



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Analyse phytochimique des extraits éthanoliques de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) et évaluation de toxicité aiguë par voie orale chez des rats Wistar

Jean-Michel Kouassi AKPO¹, Maxime Machioud SANGARE-OUMAR^{1*},
Isabelle Teniola SACRAMENTO¹, Abdoulaye Zibrila ISSOTINA¹,
Félix Fanou GUINNIN¹ et Alban HOUNGBEME²

¹Université d'Abomey-Calavi (UAC), Département de Physiologie Animale, Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie Expérimentale, 06 BP 2584 Cotonou, Bénin.

²Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelle (IREMPT); Laboratoire National de Pharmacognosie de à Porto-Novo (Bénin), 01 BP 06 Oganlo, Porto-Novo.

*Auteur correspondant ; E-mail: sangoumarfr@yahoo.fr; 063 BP 3481 Cotonou, Bénin ;
Tel (00229) 97988756

Received: 04-09-2023

Accepted: 17-11-2023

Published: 31-12-2023

RESUME

Les populations du centre et du Septentrion du Bénin utilisent les feuilles, les calices et les graines de la variété blanche *Hibiscus sabdariffa* L. dans l'alimentaire et en pharmacopée pour la prévenir et le traiter diverses maladies. Ce travail visait d'une part à déterminer la composition en métabolites secondaires de ces trois organes sus-mentionnés et d'autre part, à évaluer la toxicité aiguë de leurs extraits. A cet effet une analyse phytochimique basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation a été effectué afin d'identifier quelques composés chimiques qu'ils contiennent. La toxicité aiguë des extraits des organes a été testée par observation durant 14 jours après gavage par une dose unique de 5000 mg/kg pv à des rats Wistar contre des témoins. Les tests phytochimiques révèlent la présence des tanins galliques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leuco-anthocyanes, des mucilages, des composés réducteurs, des anthracéniques combinés dans les trois organes. En ce qui concerne la toxicité, les extraits des trois organes de la plante n'ont pas provoqué de variations significatives des taux d'urée, de l'uricémie des bilirubines, l'Aspartate Aminotransférase (ASAT), l'Alanine Aminotransférase (ASAT) et la Phosphatase Alcaline (PAL) chez rats Wistar ($p > 0,05$).

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : *Hibiscus sabdariffa* L., variété blanche, screening phytochimique, toxicité aiguë.

Phytochemical analysis of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) ethanolic extracts and evaluation of acute oral toxicity in Wistar rats

ABSTRACT

The populations of central and northern Benin use the leaves, chalice and seeds of the white variety *Hibiscus sabdariffa* L. in food and in pharmacopoeia in the prevention and treatment of various diseases. This work aimed on the one hand to determine the composition in secondary metabolites of

these three above-mentioned organs and on the other hand, to evaluate the acute toxicity of their extracts. To this end, phytochemical analysis based on coloring and/or precipitation reactions was carried out in order to identify some chemical compounds they contain. The acute toxicity of the organ extracts was tested by observation for 14 days after gavage with a single dose of 5000 mg/kg bw in Wistar rats against controls. Phytochemical tests reveal the presence of gallic tannins, flavonoids, anthocyanins, leuco-anthocyanins, mucilages, reducing compounds, anthracenics combined in the three organs. With regard to toxicity, the extracts of the three plant organs did not cause significant variations in the levels of urea, uricemia, bilirubins, Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) in Wistar rats ($p > 0.05$).

© 2023 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa* L., white variety, Phytochemical screening, acute toxicity.

INTRODUCTION

Assimilées de nos jours grâce à la classification phylogénétique, comme étant de patrimoine biologique commune aux animaux, les plantes constituent des éléments essentiels à la survie des humains (Grésillon et al., 2023). Elles produisent des substances naturelles très diversifiées allant des métabolites primaires au métabolites secondaires qui constituent des sources importantes de molécules utilisées en pharmacologie (Marouf et Joël, 2007; Benkhiguel et al., 2014). Conscient de ce fait, l'homme dans son environnement, a accordé un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (Muthu et al., 2006).

Au Bénin, la médecine traditionnelle a toujours occupé une place importante dans les traditions de médication. Selon les investigations de l'OMS (2013), 70% de la population béninoise majoritairement analphabète recourt à la médecine traditionnelle. Parmi les plantes dont font usages les peuples béninois, figure *Hibiscus sabdariffa* L. En général, deux variétés de cette plante sont cultivées au Bénin. Il s'agit de la variété rouge majoritairement cultivée au Sud et la variété blanche (vert) plus cultivée au Centre et au Nord (Alassi et al., 2017). La variété rouge est essentiellement cultivée pour ses calices qui servent à la préparation de jus de communément appelé "bissap". La variété

blanche quant à elle, est principalement utilisée dans la préparation de mets locaux et en pharmacopée (Alassi et al., 2017). Les précédentes investigations ont révélé que les populations du centre et du Septentrion du Bénin utilisent les feuilles les calices et les graines de la variété blanche dans l'alimentaire et en pharmacopée pour prévenir et traiter diverses maladies (Akpo et al., 2022).

Pour des populations souvent peu informées des questions de santé, en absence de législation stricte et de contrôle de l'efficacité des plantes, le recourt à celles-ci, apparait comme une solution facile, naturelle et " sûre " (Kpètèhoto et al., 2017). Cependant, l'usage de la plupart des plantes à certaines doses peut s'avérer toxique (Souad et al., 2006). C'est fort de cela que la présente étude est initiée afin d'évaluer la toxicité de trois organes de plante.

MATERIEL ET METHODES

Cadre d'étude

Les travaux relatifs à la toxicité ont été réalisés dans le Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie Expérimentale de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC). L'étude phytochimique quant à elle a été faite au sein du Laboratoire National de Pharmacognosie de l'Institut de Recherche et d'Expérimentation en Médecine et Pharmacopée Traditionnelle (IREMPT) à Porto-Novo (Bénin).

Matériel

Deux types de matériels ont été utilisés dans ce travail. Il s'agit du matériel biologique et du matériel technique.

Matériel Biologique

Matériel animal

Des rats de souche wistar (192g - 215g) ont été utilisés dans cette étude. Ces animaux ont été élevés dans l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie et de Physiologie Expérimentale de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey Calavi (UAC). Les animaux ont été élevés dans une pièce maintenue dans des conditions environnementales contrôlées de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ et de 12 heures de cycle d'obscurité et ont librement accès à de l'eau dans des biberons. Ils sont soumis à un régime alimentaire standard constitué de granulés.

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude était constitué de calices, feuilles et graines de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L. Ces organes d'*Hibiscus sabdariffa* L. ont été récoltés sur des plantes cultivées dans le jardin du Laboratoire de Physiologie et Pharmacologie Expérimentale de l'Université d'Abomey-Calavi.

Matériel technique

Le matériel technique (le matériel d'extraction, de screening phytochimique et de toxicité) comprenait des appareils (balance de précision 0,01 SR-400C (electronic compact scale), spectrophotomètre de marque Genova, un moulin broyeur, évaporateur rotatif, agitateurs Vortex, d'une étuve de marque inclutherm prolabo, d'une centrifugeuse, automate de biochimie de marque Mindray BS 200, automate d'hématologie de marque ERBA_CHEM7), de la verrerie (micropipettes, pipettes graduées, tubes de prélèvement sanguin), des réactifs et solvants (acide chlorhydrique dilué à 5%, réactif de Mayer, ammoniac à 50%, d'éther chloroformique, sulfate sodique anhydre, eau distillée, chlorure ferrique, réactif de Stiasny, acétate sodique, d'alcool chlorhydrique, poudre de magnésium, HCl, alcool éthylique et absolu, d'acétate de plomb, phosphate sodique, acide acétique, acide sulfurique, anhydride acétique, acide

picrique, réactif de Fehling, isopropanol, réactif de Baljet, réactif de Kedde, réactif de Raymond-Marthoud, réactif de Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium, chlorure d'aluminium, méthanol) et des consommables (plats en porcelaine, flacons stériles, une sonde gastrique, du papier Whatman N° 1, pipettes pasteur, tubes EDTA, tubes secs, coton blanc, une spatule en acier).

