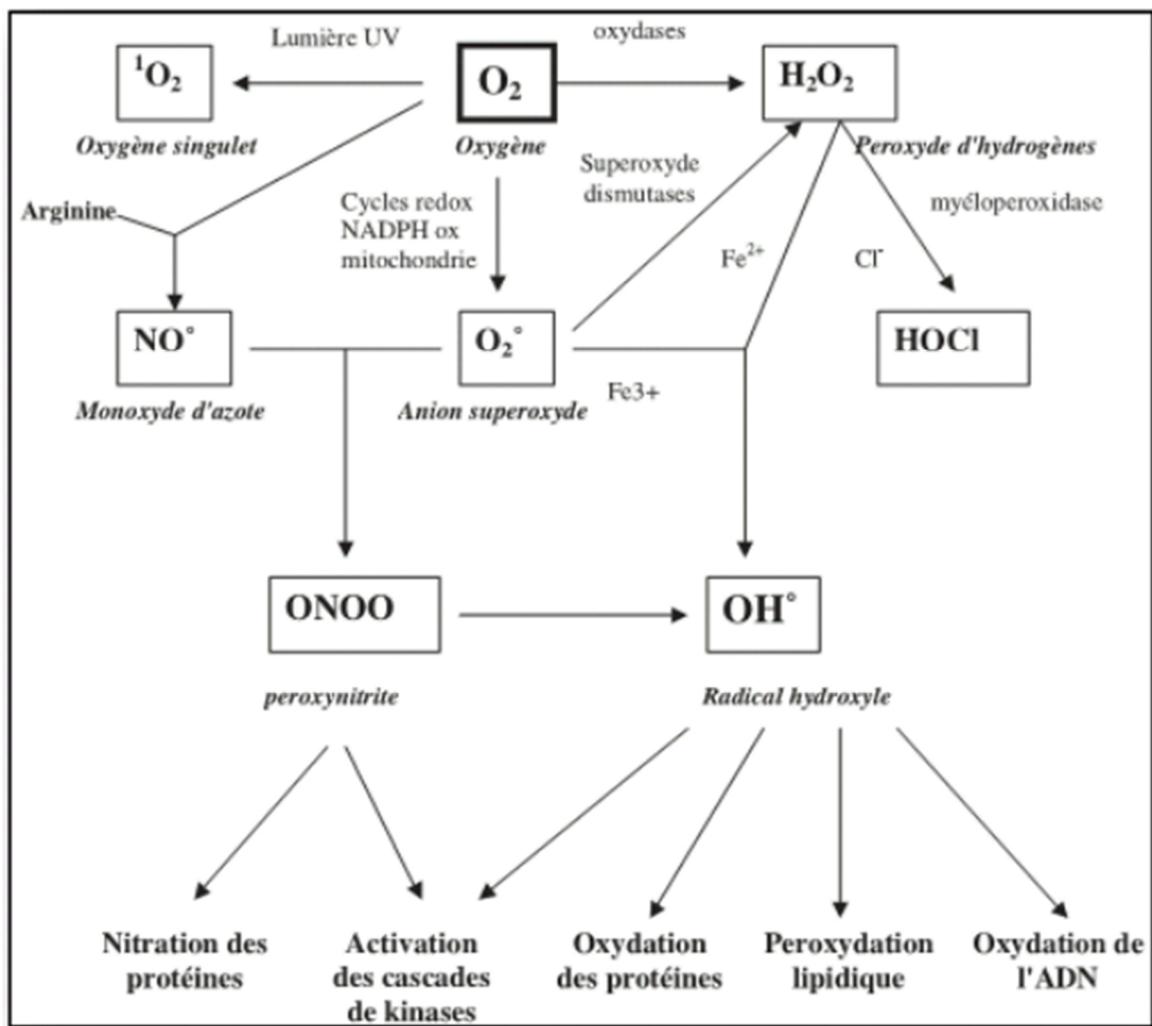


Figure 15 : Origine des différents radicaux libres impliqués en biologie (GHOUMRANI, 2014).

III.2.2 Espèces réactives azotées (ERN)

III.2.2.1 Espèces radicalaires azotées

Apparu au cours de la dernière décennie, le monoxyde d'azote (NO°) a pris une place inestimable en biologie. En effet, malgré son rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant en limitant la lipoperoxydation et ses effets anti-inflammatoires, il est principalement utilisé dans

de nombreuses maladies telles que le diabète, l'athérosclérose, le cancer et les lésions neuronales dégénératives (AIRA, 2012).

III.2.2.2 Espèces non radicalaires azotées

Ces espèces sont caractérisées par leur grande capacité de diffusion dans les membranes cellulaires ainsi que leur réactivité moyenne (de l'ordre de quelques secondes in vitro). Dont, le monoxyde d'azote radicalaire peut réagir facilement avec la plupart des espèces oxygénées pour donner le **dioxyde d'azote** (NO_2) : ($2\text{NO}^\circ + \text{O}_2 = 2\text{NO}_2$), lequel peut former le **trioxyde d'azote** (N_2O_3) : ($\text{NO}^\circ + \text{NO}_2 \rightarrow \text{N}_2\text{O}_3$), pour aboutir à la fin à un **ion nitrate stable** (NO_2^-) : ($\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+$). De plus, le monoxyde d'azote forme par réaction avec l'ion superoxyde le **peroxynitrite** (ONOO^-) : ($\text{NO}^\circ + \text{O}_2^{\circ-} = \text{ONOO}^-$). Ce dernier, est moins réactif que son précurseur azoté, mais responsable de l'oxydation de nombreuses biomolécules tels que les protéines, les lipides et les acides nucléiques (AIRA, 2012).

III.3 Production des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme aérobie. De nombreux mécanismes et systèmes responsables de la synthèse des radicaux libres ont été identifiées tant endogènes (intracellulaire) qu'exogènes (extracellulaire) (BELYAGOUBI, 2011).

A. La production des radicaux libres peut être d'origine enzymatique. Dont, il s'agit principalement de la NADPH oxydase membranaire qui est une enzyme membranaire catalyse la réduction de l'oxygène en produisant le radical superoxyde selon la réaction suivante :



B. La mitochondrie considérée comme une source importante de la production des radicaux libres. La majeure partie de l'oxygène que nous respirons (80%) subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons) conduisant à la production de l'eau (CARANGE, 2010).

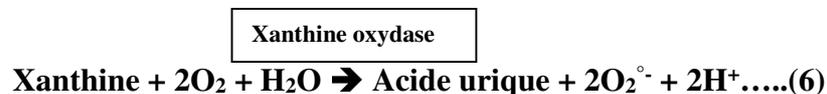
Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons du complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale (BENBRINIS, 2012).



C. Toutefois, une certaine proportion d'électrons peut s'échapper de la chaîne de transport qui vont réduire l'oxygène, qu'environ 2 % de l'oxygène subit une réduction monoélectrique (addition d'un seul électron à l'oxygène) conduisant à la formation de radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ au niveau de l'ubiquinone selon la réaction suivante (BENBRINIS, 2012) :



D. Il existe d'autres sources qui permettent la production des radicaux libres notamment, la xanthine oxydase qui réduit l'oxygène membranaire en ion superoxyde (BOUCHOUKA, 2016). Au cours de l'oxydation de la xanthine en acide urique (réaction 6) (DJENIDI, 2019).



E. L'inflammation est par ailleurs une source importante des espèces réactives oxygénées. Durant le processus de défense antibactérienne, les phagocytes produisent un nombre important d'ERO tels que le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et le superoxyde d'hydrogène (H_2O_2). En effet, les phagocytes utilisent l'oxygène moléculaire pour produire des quantités importantes d'anion superoxyde au niveau de la membrane cytoplasmique via l'action du complexe NADPH oxydase (CARANGE, 2010).

F. Les facteurs environnementaux tels que les radiations UV, les polluants industriels, tabagisme sont des sources exogènes capables de donner naissance aux radicaux libres qui peuvent causer l'oxydation des composants biologiques (BENBRINIS, 2012).