Méthodes

Préparation des poudres des organes d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Les calices, feuilles et graines d'*Hibiscus sabdariffa* L. récoltés ont été lavés à l'eau de robinet et séchés à température du laboratoire (25°C) pendant deux semaines. Les organes déshydratés obtenus ont ensuite été réduits en poudre l'aide d'un moulin broyeur. Une partie des poudres a été utilisée pour le screening phytochimique et le dosage des composés polyphénoliques et l'autre partie a servi à la préparation des extraits éthanoliques.

Tri phytochimique des organes d'*Hibiscus sabdariffa* L. et dosage de quelques composés bioactifs

Tri phytochimique des organes de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Le screening phytochimique est basé sur les réactions (coloration et précipitation) différentielles des principaux groupes de composés chimiques contenus dans les calices feuilles et graines de la plante selon la méthode classique de Houghton et Raman (1998) et qui est largement utilisée dans la littérature avec succès (Houngbeme et al., 2014). Le Tableau 1 ci-dessous présente les réactifs et réactions spécifiques des composés chimiques recherchés.

Dosage de quelques grands groupes chimiques

Dosage des phénols totaux

25 μL d'échantillon à 1 mg/ml ont été prélevés et dissouts dans 625 μL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après incubation pendant 5 min, 500 μL de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 75 mg/mL ont été ajoutés. L'ensemble a été mélangé au vortex puis incubé pendant 2 heures à l'obscurité. La lecture de l'absorbance a été faite au spectrophotomètre de marque

Genova, à 760 nm (Maiga et al., 2020). Les concentrations des polyphénols ont été déduites à partir de gammes d'étalonnages établies avec l'acide gallique (0-10mg/ml) et sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique (AG) par gramme d'extrait sec (Kim et al., 2003 ; Maiga et al., 2020) selon l'expression :

$$T(\text{mg} \text{éq} \text{AG} / \text{g}) = \frac{C \cdot V_r}{V_p \cdot C_p}$$

T = Teneur des composés ; C = Concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage Vr = Volume réactionnel ; Vp = Volume d'extrait prélevé ; Cp = Concentration de la solution de l'extrait prélevé.

Dosage des Flavonoïdes

A 500 µL d'une solution d'AlCl₃ (2%) ont été ajoutés 500 µL de chaque échantillon. A ce mélange, a été ajouté 3 mL de méthanol et l'ensemble a été incubé pendant 10min. La lecture des densités optiques a été faite au spectrophotomètre à 415 nm contre un blanc constitué de 500 µL d'AlCl₃ et de 3.5 mL de méthanol. La quercétine (Q) a été utilisée comme témoin et fut préparée à la concentration de 10 mg/mL de méthanol (Kim et al., 2003).

Les teneurs des flavonoïdes ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (quercétine) et ont été exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec (Kim et al., 2003 ; Maiga et al., 2020) selon l'expression :

$$T(\text{mg} \text{éq} \text{Q} / \text{g}) = \frac{C \cdot V_r}{V_p \cdot C_p}$$

T = Teneur des composées ; C = Concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage Vr = Volume réactionnel ; Vp = Volume d'extrait prélevé ; Cp = Concentration de la solution d'extrait prélevée.

➤ Dosage des Tanins condensés

500 µL de chaque extrait ont été prélevés auxquels ont été ajouté : 1,5 mL de la solution de la vanilline (4%) préparée dans du méthanol, 1,5 mL de l'acide chlorhydrique concentré et 2 mL de méthanol. La solution de vanilline a été préparée en dissolvant 4 g de vanilline dans 100 mL de méthanol et celle de la catéchine a été préparée à partir de 20 mg de catéchine dans 4 mL de méthanol (Heimler et al., 2006). Le mélange a été incubé durant 15min et l'absorbance a été lue à 500 nm. La

droite de calibration a été établie avec la catéchine (0-500 µg/mL).

Les teneurs des tanins ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (catéchine) et ont été exprimées en µg d'équivalent de catéchine (CAT) par milligramme d'extrait sec (Kim et al., 2003 ; Maiga et al., 2020) selon l'expression :

$$T(\mu\text{g} \text{éq} \text{CAT} / \text{mg}) = \frac{C \cdot V_r}{V_p \cdot C_p}$$

T = Teneur des composées ; C = Concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage Vr = Volume réactionnel ; Vp = Volume d'extrait prélevé ; Cp = Concentration de la solution d'extrait prélevée.

Toxicité aiguë des extraits des organes d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Préparation des extraits des organes

Pour l'obtention des extraits éthanoliques des poudres de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L., 100 g de la poudre de chaque organe ont été pesés à l'aide d'une balance de précision et ajoutés à 1 L d'éthanol, l'ensemble est porté à macération. Les macérats sont filtrés après 24 h et les filtrats obtenus sont récupérés dans des plats en porcelaine puis mis à l'étuve à 35°C pour évaporation et séchage. Après séchage complet au bout de 72 h, les extraits secs accolés au fond des plats ont été raclés à l'aide d'une spatule en inox. Les extraits obtenus ont été conservés au réfrigérateur dans des flacons en verre, stériles et hermétiquement fermés.

Evaluation de la toxicité aiguë

L'essai de toxicité a été mené suivant la méthode de « l'ajustement des doses » de la ligne 425 de l'OCDE (OCDE, 2008) et a consisté à tester les extraits des organes de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L. à la dose unique de 5000 mg/kg de pv. Les tests ont été réalisés sur un total de 16 rats femelles de souche Wistar âgés de 12 semaines et indemnes de toute affection. Après un jeûne de 24 h, les animaux ont été répartis au hasard en quatre (04) lots de quatre (04). Un lot témoin T ayant reçu par administration d'eau distillée à raison de 10 ml/kg. Trois groupes expérimentaux dénommés EECHS, EEFHS et EEGHS à qui il a été administré par gavage respectivement les extraits éthanoliques de calices d'*Hibiscus sabdariffa* L. (EECHS), les extraits éthanoliques de feuilles d'*Hibiscus sabdariffa*

L. et extraits éthanoliques de graines d'*Hibiscus sabdariffa* L.

L'administration des substances a été faite par voie orale grâce à une sonde gastrique en acier au volume de 1 ml pour 100 g de poids corporel. Le comportement des animaux a été observé de même que le nombre de décès sur une période de 14 jours. D'abord l'observation comportementale continue a été réalisée au cours des quatre (04) premières heures après l'administration des substances. Après ce temps, une hydratation et une alimentation ont été effectuées. Ensuite, une observation de façon quotidienne pendant 14 jours a été faite. Les signes de toxicité observés sont notamment la modification du pelage, la motilité, les tremblements, le toilettage, la respiration, la sensibilité au bruit après un choc métallique, l'aspect des selles (diarrhées).