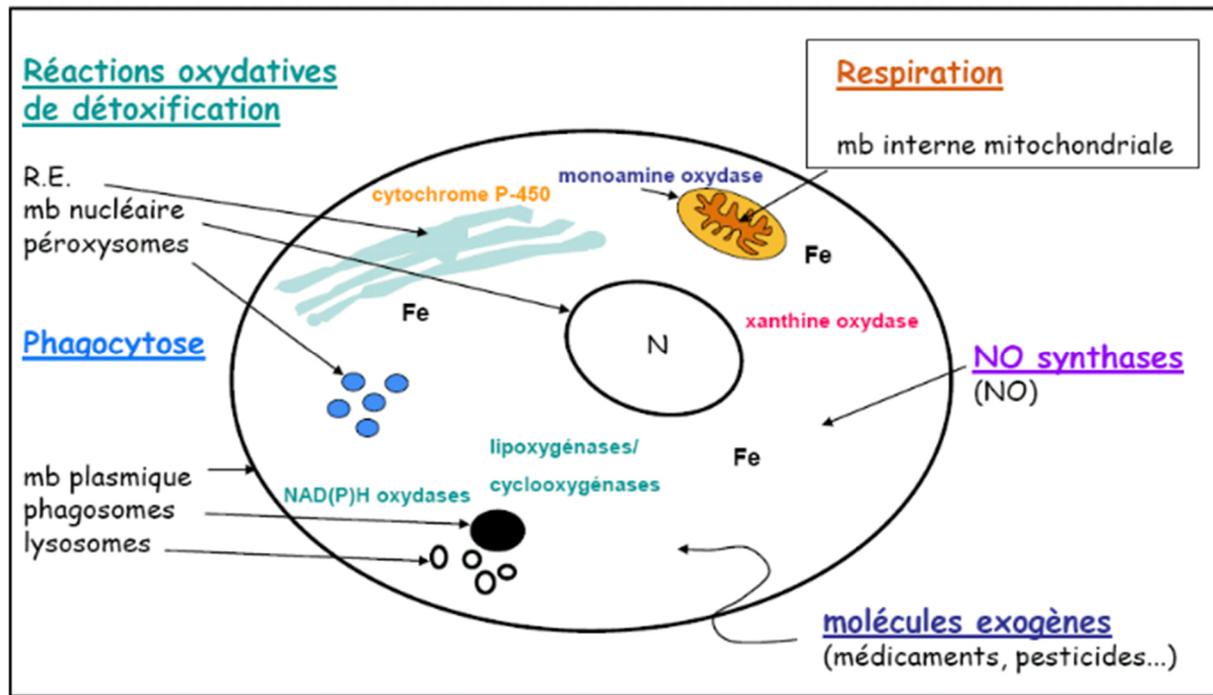


Figure 16 : Principaux sites cellulaires de production des radicaux libres (GHOUMRANI, 2014).

III.4 Intérêts biologiques des radicaux libres dans physiologie cellulaire

Le paradoxe des radicaux libres en biologie réside dans le fait que ce sont des molécules très réactives et dommageables, susceptibles d'endommager un grand nombre de maladies, tant en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions physiologiques outils on cite : phagocytose et signalisation cellulaire (RAHALI).

III.4.1 Phagocytose

Les radicaux libres possèdent un rôle essentiel dans le bon fonctionnement des réactions immunitaires. En effet, la phagocytose des bactéries et des parasites par les macrophages ou les polynucléaires s'accompagne d'une production d'espèces réactives de l'oxygène. De plus, si elle est brutale et intense connue sous le nom « **Bouffée respiratoire** » car elle s'accompagne d'une augmentation transitoire de consommation d'oxygène. Certains radicaux libres tels que l' O_2^\bullet , H_2O_2 , OH^\bullet , $ONOOH$ jouent un rôle important dans l'activation de NADH oxydase, superoxyde dismutase (SOD) et la NO synthase au sein de phagosome. Sous l'action de la myeloperoxydase, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) donnera naissance à l'acide hypochlorique (HOCL), qui est un oxydant microbicide le plus puissant (LARABA, 2016).



III.4.2 Signalisation cellulaire

Les radicaux libres en tant que molécule de signal et interviennent dans la communication intra et intercellulaire. Ils participent également à l'activation de certains facteurs de transcription qui activent les gènes, ils participent au fonctionnement de certains neurones notamment ceux de la mémoire et au fonctionnement de certaines enzymes et interviennent dans les phénomènes de prolifération, la croissance, la mort cellulaire, la différenciation, l'adhésion et la migration (LARABA, 2016).

III.5 Conséquences biologiques de stress oxydant

La production excessive des espèces oxygénées provoque des dommages oxydatifs des biomolécules dont elle peut toucher l'ADN, les protéines, les lipides et les glucides. Ainsi que des lésions secondaires dues aux propriétés cytotoxique et mutagène des métabolites issus de stress oxydant (RAHALI).

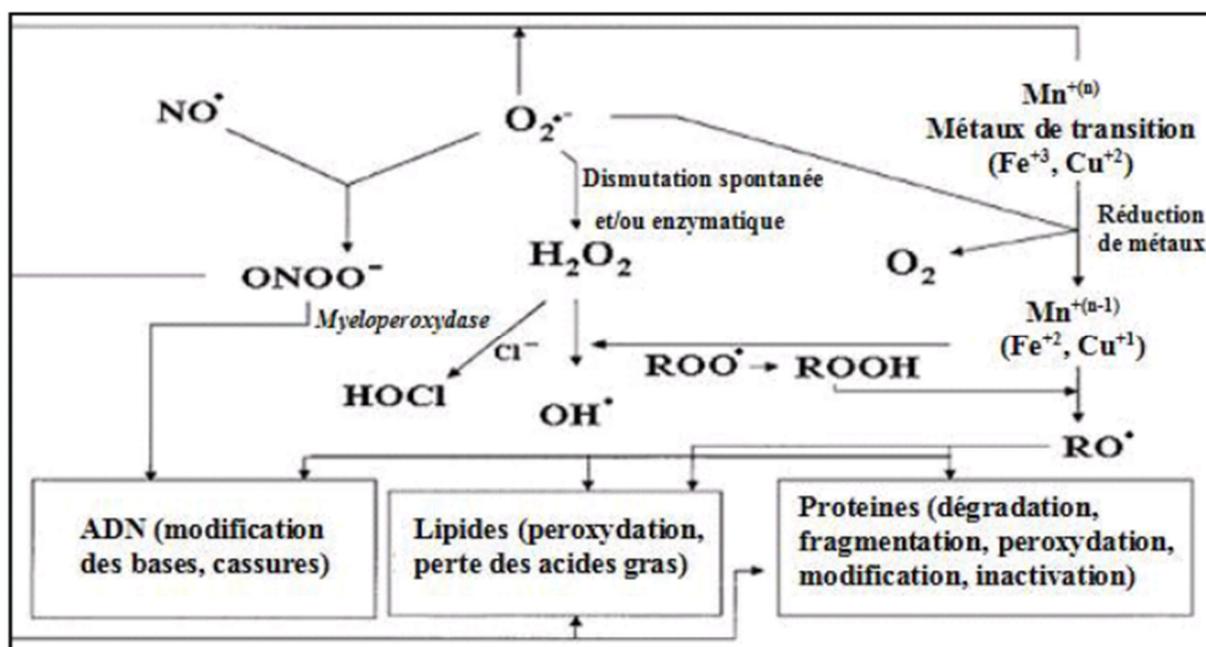


Figure 17 : Altération dommageables causées par le stress oxydant (GHOUMRANI, 2014)

III.5.1 Oxydation des lipides

Les lipides et plus principalement les acides gras polyinsaturés (AGPI), sont les cibles privilégiées de l'attaque par les ERO et particulièrement des radicaux libres. Dans une première étape, y'aura l'oxydation des lipides se transforment en peroxydes lipidiques (ROOH) (HOCINE, 2017). La peroxydation des lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (GHOUMRANI, 2014).

Les peroxydes lipidiques se décomposent en une série de sous-produits dont font partie les aldéhydes sous l'action de métaux de transitions (fer, cuivre). Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, on cite : le malondéaldéhyde (MDA), les hydroperoxydes lipidiques, le 4-hydroxynonanal (4-HNE), sont considérés comme des marqueurs de l'oxydation lipidique (HOCINE, 2017).

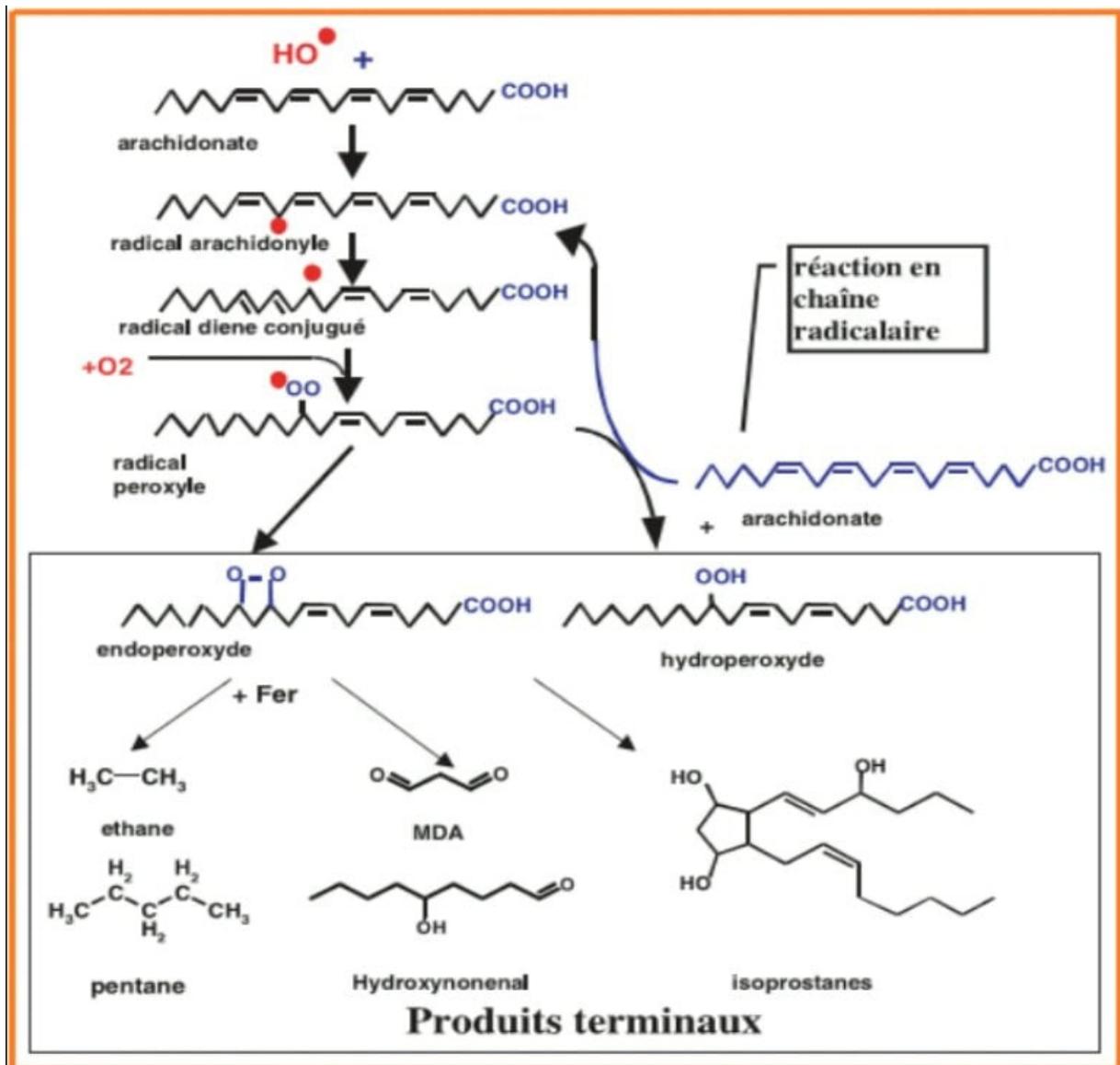


Figure 18 : Mécanisme de peroxydation des acides gras polyinsaturés et la nature des produits terminaux (DJENIDI, 2019).

III.5.2 Oxydation des protéines

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles de subir des réactions d'oxydation par les ROS. En effet, les structures (primaire, secondaire et tertiaire) ainsi que les fonctions des protéines sont aussi altérées par les radicaux libres (RAHALI). Dont Les protéines contenant dans leur structure un groupement sulfhydryle (SH) sont les plus sensibles aux attaques radicalaires. De plus, de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont être inactivées par ces espèces (BENNAMARA, 2017).

Le radical hydroxyle entraîne des altérations oxydatives au niveau des protéines engendrant de nouveaux groupes fonctionnels parmi eux les fonctions hydroxyles ou carbonyles dont ces derniers contribuent aux altérations de la fonction des protéines, la modification de leur conformation ainsi que leur fragmentation (ZERARGUI, 2015). En effet, les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la tyrosine ou celui ayant un noyau imidazole comme l'histidine sont les plus sensibles à l'action du radical hydroxyle (OH^\bullet), sur lesquels ce dernier s'ajout et induit un changement de conformation de la molécule de protéine (LARABA, 2016).

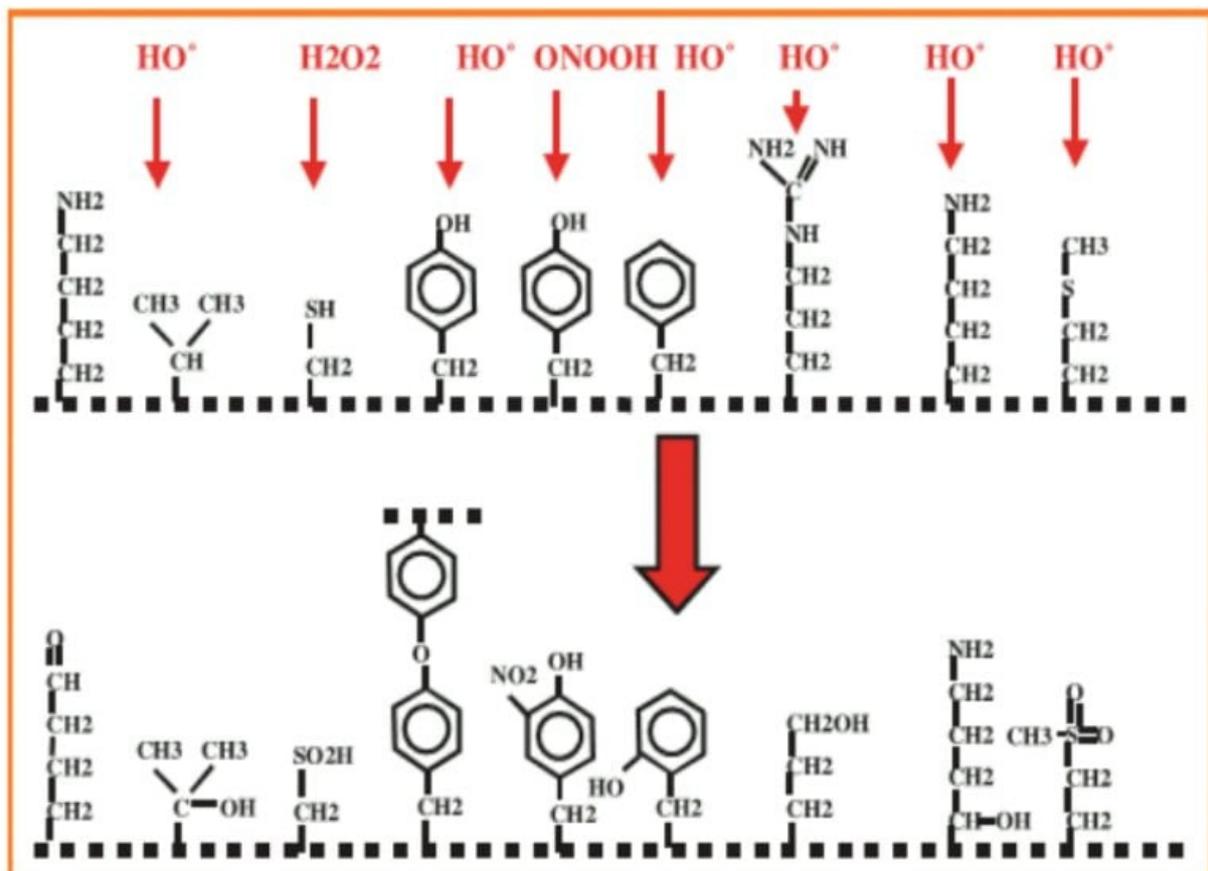


Figure 19 : Les modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après l'attaque radicalaire (DJENIDI, 2019).

III.5.3 Oxydation de l'ADN

Les espèces réactives, et plus particulièrement le radical hydroxyle (OH°), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation. Les ERO peuvent induire notamment des oxydations, des nitrations ou des méthylations des bases. Ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et/ou non fonctionnelle. Ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagenèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (HOCINE, 2017).