Le poids corporel est aussi un facteur non négligeable dans l'appréciation de la santé d'un animal. Sa diminution constitue souvent la première manifestation d'un effet néfaste des substances administrées. Afin d'évaluer la variation pondérale, les animaux ont subi 3 pesées respectivement aux J₀ (le jour de l'administration), J₇ et J₁₄. Le poids corporel a été mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et les variations par rapport au premier jour ont été exprimées en pourcentage (%) selon la formule suivante (Mrabti, 2018) :

$$\text{Variation du poids corporel (\%)} = \frac{(PJ - PJ_0)}{PJ_0} \times 100$$

PJ₀ : poids corporel au 1er jour ;

PJ : poids corporel au jour J.

Prélèvement sanguin

A l'issue des 14 jours d'observation, des prélèvements sanguins ont été réalisés par

ponction du plexus retro-orbitaire dans des tubes secs et des tubes contenant un anticoagulant (EDTA). Les échantillons de sang recueillis dans les tubes secs ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min à 4°C et les plasmas résultant des animaux ont été utilisés pour des tests biochimiques de contrôle de toxicité (Acide urique, Transaminases (ASAT et ALAT), Urée, Créatinine, phosphatase alcaline (PAL), bilirubines (totale et conjuguée)). Ceux des tubes à anticoagulant, ont quant à eux servi à la réalisation des tests hématologiques (La Numération Formule Sanguine (NFS) : les taux de globules rouges, de globules blancs, de volume globulaire moyen, de plaquettes sanguines, d'hémoglobine et d'hématocrite, Teneur Corpusculaire Moyen en hémoglobine ; Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; VMP : Volume plaquettaire moyen).

Après les prélèvements sanguins, deux animaux de chaque lot ont été sacrifiés et leurs reins et foies ont été prélevés puis pesés. Ces organes ont été ensuite conservés dans du formol 10%.

Analyse statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. Les différences entre les moyennes ont été déterminées par une analyse de variance unidirectionnelle suivie d'un post-test de Tukey à l'aide du logiciel Minitab version 14.1. La valeur de p < 0,05 était considérée comme significative dans toutes les expériences.

Tableau 1 : Réactions caractéristiques des tests phytochimiques.

Groupes chimiques	Réactifs	Réaction
Polyphénols	Tanins galliques	Test au chlorure ferrique (FeCl ₃)
	Flavonoïdes	Réaction à la cyanidine
	Anthocyanes	Test à l'acide chlorhydrique 5% + ammoniac 50%
	Leuco-Anthocyanes	Test à l'alcool chlorhydrique
		Teinte bleue ou noire
		Coloration orangée, rouge ou violette
		Coloration rouge virant bleu-violacé ou verdâtre
		Coloration rouge cerise ou violacée

Mucilage		Test à l'alcool absolu	Précipités floconneux
Composés réducteurs		Liqueur de Fehling	Précipité rouge brique
Anthracéniques combinés	C-Hétérosides	Test FeCl ₃ à 10% + ammoniaque dilué à 50%	Une coloration rouge plus ou moins intense
	O-Hétérosides	Test au FeCl ₃ à 10% + chloroforme	Coloration rouge plus ou moins intense
Hétérosides cardiotoniques		Réactif de Baljet + KOH	Coloration orange
		Réactif de Kedde + KOH	Coloration rouge-violacée
		Réactif de Raymond-Marthoud + KOH	Coloration violet fugace
Saponoside		Indice de mousse (IM) et degré de dilution des extraits	Test positif lorsque IM supérieur à 100.
Triterpénoïdes et stéroïdes	Triterpènes	Libermann-Burchard (AnhydrideAcétique-H ₂ SO ₄)	Anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert
	Stéroïdes	Test alcoolique d'acide dinitrobenzoïque + d'hydroxyde de sodium à 1N	Coloration rouge pourpre ou rouge au vin
Alcaloïdes		Test au réactif de Mayer	Précipité jaune ou louche
Coumarines		Test à l'ammoniaque à 25%	Fluorescence intense

RESULTATS

Criblage phytochimique

Les résultats du screening phytochimique révèlent que les feuilles et les calices contiennent neuf (09) des quatorze 14 composés chimiques recherchés alors que les graines en contiennent huit (08) comme l'indique le Tableau 2. Les trois organes contiennent, des tanins galliques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des mucilages, des composés réducteurs, des anthracéniques combinés (hétérosides C et O). En plus de ces composés, les calices et les feuilles contiennent des stéroïdes alors que les graines n'en contiennent pas. Les saponosides, les alcaloïdes, les triterpènes, les coumarines et les hétérosides cardiotoniques sont absents dans les trois organes utilisés.

Dosage des grands groupes chimiques

Dosage des phénols totaux des trois organes

Les concentrations des phénols totaux ont été déduites à partir des gammes d'étalonnages établies avec l'acide gallique (0-

10mg/ml). Elles sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique (AG) par gramme d'extrait sec (mméqAG/g) comme présenté par la Figure 1. Les extraits des feuilles avec une valeur de $3,6 \pm 0,07$ mméqAG /g, présentent une teneur relativement plus élevée que ceux des calices et des graines qui contiennent respectivement $1,45 \pm 0,14$ mméqAG /g et $1,15 \pm 0,04$ mméqAG /g.

Dosage des Flavonoïdes

Les teneurs des flavonoïdes des différents organes d'*Hibiscus sabdariffa L.* ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (quercétine) et sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine (Q) par gramme d'extrait sec (mméqQ/g) comme l'indique la Figure 2. Il ressort que des extraits des trois organes, ceux des feuilles avec une valeur de $44,54 \pm 0,50$ mméqQ/g présentent la teneur la plus élevée en flavonoïdes. Suivent les extraits des calices avec une teneur estimée à $30,07 \pm 0,22$ mméqQ/g et en dernière position les extraits des graines avec valeur de $12,27 \pm 0,02$ mméqQ/g possèdent la teneur la plus faible.

Dosage des tanins des trois organes

Les teneurs des tanins ont été calculées à partir de la droite de régression du standard (catéchine) et sont exprimées en μg d'équivalent de catéchine (CAT) par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g}\text{éqCAT}/\text{mg}$) comme l'indique les Figures 5 et 6. Les teneurs en Tannins galliques des extraits des feuilles et des calices, avec comme valeurs respectives $1,89 \pm 0,00 \mu\text{g}\text{éqCAT}/\text{mg}$ et $1,56 \pm 0,05 \mu\text{g}\text{éqCAT}/\text{mg}$ sont relativement plus élevées que celle des graines ($1,09 \pm 0,03 \mu\text{g}\text{éqCAT}/\text{mg}$).

Toxicité Aigüe des organes d'*Hibiscus sabdariffa* L.

L'observation comportementale continue au cours des 4 premières heures après l'administration de la dose unique de 5000 mg /kg pv des extraits éthanoliques des calices (EECHS), feuilles (EEFHS) et graines (EEGHS) n'a révélé aucun signe de toxicité. La mobilité, de la sensibilité au bruit métallique, l'aspect du pelage l'aspect des selles et l'appétit des rats des groupes tests étaient similaires aux observations faites au niveau du groupe témoin. Aucune mort n'a été enregistrée au cours des 14 jours d'observation.