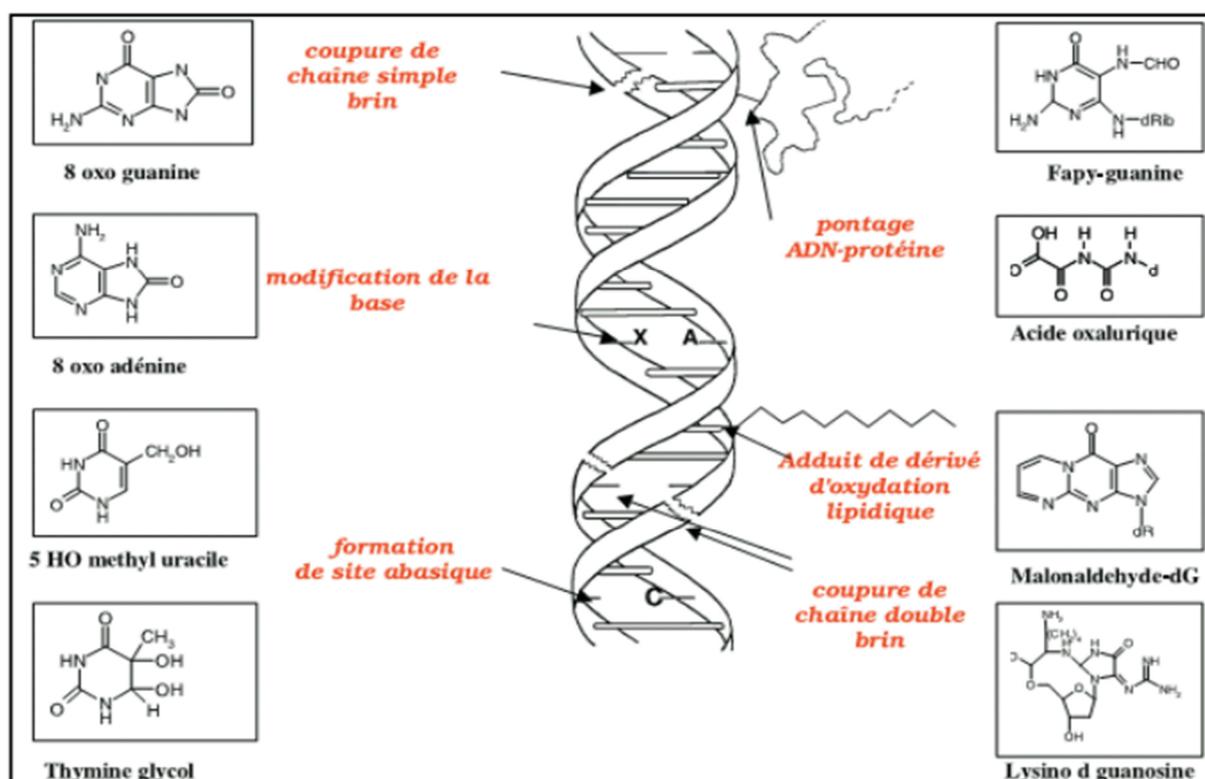


Figure 20 : Types de lésions de l'ADN provoqués par les attaques radicalaires (GHOUMRANI, 2014)

III.5.4 Oxydation des glucides

Si la chimie de l'attaque des polysaccharides a été beaucoup moins étudiée que celle des autres macromolécules, il n'en demeure pas que les espèces réactives de l'oxygène attaquent les mucopolysaccharides et notamment du cartilage. Le glucose par ailleurs peut s'oxyder en présence des ions métalliques conduisant à la libération des cétoaldéhydes, H_2O_2 et OH° qui

peuvent entraîner la coupure des protéines ou leur glycation par attachement de cétoaldéhyde. En effet, l'oxydation des glucides est un phénomène important qui touche patients diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**DJENIDI, 2019**).

III.6 Maladies liées aux stress oxydant

Le stress oxydant est capable de provoquer de nombreuses maladies dont la plupart apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production des radicaux libres par la mitochondrie (**GRABSI, 2016**).

En effet, le stress oxydant fait apparaître des molécules anormales et en sur-exprimant certains gènes ce qui fait de lui la principale cause initiale de plusieurs pathologies tels que sclérose latéral amyotrophique, la cataracte, le cancer, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire et vieillissement. De plus, il est l'un des facteurs responsable de la naissance de différentes maladies plurifactorielles : la maladie d'Alzheimer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les rhumatismes (**GRABSI, 2016**).

III.7 Les antioxydants

Pour protéger l'organisme des dégâts causés par les ROS, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés « antioxydants » (**RAHALI**).

Un antioxydant est défini comme toute substance capable de retarder, empêcher ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ces systèmes de défenses servant ainsi à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (**RAHALI**).

Un bon antioxydant doit respecter quelques critères : (**KESSOUM, 2014**)

- Agir spécifiquement sur les radicaux libres.
- Chélater les métaux de transition.
- Interagir en synergie avec d'autres antioxydants pour se régénérer.
- Agir aux faibles concentrations physiologiques.

Les antioxydants peuvent être classés selon leur localisation cellulaire, leur mode d'action et leur origine (**LARABA, 2016**).

En effet, les antioxydants endogènes produites par l'organisme constitués de trois métalloenzymes essentielles tels que : le peroxyde dismutase (**SOD**), la catalase (**CAT**) et glutathion peroxydase (**GPX**) présentent dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie. Ces enzymes jouent un rôle majeur dans le maintien de la santé. Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation on cite : vitamine C, vitamine E, les

caroténoïdes...etc. Il y'a aussi les oligoéléments tels le zinc, le fer et le sélénium (HOCINE, 2017).

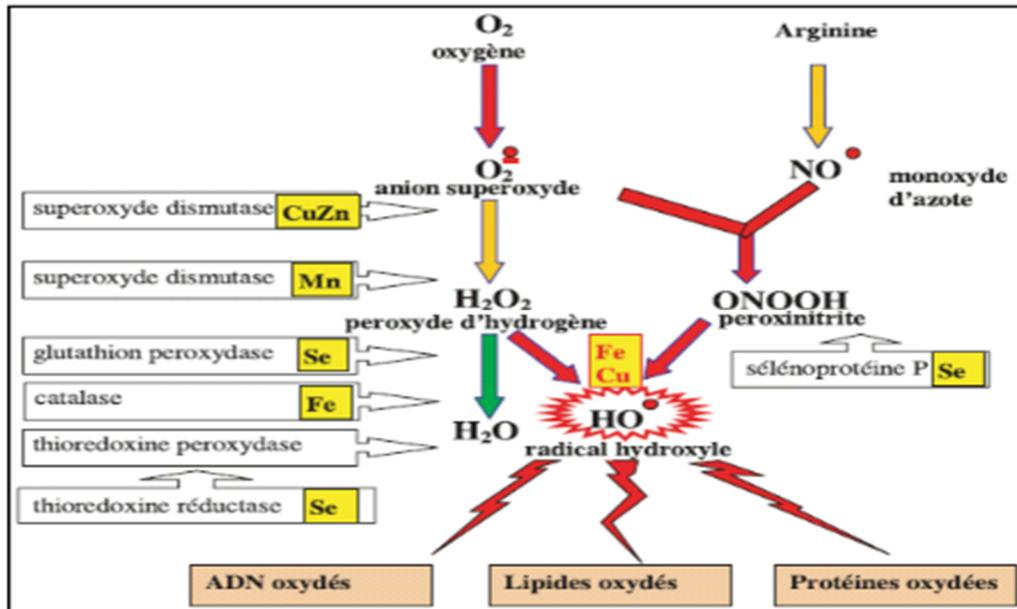


Figure 21 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants (GHOUMRANI, 2014).

Activité antioxydante et antibactérienne

IV. Activité antioxydante

Il existe différentes méthodes pour tester la capacité de piégeage d'un radical libre et l'activité antioxydante d'un extrait de plante.

IV.1 Test DPPH

Le DPPH est un radical libre de couleur violacée et absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 517 nm. Ce radical perd sa coloration lorsqu'il est mélangé avec une substance antioxydante qui lui confère un atome d'hydrogène, (BOUCHOUKA, 2016) et se réduit en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune (BOUBEKRI, 2014).

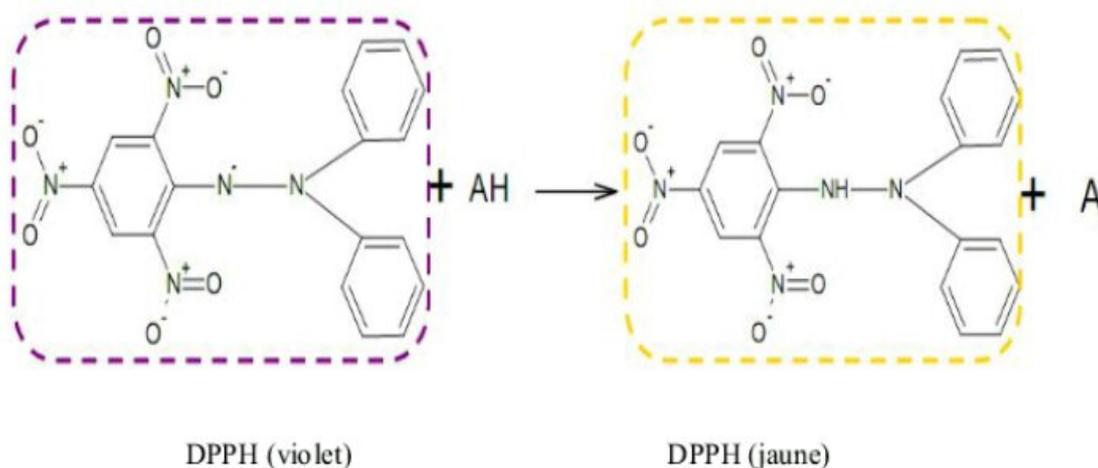


Figure 22 : Structure chimique du radical DPPH et de sa forme réduite (BOUCHOUKA, 2016).

IV.2 Test ABTS

Le test ABTS est un test simple, opérationnel, reproductible et peut être utilisé dans différents milieux. Il est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique $ABTS^{\circ+}$ de coloration vert bleu et qui présente un spectre d'absorption dans le visible à 734 nm en le transformant en ABTS incolore. De plus, le radical $ABTS^{\circ+}$ est généré en présence des ions persulfates (BOUCHOUKA, 2016).



IV.3 FRAP

La méthode FRAP développée par Benzie et Strain en 1996. Elle est basée sur la réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique (Fe(III)-TPTZ)₂ en un complexe tripyridyltriazine ferreux (Fe(II)-TPTZ)₂ en présence d'un antioxydant, à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer (BOUCHOUKA, 2016).

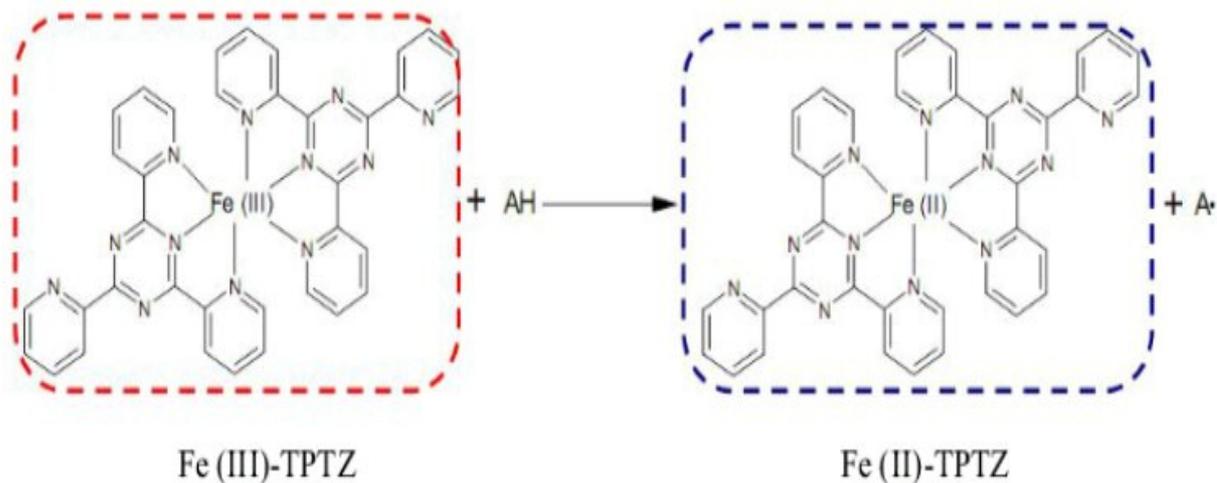


Figure 23 : les mécanismes réactionnels intervenant lors du test FRAP être les complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (BOUCHOUKA Elmouloud, 2016).

V. Activité antibactérienne

V.1 Généralités

L'homme se trouve en contact avec les micro-organismes pathogènes tels que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons qui sont la cause des maladies infectieuses qui touchent des millions de personnes dans le monde (**BENCHIHA, 2016**).

Les antibiotiques sont reconnus comme le traitement idéal pour les infections bactériennes. Toutefois, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouveaux substitues, notamment les végétaux qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments (**RAHALI**). Parmi ces végétaux on retrouve les polyphénols, qui sont impliqués dans l'industrie alimentaire et cosmétique ainsi qu'en médecine populaire comme des agents antimicrobiens (**ZEGHAD, 2009**).

Les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur forte toxicité vis-à-vis des microorganismes par rapport aux autres polyphénols. L'effet toxique de ces substances peut être associé à l'inhibition des enzymes hydrolytiques tels que les protéases et les carbohydrases ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**ZEGHAD, 2009**).

En particulier, l'activité antimicrobienne des extraits de plante sont considérés comme un remède alternatif dans le traitement de nombreuses pathologies et comme de moyens de préservation des aliments contre le stress oxydant ont été soulignées dans la littérature scientifique (**RAHALI**).

V.2 Définition de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne correspond à l'activité d'une substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration capable d'inhiber le développement d'une bactérie ou la tuer. De plus, la sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibiotique. Face à un antibactérien, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (**RAHALI**).

V.3 Principales substances antibactériennes

V.3.1 Antibiotiques

Un antibiotique (du grec anti, contre et bios, vie) (**AIT BAZIZ, 2017**), est une substance antibactérienne d'origine naturelle ou synthétique chimiquement capable d'inhiber la multiplication des microorganismes ou les détruites (**BENBRINIS, 2012**).

Les antibiotiques présentent deux grands modes d'action, on distingue donc deux types d'antibiotiques : (PAUL, 2017)

- **Les bactéricides** : attaquent le peptidoglycane de la paroi bactérienne ce qui entraîne une déstabilisation de la bactérie et la tuer (PAUL, 2017).
- **Les bactériostatiques** : empêchent la multiplication des bactéries (PAUL, 2017).

V.3.2 Composés phénoliques

De nombreuses études in vitro et in vivo ont été réalisées pour évaluer l'activité antimicrobienne des polyphénols. Les études actuelles ont démontrés cet effet par de nombreuses recherches expérimentales ainsi que ils ont démontré le pouvoir inhibant des flavonoïdes sur la croissance bactérienne dont de nombreuses composés flavonoïques (apigénine, kaempférol) sont donc d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif telle que *E.coli* et à Gram positif tel que *S.aureus* (BENCHIHA, 2016).

V.4 Activité antimicrobienne des polyphénols

Les composés phénoliques sont doués d'activités antimicrobiennes importantes du à leurs diversités structurales (BENBRINIS, 2012) et en raison de leurs diverses propriétés physiologiques, principalement les flavonoïdes (AIT BAZIZ, 2017). La présence des groupes hydroxyles sur les composés phénoliques peut être liée à leur relative toxicité envers les micro-organismes, ainsi que le taux d'hydroxylation est proportionnel à la toxicité. Cependant, il a été montré que plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des micro-organismes pathogènes (BENBRINIS, 2012).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins se caractérisent par leurs grande capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la neutralisation des toxines ainsi que sont capables d'établir une synergie avec certains antibiotiques (RAHALI).

Les flavonones qui comportent un groupement de sucre montrent également une activité antibactérienne, tandis que les flavonolignanes n'ont montré aucune activité inhibitrice envers les micro-organismes (BENBRINIS, 2012).

Les polyphénols peuvent impliquer multiples mode d'action tels que l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaire, la privation de substrat nécessaire à la croissance microbienne principalement les métaux de transition tels que le fer, l'inhibition de métabolisme microbien, dégradation de la paroi cellulaire, perturbation de la membrane cytoplasmique, ce qui entraîne une fuite de composants cellulaires, l'influence de la synthèse

de l'ADN et l'ARN, des protéines, des lipides, et la fonction mitochondriale, ainsi que la formation des complexes avec la paroi. Cependant, ces mécanismes ne sont pas des cibles séparées, certains sont la conséquence d'un autre mécanisme. Ainsi que, le mode d'action des agents antimicrobiens dépend également du type de microorganismes et à l'arrangement de la membrane externe (GRABSI, 2016).