Effet des extraits des différents organes d'*Hibiscus sabdariffa* L. sur la variation du poids des rats

De façon générale comme le présente le Tableau 3, un gain de poids s'observe aussi bien au niveau du groupe témoin que ceux ayant reçu la dose unique de 5000 mg/kg de pv des extraits des trois organes d'*Hibiscus sabdariffa* L. après les deux semaines d'observation. Le gain de poids est plus élevé chez les rats témoins que chez les rats traités. Entre les animaux ayant reçu l'administration des extraits, le gain de poids est plus prononcé ($1,53 \pm 0,46\%$) au niveau du groupe ayant reçu l'EEGHS que chez ceux ayant reçu les deux autres extraits à savoir les EECHS ($0,64 \pm 0,14\%$) et EEFHS ($0,50 \pm 0,29\%$). Il faut aussi remarquer qu'une perte de poids s'observe chez les animaux ayant reçu la dose unique de 5000 mg/kg de pv des extraits des trois organes

d'*Hibiscus sabdariffa* L. au cours des 7 premiers jours après l'administration contrairement aux rats témoins chez qui s'observe un gain de poids.

Effet des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L. sur les paramètres biochimiques des rats Wistar

Les taux d'urée, d'acide urique (uricémie) et de créatinine sont des paramètres biochimiques renseignant sur l'état des reins chez les animaux. Les valeurs usuelles de ces paramètres chez les rats sont : Urée (6-23 mg/dl) ; Créatinine (5-15 mg/l) ; Uricémie (Mâle 30-70 mg/l ; Femelle 25-60 mg/l). Des résultats présentés dans le Tableau 4, il ressort que de façon générale, les valeurs des marqueurs rénaux sont dans les normes au niveau de tous les groupes animaux. On n'observe aucune différence statistique entre les différents groupes d'animaux ($p > 0,05$) en ce qui concerne les taux d'urée et l'uricémie chez tous les groupes d'animaux. Par contre en ce qui concerne la créatinine, s'observe une augmentation significative ($P < 0,05$) entre les taux des animaux traités avec les extraits des trois organes de la plante (Feuilles, graines et calices) et celui des témoins.

Les taux de bilirubine Conjuguée et Totale (BC et BT), Aspartate Aminotransférase (ASAT), Alanine Aminotransférase (ASAT) et de Phosphatase Alcaline (PAL) sont des marqueurs renseignant sur le fonctionnement du foie. Les valeurs usuelles chez les rats Wistar sont : Bilirubine Totale (3-10 mg/L) ; Bilirubine Conjuguée (1-3 mg/mL) ; ASAT (0-40 UI /L) ; ALAT (10-45 UI/L) ; PAL (30-125 mg/L). Des résultats issus du dosage de ces paramètres consignés dans le Tableau 5, il ressort que les marqueurs hépatiques de tous les groupes de rats (témoins et tests) impliqués dans l'étude sont restés dans les normes à l'issue des 14 jours d'observation. Les valeurs observées chez les groupes de rats ayant reçu les doses uniques de 5000 mg/kg de pv des extraits des trois organes ne sont pas statistiquement différentes de celles observées chez les rats témoins ($p > 0,05$).

Effet des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L. sur les paramètres hématologiques des rats Wistar

Le Tableau 6 présente l'effet des extraits des trois organes (calices, feuilles et graines) sur les paramètres hématologiques des groupes de rats. Il en ressort que les extraits éthanoliques des trois organes (EECHS, EEFHS et EEGHS) à la dose unique de 5000 g/kg.pv, n'entraînent pas de variation significative par rapport au groupe témoin ($P > 0,05$) au niveau 6 (GR, Hb, Hte, TMCH, CCMH et VMP) des 8 paramètres hématologiques mesurés. Par contre, les

extraits ont provoqué une augmentation significative ($P < 0,05$) du nombre de globules blanc (GB) et du nombre de plaquettes sanguines (PLA) au niveau des groupes de rats ayant reçu les extraits par rapport au groupe témoin.

Effet des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L. sur le poids des organes des animaux

L'analyse des poids des organes (Foie et reins) prélevés indique tel qu'indiqué dans le Tableau 7, qu'il n'y a pas de variation significative du poids des deux organes entre les groupes de rats traités avec les extraits d'*H. sabdariffa* L. et le groupe témoin.

Tableau 2 : Composition chimique d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Groupes chimiques		Organes		
		Calices	Feuilles	Graines
Polyphénols	Tanins galliques	+	+	+
	Flavonoïdes	+	+	+
	Anthocyanes	+	+	+
	Leuco- Anthocyanes	+	+	+
Mucilage		+	+	+
Composés réducteurs		+	+	+
Anthracéniques combinés	C-Hétérosides	+	+	+
	O-Hétérosides	+	+	+
Saponoside		-	-	-
Triterpénoïdes stéroïdes	et Triterpènes	-	-	-
	Stéroïdes	+	+	-
Alcaloïdes		-	-	-
Coumarines		-	-	-
Hétérosides cardiotoniques		-	-	-

(-) Absent ; (+) présent

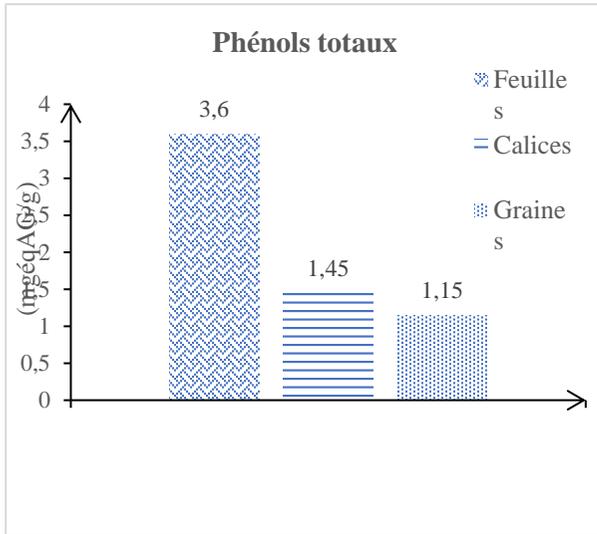


Figure 1 : Teneur en phénols totaux des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L.

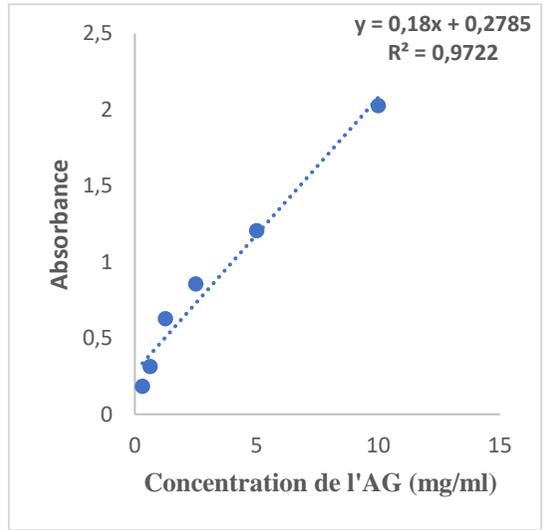


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique.

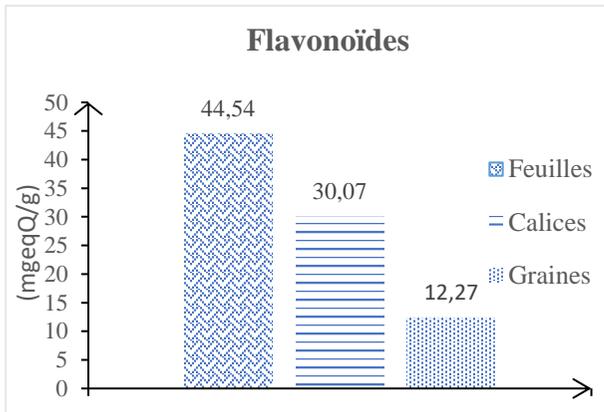


Figure 3 : Teneur en flavonoïdes des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L.

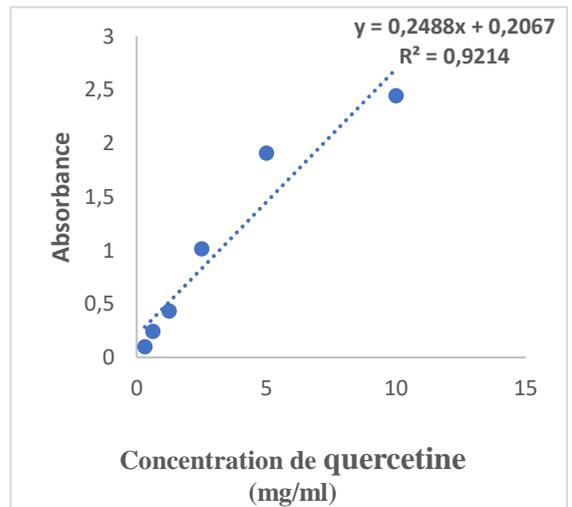


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

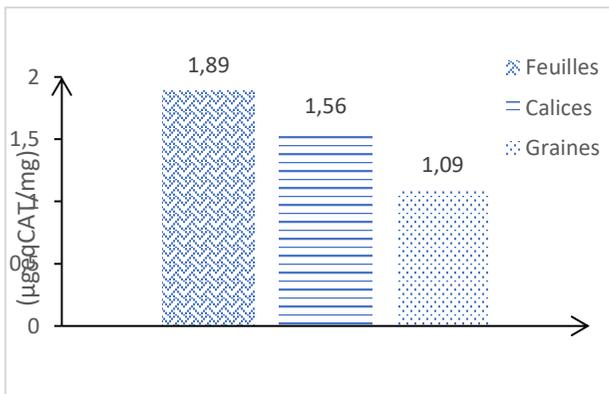


Figure 5 : Teneur en tanins des extraits éthanoliques d'*Hibiscus sabdariffa* L.

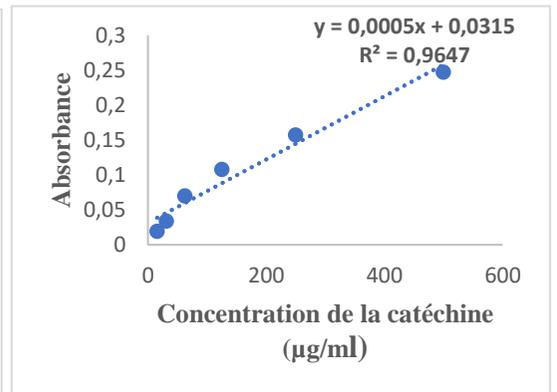


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Tableau 3 : Variation du poids corporel.

	J0	J7	J14		
Lots	Poids Moyen (g)	Poids moyen (g)	Gain/Perte de poids (%)	Poids moyen (g)	Gain de poids (%)
T	189,64±14,25	192,87±14,22	1,71 ±0,38	197,27± 14,47	4,03± 0,53
EEFHS	195,75± 12,99	195,15± 13,07	-0,30 ± 0,45	196,72 ±12,78	0,51 ± 0,29
EEGHS	166 ±17,26	165,82±17,39	-0,11 ± 0,18	168,5±16,85	1,53 ± 0,46
EECHS	179±12,90	178,55 ±12,73	-0,24 ± 0,25	180,15±13,05	0,64 ± 0,14

T : Témoin ; EEFHS : Extrait éthanoliques des Feuilles d'*Hibiscus sabdariffa* L. ; EEGHS : Extrait éthanoliques des graines d'*Hibiscus sabdariffa* L. ; EECHS : Extrait éthanoliques des Calices d'*Hibiscus sabdariffa* L.

Tableau 4 : Variation des paramètres rénaux.

Paramètres	Témoin	EEFHS	EEGHS	EECHS
Urée (g/l)	0,42 ± 0,09 ^a	0,38 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,11 ^a	0,43 ± 0,11 ^a
Créatinine (mg/l)	6,26 ± 0,57 ^a	8,05 ± 0,67 ^b	7,91 ± 0,63 ^b	8,02 ± 0,73 ^b
Uricémie (mg/l)	68,37 ± 2,97 ^a	65,69 ± 3,66 ^a	64,28 ± 1,49 ^a	64,6 ± 1,83 ^a

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même ligne qui ne présentent pas une différence significative (P > 0,05).

Tableau 5 : Variation des paramètres hépatiques.

Paramètres	Témoin	EEFHS	EEGHS	EECHS
ASAT/GOT	18,83 ± 4,98 ^a	21,37 ± 8,22 ^a	18,98 ± 2,84 ^a	20,06 ± 6,16 ^a
ALAT/GPT	35,93 ± 0,29 ^a	35,94 ± 9,78 ^a	37,81 ± 28,38 ^a	36,96 ± 2,4 ^a
PAL	32,94 ± 2,94 ^a	30,75 ± 3,0 ^a	35,28 ± 3,01 ^a	33,05 ± 2,69 ^a
Bilirubine C.	0,68 ± 0,16 ^a	1,42 ± 0,37 ^a	1,33 ± 0,34 ^a	1,22 ± 0,17 ^a
Bilirubine T.	2,00 ± 0,69 ^a	2,72 ± 0,25 ^a	1,82 ± 0,43 ^a	1,87 ± 0,59 ^a

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même ligne qui ne présentent pas une différence significative (P > 0,05).

Bilirubine C. : Bilirubine Conjugué ; Bilirubine T. : Bilirubine Totale ; ASAT : Aspartate Aminotransférase ; ALAT : Alanine Aminotransférase ; PAL : Phosphatase Alcaline.

Tableau 6 : Variation des paramètres hématologiques.

Paramètres	Témoin	EEFHS	EEGHS	EECHS
GR (x10⁶/mm³)	7,30 ± 0,62 ^a	6,97 ±0,32 ^a	6,90±0,13 ^a	6,93±0,37 ^a
PLA (x10³/mm³)	525,75 ± 84,27 ^a	625 ± 19,61 ^d	539 ±28,31 ^b	597,77 ± 43,48 ^c
GB (x10³/mm³)	6,47 ± 2,61 ^a	9,05 ± 0,51 ^b	9,925 ±1,80 ^b	9,00 ± 1,11 ^b
Hb (g/dl)	13,72 ± 1,32 ^a	14,28 ± 0,27 ^a	14,7 ± 0,18 ^a	13,95 ± 0,35 ^a
Hte (%)	39,25 ± 5,01 ^a	39,62±0,84 ^a	40,87 ± 1,84 ^a	41,10 ± 1,94 ^a
TCMH (pg/GR)	18,62 ± 0,57 ^a	19 ± 0,71 ^a	21,35 ± 0,46 ^a	20,35 ± 1,26 ^a
CCMH (g/dl)	35,55± 1,65 ^a	35,92 ± 0,27 ^a	36,15 ± 1,52 ^a	33,67 ± 2,10 ^a
VMP (fl)	8,35 ± 0,34 ^a	8,75 ± 3,12 ^a	8,25 ± 0,28 ^a	8 ± 0,55 ^a

Les données sont exprimées en moyennes ; (±) : Ecart type.

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même ligne qui ne présentent pas une différence significative (P > 0,05).

GR : Globules Rouges (x10⁶/mm³) ; PLA : Plaquettes sanguines (x10³/mm³) ; GB : Globules blancs (x10³/mm³) ; Hb : Hémoglobine (g/dl) ; Hte : Hématocrite (%) ; TCMH : Teneur Corpusculaire Moyenne en hémoglobine (pg/GR) ; CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (g/dl) ; VMP : Volume plaquettaire moyen (femtolitre (fl)).

Tableau 7 : Effet des extraits d'*hibiscus sabdariffa* L sur le foie et les reins des rats.

groupes	Poids des organes en (g)	
	Foie	Reins
Témoin	8,85 ± 0,5 ^a	0,78 ± 0,02 ^a
EECHS	7,99 ± 0,02 ^a	0,75 ± 0,02 ^a
EEFHS	8,19 ± 0,16 ^a	0,77 ± 0,08 ^a
EEGHS	8,5 ± 1,27 ^a	0,74 ± 0,06 ^a

Les données sont exprimées en moyennes ; (±) : Ecart type.

Une même lettre est affectée aux valeurs de la même colonne qui ne présentent pas une différence significative (P > 0,05).

DISCUSSION

Les plantes constituent une source importante de molécules bioactives dont font partie les métabolites secondaires (Haddouchi et al., 2014). La recherche de ces composés chimiques contribue à la justification du pouvoir thérapeutiques attribués aux plantes. Dans cette étude, le screening phytochimique chimique a révélé que les calices, les feuille et les graines d'*Hibiscus sabdariffa* L. contiennent, des tanins galliques, des flavonoïdes, des anthocyanes, des leucoanthocyanes, des mucilages, des composés réducteurs, des anthracéniques combinés (hétérosides C et O). En plus de ces composés, les calices et les feuilles contiennent des stéroïdes alors que les graines n'en contiennent pas. Exceptés les saponosides absents dans les organes analysés dans cette étude, tous ces composés à ont été également retrouvés dans les fleurs de la variété rouge de la plante par (Tangara, 2013 ; Souley Kallo et al., 2018 ; Hagr et Adam, 2020). Plusieurs facteurs pourraient expliquer cette différence observée au niveau des compositions des organes dans cette étude et celle de ces auteurs. En effet, les conditions environnementales, le type de sol, le climat et l'âge des plantes lors du prélèvement des organes ainsi que les facteurs génétiques pourraient influencer sur les teneurs en métabolites secondaires des plantes (Naczka et Shahidi, 2006 ; Mrabti, 2018). La présence de ces composés bioactifs dans les différents organes de la plante pourrait expliquer leur utilisation traditionnelle dans le traitement/prévention de nombreuses maladies telles que l'anémie, le paludisme, l'hypertension, le diabète de type 2, la faiblesse sexuelle, l'obésité, l'asthénie, les

maladies microbiennes, l'agalactie et la diarrhée (Akpo et al., 2022). Plusieurs études ont montré les effets des composés phytochimiques dans le traitement de nombreuses maladies. Ainsi, les composés réducteurs sont dotés de pouvoir antidiabétique, les flavonoïdes capables de réduire l'hypertension artérielle (Gazola et al., 2004), les tanins connus par leur propriété tensioactive, antibactériennes et antivirales et en fin les hétérosides cardiotoniques préconisées dans certaines insuffisances cardiaques (Macheix et al., 2005).

Le dosage des polyphénols dans les trois organes, indique que les feuilles et les calices d'*H. sabdariffa* L. ont des taux plus élevés en flavonoïdes, tanins totaux et phénols totaux que les graines de la plante. Cette inégale répartition de ces composés dans les organes pourrait s'expliquer par le fait que les feuilles et les calices sont exposés au soleil que les graines se trouvant dans des enveloppes protectrices (Evenamede et al., 2017). En effet, il a été montré que les polyphénols assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire (Gehin et al., 2006). Ainsi plus un organe est exposé au soleil, plus il est susceptible de produire des polyphénols.

Les teneurs des feuilles d'*Hibiscus sabdariffa* L. en flavonoïdes, phénols totaux et tanins, observées dans cette étude sont inférieures à celles de Tsado et al. (2019) au Niger. En effet ces auteurs ont observé des teneurs de 67,47 ± 3,87 mméqQ/g ; 121,54 ± 5,67 mméqAG /g et 51,90 ± 3,89 µgéqCAT/mg respectivement pour les flavonoïdes, les phénols totaux et les tanins

dans les feuilles d'*H. sabdariffa* L. Par contre, les valeurs enregistrées au niveau des calices dans cette étude sont plus élevées que les 2,41 mméqQ/g, 0,07 mméqAG/g et 0,17 µgéqCAT/mg révélées par les observations de Alaga et al. (2014) au Nigéria. Les facteurs édaphiques, génétiques, climatiques, géographiques et le stade de maturité sont entre des paramètres qui pourraient expliquer ces différences de teneur en composés chimiques des plantes (Merouane et al., 2014 ; El Hazzat et al., 2015 ; Evenamede et al., 2017).

Au cours des 4 heures ayant suivi l'administration des extraits, aucun signe physique de toxicité (à savoir la baisse de la sensibilité au stimulus (douleur et bruit), la diminution de la mobilité ou le ramollissement des fèces etc.) n'a été relevé chez les animaux. En outre, les extraits éthanoliques des trois organes d'*Hibiscus sabdariffa* L. administrés par voie orale à la dose 5000 mg/kg de pv aux rats n'a entraîné aucun décès. Les mêmes observations ont été faites avec les extraits aqueux de la plante par Sireeratawong et al. (2013). Cela indique que les extraits des trois organes ont une DL 50 supérieure à 5000 mg/kg de pv.

Les extraits des calices, feuilles et graines d'*Hibiscus sabdariffa* L. ont provoqué au cours des 7 premiers jours, une perte de poids chez les rats et un gain de poids inférieur à celui des témoins après les 14 jours d'observation. La perte de poids observée est très inférieure à 10% au niveau des groupes tests. Cela indique que les extraits des trois organes de la plante n'ont pas un effet néfaste sur les animaux. En effet, une dose qui entraîne la perte de 10% ou plus du poids corporel, est considérée comme toxique (OCDE, 2008). Cette perte de poids observée serait donc liée à l'activité de la plante dans la réduction du gras dans l'organisme. Des travaux ont montré que les extraits des feuilles et des fleurs d'*H. sabdariffa* L. sont efficaces dans la réduction du taux sanguin du cholestérol LDL et des triglycérides chez les rats (Tseng et al., 1997 ; Chen et al., 2005). Par ailleurs, la diminution pondérale constatée pourrait provenir de la réduction de l'ingestion alimentaire que provoqueraient les extraits de la plante. En

effet, l'incorporation de la poudre des graines d'*H. sabdariffa* L. s'est avérée réduisant l'indice de consommation alimentaire et la croissance pondérale chez les animaux (Ouedraogo et al., 2016). Les gains de poids observés à la fin des 14 jours pourraient expliquer la réversibilité des effets des extraits sur la croissance pondérale après un certain délai.

L'administration des extraits des calices, des feuilles et des graines à la dose de 5000 mg/kg de pv aux rats n'a pas provoqué de modifications significatives sur les taux d'urée et d'acide urique (uricémie) des animaux traités en comparaison avec le groupe témoin. Par contre une augmentation significative s'observe au niveau du taux de la créatinémie des animaux traités par rapport au taux des animaux témoins. La perte de poids des animaux traité avec les extraits des organes de la plante pourrait expliquer cette augmentation de la créatinine. En effet la déshydratation de la créatine dans les cellules lors de la perte de poids, produit dans le sang de la créatinine (Nutr et al., 2008).

Les analyses sanguines ont également montré que parmi les paramètres hépatiques dosés, les valeurs observées chez les groupes de rats ayant reçu les doses uniques de 5000 mg/kg de pv des extraits éthanoliques des trois organes (Calices, Feuilles et graines) d'*H. sabdariffa* L. ne sont pas statistiquement différentes de celles observées chez les rats témoins. Ces résultats concordent avec ceux de Sireeratawong et al. (2013). Ces auteurs ont montré que les extraits aqueux des calices d'*H. sabdariffa* L. à la dose de 5000 mg/kg de pv n'a entraîné aucune modification significative entre les groupes de rats traité et ceux témoins. Le système hématopoïétique fait partie des indicateurs de la toxicité. Les molécules bioactives d'une substance thérapeutique peuvent entraîner la lyse des cellules sanguines provoquant ainsi l'anémie (Gandhare et al., 2013). Il s'avère donc nécessaire d'effectuer des analyses homologues afin de vérifier l'innocuité d'une plante sur ce système avant son utilisation. Les analyses ont montré que la dose unique de 5000 mg/kg de pv, n'entraînent pas de variation significative ($P > 0,05$) sur le nombre de globule rouges, le taux

d'hémoglobine, l'hématocrite, la Teneur Corpusculaire Moyenne en hémoglobine, Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine et le volume plaquettaire moyen en comparaison avec le groupe témoin. Ces résultats indiquent que les extraits des trois organes de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L. à la dose administrée n'altèrent pas les cellules du système hématopoïétique. En outre, les extraits ont provoqué une augmentation significative ($P < 0,05$) du nombre de globules blancs (GB) et le nombre de plaquettes sanguines (PLA) au niveau des groupes de rats ayant reçu les extraits par rapport au groupe témoin. Dans l'organisme les globules blancs sont responsables de la lutte contre les infections par des corps étrangers. Les plaquettes sanguines quant à elles, interviennent non seulement dans la lutte contre les hémorragies mais aussi protègent l'endothélium vasculaire contre les lésions générées par les radicaux libres (Guyton et Hall, 2006). L'augmentation des nombres de globules blancs et du nombre de plaquettes sanguines provoquée par les extraits des différents organes de la plante indique qu'elle serait un bon immunostimulant et un bon antioxydant. Le pouvoir immunostimulant de la plante justifierait son usage dans la lutte contre le cancer. Ainsi Khaghani et al. (2011) ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux d'*Hibiscus sabdariffa* L. dans la réduction des cellules cancéreuses du sein. Cette activité anticancéreuse de la plante serait liée à sa teneur en polyphénols (anthocyanes et flavonoïdes). En effet, des études ont montré que les polyphénols (Fimognari et al., 2008 ; Liu et al., 2010) ; les anthocyanes (Fujiki, 2005; Wang et al., 2008) et les flavonoïdes (Clément, 2009) sont des composés intervenant dans la lutte contre le cancer. L'activité antioxydant de la plante quant à elle serait liée aux composés anthocyaniques qui sont dotés d'activités antioxydantes importantes (Sarni-Manchad et Chevrier, 2006).

La mesure du poids des foies et des reins des animaux indique qu'il n'y a pas de différence statistique pour les deux organes des groupes de rats traités avec les extraits d'*H. sabdariffa* L. et ceux du groupe témoin. Cela montre que les extraits de la plante à la dose administrée n'affectent pas les organes des

animaux. Ces résultats sont similaires à ceux de Tazoho et al. (2022). Ces auteurs ont montré que l'administration de jus d'*Hibiscus sabdariffa* L. à des rats n'a provoqué aucune variation significative du poids des reins et du foie des animaux traités en comparaison aux animaux témoins.

Conclusion

La variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L. consommées dans le Centre et le Septentrion du Bénin pour prévenir ou traiter des maladies, est assez riche en métabolites secondaires avec les feuilles et les calices plus riches en composés polyphénoliques que les graines. Les extraits des trois organes administrés à la dose de 5000 mg/kg de pv par voie orale ne provoquent pas de signes de toxicité au niveau des marqueurs plasmatiques des fonctions rénales et hépatiques. De même, ils n'altèrent pas le tissu sanguin. Il serait judicieux de se servir de l'innocuité des extraits des trois organes de la plante à la dose testée dans la réalisation d'études de contrôle d'efficacité dans le traitement de quelques affections pour lesquelles elle est utilisée par les populations.

CONFLITS D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas de conflit d'intérêts en relation avec le présent article.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Tous les auteurs ont participé à la réalisation de ce travail et à la préparation du manuscrit.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire National de Pharmacognosie sise à Porto-Novo pour la mise à disposition de son matériel pour la réalisation de ce travail.

REFERENCES

Akpo KJM, Guinnin FF, Sangare-Oumar MM, Abdoulaye Zibrila Issotina AZ, Senou M. 2022. Recherche des vertus thérapeutiques de la variété blanche d'*Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) une plante alimentaire chez les populations du centre et du septentrion au Bénin. *Afrique*

- Science*, **20**(6) : 72–87. DOI : <http://www.afriquescience.net>
- Alaga TO, Edema MO, Atayese AO, Bankole MO. 2014. Phytochemical and in vitro anti-bacteria properties of *Hibiscus sabdariffa* L. (roselle) juice. *Academic Journals.*, **8**(6) : 339-344. DOI: <http://dx.doi.org/10.587/JMPR12.1139>
- Alassi CA, Ewédjè EBK, Adomou AC. 2017. Diversité variétale et caractérisation agromorphologique des variétés locales de *Hibiscus sabdariffa* (bissap) au sud et au centre du Bénin : potentiel de valorisation. *Bulletin de la Recherche Agronomique Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)*, **229**: 46-65. <http://www.slire.net> & <http://www.inrab.org>
- Benkhigui O, Ben Akka F, Salhi S, Fadli M, Douira A, Zidane L. 2014. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Houaz-Rhamna (Maroc). *Journal of Animal & Plant Sciences*, **23**(1): 3539-3568. <http://www.m.elewa.org/JAPS>
- Chen CHC, Chou FP, Ho YC, Lin WL. 2005. Inhibitory effects of *Hibiscus sabdariffa* L. extract on low density lipoprotein oxidation and anti-hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed-rats. *J. Sei. Food. Agri.*, **15**(84) : 1989-1996. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1872>.
- Clement Y. 2009. Can Green Tea Do That? A Literature Re-view of the Clinical Evidence. *Preventive Medicine*, **49**(2-3) : 83-87. DOI : <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.yjmed.2009.05.005>
- El Hazzat N, Iraqi R, Bouseta A. 2015. Identification par GC-MS et GC-FID-O des composés volatils des olives vertes de la variété « Picholine marocaine » : effet de l'origine géographique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(4): 2219-2233. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i4.40>
- Evenamedé KS, Kpegba K, Simalou O, Boyodé P, Agbonon A, Gbeassor M, 2017. Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanologiques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **11**(6): 2924-2935. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i6.29>
- Fimognari C, Lenzi M, Hrelia P. 2008. Chemoprevention of Cancer by Isothiocyanates and Anthocyanins: Mechanisms of Action and Structure-Activity Relationship. *Current Medicinal Chemistry*, **15**(5): 440-447. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/092986708783503168>
- Fujiki H. 2005. Green Tea: Health Benefits as Cancer Preventive for Humans. *Chemical Record*, **5**(3): 119-132. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/tcr.20039>
- Gandhare B, Kavimani S, Rajkapoor B. 2013. Acute and Subacute Toxicity Study of Methanolic Extract of *Ceiba pentandra* (Linn.) Gaertn. on Rats. *J. Sci. Res.*, **5**(2): 315-324. DOI: <https://doi.org/10.3329/jsr.v5i2.11800>
- Gazola R, Machado D, Ruggiero C, Singi G, Macedo Alexandre M. 2004. *Lippia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. *Pharmacol Res.*, **50**(5): 477-480. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2004.01.012>
- Gehin A, Guyon C, Nicod L. 2006. Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **22**: 27-34. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2005.11.003>.
- Grésillon E, Bouteau F., Chartier D., Laurenti P. 2023 : Nos sœurs les plantes, une pensée interdisciplinaire pour aborder le vivant en terme de parenté. *Nature Sciences Société.*, **30**(3-4) : 278-289. DOI: <https://doi.org/10.1051/nss/2023003>
- Guyton A C, HALL JE. 2006. *Textbook of Medical Physiology* (11th Edn). Elsevier Saunders, USA; 1152p. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-5451-1.00089-x>
- Haddouchi F, Chaouche TM, Ksouri R, Medini F, Sekkal FZ, Benmansour A. 2014. Antioxidant activity profiling by

- spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **12**(6): 415-422. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(14\)60065-0](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(14)60065-0)
- Hagr TE, Adam IA. 2020. Phytochemical analysis, antibacterial and antioxidant activities of essential oil from *Hibiscus sabdariffa* seeds (Sudan Karkadi). *Progress in Chemical and Biochemical Research.*, **3**(3). 194-201. DOI: 10.33945/SAMI/PCBR.2020.3.2
- Houngbeme AG, Gandonou C, Yehouenou B, Kpoviessi SDS, Sohounhloue D, Moudachirou M and Gbaguidi FA. 2014. Phytochemical analysis, toxicity and antibacterial activity of Benin medicinal plants extracts used in the treatment of sexually transmitted infections associated with HIV-AIDS. *Int J Pharm Sci Res.*, **5**(5): 1739-1745. DOI: [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(5\).1739-45](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(5).1739-45)
- Houghton PJ, Raman A. 1998. *A Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. Chapman et Hall: London; 199p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5809-5>
- Khaghani S, Razi F, Yajloo MM, Paknejad M, Shariftabrasi A, Pasalar P. 2011. Selective cytotoxicity and apoptogenic activity of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract against MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Cancer Therapy*, **2**: 394-400. DOI: <https://doi.org/10.4236/jct.2001.23054>
- Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **51**(22): 6509-6515. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0343074>
- Kpètèhoto WH, Hessou S, Dougnon VT, Johnson RC, Boni G, Houéto EE, Assogba F, Pognon E, Loko F, Boko M, Gbénou J. 2017. Étude ethnobotanique, phytochimique et écotoxicologique de *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) à Cotonou. *Journal of Applied Biosciences.*, **109**: 10609-10617. DOI: <https://doi.org/10.4314/jab.v109i1.5>
- Liu HL, Jiang WB, Xie MX. 2010. Flavonoids: Re-cent Advances as Anticancer Drugs. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, **5**(2): 152-164. DOI: <https://doi.org/10.2174/157489210790936261>
- Macheix JJ, Fleuriot A, Jay-Allemand C. 2005. *Les Composés Phénoliques des Végétaux : un Exemple de Métabolites Secondaires d'Importance Economique*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR) : Lausanne, Suisse ; 216p.
- Maiga A, Houngnimassoun HMA, Attindehou S, Houinato M, Salifou S. 2020. Effet vermicide in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* L. 1753 sur *Haemonchus contortus* et *Oesophagostomum colombianum* parasites gastro-intestinaux des petits ruminants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **43**(3): 7501-7512. DOI: <https://doi.org/10.35759/JANmPISci.v43-3.6>
- Marouf A, Joël R. 2007. *La botanique de A à Z*. Edition Dunod : Paris ; p 66-82.
- Merouane A, Noui A, Medjahed H, Nedjari B, Ali K, Saadi A. 2014. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **8**(4): 1865-1870. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45>
- Mrabti NH. 2018. Etude pharmacologique toxicologique de l'*Arbutus unedo* L. Au Maroc. Thèse de Doctorat. Université Mohamed V Maroc, 158p.
- Muthu C, Ayyanar M, Raja N, Ignacimuthu S, 2006. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **2**: 4269-4310. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-43>
- Nacz M, Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J.*

- Pharm. Biomed. Anal.*, **41**: 1523–1542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>
- Nutr JCB, Saeed MK, Deng Y, Dai R. 2008. Attenuation of Biochemical Parameters in Streptozotocin-induced Diabetic Rats by Oral Administration of Extracts and Fractions of *Cephalotaxus sinensis*. *J. Clin Biochem Nutr.*, **42**(1): 21–28. DOI: <https://doi.org/10.3164/jcfn.2008004>
- OCDE. 2008. *Pharmacopée Européenne* (6eme édition), Tome 1. OCDE; 178-568.
- Ouedraogo B, Bayala B, Zoundi JS, Sawadogo L. 2016. Effet de l'incorporation de graines d'*Hibiscus Sabdariffa* (Oseille de Guinée) dans l'alimentation sur quelques paramètres d'ingestion et de croissance du poulet en aviculture traditionnelle améliorée au Burkina Faso. *Agronomie Africaine.*, **27** (3) : 269 – 283.
- Sarni-Manchad P, Cheyner V. 2006. *Les Polyphénols en Agroalimentaire*. Éd Tec & Doc., Coll. Sci. & Techn. Agroaliment., Lavoisier: Paris; 398 p.
- Sireeratawong S, Itharat A, Khonsung P, Lertprasertsuke N, Jaijoy K. 2013. Toxicity studies of the water extract from the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, **10**(4): 122-127. DOI: <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i4.20>
- Souad S, Jean-Marc D, Gilles P, Rachida S. 2006. Botanicus et Phytotox : base de données de toxicologie végétale. Intérêt en toxicologie d'urgence et en phytovigilance. *Phytothérapie*, **61**(2): 5 p. DOI : <https://doi.org/10.2515/therapie:2006023>
- Souley Kallo M., Adamou R., Sawadogo J., Ayouba Mahamane A., Maman Maarouhi I, Ikhiri K. 2018. Enquête ethnobotanique et criblage phytochimique de quelques plantes tinctoriales du Niger en vue d'une valorisation en énergie solaire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **12**(2): 867-883. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i2.20>
- Tangara S. 2013. Essais sur un médicament traditionnel amélioré à base de calices d'*Hibiscus sabdariffa* utilisé contre l'Hypertension artérielle : Formulation et dénomination commerciale. Thèse de Doctorat, Université des sciences techniques et des technologies de Bamako (Mali), p.101.
- Tazoho GM, Agbor EE, Gouado I. 2022. Survey on roselle juice (*Hibiscus sabdariffa* L.) preparation in the West Region of Cameroon: An evaluation of the effect of different formulations of this juice on some biological properties in rats. *Journal of Agriculture and Food Research*, **8**(2022): 100292. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100292>
- Tsado AN, Onukogu SC, Suleiman AMA, Osuigwe EC, Dannana LW, Alawode RA, Lawal B, Berinyuy BE. 2019. Phytochemicals, hypoglycemic and hypolipidemic effects of methanol leaf extract of *Hibiscus sabdariffa* in alloxan induced diabetic rats. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, **8**(3): 70–78. DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.8.3.01170>
- Tseng TH, Kao ES, Chu CY, Chou FP, Wu L, Wang CJ. 1997. Protective effects of dried flowers extract of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hypertension. *Food and Chem. Toxicology*, **35**(12): 1159-1164. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(97\)85468-3](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(97)85468-3)
- Wang LS, Stoner GD. 2008. Anthocyanins and Their Role in Cancer Prevention. *Cancer Letters.*, **269**(2): 281-290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.05.020>