V.5 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est un paramètre utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique. Elle correspond à la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance d'une ou plusieurs souches bactériennes en 24h (AIT BAZIZ, 2017).

Pour étudier l'effet bactériostatiques ou bactéricides d'un antibiotique, il existe deux grandes familles de tests tels que : (BENABBOU, 2012)

- ✓ **Les tests par dilution** : qui utilisent une méthode quantitative aboutissent à un résultat chiffré correspondent à une CMI (BENABBOU, 2012).
- ✓ **Les tests par diffusion** : qui utilisent une méthode permettent de classer les bactéries en sensibles ou résistantes (BENABBOU, 2012).

V.5.1 Méthodes de dilution

Les méthodes par dilution ayant un avantage du à leur relative souplesse d'utilisation car on peut compléter le milieu de culture pour des germes a besoin particulier ainsi que d'utiliser n'importe quel antibiotique pourvu qu'il soit disponible que ce soit liquide ou poudre. Ces techniques de dilution peuvent être réalisées sur milieu solide ou en milieu liquide (BENABBOU, 2012).

V.5.1.1 En milieu liquide

En milieu liquide, la multiplication des bactéries se traduit par un trouble. Dans un premier temps, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tube à hémolyse stériles (méthode de macrodilution) ou de cupules d'une plaque (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après 18 à 24 heures d'incubation, la CMI de la substance testé est indiquée par le tube ou cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible à l'œil nu (AIT BAZIZ, 2017).

V.5.1.2 Sur milieu solide

Cette méthode consiste à ensemercer un milieu gélosé contenant l'antibiotique avec l'inoculum bactérien. La CMI est déterminée sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique par l'inhibition de la croissance (BENABBOU, 2012).

V.5.2 Méthodes de diffusion :

V.5.2.1 Sur milieu solide

Cette méthode consiste à la diffusion d'un antibiotique dans des puits de 6 mm de diamètre et 3 mm de profondeur avec un puit témoin, creusés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller Hinton, après avoir étéensemencées par une suspension bactérienne. Ensuite une incubation à 37°C est faite pendant 18 à 24h. Le diamètre des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (**AIT BAZIZ, 2017**).

V.5.2.2 Sur disque de cellulose

Cette méthode consiste en l'application imprégnés d'antibiotiques sur un milieu gélosé (**BENABBOU, 2012**) dans une boîte de Pétri préalablementensemencé par des bactéries. La substance à tester est ensuite imprégnée sur des disques de cellulose, eux-mêmes déposés sur la boîte de Pétri avec un disque imprégné d'un solvant qui servira comme témoin négatif. Durant l'incubation, l'antibiotique va diffuser dans la gélose ce qui crée un gradient de concentration dépendant de la substance. L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure du diamètre de la zone de clarification en mm autour des disques (**AIT BAZIZ, 2017**) et grâce à des abaques, on pourra classer la bactérie en sensible ou résistante (**BENABBOU, 2012**).

V.6 Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'*Hibiscus sabdariffa* L

L'évaluation de ces activités de la plante étudiée aurait dû être réalisée au niveau de laboratoire biochimie de la faculté SNVST de Bouira. Notre protocole c'était comme suit : une préparation de l'extrait de la plante par la méthode de macération, dosage des polyphénols totaux, évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH, évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque. Mais à cause de la situation sanitaire (Covid-19) la partie expérimentale de ce travail n'as pas pu être réalisé. Pour cela nous avons opté à faire une analyse bibliographique de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Hibiscus sabdariffa* L.

L'extrait de calice charnu d'*Hibiscus* il a été testé pour une évaluation de la composition phytochimique. **SUMAN Das**, d'après ces résultats il a constaté que les glycosides et les coumarines sont complètement absents alors que les phénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, stéroïdes et anthraquinone sont présents. De plus, il a constaté que les tannins et les triterpenoides se trouvent dans l'extrait éthanolique et absents dans l'extrait d'éther de pétrole (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Evaluation de composition phytochimique de l'extrait de calices de la plante *Hibiscus sabdariffa* L. (**SUMAN, 2014**).

Phytochimie	Extrait d'éther de pétrole	Extrait éthanolique
Phénols	++	++
Tannin	--	++
Flavonoïdes	++	++
Alcaloïdes	++	++
Triterpenoides	--	++
Saponine	++	++
Stéroïdes	++	++
Coumarines	--	--
Anthraquinone	++	++
Glycosides	--	--

L'estimation de l'activité antioxydante de l'extrait de calices de l'*Hibiscus sabdariffa* L. a été montrée dans le (**Tableau 5**). L'extrait d'éther de pétrole contient des quantités élevées de phénols et d'acide ascorbique par rapport à l'extrait éthanolique. **SUMAN** a constaté que les

composés phénoliques sont des composants non nutritifs inhibant le cancer, lutte contre l'athérosclérose et les troubles dégénératives. La teneur en polyphénols contenant dans l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* est considérée comme source potentielle des antioxydants. L'extrait éthanolique contient légèrement des quantités élevées de flavonoïdes, qui réduits les risques de maladies cardiaques ainsi prévenir de la ménopause. Le test de piégeage DPPH a été appliqué pour la détermination du piégeage des radicaux libres et d'avoir l'activité antioxydante de tout composé, ce test a été mesure selon la capacité de l'extrait à donner l'hydrogène au radical DPPH qui se transforme on DPPH-H. L'extrait testé par le test DPPH (IC50), indique une grande capacité de piégeage des radicaux libres, en particulier les radicaux peroxydes issus des molécules lipidiques et ainsi rompre la réaction radicalaire en chaîne. L'extrait d'éther de pétrole a été montré une meilleure activité antioxydante. **Farombi** et **Fakoya** retrouvés que l'activité du piégeage des radicaux libres similaire dans les deux extraits de roselle contre le peroxyde d'hydrogène et les radicaux superoxydes. **Mohd-Esa et al** ont montrés que les graines de roselle possèdent une activité antioxydante plus élevée que les calices et autres pièces.

Tableau 5 : Estimation de l'activité antioxydante de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* L. (SUMAN, 2014).

Phytochimie	Extrait d'éther de pétrole	Extrait éthanolique
Phénols	41±4	34±5
Flavonoïdes	24.45±1.8	27.56±1.52
Acide ascorbique	1.92±0.21	1.68±0.25
DPPH	64	58

Le test de diffusion sur disque a été révélé que l'extrait de calices avait différents degrés d'inhibition de la croissance bactérienne et fongique (**Tableau 6**). Les deux extraits ont montré des activités antimicrobiennes similaires contre presque tous souches testées, tels que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. L'extrait éthanolique a montré une activité antibactérienne modérées contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. L'activité antimicrobienne des extraits des calices d'*Hibiscus sabdariffa* pourraient dus à la présence de métabolites secondaires comme le tanin, alcaloïdes et anthraquinones qui sont connus par leurs propriétés antimicrobiennes.

Tableau 6 : Estimation de l'activité antibactérienne de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* L. contre les souches bactériennes indiquées par le diamètre de zone d'inhibition (SUMAN, 2014).

Type de solvant	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>A.niger</i>
Ether de pétrole	11 ±1	12±1.527	11±1.527	8±1.527
Ethanol	12±0.577	13±1	12±0.577	9±1.527

SUMAN a conclu que l'extrait de calice de la plante *Hibiscus sabdariffa* présente une activité antioxydante et antibactérienne avec une efficacité élevée. L'extraction effectuée par les deux solvants « éther de pétrole et l'éthanol » ont montrés une forte efficacité des deux activités antioxydante et antibactérienne, dû à la présence de différents composés phytochimiques tels les flavonoïdes, phénols, acide ascorbique, tannins, alcaloïdes. La teneur en polyphénols de l'*Hibiscus sabdariffa* a été considérée en tant que source potentielle des antioxydants. La capacité antibactérienne de l'extrait de l'*Hibiscus sabdariffa* a été connue par leur capacité d'inhiber la croissance bactérienne de souches testées : *E.coli*, *S.aureus*, *B.cereus* dû à la présence des métabolites secondaires tels les tannins, anthraquinone et les alcaloïdes. Cette plante a la perspective d'être une source des composés antimicrobiens et antioxydants efficaces, et les connaissances peuvent être étendues pour de futures recherches dans le domaine pharmacologique pour une merveilleuse découverte de médicaments.

D'autre étude a été réalisée par **Al-HASHIMI** qui a été évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante *Hibiscus sabdariffa* L.

Il a été utilisé l'éthanol comme solvant d'extraction et une extraction aqueux.

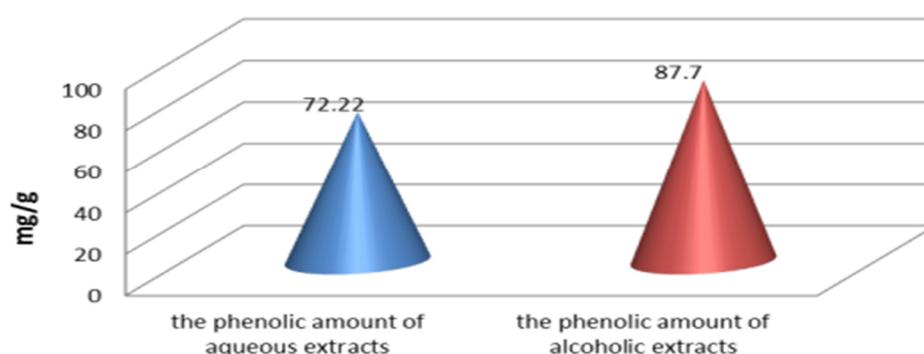


Figure 24 : Composés phénoliques totaux de l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Tableau 7 : Evaluation de l'activité antioxydante des extrais aqueux et alcoolique d'*Hibiscus sabdariffa* L.

L'extrait d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.mutans</i>
aqueux	40	40	28
alcoolique	46	20	30

Tableau 8 : Activité antibactérienne de l'extrait de plante évalué par des zones d'inhibition des souches bactériennes.

Concentration mg/ml	Extraction aqueuse	Extraction alcoolique
20	14.02±0.00	19.5±0.00
40	27.44±0.01	31.87±0.01
60	35.85±0.01	56.87±0.01
80	46.83±0.01	73.78±0.00
100	62.55±0.00	75.67±0.01

Al-HASHIMI a été montré que la composition chimique de la plante comprennent les anthocyanes, les flavonoïdes et les polyphénols et qui ont une bonne source antioxydante grâce aux anthocyanes et l'acide ascorbique. Les résultats de la présente étude ont clairement démontré que les extraits alcooliques de *H. sabdariffa* L. contiennent plus de composés phénoliques que l'extrait aqueux comme il a été indiqué dans la figure 24, ce résultat indique que l'alcool est un meilleur solvant que l'eau pour l'extraction du phénol de *H.sabdariffa* L. et ce résultat est en accord avec **Anokwuruet coll. (2011)**. La solubilité des composés phénoliques est déterminée par la nature chimique de la plante, ainsi que la polarité des solvants utilisés. L'éthanol est un bon solvant d'extraction des polyphénols.

Le taux d'activité antioxydante augmente à mesure que le concentré d'extrait de roselle augmenté. En effet, l'activité antioxydante de l'extrait d'*H.sabdariffa* est corrélée fortement avec sa teneur en anthocyanes, dont il est considéré comme un donneur d'électrons et réagir avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables et mettre fin aux réactions radicalaires en chaîne (**Tableau 7**). Dans la présente étude, une variété de Gram positif (*S.aureus* et *S. mutans*) et Gram négatif (*E. coli*) ont été utilisées pour le dépistage de l'activité antimicrobienne d'extraits aqueux et alcooliques de l'*Hibiscus sabdariffa* L. Les résultats de la présente étude indiquent clairement que l'extrait aqueux et alcoolique d'*Hibiscus sabdariffa* L. inhibe la croissance des souches testés. Les résultats de l'étude sont en accord avec **Olaleye (2007)** qui a rapporté que l'extrait aqueux présent des activités antibactériennes contre *S.aureus* et *E. coli*.

Cette activité antibactérienne d'*H.sabdariffa* peut être attribuée à l'action des composés bioactifs qui sont connus par leur action antimicrobienne.

Les flavonoïdes sont des substances antimicrobiennes efficaces contre un large éventail de micro-organismes, dont ils sont capables à se complexer avec des protéines extracellulaires et des protéines solubles et complexer avec les parois cellulaires bactériennes (**Tableau 8**).

Conclusion

Etant donné la toxicité et les effets secondaires indésirables des molécules de synthèse aussi que la résistance de certains germes microbiens face aux médicaments existants, l'utilisation des plantes qui contiennent des composés bioactifs est en progression constante. En effet, compte tenu de leur meilleure biocompatibilité on observe une demande croissante des produits d'origine naturelle que la nature a établie sur cette terre, afin d'entretenir notre santé, prévenir nos maux, voir les guérir.

L'objet de notre travail a porté sur l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de la plante « *Hibiscus sabdariffa* ».

Des recherches ont montrées que les extraits de calice de roselle « *Hibiscus sabdariffa* » sont riches en polyphénols, anthocyanes et flavonoïdes.

Des études bibliographiques réalisées sur cette espèce ont montré que l'*Hibiscus sabdariffa* c'est une source d'agents antioxydante et antibactériens, ce qui expliqué par la nature des composés présente dans la plante.

La flore végétale constitue une biodiversité des espèces médicinales dont chacune représente un réservoir important de métabolites secondaires, qui sont exploités par les chercheurs pour effectuer leurs études pharmacologiques, médicinales ainsi alimentaire.

L'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement dans le monde grâce aux molécules intéressantes pour la thérapie ou la synthèse de nouvelles substances.

On propose comme perspectives

- Identifier des substances bioactives naturelles qui sont capable de répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Trouver des médicaments à base des plantes, doués d'une activité antioxydante.
- Réaliser des études approfondies et complémentaires des composés polyphénoliques qui présentent une activité antioxydante ainsi antibactérienne.

Enfin, une culture des plantes médicinales et alimentaires permettre à la population d'avoir des médicaments et des denrées alimentaires moins chers et d'éviter la disparition de certaines espèces intéressantes.

Références bibliographiques

A

AL-HASHIMI, Alaa G. Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus sabdariffa L. extracts. Food Science and Biotechnology Department, Agriculture College, Basrah University, Iraq. *African Journal of Food Science*, 15 November, 2012, vol.6(21), p. 506-511.

AIRA Rezaire. Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse : Antilles-Guyane, 2012.

AIT BAZIZ Hanane. *Evaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antimicrobienne del'extrait méthanolique d'une plante médicinale locale.* Mémoire master : Pharmacologie Moléculaire. Béjaia : Faculté des Sciences de la Nature et de la vie. 20 Juin 2017, p. 10-11-12.

ACHAT Sabiha. Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse : Université de Bejaia, 2013.

B

BAHAELDEEN Babiker Mohamed., et al. Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) in Sudan, Cultivation and Their Uses. National Centre for Research (NCR), Dept. Of Crop Production and Biodiversity, Khartoum, Sudan. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, May 2012, vol.1, p. 48-59 (Online ISSN 2277 – 1808).

BOUCHOUKA, Elmouloud. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse : Université de Laghouat, 2016.

BELYAGHOUBI NEE BENHAMMOU, Nabila. Activité antioxydante des extraits des composées phénoliques de dix plantes m'édicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse : Université de Aboubakr Belaid Tlemcen, 2012.

BENNAMARA Fatima Zahra. *STRESS OXYDANT ET PATHOLOGIES HUMAINES.* Thèse doctorat. Rabat : Faculté de Médecine et de pharmacie, 2017, p 6-35.

BOUBEKRI Cherifa. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse : Université Mohamed Khider Biskra, 2014.

BENABBOU Taha Ahmed. *Antibiorésistance des bactéries lactiques isolées de produits artisanaux algériens.* Mémoire : Ecosystèmes Microbiens Complexes. Oran : Faculté des Sciences, 04 Juillet 2012.

BENBRINIS Soumia. *Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus.* Magister : Biochimie. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2012.

BENCHIHA Walid. *Phyto-écologie et étude biochimique des composants phénoliques (traitement in vivo contre hépatite) de Rhamnus alaternus L. des monts de Tessala Wilaya de Sidi Bel Abbès.* Thèse de doctorat : Ecologie végétale et Environnement. Sidi Bel Abbès : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2016.

C

CARANGE Julie. *ROLE ANTIOXYDANT ET ANTI-APOPTOTIQUE DES BRASSINOSTEROIDES, UNE NOUVELLE STRATEGIE DE NEUROPROTECTION ?* Mémoire : Biophysique et Biologie Cellulaire. Québec : Université du Québec à trois-rivières, Septembre 2010, p 14-17.

D

DJENIDI Habiba. *ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ANTIRADICALAIRE DES ALIMENTS D'ORIGINE VEGETALE CONSOMMES DANS LES REGIONS DE KISKRA ET SETIF.* Thèse doctorat : Biochimie. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 01 Décembre 2019, p 9-19.

DONATIEN Koné. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude

de leur activité antioxydante. Thèse : Université de Paul Verlaine Metz -UPV M (France), 2009.

E

ENDRIAS, Abraham. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à *Hibiscus sabdariffa* L. et à *Artemisia annua*. Thèse de doctorat : Science des Procédés, Sciences des Agro-ressources. Toulouse : Institut National Polytechniques, 2006, p. 41-50.

F

François Muanda Nsemi. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse : Université de Paul Verlaine Metz -UPV M (France), 2010.

G

GRABSSI Wissem. *Etude phytochimique et évaluation des activités anti-oxydantes et anti-bactériennes des espèces : Hibiscus sabdariffa* L. et *Lepidium sativum* L. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master II : Métabolisme secondaire et molécules bioactives. Constantine : Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 2016, p 1-97.

GHOUMRANI Latifa et al. *L'effet du stress oxydant sur le système immunitaire.* Mémoire Master II : Biologie Moléculaire et Cellulaire/ Immunologie Approfondie. Guelma : Faculté Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et l'Univers, Juin 2014, p 1- 24.

H

HOCINE Farah Meriemet al. *EVALUATION DE L'EXPOSITOPN AU PLOMB ET CADMIUM ET IMPACT SUR QUELQUES PARAMETRES DU STATUT OXYDANT/ANTIOXYDANT CHEZ LES OUVRIERS EXPOSES AUX FUMÉES DE SOUDAGE.* Mémoire fin d'étude : Toxicologie Industrielle et Environnementale. Tlemcen : Faculté des Sciences de la Nature, Vie, Terre et Univers. 04 Juillet 2017, p 10-13.

I

ISMAIL, Amin, et al. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Seeds Nutritional Composition, Protein Quality and Health Benefits. . Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Medicine and Health Sciences. Universiti Putra Malaysia, 43400 Serdang Selangor. *Global scienc books* 2008, p. 1-16.

K

KESSOUM Samia. *Activité antioxydante des polyphénols d'Artemisia herba alba.* Master II : Sciences Biologiques de l'Environnement. Bejaia : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2014, p 6-7.

L

LARABA Meriem., et al. Etude in vitro de l'activité antioxydant des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Thèse : Université des Frères Mentouri Constantine, 2016.

M

MADY, Cisse., et al. Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): Composition et principales utilisations, *Fruits*, 2009, vol. 64, p. 179–193.

MANSAR Lina Norhane. *Contribution à l'étude de l'effet oxydant par le sulfate de fer et le tétrachlorure de carbone et l'effet protecteur et antioxydant d'un extrait végétal butanolique et de la vitamine E.* Mémoire Master : Toxicologie et santé. Constantine : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 07 Juillet 2017, p 3-14.

M.PAUL Battraud. La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? Thèse de doctorat : Pharmacie. Lille : Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, 01 Mars 2017.

L

LEPENGUE Alexis Nicaise., et al. Interférence de l'acide auxinique dans la croissance de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. Laboratoire de Physiologie végétale, Université de Abobo-Adjamé, Côte d'Ivoire, 2011, vol. 11, N°2, p. 1-9 (ISSN 2071 – 7024).

R

RAHALI Ouerdia. *ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ANTIBACTERIENNE DES POLYPHENOLS DES GRAINS DE FENOUIL SAUVAGE.* Mémoire Master : Chimie Pharmaceutique. TIZI-OUZOU : Faculté des Sciences, p 6-12.

S

SUMAN Das. IN VITRO EVALUATION OF PHYTOCHEMICAL, ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CALYCES OF ROSELLE (HIBISCUS SABDARIFFA L.). India. *International journal of pharmaceutical sciences and research.* Publier : 01 aout 2014, vol. 5(8), p. 1-6 (ISSN : 0975-8232).

V

V. H. Shruthi., et al. ROSELLE (HIBISCUS SABDARIFFA L.) AS A SOURCE OF NATURAL COLOUR, 2016, vol 16, N°2, p. 515-522 (ISSN 0972-5210).

Z

ZEGHAD Nadia. Etude des contenus polyphénoliques de deux plantes m'édicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et evaluation de leur activité antibactérienne. Thèse : université Mentouri. Constantine, 2009.

ZERARGUI Fatima. *Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives.* Thèse de doctorat : BIOCHIMIE. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2015, p 5-17.

Résumé :

Hibiscus sabdariffa est une plante herbacée qui appartient à la famille des Malvacées cultivée dans diverses zones dans le monde. Cette plante est composée de plusieurs parties calices, fleurs, feuilles et graines où chaque partie présente plusieurs propriétés. Ces parties sont exploitées dans l'alimentation sous forme d'infusion « bissap », confiture ou boissons, mais surtout dans la médecine traditionnelle comme un antiseptique, antihypertenseur et maintien un bon niveau de cholestérol et de triglycérides. Les calices d'*Hibiscus sabdariffa* contiennent une concentration élevée en anthocyanes la delphinidine 3-sambubioside et la cyanidine 3-sambubioside qui sont majoritaires, les acides organiques, minéraux et acides aminés et la vitamine C présentent dans les feuilles et les fleurs, les graines présente des protéines (25%), lipides (20 %) et sucres totaux (40 %). En effet, cette plante est connue par sa richesse en composés phénoliques qui assure une activité antioxydante et la capacité d'éliminer les radicaux libres et diminué le stress oxydant dans l'organisme, l'extrait d'*Hibiscus sabdariffa* présent aussi une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et d'autres bactéries avec divers degré d'inhibition sur la bactérie testée.

Mots clé : *Hibiscus sabdariffa*, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract:

Hibiscus sabdariffa is an herbaceous plant that belongs to the Malvaceae family cultivated in various areas of the world. This plant is composed of several parts calyxes, flowers, leaves and seeds where each part has several properties. These parts used in food as an infusion "bissap", jam or drink, but especially in traditional medicine as an antiseptic, antihypertensive and maintains a good level of cholesterol and triglycerides. The calyxes of *Hibiscus sabdariffa* contain a high concentration of anthocyanins Delphinine 3-sambubioside and cyaniding 3-sambubioside, which are the majority, organic acids, minerals and amino acids and vitamin C present in the leaves, and flowers, the seeds present a protein (25%), lipids (20%) and total sugars (40%). In fact, this plant known for its richness in phenolic compounds, which provides antioxidant activity and the ability to eliminate free radicals and reduce oxidative stress in the body, the extract of *Hibiscus sabdariffa* also has antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and other bacteria with varying degrees of inhibition on the bacteria tested.

Key words: *Hibiscus sabdariffa*, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص:

الكرديية هي نبتة عشبية تنتمي الى عائلة Malvaceae، والتي تزرع في مناطق مختلفة حول العالم. هذه النبتة تتكون من عدة أجزاء ككأس الزهرة، الأوراق، البذور والازهار حيث لكل جزء عدة مميزات. تستخدم هذه الأجزاء في عدة مجالات كمجال الغذائي مثل منقوع الكرديية، مربى او مشروبات وتستخدم أيضا بشكل خاص في الطب التقليدي كمطهر وخافض لضغط الدم، تحافظ أيضا على مستوى جيد من الكوليسترول والدهون الثلاثية. تحتوي كؤوس الكرديية على تركيز عالٍ من الأنتوسيانين مثل Delphinidine 3-sambubioside و-cyanidine 3-sambubioside. الأحماض العضوية والمعادن والاحماض الامينية والفيتامين سي تتواجد بكثرة في الاوراق والازهار، والبذور تتكون من (25%) من البروتينات، (20%) دهون، (40%) سكريات كلية. في الواقع، يُعرف هذا النبات بغناه بالمركبات الفينولية التي توفر نشاطاً مضاداً للأكسدة والقدرة على القضاء على الجذور الحرة وتقليل الإجهاد التأكسدي في الجسم، كما أن مستخلص الكرديية له نشاط مضاد للبكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* بدرجات متفاوتة من تثبيط البكتيريا المختبرية.

كلمات مفتاحية: *Hibiscus sabdariffa*، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا