



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie
Laboratoire de recherche des produits naturels

MEMOIRE

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie

Option : Biochimie

Thème

Dosage des composés phénoliques, capacité antioxydante totale et mesure du piégeage du radical ABTS d'un extrait de *Caralluma europaea* (Guss.)

Présenté par

ATROUS Rihab Chaimaa

Soutenu le 08/07/2021, devant le jury composé de :

Président	Dr CHAOUICHE Tarik Med	Maître de conférences classe A	Université de Tlemcen
Examineur	Dr MEZOUAR Dounia	Maître de conférences classe B	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr CHAOUICHE Farah	Maître de conférences classe A	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à dieux qui m'a donné la force, la patience, le courage et la volonté d'achever cette réalisation.

Je souhaite avant tout remercier mon encadreur madame **CHAOUCH Farah**, pour le temps qu'elle a consacré à m'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche, et pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je remercie également **Dr CHAUCHE Tarik** maître de conférences classe A, qui m'avais fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire, et **Dr Mezouar Dounia** maître de conférences classe B, d'avoir acceptée d'être examinatrice de mon travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs du département de biologie qui par leurs conseils et leurs critiques ont nous avoir transmis leur savoir et parfois même leur savoir faire.

Je remercie également la doctorante Guellai Imene pour m'avoir accordé des informations et avoir répondu à mes questions sur ce travail. Sans oublier mes amies et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral.

Je remercie mes très chers parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Dédicace

A mes chers **parents**, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A ma chère sœur **Marwa** pour ces encouragements permanents, et son soutien moral.

A mon cher frère, **Fares** pour son appui et son encouragement.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A mon fiancé qui m'a toujours soutenu et compris et qui m'a toujours aidé.

A toutes mes copines **Kaouter, Chaimaa, Rania** et tous mes collègues.

A tous ceux qui me sont chers.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Résumé :

Caralluma europaea est une plante médicinale qui présente différentes activités biologiques. Le présent travail permet l'estimation des teneurs en composés phénoliques d'un extrait de cette plante, et l'évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro*, par deux méthodes différentes.

L'extraction est faite par macération au mélange méthanol/acétone (50/50 : v/v). Le rendement de cette extraction est de 10.88 %. L'analyse quantitative de l'extrait par des dosages colorimétriques a révélé une richesse de *C. europaea* en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins avec des valeurs de $2.60 \pm 0,15$ mg EAG/g MS, $1,20 \pm 0,18$ mg EC/g MS et $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS, respectivement.

L'activité antioxydante par la méthode de la capacité antioxydante totale indique que l'extrait de notre plante présente une activité antioxydante, en se référant au standard (acide ascorbique), de 13.03 ± 0.58 mg EAA/ g MS. Le test à l'ABTS ressort que cet extrait a une activité antioxydante avec une valeur de CI_{50} de 6.20 ± 0.29 mg/ml. Cependant, cette activité reste inférieure comparée à celle du Trolox.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait *Caralluma europaea*, préparé au mélange méthanol/ acétone, est une source de composés phénoliques à activité antioxydante modérée.

Mots clés : *Caralluma europaea*, polyphénol totaux, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, ABTS, CI_{50} , capacité antioxydante totale.

Abstract :

. *Caralluma europaea* is a medicinal plant which presents different biological activities. The present work allows the estimation of the phenolic compounds contents of an extract of this plant, and the evaluation of the antioxidant activity, in vitro, by two different methods.

The extraction is done by maceration in methanol/acetone mixture (50/50 : v/v). The yield of this extraction is 10.88%. The quantitative analysis of the extract by colorimetric assays revealed a richness of *C. europaea* in total polyphenols, flavonoids and tannins with values of 2.60 ± 0.15 mg EAG/g DM, 1.20 ± 0.18 mg EC/ g DM and 1.23 ± 0.25 mg EC/ g DM, respectively.

The antioxidant activity by the total antioxidant capacity method indicates that our plant extract has an antioxidant activity, referring to the standard (ascorbic acid), of 13.03 ± 0.58 mg EAA/ g DM. The ABTS test shows that this extract has an antioxidant activity with an IC₅₀ value of 6.20 ± 0.29 mg/ml. However, this activity remains lower compared to that of Trolox.

The results obtained show that the *Caralluma europaea* extract, prepared in methanol/acetone mixture, is a source of phenolic compounds with moderate antioxidant activity.

Keywords: *Caralluma europaea*, total polyphenol, flavonoids, tannins, antioxidant activity, ABTS, IC₅₀, total antioxidant capacity

الملخص

Caralluma europaea إنه نبات طبي يعرض أنشطة بيولوجية مختلفة. يسمح العمل الحالي بتقدير مستويات المركبات الفينولية في مستخلص هذا النبات ، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر بطريقتين مختلفتين.

يتم الاستخراج عن طريق النقع في خليط (50/50) ميثانول / أسيتون.

المردود من هذا الاستخراج هو 10،88 بالمئة .

كشفت التحليل الكمي للمستخلص عن طريق المقاييس اللونية عن ثراء هذه النبتة بإجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص بقيم و2،60±15،0 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ المادة الجافة و 1،20±18،0 و 1،23±25،0 مغ مكافئ الكاتيشين / غ المادة الجافة على التوالي.)

يشير النشاط المضاد للأكسدة من خلال طريقة السعة الكلية لمضادات الأكسدة إلى أن مستخلص نباتنا يُظهر نشاطاً مضاداً للأكسدة ، في إشارة إلى المعيار (حمض الأسكوربيك) ، يقدر ب 13،03 ± 58،0 مغ مكافئ حمض الاسكوربيك / غ المادة الجافة .

يُظهر اختبار ABTS أن هذا المستخلص له نشاط مضاد للأكسدة بقيم تبلغ IC50 الى 6،20 ± 29،0 مغ/مل.

ومع ذلك، لا يزال هذا النشاط أقل من نشاط TROLOX.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها مستخلص *Caralluma europaea* , المحضر بالميثانول و الاسيتون هو مصدر للمركبات الفينولية ذات الفعالية المضادة للأكسدة المعتدلة.

الكلمات المفتاحية : إجمالي البوليفينول ، الفلافونويد ، التانينات ، النشاط المضاد للأكسدة ، إجمالي القدرة المضادة للأكسدة
.Caralluma europaea , ABTS ,IC 50

Listes des figures

Figure 1: Tiges de <i>Caralluma europea</i>	6
Figure 2: Fleur sur une tige de <i>Caralluma</i>	6
Figure 3 : Fleurs en grappes près de l'apex de la tige (trois formes variables)	6
Figure 4: Acides hydroxybenzoïques	12
Figure 5: Acides hydroxycinnamiques.....	12
Figure 6 : Structure des stilbènes	13
Figure 7: Structure de base des flavonoïdes.....	14
Figure 8 : Principales classes de flavonoïdes	14
Figure 9: Structure des tanins hydrolysables.	16
Figure 10: Exemple de structure d'un tanin condensé	17
Figure 11: Structure des tanins complexes (acutissimine A)	17
Figure 12: Principaux alcools aromatiques, constituants des lignines	18
Photo 13: Le mélange poudre de la plante et solvants (acétone/ méthanol)	29
Photo 14 : Filtration du mélange après 24 heures de macération.....	29
Photo 15: Evaporation de l'extrait sous pression réduite	29
Photo 16: Aspect de l'extrait sec après évaporation.....	30
Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux .	35
Figure 18: : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoides.....	36
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.	37
Figure 20: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante totale.	38
Figure 21: Courbe des pourcentages d'ihinibition de l'ABTS par l'extrait de <i>C. europaea</i> ..	39
Figure 22 : Courbe des pourcentages d'ihinibition de l'ABTS par le Trolox.....	39

Liste des tableaux

Tableau 1: Les rendements et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les extraits de *Caralluma europa*e. 37

Tableau 2: Les activités antioxydantes des extraits méthanolique de *caralluma europa*e et des standards par les différentes méthodes..... 40

Liste de figures

Liste des tableaux

Introduction

Synthèse bibliographique

Chapitre I : La plante *Caralluma europaea*

1 Généralité sur la plante :	5
1.1. Description botanique :	5
1.2. Classification :	7
1.3. Répartition géographique	7
1.4. Composition chimique :	8
1.5. Activités biologiques de <i>Caralluma europaea</i> :	8

Chapitre II: Les métabolites secondaires

1. Généralité :	10
2. Biosynthèse :	11
2. 1. La voie de l'acide shikimique	11
2. 2. La voie de l'acide acétique.....	11
3. Composition chimique et classification :	11
3.1. Les non- flavonoïdes :	12
3.1.1. Acides hydroxybenzoïques.....	12
3.1.2. Acides hydroxycinnamiques	12
3.1.3. Stilbènes	12
3.2. Les flavonoïdes :	13
3.3. Les phénols condensés (complexe) :	15
3.3.1. Les tanins :	15
3.3.1.1 Les tanins hydrolysables :	15
3.3.1.2 Les tanins condensés	16

3.3.2. Lignines :.....	18
3.4. Propriétés physico-chimique et extraction :	18
3.5. Le rôle physiologique:.....	19

Chapitre III: L'activité antioxydante

1. Radicaux libres et stress oxydatif :.....	21
2. Les antioxydants :	21
2.1. Les antioxydants primaires, radicalaires ou vrais (enzymatiques) :.....	22
2.2. Les antioxydants secondaires ou préventifs (non enzymatique) :.....	22
3. Détermination d'activité antioxydante.....	22
3.1. La méthode du piégeage du radical ABTS.....	23
3.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :	23
3.3. La méthode de DPPH •.....	23

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériels	26
1. 1. Matériel végétatif :.....	26
I. 2. Produits chimiques et matériel utilisé:.....	26
2. Méthodes :	28
2.1. Préparation de l'extrait du <i>caralluma europaea</i>	28
2.2. Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits	30
2.2.1. Polyphénols totaux	30
2.2.2. Flavonoïdes totaux	31
2.2.3. Tanins condensés :	31
2.3. Estimation des activités biologiques, <i>in vitro</i>	32
2.3.1. Détermination de l'activité antioxydante	32
2.3.1.1 Capacité antioxydante totale (CAT) :.....	32
2.3.1.2 Piégeage du radical ABTS ^{o+}	32
2.4. Analyses statistiques	33

Résultats et interprétation

1. Résultats.....	25
1.1. Rendement en extrait de <i>Caralluma europae</i> :.....	25
1.2. Résultats de l'étude quantitative.....	35
1.2.1. Dosage des polyphénols totaux	35
1.2.2. Dosage des flavonoïdes	36
1.2.3. Dosage des tanins condensés	36
1.3. Evaluation de l'activité antioxydante	38
1.3. 1. La capacité antioxydante totale (CAT)	38
1.3. 2. Test de l'ABTS	38
Discussion.....	42
Conclusion.....	45
Références bibliographiques	47

Introduction

L'homme a d'abord utilisé les plantes uniquement pour sa nourriture. Quand il a du faire face à des problèmes de dysfonctionnement organique et de maladies, il a encore fait appel aux plantes en lui conférant un rôle plus précis et sont ainsi devenues remèdes. Ensuite, les scientifiques ont confirmés que la plante contient des composés naturels bioactifs qui sont des composants très importants, qui lui confère son caractère médicinal (**Fuinel, 2002**), et ses applications thérapeutiques dans le maintien de la bonne santé ainsi que dans la gestion de diverses maladies (**Grover et al., 2002**).

Il est estimé qu'environ 80 % de la population des pays du monde utilise des médicaments à base de plantes (**Yang et al., 2019**). Récemment, l'attention s'est portée sur les plantes et les herbes comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant. Ce dernier, dû à l'accumulation de radicaux libres (**Mata et al., 2007**), est à l'origine de nombreuses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives ainsi qu'un vieillissement prématuré et le cancer (**Guillouty, 2016**). Pour réduire ce stress oxydatif, une alimentation riches en antioxydants est nécessaire, à côté d'une utilisation d'antioxydants de synthèse comme le butylhydroxytoluène (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) et dont leur consommation est souvent dangereuse pour l'organisme (**Raphaël et al., 2020**).

C'est pourquoi nous sommes intéressés à étudier une des plantes médicinales traditionnelles à activités antinociceptives, anti ulcéreuses et anti hyperglycémiantes (**Bourhia et al., 2020**). Il s'agit de *Caralluma europaea* [= *Apteranthes europaea* (Guss.) Plouhges], un membre succulent des Apocynaceae distribué dans le sud de l'Espagne, en Égypte, Italie, Libye, Tunisie, Algérie et Maroc (**Meve et Heneidak, 2005**).

L'objectif de cette étude est d'estimer les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins et d'évaluer l'activité anti-oxydante probablement associée à la présence de ces composés phénoliques dans la partie aérienne de *Caralluma europaea*.

La présente étude est subdivisée en trois grandes parties :

- La première englobe trois chapitres : le premier présente une recherche bibliographique sur la plante, et le deuxième chapitre rassemble des données sur les métabolites secondaires, par ailleurs le troisième chapitre est réservé à l'activité antioxydante.

- Ensuite, la deuxième partie expérimentale réservée au matériel et les différentes méthodes expérimentales utilisées.
- La troisième et la dernière partie est consacrée aux résultats expérimentaux et à l'interprétation et la discussion des résultats.

Ce travail s'achève par une conclusion générale.

Recherche bibliographique

Chapitre I :

La plante

Caralluma europaea

1 Généralité sur la plante :

1.1 Description botanique :

Caralluma europaea (Guss.) [Synonyme : *Apteranthe europaea* (Guss.) Ploughes], a été découverte par G. Gussone en août 1828 lors qu'il étudiait la flore pélagique (**Sajeva, 1984**). Cette espèce a été décrite à l'origine de l'île de Lampedusa dans la mer Méditerranée (Italie). (**Meve et Liede, 2002 ; Crespo, 2006**).

Typiquement, cette espèce pousse sur des pentes rocheuses entre les rochers (souvent partiellement sous les rochers), ou dans des fissures de roches lisses. On trouve la plante aussi dans les sols profonds et sableux, où il y a une forte tendance à former des rhizomes (**Feinbrun, 1977**). Elle préfère les milieux ombragés tels que la base des buissons où les plantes sont souvent brouillonnes (**Boulos, 2000 ; Heidek, 2001**).

Il existe une variation florale et végétative considérable chez *Apteranthes europaea*, en fonction de la situation édaphique. Souvent entre des plantes de la même population, mais presque toujours entre différentes populations (**Meve et Heneidak, 2005**).

C'est une plante sauvage dépassant rarement 20 cm avec des tiges aériennes ascendantes ou tentaculaires (**Figure 1**) (**Cullen et al., 2011**). Sur les rochers, les plantes forment généralement des grappes de tiges assez épaisses (jusqu'à 30 mm de diamètre). Sur les rochers calcaires elles ont tendance à être extrêmement courtes et robustes (**Feinbrun, 1977**), alors que sur les granites de l'Anti-Atlas au Maroc, les tiges épaisses s'étendent jusqu'à 25 cm (**Jonker et Walker, 1993**). Dans les montagnes de Judée, les tiges les plus minces mesurent environ 13 mm de diamètre (**Feinbrun, 1977**).

Les fleurs de cette population sont particulièrement grandes (1 à 2,5 cm de diamètre) avec 5 angles aigus ou presque obtus, dentés ou lobés, sur des tiges de 1-6 mm en grappes de 2-40 près de l'apex de la tige. Corolle de 8-25 mm de diamètre, généralement de 1,2 à 1,8 cm de long (**Figure 2**) (**Cullen et al., 2011 ; Albers et Meve, 2002**). La surface interne de la corolle est lisse, sans tubercules, parfois avec des poils mais jamais très poilue. Motif variable mais toujours avec des rayures jaunâtres ou brun rougeâtre ou violacé à entièrement violacé disposées en hélice (**Figure 3**) (**Bensusan, 2009**).

Lobes ovés brièvement acuminés, étalés ou légèrement recourbés, parfois poilus sur les bords, rarement poilus à l'intérieur. Limbe généralement faiblement concave, rarement assez

profond pour que le bord dépasse la couronne. Couronne pourpre avec un peu de jaune : lobes externes absents ou chacun de 2 glandes rondes jaunes, parfois portées sur des dents de moins de 1 mm, lobes internes arqués jusqu'à 1 mm. (Cullen et al., 2011).



Figure 1: Tiges de *Caralluma europaea*
(Franck, 2018)



Figure 2: Fleur sur une tige de *Caralluma europaea* (Bensusan, 2009).



Figure 3 : Fleurs en grappes près de l'apex de la tige (trois formes variables)

(Lamb et al., 2009).

La floraison a lieu tout au long de l'année, avec un pic de saison de fin mars à fin juin (Ollerton et Raguso, 2006). Les follicules se développent et mûrissent à des moments différents après la pollinisation, ce qui peut être une adaptation à l'environnement aride,

augmentant la probabilité que les graines se libèrent pendant les périodes pluvieuses (**Zito et al., 2011**).

1.2 Classification :

La classification botanique de *Caraluma europaea* selon (**Meve et Heneidak, 2005**) :

Famille : Apocynaceae.

Sous famille : Asclepiadoideae

Tribu : Ceropegieae

Sou-tribu : Stapeliinae

Genre : *Caraluma*

Genre Espèce : *Caraluma europaea* = *Apteranthe europaea*

1.3 Répartition géographique

L'aire de répartition de cette plante est vaste. Elle constitue l'une des espèces d'Apocynacées les plus largement distribuées. Elle se trouve principalement dans les zones semi-arides, surtout subtropicales, avec des centres de distribution en Afrique orientale et l'Afrique australe (**Albers et Meve, 2002**).

Il a été signalé dans l'extrême sud de la péninsule ibérique, au Maroc, Egypte, Algérie, Libye Tunisie, Espagne, le long de la côte sud de la mer Méditerranée jusqu'au Sinaï, en Israël et en Jordanie. Dans ses habitats les plus orientaux en Israël et sud-est de la Jordanie, elle habite dans des habitats plus ou moins désertiques et des habitats montagnards plus éloignés de la côte (**Meve et Heneidak, 2005**). Les *Apteranthes* montrant une distribution étonnamment septentrionale et large, s'étendant des îles Canaries au Népal (**Meve et Lied, 2002**).

1.4 Composition chimique :

Soixante-quatorze composés volatils (58 composés non aromatiques et 16 composés aromatiques) ont été isolés des huiles essentielles extraites des tiges et des fruits de *C. europaea* par distillation. Ces composés ont un potentiel antimicrobien contre les microbes pathogènes. La méthode de chromatographie en phase gazeuse a été utilisée pour déterminer les composants volatils présents dans les fleurs de *C. europaea*. Parmi les 41 composés identifiés, les principaux composés sont des : monoterpénoïdes (linalol - 18,4 %, α -terpinène - 19,1 %, et

terpinolène - 23,3 %) et des composés carbonyliques (acide hexanoïque - 1,7 %, heptanal - 2,0 % et acide octanoïque - 2,4 %) (**Zito et al., 2010**).

Des glycosides de flavone tels que la lutéoline 4'-néohespéridoside, la lutéoline-3'-O-(6'-O-sinapoylglucoside)-4'-O-néohespéridoside, et la lutéoline-3'-O-(6'-O-feruloylglucoside)-4'-O-néohespéridoside sont présents dans cette plante (**Zito et al., 2010 ; Isiki et al., 2017**). La lutéoline-4'-O-néohesperidoside semble avoir une distribution omniprésente étant le principal flavonoïde pour le genre *Caralluma*. (**Rizwani et al., 1990 ; Ramesh et al., 1999 ; Meve et Heneidak, 2005**).

Des composés mineurs ont été révélés tels que l'indole et le sulfure de diméthyle (**Zito et al., 2010**).

Les recherches analytiques ont récemment identifié plusieurs acides gras dans les tiges et les fruits de *Caralluma europaea* (**Formisano et al., 2009 ; Zito et al., 2010**)

1.5 Activités biologiques de *Caralluma europaea* :

C. europaea est utilisée en médecine traditionnelle comme ingrédient diététique traditionnel et moderne pour couper l'appétit et pour traiter les rhumatismes, le diabète, les kystes génital, le goitre, la lèpre, les ulcères et la paralysie (**Dutt et al., 2012**).

Les parties aériennes sont recommandées pour être utilisées comme jus, ou comme poudre mélangée au miel ou au lait, pour ses activités anti-inflammatoires, antipyrétiques, antinociceptives, antihyperglycémiques, antidiabétiques, antitrypanosomiques, antiulcéreuses, neuroprotectrices, antiobésogènes, antiathérosclérotiques, antipaludiques et antiparasitaires (**Adnan et al., 2014**).

Plusieurs études scientifiques ont confirmé les activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires de *Caralluma europaea* (**Fuchs et al., 2009 ; Prabkaranet kalimuthu, 2013**).

Chapitre II :

Les composés phénoliques

Chapitre II : Les composés phénoliques

1 Généralité :

Classiquement considérés comme des métabolites secondaires, les composés phénoliques sont présents dans tous les végétaux supérieurs. Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et se caractérisent par une répartition qualitative et quantitative très inégale selon les espèces considérées ainsi que les organes, les tissus et les stades physiologiques (**Macheix, 1996**).

Le terme «polyphénols» désigne les composés phénoliques ayant plusieurs fonctions phénols, ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux (**Macheix et al., 2005**).

Plus de 8 000 structures phénoliques ont été identifiées, dont la structure varie d'abord par la complexité du squelette de base, celle de molécules simples (par exemple, les acides phénoliques avec une structure cyclique en C₆) à celle de composés hautement polymérisés (par exemple, les tanins). La structure varie aussi par le degré de modification de ce squelette (oxydation, hydroxylation, méthylation) et par les liaisons de ces molécules de bases avec d'autres molécules.

Les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 différentes classes en fonction de leur structure de base (**Bravo, 1998**). Les flavonoïdes, qui constituent le groupe le plus important, peuvent être divisés en 13 classes (**Macheix et al., 2005**), et représentent la moitié de ces composés phénoliques. Elles se présentent sous forme d'aglycone, de glycosides et de dérivés méthylés. Ces substances phytochimiques sont présentes dans les nutriments et les plantes médicinales (**Kumar et Pandey, 2013 ; Ahmed et al., 2016**).

Les phénoliques insolubles sont distribués dans les parois cellulaires, tandis que les composés phénoliques solubles sont compartimentés dans les vacuoles cellulaires végétales (**Wink, 1993 ; Bengoechea et al., 1997**).

Les flavonoïdes et de nombreux autres composants phénoliques ont été rapportés pour leur efficacité comme agents antioxydants, anticancéreux, antibactériens, cardioprotecteurs, anti-inflammatoire, stimulants du système immunitaire, protecteurs de la peau contre les rayons UV. C'est un candidat intéressant pour les produits pharmaceutiques et applications médicales (**Chen et al., 2015 ; Meng et al., 2018**).

Chapitre II : Les composés phénoliques

2 Biosynthèse :

Les voies de biosynthèse des polyphénols comprennent les voies métaboliques de l'acide shikimique et de l'acide acétique (**Chen et al., 2018**) :

2. 1. La voie de l'acide shikimique : Elle contribue à la production d'une large gamme d'intermédiaires et acides aminés aromatiques vitaux (L-tyrosine, L-tryptophane et L-phénylalanine), qui peuvent être catalysés en plusieurs métabolites, tels que la phénylalanine, la lignine, les flavonoïdes, l'acide indole acétique et alcaloïdes (**Sprenger, 2006 ; Maeda, 2012**). La tyrosine et la phénylalanine sont deux précurseurs essentiels qui peuvent être catalysés par la phénylalanine ammonialyase (PAL) pour activer la voie de la phénylalanine et accumulent des flavonoïdes, des polyphénols et de la lignine (**Xu, 2014; Nagpala, 2016**).

2 .2. La voie de l'acide acétique : sous sa forme active, l'acétyl-CoA, ou plus tard dans la voie, le malonyl-CoA, est le point de départ de la synthèse des acides gras dans une voie primaire, mais il est aussi le point de départ de la synthèse des flavonoïdes dans une voie secondaire.

Différents facteurs externes et internes (lumière, rayonnement U.V., température, hormones, agents pathogènes ...) sont fortement impliqués dans la régulation de l'expression du métabolisme phénolique (**Dixon et Paiva, 1995**).

3 Composition chimique et classification :

Ils ont tous en commun la présence d'au moins un cycle benzénique (6 atomes de carbone liés en un hexagone) possédant un ou plusieurs fonctions hydroxyles, substitués ou non (**Marouf et Reynaud, 2007**).

Une classification simple tente de diviser les composés phénoliques en phénols simples et polyphénols, basée exclusivement sur le nombre de carbones présents.

Chapitre II : Les composés phénoliques

3.1 Les non- flavonoïdes :

Les principaux composés sont les acides phénoliques et les stilbènes :

3.1.1. Acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C₆-C₁, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone (**figure 4**).

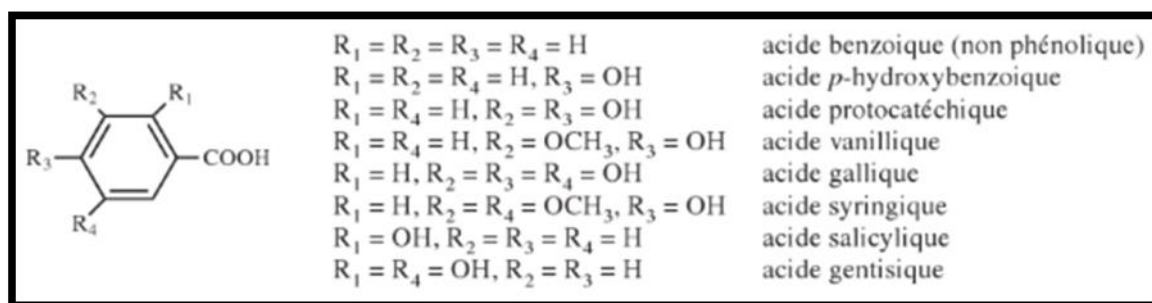


Figure 4: Acides hydroxybenzoïques (Macheix et al., 2005)

3.1.2. Acides hydroxycinnamiques ont une structure de base C₆-C₃. Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en ester d'alcool aliphatique (**Figure 5**). L'acide cinnamique et les acides hydroxycinnamiques sont souvent désignés sous le terme de phénylpropanoïdes.

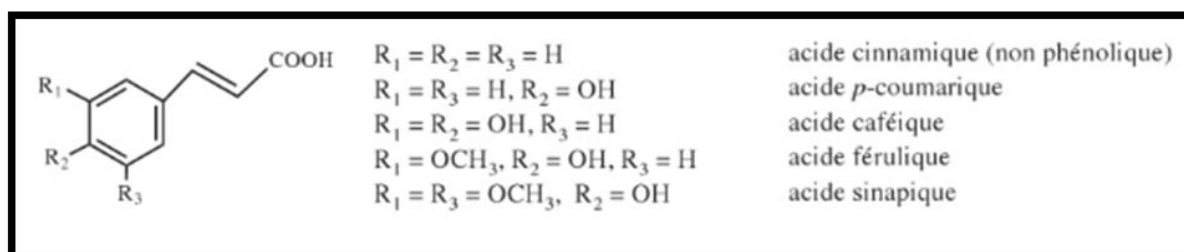


Figure 5: Acides hydroxycinnamiques (Macheix et al., 2005).

3.1.3. Stilbènes ont une structure C₆-C₂-C₆, deux noyaux benzéniques reliés par un pont méthylène (**Figure 6**) (Chira et al., 2008).

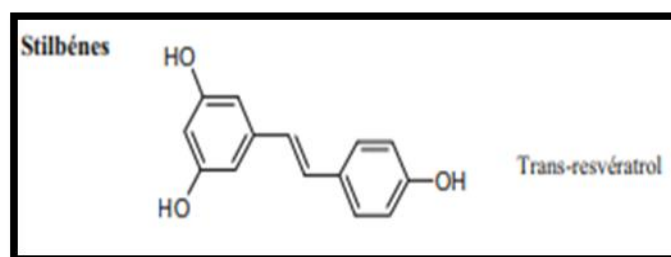


Figure 6 : Structure des stilbènes (Chira *et al.*, 2008).

3.2 Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques et constituent un grand groupe de composés structurellement apparentés. La structure de base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois anneaux (C₆–C₃–C₆), qui sont étiquetés A, B et C. Le noyau B et le pont carboné constituant une unité phénylpropanoïde synthétisée à partir de la phénylalanine provenant de la voie de l'acide shikimique, alors que le noyau A vient de la condensation de 3 motifs acétate via la voie de l'acide malonique. La fusion de ces deux parties implique la condensation d'un phénylpropanoïde (Chira *et al.*, 2008) (Figure 7).

Ces molécules sont formées par la condensation d'un sucre (glycone) avec une molécule non glucidique (aglycone) et forment dans la plante des glycosides (hétérosides). Les liaisons glycones-aglycones sont réversibles et peuvent être séparées, en cas de besoin, par l'hydrolyse enzymatique ou acide (Jost *et al.*, 2016).

Les flavonoïdes sont souvent hydroxylés en positions 3, 5, 7, 3', 4' et / ou 5'. Fréquemment, un ou plusieurs de ces groupes hydroxyle sont méthylés, acétylés, prénylés ou sulfatés (De Rijke *et al.*, 2006 ; Chira *et al.*, 2008). Les principales sous-classes de flavonoïdes sont classés selon des substitutions et sont représentées dans la figure 8.

Chapitre II : Les composés phénoliques

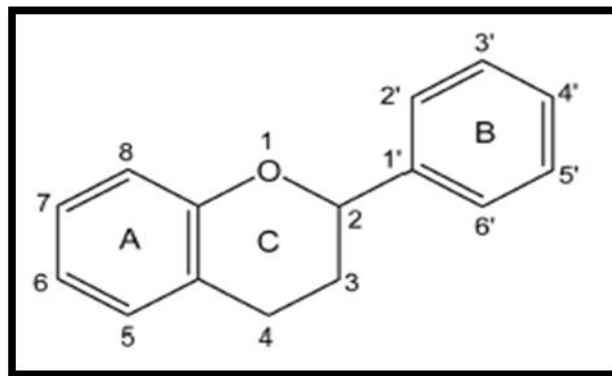


Figure 7: Structure de base des flavonoïdes (Stalikas, 2007)

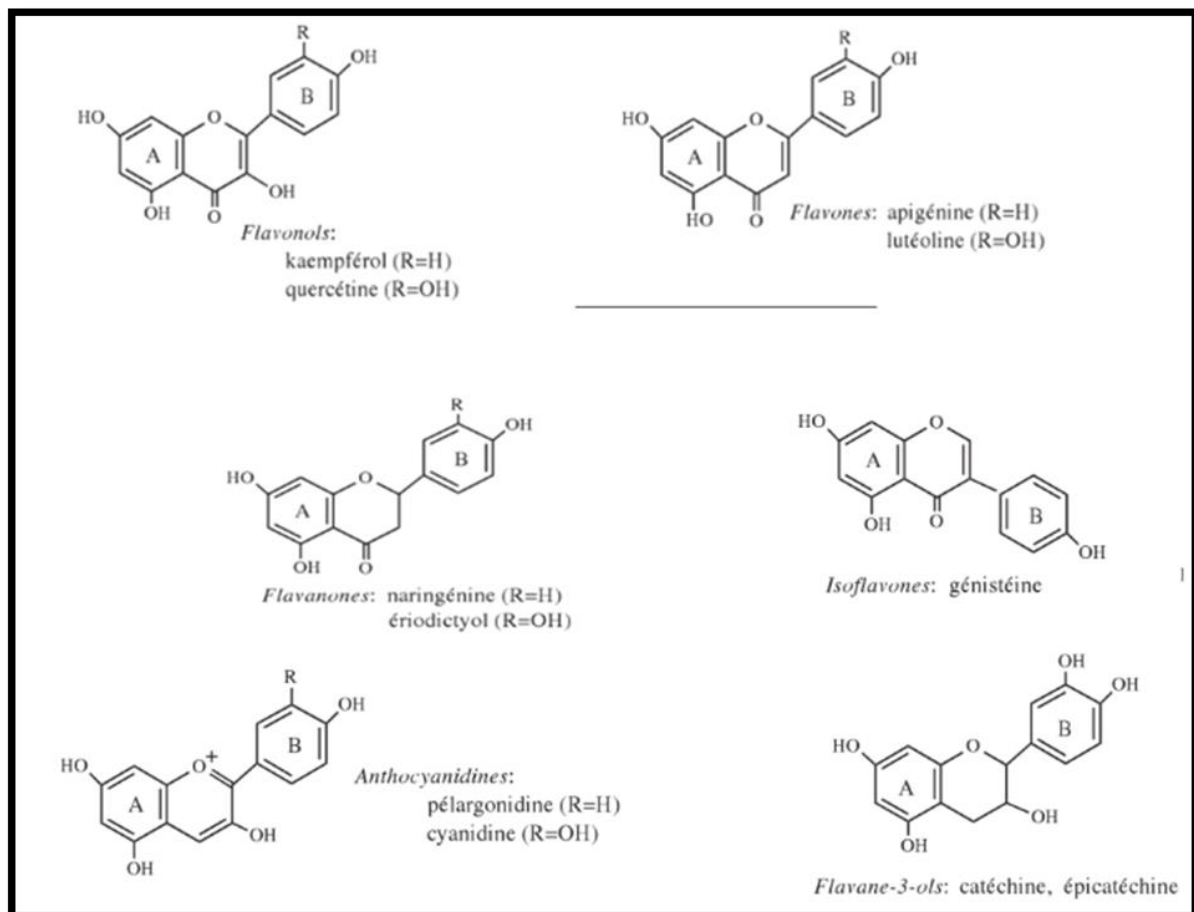


Figure 8 : Principales classes de flavonoïdes (Macheix et al., 2005).

Chapitre II : Les composés phénoliques

3.3 Les phénols condensés (complexe) :

Ils résultent de la condensation de quelques formes simples précédemment mentionnés selon les modifications structurales. On obtient des composés complexes qui peuvent présenter une solubilité suffisante pour être présents dans la vacuole (tanins) ou au contraire obtenir un caractère lipophile et s'accumuler dans la structure pariétale (lignine) (Macheix *et al.*, 2005).

3.3.1 Les tanins :

Les tanins sont astringents et ils jouent un rôle important dans la défense chez les plantes sujettes aux attaques d'insectes ou autres amateurs de feuillage (Jost *et al.*, 2016). Ils ont formés soit de polyols, de catéchine, de sucres ou de triterpenoïdes auxquels ils sont attachés des unités galloyles. Ce sont aussi des oligomères ou polymères de flavonoïdes. Ce terme «tanin» est utilisé donc pour définir deux classes de composés phénoliques: tanins hydrolysables et tanins condensés (Pizzi, 2006).

3.3.1.1 Les tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont un mélange de phénols tels que l'acide ellagique et l'acide gallique et de sucres (le glucose) (Pizzi, 2003).

Les tanins sont divisés en deux familles: les gallotanins, qui produisent de l'acide gallique et ses dérivés par hydrolyse, et les ellagitanins, qui produisent de l'acide ellagique après hydrolyse (Figure 9).

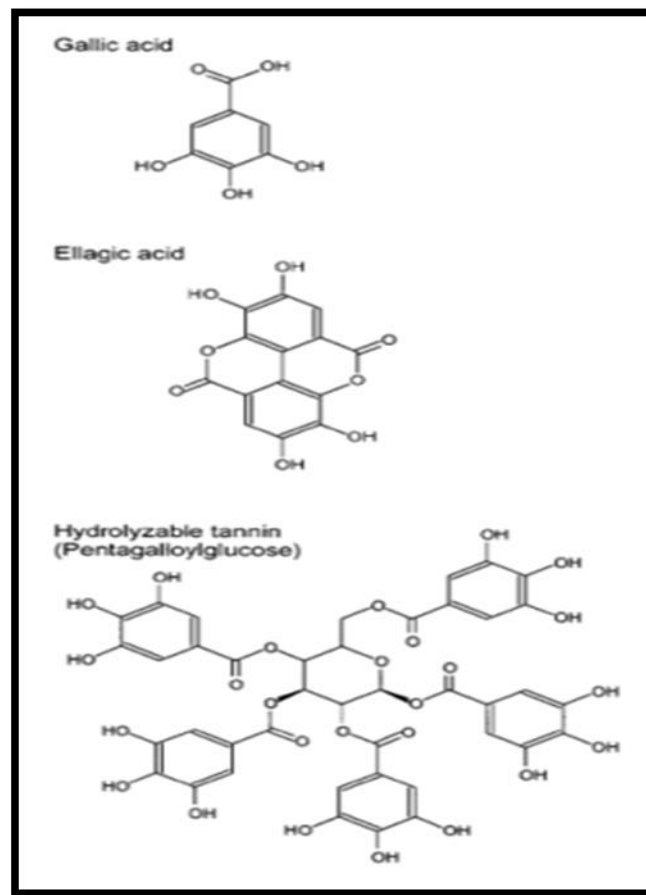


Figure 9: Structure des tanins hydrolysables (McMahon *et al.*, 2000).

3.3.1.2 Les tanins condensés

Les tanins condensés représentent 90% de la production mondiale de tanins commerciaux. De 3 à 8 unités de répétition de flavonoïdes sont nécessaires pour former un tanin condensé (Figure 10).

Ces tanins sont également composés de précurseurs associés (flavan-3-ol, flavan-3,4-diol) de glucides ainsi que de traces d'acides aminés (Pizzi 2006 ; Saayman et Roux, 1965).

Ces tanins sont généralement complexés avec des protéines. Leur faculté de complexation change en fonction de leur nature chimique (Hemingway *et al.*, 1996 ; Zorrilla, 2019).

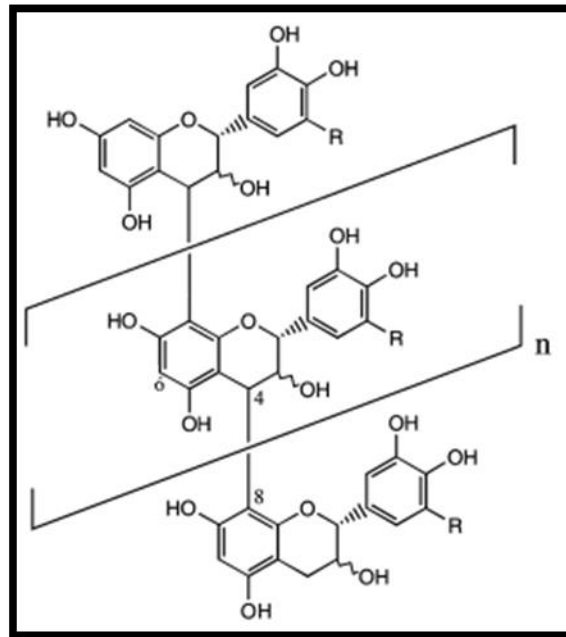


Figure 10: Exemple de structure d'un tanin condensé (Schofield et al., 2001).

Un exemple de ce type de tanins complexe est l'acutissimine A (Figure 11), qui est composée d'une unité flavagallonyle liée à un polyol dérivé du D-glucose par une connexion glucosidique en C-1 et trois autres liaisons esters (Okuda, 2005 ; Ferreira et Bekker, 1996).

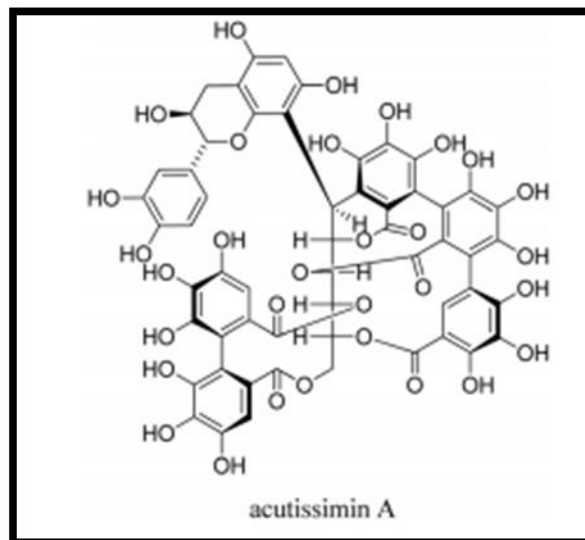


Figure 11: Structure des tanins complexes (acutissimine A) (Arbenz et Avérous, 2015).

Chapitre II : Les composés phénoliques

3.3.2 . Lignines :

Les lignines sont les constituants essentiels de l'espace intercellulaire. Ce sont des polymères fortement réticulés, formés par condensation de trois alcools aromatiques, l'alcool p-coumarylique (a), l'alcool coniférylique (b) et l'alcool sinapylique (c) (**Figure 12**). Le contenu en unités phénylpropane correspondantes, respectivement p-hydroxyphényles (H), guaïacyles (G) et syringyles (S), ainsi que les liaisons inter unités et groupements phénol libres sont très dépendants des types de biomasse (bois tendres, bois durs et graminées) qui présentent donc des structures des lignines différentes (**Lapierre, 1993**).

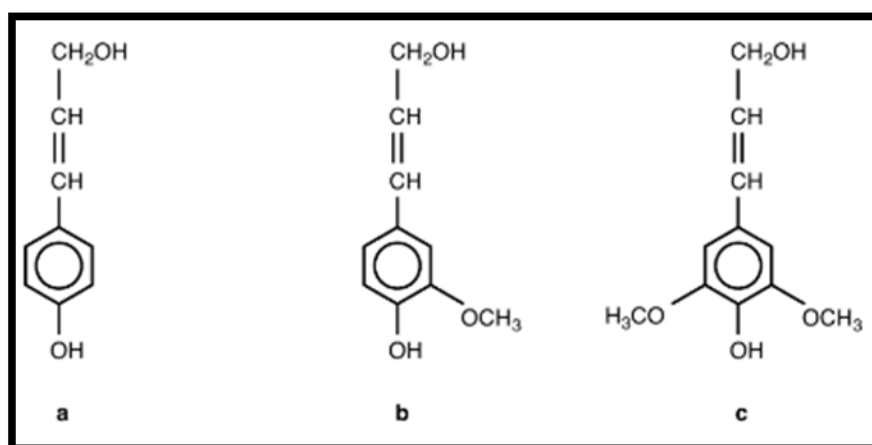


Figure 12: Principaux alcools aromatiques, constituants des lignines (**Ballerini, 2011**).

3.4 Propriétés physico-chimique et extraction :

Les phénols sont principalement solubles dans les solvants organiques polaires (méthanol, acétone, acétate d'éthyle). Ils sont solubles dans les solutions d'hydroxyde de sodium et carbonate de sodium. Les acides-phénoliques sont solubilisés par les hydrogencarbonates. Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu acide, ce qui autorise des extractions sélectives (ex. : flavonoïdes/acides-phénoliques). Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques sont, classiquement, solubles dans l'eau. Leur hydrolyse passe par un reflux dans du méthanol ou par une saponification à température ambiante. Ces composés sont instables et tous les phénols sont facilement oxydables, surtout en milieu alcalin. Les dérivés cinnamiques tendent à s'isomériser en solution aqueuse sous l'effet du rayonnement ultraviolet (**Jean, 2009**).

Chapitre II : Les composés phénoliques

3.5 Le rôle physiologique:

Il existe de nombreuses preuves provenant d'études *in vitro*, de modèles animaux et d'études cliniques soutenant que les polyphénols pourraient avoir des activités géroprotectrices (activités anti-vieillessement) ainsi que des effets cytoprotecteurs (effets protecteurs vis-à-vis du stress oxydant, de l'inflammation et/ou de la mort cellulaire), en particulier dans les maladies liées à l'âge : maladies cardiovasculaires, maladies des yeux et certaines maladies chroniques (maladies inflammatoires de l'intestin, polyarthrite rhumatoïde) (Cilla et al., 2017). Ils ont aussi des activités anti-ischémie-reperfusion (Chang et al., 2016) et anti-thrombose (Liu et al., 2018).

Parmi les bioactivités notables des composés phénoliques, les activités antioxydantes qui ont été largement étudiées, y compris le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation des lipides, la réduction de l'hydroperoxyde...etc (Sato et al., 1996).

De nombreuses expériences, *in vitro*, ont prouvé que les composés phénoliques étaient généralement majeurs contributeurs des capacités antioxydantes des plantes. A titre d'exemple, plusieurs acide phénols, à savoir : rosmarinique, férulique, caféique, chlorogénique, vanillique, p-hydroxybenzoïque, p-coumarique et protocatéchuïque contribuent au potentiel antioxydant des plantes par le test de piégeage du radical DPPH (Ślusarczyk et al., 2009 ; Roy et al., 2010).

Les polyphénols peuvent également fonctionner comme antioxydants par leurs effets sur le plasma, les membranes, les facteurs de transcription et les activités enzymatiques, *in vivo* (Sano et al., 2007). L'inhibition des dommages à l'ADN induits par le cuivre a été déterminée pour plusieurs composés polyphénoliques, tels que l'épicatéchine, l'acide protocatéchuïque, le gallate de n-propyle, l'acide vanillique, la quercétine et l'acide gallique (Perron et al., 2011). De plus, on pense que les anthocyanes sont des composants fonctionnels à effets antioxydant (piégeage des radicaux libres), antitumoral, antiathérosclérose, hypoglycémiant, et antiallergiques (Deng et al., 2013). De plus, le mécanisme de fonctionnement des antioxydants polyphénoliques naturels a été résumé dans un article de Leopoldini et al., (2004), à savoir le transfert d'atomes H, le transfert d'électrons et l'action de chélation des ions métalliques. De nombreux polyphénols éliminent les radicaux libres via le mécanisme de transfert d'atomes d'hydrogène, car des énergies plus élevées sont impliquées dans le processus de transfert d'électron unique. Les polyphénols pourraient chélater les métaux de transition à travers leurs multiples groupes OH et la fraction carbonyle, lorsqu'ils sont présents

Chapitre II : Les composés phénoliques

(Leopoldini et *al.*, 2011). Les polyphénols pourraient être utilisés non seulement comme antioxydants pour l'homme, mais aussi comme conservateurs alimentaires dans l'industrie alimentaire (Li et *al.*, 2014).

Chapitre III :

L'activité antioxydante

Chapitre III : L'activité antioxydante

1. Radicaux libres et stress oxydatif :

Les radicaux libres (RL) se forment naturellement dans un large éventail de systèmes biologiques et chimiques. Ce sont des atomes et des molécules chimiquement stables, qui ont un (ou rarement plus) électrons libres dans l'enveloppe électronique (**Beklova et al., 2008 ; Rice et al., 1996**)

La réduction de l'oxygène génère dans les mitochondries l'ATP à potentiel énergétique élevé. Cependant, 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent et réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme pour produire des espèces réactives à l'oxygène (ERO). Se sont les radicaux libres (anions superoxydes O₂⁻, ou oxygène singulet O, acide hypochloreux et peroxy-nitrite).

Formées en quantités très importantes, les ERO s'avèrent délétères en activant l'expression de gènes codant des cytokines pro-inflammatoires et des protéines d'adhésion ou en réagissant avec les protéines, les lipides membranaires et les lipoprotéines (**Schlienger, 2014**). Ils sont responsables de nombreux processus pathologiques (**Beklova et al., 2008 ; Blazekovic, 2010 ; GURSOY et al., 2010**).

Le stress oxydant (SO), un déséquilibre entre la balance des oxydants (ERO et ERN) et le système de défense (les antioxydants), est un concept impliqué dans la physiopathologie de vieillissement, de cancer et des maladies chroniques. Il est pour une bonne part lié au métabolisme des nutriments (**Seifried et al., 2007**).

2. Les antioxydants :

Les antioxydants sont des molécules qui peuvent interagir en toute sécurité avec les radicaux libres et mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Il existe plusieurs systèmes et substances enzymatiques endogènes dans les cellules qui éliminent les radicaux libres. Les cellules peuvent également atteindre des antioxydants par la circulation après la consommation de boissons et d'aliments riches en antioxydants. Cependant, plusieurs produits chimiques, qui ne peuvent normalement pas être obtenus à partir d'aliments, se sont également avérés posséder des propriétés antioxydantes. (**Panglossi, 2006**).

En effet, la plupart des antioxydants synthétiques ou naturelles possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en

Chapitre III : L'activité antioxydante

partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^*) et superoxydes (O_2^*) (**Rice-evans et al., 1995 ; Bartosz, 2003**).

Il existe deux types d'antioxydants :

2.1. Les antioxydants primaires, radicalaires ou vrais (enzymatiques) : Permettent l'interruption de la chaîne auto catalytique : $\text{AH} + \text{R}^\bullet \rightarrow \text{A}^\bullet + \text{RH}$. Les molécules AH sont antioxydants si les radicaux formés A^\bullet sont plus stables. La stabilité des radicaux A^\bullet peut s'expliquer par leur conversion en composés non radicalaires (**Rolland, 2004**).

2.2. Les antioxydants secondaires ou préventifs (non enzymatique) : Assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcools comme les thiols (glutathion, acide aminé soufré) ou les disulfures, vitamines E, C, caroténoïde, zinc, sélénium ; des protecteurs vis-à-vis des UV comme les carotènes ; des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines ou de séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique (**Rolland, 2004**). D'autres antioxydants comme les polyphénols sont apportés par l'alimentation (**Schlienger, 2014**). Ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène (anion superoxyde O_2^- , radical hydroxyle OH^\bullet) pour produire des radicaux phénoxy stables. Ils peuvent aussi agir comme des antioxydants grâce à leur pouvoir à complexer les ions métalliques. Malheureusement, certains polyphénols ont également une action pro-oxydante par transfert d'électrons à des ions métalliques (**Buggey, 2001**).

3. Détermination d'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vit C), le tocophérol (vit E) et les composés phénoliques. Presque tous les composés phénoliques dans les plantes démontrent une certaine activité antioxydante. Cependant, la détection de composants thérapeutiquement actifs dans une matrice biologique est une procédure très complexe, et leur détermination diffère dans les études individuelles (**Adam et al., 2007 ; Klejdus et al., 2005**).

Déterminer l'activité antioxydante est une façon d'évaluer la qualité de la plante biologiquement et nutritionnellement. Il a été démontré que l'activité antioxydante dépend du

Chapitre III : L'activité antioxydante

type de composés phénoliques présents dans la plante, car certains composés présentent une activité antioxydante plus élevée que les autres.

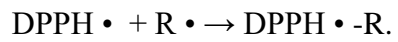
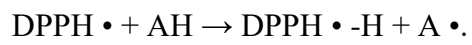
Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante. Des méthodes de détermination de l'activité antioxydante sont basées sur la réaction directe de la molécule étudiée avec les radicaux (piégeage) par des mesures spectrométriques (**Antolovich et al., 2002 ; Record et al., 2001**).

3.1. La méthode du piégeage du radical ABTS : Elle est basé sur la neutralisation d'un radical-cation issu de l'électron unique et l'oxydation du chromophore synthétique (acide 2,2'-azino-bis 3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS •). Cette réaction est surveillée spectrophotométriquement par le changement du spectre d'absorption. Le résultat obtenu à l'aide de cette méthode est généralement décrits comme Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) (**Re, 1999**).

3.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) : Elle est basée sur la réduction des complexes de (2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) avec du chlorure ferrique hexahydraté ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), qui sont presque incolore et éventuellement légèrement brunâtre. Ce produit chimique forme des complexes ferreux bleus après sa réduction. La méthode a ses limites, en particulier dans les mesures sous pH non physiologique. De plus, cette méthode ne permet pas de détecter les composés polyphénoliques lentement réactifs et thiols (**Ou et al., 2002 ; Jerkovic et Marijanovic, 2010**).

3.3. La méthode de DPPH • : Elle est basée sur la capacité du radical libre (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) à réagir avec les donneurs d'hydrogène. Dans cette méthode, une solution de radical est décolorée après réduction avec un antioxydant (AH) ou un radical ($\text{R}\cdot$) selon le schéma suivant:

Chapitre III : L'activité antioxydante



Cette méthode est très simple et rapide pour l'analyse manuelle (**Parejo et al., 2000**).

Matériel et Méthodes

Notre étude consiste à la détermination des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins, et de l'activité anti-oxydante de *Caralluma europaea*. L'étude a été menée au niveau de laboratoire de recherche des produits naturels (Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen) et a été réalisée comme suit :

- Préparation de l'extrait des parties aériennes de *C. europaea*.
- Détermination des teneurs en composés phénoliques et d'activité anti oxydante des extraits par le test d'ABTS et la capacité antioxydante totale.
- Evaluation de l'activité anti oxydante de l'extrait par deux méthodes : Test à l'ABTS et la capacité antioxydante totale (CAT).

1. Matériels

1. 1. Matériel végétatif :

La partie aérienne de la plante *Caralluma europaea* a été achetée chez l'herboriste à Tlemcen (Algérie). Elle a été nettoyée et découpé en petits morceaux, séchées à l'aire libre pendant 10 jours. Ensuite, le matériel végétal a été broyé avec un broyeur électrique et la poudre obtenue a été conservée à l'obscurité et à 4°C pour être utiliser dans l'extraction.

I. 2. Produits chimiques et matériel utilisé:

• Produits chimiques :

- Méthanol.
- Acétone.
- Folin-Ciocalteu (1N).
- Carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%).
- L'acide gallique.
- Nitrite de sodium NaNO_2 (5%).
- Chlorure d'aluminium AlCl_3 (10%).
- Soude NaOH (1M).
- Eau distillé.
- Catéchine.

- Vanilline (4%).
- Acide ascorbique.
- Molybdate d'ammonium (4mM).
- Persulfate de potassium (4.9mM).
- Acide chlorhydrique concentré.
- Phosphate de sodium (28 mM).
- Acide sulfurique (0.6 M).
- Ethanol.
- TROLOX.

- **Matériel :**

- Béchers.
- Erlenmeyers.
- Entonnoir.
- Fiole jaugée.
- Tubes à essaie.
- Cuves.
- Micropipette.
- Spatule.
- Eprouvette.
- Etuve.
- Vortex.
- Balance de précision 0,001g.
- Spectrophotomètre.
- Centrifugeuse.
- Agitateur magnétique.

2. Méthodes :

2.1. Préparation de l'extrait de *Caralluma europaea*

C'est une technique d'extraction liquide/solide qui consiste à mélanger la poudre du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation et qui se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules phénoliques (**Singh, 2008**).

L'extraction a été réalisée comme suit :

- Préparation du mélange liquide/solide : A 9 g de la poudre végétale, nous avons ajouté à 140 ml des solvants organiques Méthanol/Acétone 50/50 : v/v (**Photo 13**).
- Agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant quelques minutes et macération pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité.
- Filtration du mélange par un papier filtre, puis centrifugeuse à 3500 tours/ min (**Photo 14**).
- Evaporation de l'extrait à 45°C sous pression réduite à l'aide d'un Rotavapor (**Photo 15**).
- Récupération de l'extrait sec (**Photo 16**).

➤ Calcul de rendement :

L'extrait sec est pesé et le rendement en pourcentage (%), est défini par le rapport entre la masse d'extrait sec et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P1 - P2 / P3) \times 100$$

P1 : Poids du ballon après évaporation, **P2** : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide), **P3** : Poids de la matière végétale sèche de départ.

L'extrait sec est repris dans quelques millilitres de méthanol et a été conservé à 4°C pour les dosages et les évaluations de l'activité antioxydante.



Photo 13: Le mélange poudre de la plante et solvants (acétone/ méthanol)



photo 14 : Filtration du mélange après 24 heures de macération.



Photo 15: Evaporation de l'extrait sous pression réduite



Photo 16: Aspect de l'extrait sec après évaporation

2.2. Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits

2.2.1. Polyphénols totaux : Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Vermerris et al., (2006)** :

- **Principe**

Le réactif utilisé, le «Folin-Ciocalteu», est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 750 nm.

- **Mode opératoire**

Une prise de 100 μ l de l'extrait est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5 min, 100 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 min à la température ambiante et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 750 nm. Ce dosage est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue. Pour cela, une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 μ g/ml. Les teneurs en Polyphénols totaux des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS)

2.2.2. Flavonoïdes totaux : La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al., (2002)** :

- **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm.

- **Mode opératoire**

Une prise de 250 μl d'extrait diluée est additionnée de 75 μl d'une solution de NaNO_2 à 5%. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, 150 μl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 , 10%) sont ajoutés au mélange. Après 5 mn de repos à température ambiante, 500 μl de soude (NaOH , 1M) sont apportés au mélange, et le volume final est porté à 2.5 ml avec de l'eau distillée. L'absorbance de cette préparation est mesurée contre un blanc à 510 nm. La comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes. Pour cela, une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 $\mu\text{g/ml}$. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

2.2.3. Tanins condensés : Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode décrite par **Sun et al., (1998)** :

- **Principe**

En présence d'acide sulfurique, les tanins condensés se dépolymérisent et, par réaction avec la vanilline, se transforment en anthocyanidols de couleur rouge, mesurables par spectrophotométrie à 500 nm.

- **Mode opératoire**

Une prise de 50 μl d'extrait est ajoutée à 3 ml de vanilline à 4% et 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après homogénéisation, le mélange est mis en incubation à température ambiante pendant 15 mn. L'absorbance est mesurée contre un blanc à 500 nm. Les teneurs en tanins condensés, déterminées en se référant à une gamme étalon de catéchine

(0 à 500 µg/mL), sont exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/ g MS).

2.3. Estimation des activités biologiques, in vitro

2.3.1. Détermination de l'activité antioxydante

2.3.1.1 Capacité antioxydante totale (CAT) : Elle est réalisée selon la méthode décrite par **Prieto et al., (1999)** :

- **Principe**

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte.

- **Mode opératoire**

Une prise de 100 µl d'extrait est combinée dans un tube avec 1ml de solution composée d'acide sulfurique (0.6 M), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 mn. Après un repos de 6 mn à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait. Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS).

2.3.1.2 Piégeage du radical ABTS^{o+} : Elle est réalisée selon la méthode décrite par **Re et al., (1999)** :

- **Principe**

Le radical ABTS^{o+} est produit par réaction entre l'ABTS et une solution à 4.9 mM de persulfate de potassium. Ce mélange est agité pendant 16 h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à obtenir une absorbance à 734 nm de 0.700 ± 0.02 . Le test consiste à mettre ce radical en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical.

- **Mode opératoire**

Une prise (950 µl) de cette solution d'ABTS^{o+} est ensuite mélangée avec 50 µl d'extrait à différentes concentrations. Après 6 mn d'incubation à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm contre un blanc. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 950 µl d'une solution d'ABTS^{o+}. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$PI = (D.O_{\text{témoin}} - D.O_{\text{extrait}} / D.O_{\text{témoin}}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition, D.O témoin : absorbance du témoin négatif, D.O extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI₅₀). Une valeur de CI₅₀ faible correspond à une grande efficacité de l'extrait. Les valeurs de CI₅₀ sont comparées avec celles des standards de référence : le TROLOX (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylique).

II.4. Analyses statistiques

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des moyennes ± écarts-types des trois mesures parallèles en utilisant EXCEL (2007). Les valeurs des concentrations (Dosage et CAT) et d'IC₅₀ (Piégeage du radical ABTS^{o+}) ont été calculées à partir des équations linéaires des courbes tracées sur EXCEL.

Résultats et interprétations

1. Résultats

1.1. Rendement en extrait de *Caralluma europae* :

Le rendement représente la masse d'extrait obtenu après l'évaporation du solvant, par rapport à la masse initiale de la plante. Il est exprimé en pourcentage. Le rendement en extrait de *Caralluma europae*, obtenu par macération à température ambiante dans le mélange méthanol/ acétone (50/50 : v/v) est de 10.88 % (**Tableau 1**).

1.2. Résultats de l'étude quantitative

1.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'absorbance a été lue contre un blanc dans une longueur d'onde de 750 nm. Les résultats obtenus sont déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure 17**). La teneur en Polyphénols totaux de l'extrait est alors exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g MS) ou par gramme d'extrait (mg EAG/ g extrait). Elle est de $2.60 \pm 0,15$ mg EAG/g MS et 23.86 ± 1.4 mg EAG/ g extrait sec (**Tableau 1**).

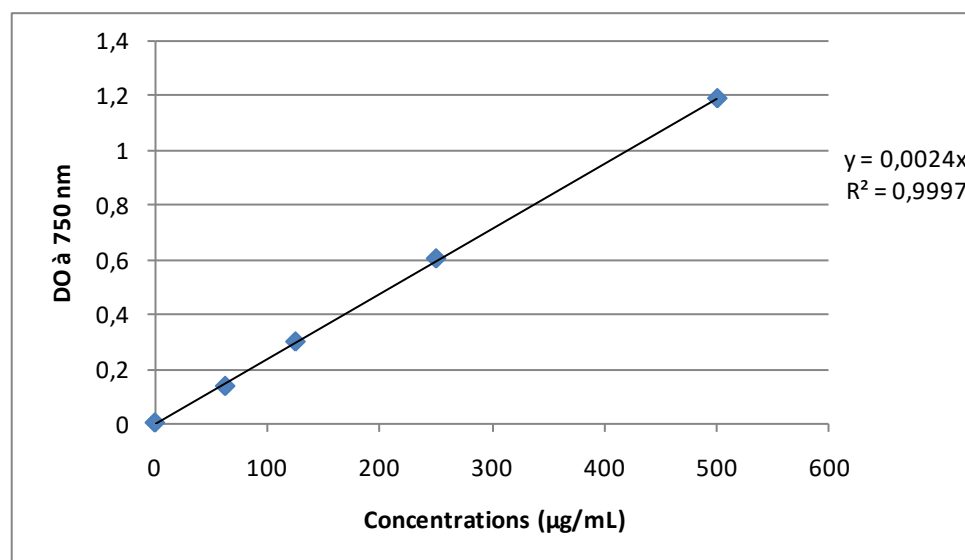


Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

1.2.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été déterminés par la méthode de nitrite de sodium (NaNO_2) et de chlorure d'aluminium (AlCl_3) et la lecture de l'absorbance a été réalisée à une longueur d'onde de 510 nm. Les résultats obtenus sont déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Figure 18**). La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait est alors exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC /g MS) ou par gramme d'extrait (mg EC/ g extrait). Elle est de $1.20 \pm 0,18$ et mg EC/g MS et 11.01 ± 1.67 mg EC/ g extrait (**Tableau 1**).

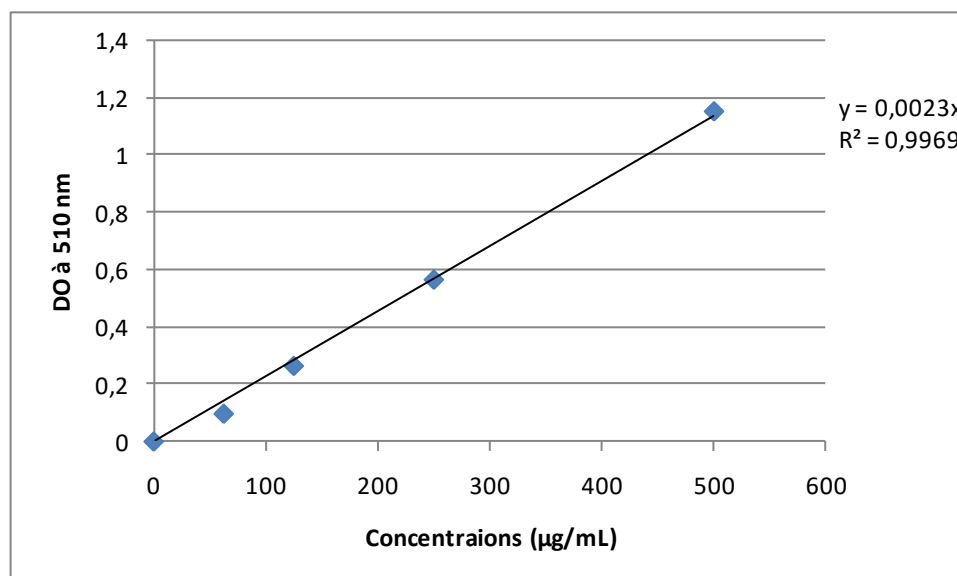


Figure 18: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

1.2.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés ont été déterminés par la méthode de la vanilline dans un milieu acide et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 500 nm. Les résultats obtenus sont déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Figure 19**). La teneur en tanins condensés est exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC /g MS) ou par gramme d'extrait (mg EC/ g extrait). Elle est de $1.23 \pm 0,25$ mgEC/g MS et 11.29 ± 2.32 mg EC/ g extrait (**Tableau 1**).

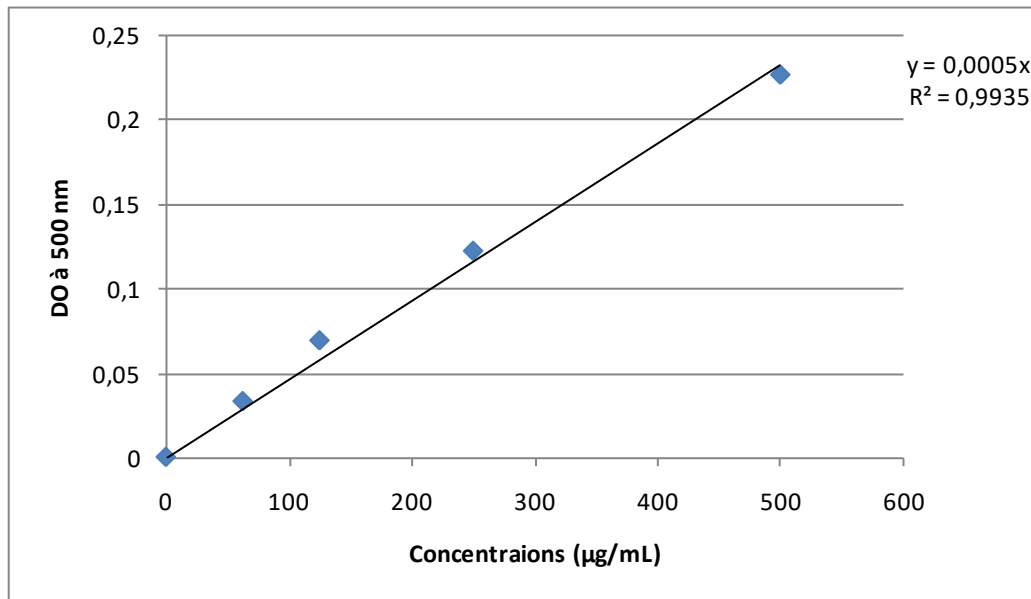


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Tableau 1: Les rendements et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les extraits de *Carallumaeu europaea*.

Rendement (%)	Teneur en Polyphénols totaux		Teneur en Flavonoïdes		Teneur en Tanins condensés	
	mg EAG /g MS	mg EAG /g extrait	mg EC /g MS	mg EC /g extrait	mg EC /g MS	mg EC /g extrait
10.88 %	$2.60 \pm 0,15$	23.86 ± 1.4	$1,20 \pm 0,18$	11.01 ± 1.67	$1,23 \pm 0,25$	11.29 ± 2.32

1.3. Evaluation de l'activité antioxydante

1.3. 1. La capacité antioxydante totale (CAT)

La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique est présentée dans la **Figure 20**. Les résultats obtenus sont déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire ($y=0.0026x$). Le résultat obtenu est exprimé en mg EAA/ g MS ou en mg EAA/ g extrait. Il est de 13.03 ± 0.58 mg EAA/ g MS et 119.61 ± 5.33 mg EAA/ g extrait (**Tableau 2**).

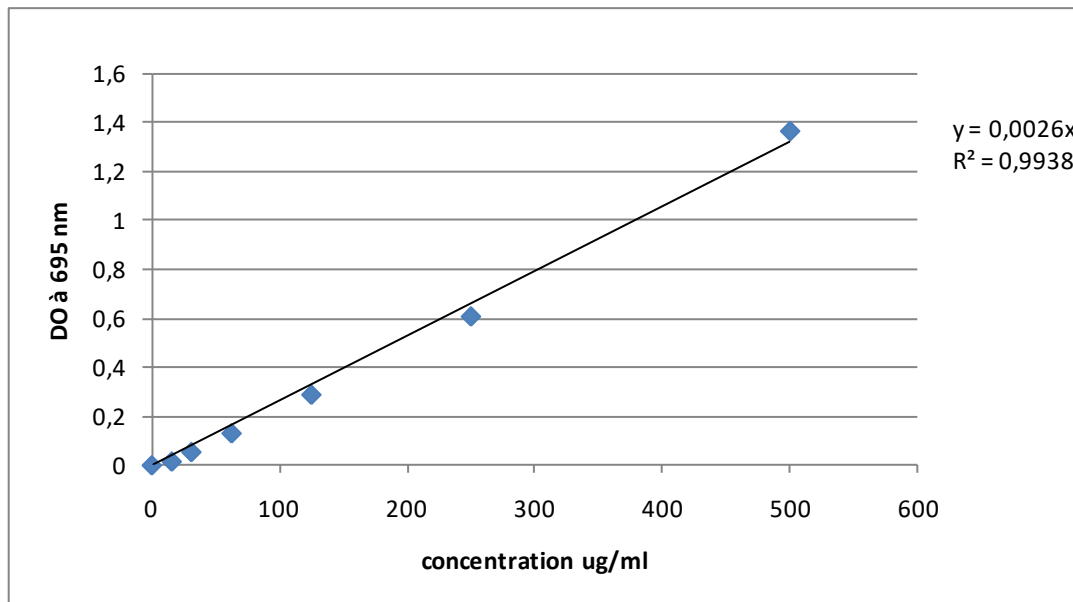


Figure 20: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de la capacité antioxydante totale.

1.3. 2. Test de l'ABTS

Les **Figures 21** et **22** présentent les pourcentages d'inhibition du radical ABTS par l'extrait de *C. europaea* et par le standard, le Trolox. Une valeur de CI_{50} de 6.23 ± 0.29 (mg/ml) ce qui reflète une très faible activité par rapport au Trolox (CI_{50} de 0.09979 ± 0.00359 mg/mL) (**Tableau 5**).

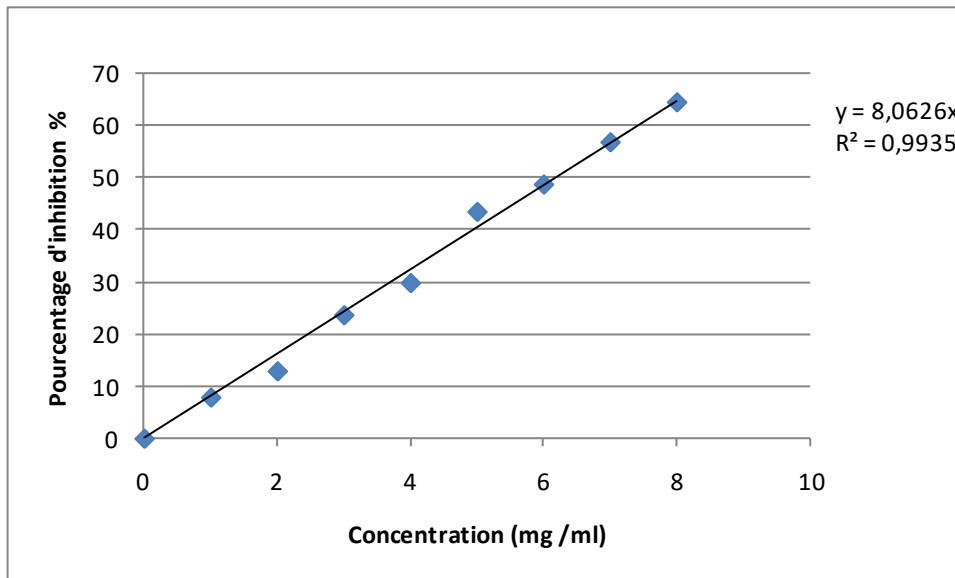


Figure 21: Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS par l'extrait de C. europaea.

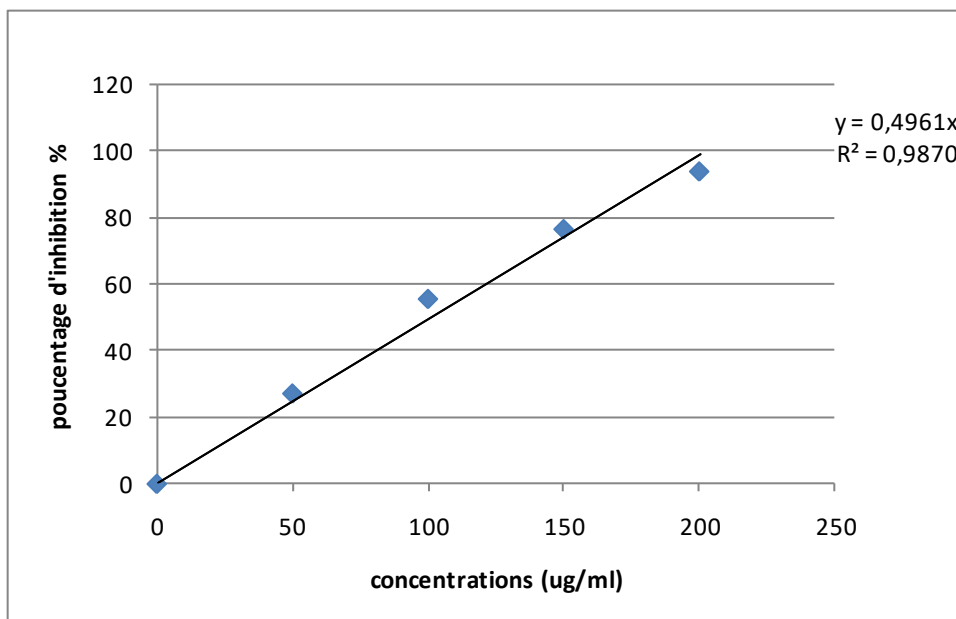


Figure 22 : Courbe des pourcentages d'inhibition de l'ABTS par le Trolox.

Tableau 2: Les activités antioxydantes des extraits méthanolique de *caralluma europaea* et des standards par les différentes méthodes.

Extrait	Capacité antioxydante totale		CI ₅₀ ABTS (mg/ml)
	mg EAA/ g MS	Mg EAA/g extrait	
Extrait de <i>C. europaea</i>	13.03 ± 0.58	119.61 ± 5.33	6.23 ± 0.29
Standards Trolox	--		0.09979 ± 0.00359

Discussion

Les actions médicinales et pharmacologiques des plantes médicinales dépendent souvent de la présence de composés bioactifs, notamment des métabolites secondaires comme les composés phénoliques (Calixto, 2019).

Le rendement d'extraction par le mélange méthanol/ acétone (50/50 : v/v) est de 10.88 %. Un pourcentage supérieur à celui obtenu par Dra et al., (2019) qui est de 4.2 % pour l'extrait méthanolique de la même espèce, mais qui a été précédée par une extraction au dichlorométhane. Cela est expliqué par les différences suivantes : la méthode, le solvant (sa polarité), le pH, la température et le temps d'extraction et même la composition de l'échantillon (Dai et Mumper, 2010 ; Do et al., 2014).

Dans ce travail, nos résultats ont montré que la teneur en polyphénol totaux est de $2.60 \pm 0,15$ mg EAG /g MS (23.86 ± 1.4 mg EAG/ g extrait). Un résultat proche de celui de Dra et al. (2019) qui est de 2.34 mg EAG /g MS dans l'extrait méthanolique de la même espèce. Par contre, il y a une variation significative par rapport aux résultats d'Aaziz et al. (2019) (14.84 ± 0.58 mg EAG /g MS dans l'extrait d'acétate éthylique, et 20.93 ± 0.3 mg EAG /g MS dans l'extrait d'éthanol de *C. europaea*) et de Bourhia et al. (2020) (51.42 ± 0.003 mg EAG /g extrait hydro-éthanolique de *C. europaea*). Le résultat du dosage des flavonoïdes montre que *C. europaea* a une teneur en flavonoïdes de $1,20 \pm 0,18$ mg EC/g MS (11.01 ± 1.67 mg EC/ g extrait). Comme pour les polyphénols, ce résultat est inférieur à celui d'Aaziz et al. (2019) (10.19 ± 0.63 mg EC/g MS dans l'extrait éthanolique et 13.93 ± 0.30 mg EC/g MS dans l'extrait d'acétate d'éthyle) et de Bourhia et al. (2020) mais exprimé en quercétine équivalent (20 ± 0.007 mg EQ/g extrait).

La teneur en tanins condensés est de $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS (11.29 ± 2.32 mg EC/ g extrait). Elle est proche de celle trouvée par Aaziz et al. (2019) et qui est de 2.28 ± 0.03 mg EC/g MS.

La solubilité des solvants est un facteur important qui peut expliquer ces différences entre nos résultats et ceux des travaux antérieurs. D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits, dépend de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction (Ali et al., 2018). Cela peut être attribuable à la solubilité élevée de certains composés phénoliques dans l'acétate éthylique et l'éthanol.

Ces variations seront probablement dues à de nombreux autres facteurs notamment les facteurs climatiques et environnementaux (température, altitude, ensoleillement et précipitation), la zone géographique, la sécheresse et les maladies (**Andarwulan et al., 2010**), la période de collecte des échantillons et le stade de développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004 ; Dallali et al., 2018**).

Les composés phénoliques sont des métabolites végétaux qui constituent le groupe principale de composés qui contribuent aux propriétés antioxydantes, ils peuvent jouer un rôle important dans l'initiation d'actions néfastes des radicaux libres (**Wang et al., 2010**). La richesse des espèces du genre *Caralluma* en composés phénoliques (**Priya et al., 2012 ; Maheshu et al., 2014 ; Devi et Dhamotharan, 2016**), nous a mené à évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de la plante par deux méthodes différentes. La capacité antioxydante qui consiste à réduire le molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence de l'extrait. L'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les conditions semblables à l'extrait a servi de standard. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation de l'activité réductrice de l'extrait de plante testé. La capacité antioxydante totale de l'extrait de *C. europaea* est de 13.03 ± 0.58 mg EAA /g MS. L'étude de **BinMowyna et Alsayadi, 2020**), a montré que La capacité antioxydante totale de *C. deflersiana* est de 1,865 mg équivalents d' α -tocophérol / g MS dans l'extrait méthanolique, de 1,497 mg équivalents d' α -tocophérol / g MS dans l'extrait éthanolique et de 1,412 mg équivalents d' α -tocophérol /g MS dans celui de l'acétate d'éthyle. Un résultat qui confirme l'influence du solvant d'extraction dans la capacité antioxydante totale de la plante.

Les capacités antioxydante des extraits de plantes ne peuvent être mesurées par une seule approche en raison de l'existence dynamique des différents groupes phytochimiques présents dans les plantes (**BinMowyna et Alsayadi, 2020**).

L'activité de piégeage du radical ABTS a été évaluée et l'extrait a une valeur de CI_{50} de 6.23 ± 0.29 mg/ ml. Une activité loin d'être comparée avec celle du Tolox (CI_{50} de 0.09979 ± 0.00359 mg/mL) et faible par rapport aux extraits, méthanolique et hydro-éthanolique, qui à 5 mg/ml inhibent 75.8 ± 1.8 % et 60.1 ± 2.1 % de l'ABTS, respectivement (**Dra et al., 2019**).

Conclusion et perspectives

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les propriétés curatives des plantes. Leur effet antioxydant sur l'organisme dépend de leur composition phénolique.

La présente étude a pour objectif de trouver de nouvelles sources d'antioxydants naturels. A cet effet, nous nous sommes intéressés à quantifier les composés polyphénoliques et à évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, de l'extrait de la partie aérienne de *Caralluma europaea*.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent que les taux des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins dans la plante *Caralluma europaea* sont variables par rapport aux travaux antérieurs. Par ailleurs le test de la capacité antioxydante totale a révélé une activité antioxydante de 13.03 ± 0.58 mg EAA /g MS et un test d'ABTS faible (CI_{50} de 6.23 ± 0.29 mg/ ml) par rapport au standard (Trolox) et même comparés à d'autres extraits de la même espèce étudiée antérieurement.

A l'issue de nos résultats, la partie aérienne de *Caralluma europaea* constitue une source de polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins mais pas prometteuse comme l'indiquent les travaux précédents qui ont montré que les espèces de ce genre sont connues pour leur abondance de composés phénoliques. Ces teneurs sont en corrélation avec l'activité antioxydante modérée de cette plante.

A la lumière de ces résultats, il est important de réaliser d'autres recherches sur cette plante et qui s'intéressent à :

- ✓ Chercher un nouveau protocole d'extraction (autres solvants organiques ou aqueux, autres méthodes d'extraction...) pour optimiser l'extraction de ces molécules.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante par autres méthodes, *in vitro* et *in vivo*.
- ✓ Recherche d'autres activités biologiques (antidiabétique, antiproliférative...).
- ✓ Faire des études de toxicité.

Et ce dans l'espoir de pouvoir arriver à la conceptualisation de nouveaux médicaments efficaces contre les maladies dues aux radicaux libres.

Références bibliographiques

A

- **Adam, V., Mikelova, R., Hubalek, J., Hanustiak, P., Beklova, M., Hodek, P., ... & Kizek, R. (2007).** Utilizing of square wave voltammetry to detect flavonoids in the presence of human urine. *Sensors*, 7(10), 2402-2418
- **Adnan, M., Jan, S., Mussarat, S., Tariq, A., Begum, S., Afroz, A., & Shinwari, Z. K. (2014).** A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of plant genus *Caralluma*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(10), 1351-1368.
- **Ahmed, S. I., Hayat, M. Q., Tahir, M., Mansoor, Q., Ismail, M., Keck, K., & Bates, R. B. (2016).** Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-9.
- **Albers F, Meve U. eds. (2002).** Illustrated handbook of succulent plants. Asclepiadaceae. Heidelberg: Springer
- **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.
- **Andarwulan N., Batari, R., Sandrosari, D. A., Bolling, B. and Wijaya, H., (2010).** Flavonoid content and antioxidant activity of vegetable from Indonesian. *Food chemistry*, 121, 1231-1235.
- **Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198
- **Arbenz, A., & Avérous, L. (2015).** Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. *Green Chemistry*, 17(5), 2626-2646
- **Aaziz, k. , Mehdi, A., Sara, O., Ayoub, A., Zineb, El., Hanane, R., Abdelmajid, Z., & Abderrahman, C., (2019).** Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Caralluma europaea* (Eddaghmous) in Mice. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19 (4), 272.285.

B

- **Ballerini, D. (2011).** *Les biocarburants: répondre aux défis énergétiques et environnementaux des transports*. Editions Technip.

- **Bartosz, G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on toxicology*, 9(1), 5-21.
- **Bengoechea, M. L., Sancho, A. I., Bartolomé, B., Estrella, I., Gómez-Cordovés, C., & Hernández, M. T. (1997).** Phenolic composition of industrially manufactured purees and concentrates from peach and apple fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 4071-4075
- **BENSUSAN, K. (2009).** Taxonomy and conservation status of moroccan stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae-Stapeliinae). *Bull. Misc. Inf.(Kew)*, 121(1913), 67-77.
- **Beklova, M.; Zitka, O.; Gazdik, Z.; Adam, V.; Hodek, P.; Stiborova, M.; Horna, A.; Kizek, R. (2008)** Electroanalytical techniques for determination of flavonoids. *Toxicol. Lett.* 2008, 180, S230-S230.
- **Blazekovic, B., Vladimir-Knezevic, S., Brantner, A., & stefan, M. B. (2010).** Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules*, 15(9), 5971-5987.
- **BinMowyna, MN, & Alsayadi, MM (2020).** Évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes de *Caralluma deflersiana* poussant dans le sud de l'Arabie saoudite. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* , 14 (8), 331-338
- **Boulos L. (2000).** Flora of Egypt 3. Cairo: Al Hadara Publishing, 228–229.
- **Bourhia, M., Slighoua, M., Ibnemoussa, S., Bari, A., Ullah, R., Amagnouje, A., ... & Boust, D. (2020).** Phytochemical study on antioxidant and antiproliferative activities of Moroccan *Caralluma europaea* extract and its bioactive compound classes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020.
- **Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333
- **Buggey, L. (2001).** A review of polyphenolic antioxidants in hops, brewing and beer. *Brewer International*, 1(4), 21-5.

C

- **Calixto JB (2019).** Le rôle des produits naturels dans la découverte de médicaments modernes. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 91 Suppl 3, e20190105.

- **Chang, CC, Chang, YC, Hu, WL et Hung, YC (2016).** Stress oxydatif et salvia miltiorrhiza dans les maladies cardiovasculaires associées au vieillissement. *Médecine oxydative et longévité cellulaire* , 2016 .
- **Chen, X., Dang, T. T. T., & Facchini, P. J. (2015).** Noscapine comes of age. *Phytochemistry*, 111, 7-13
- **Chen, Z., Wu, J., Ma, Y., Wang, P., Gu, Z. et Yang, R. (2018).** Biosynthèse, régulation métabolique et bioactivité des acides phénoliques dans les matières alimentaires végétales. *Shipin Kexue/Sciences alimentaires* , 39 (7), 321-328
- **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
- **Cilla, A., Alegria, A., Attanzio, A., Garcia-Llatas, G., Tesoriere, L., & Livrea, M. A. (2017).** Dietary phytochemicals in the protection against oxysterol-induced damage. *Chemistry and physics of lipids*, 207, 192-205
- **Crespo Villalba, M. B. (2006).** Nomenclatural changes in *Apteranthes* Mikan (Asclepiadoideae, Apocynaceae).
- **Cullen, J., Knees, S. G., Cubey, H. S., & Shaw, J. M. H. (Eds.). (2011).** *The European garden flora flowering plants: a manual for the identification of plants cultivated in Europe, both out-of-doors and under glass* (Vol. 1). Cambridge University Press.

D

- **Dai, J., & Mumper, RJ (2010).** Phénoliques végétaux : extraction, analyse et leurs propriétés antioxydantes et anticancéreuses. *Molécules* , 15 (10), 7313-7352
- **Dallali, S., Aloui, F., Selmi, H., & Sebei, H. (2018).** Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghouan (Tunisia). *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, CIRS* (21), 3429-3438.
- **Deng, GF, Xu, XR, Zhang, Y., Li, D., Gan, RY et Li, HB (2013).** Composés phénoliques et bioactivités du riz pigmenté. *Revue critiques en science alimentaire et nutrition* , 53 (3), 296-306.
- **de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Udo, A. T. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 31-63

- **Devi SG, Dhamotharan R (2016).** Etudes préliminaires sur le criblage phytochimique et les activités antioxydantes in vitro de *Caralluma fimbriata*. *Journal mondial de recherche pharmaceutique* 5(4):1097-1107.
- **Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002.** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- **Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995).** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*, 7(7), 1085.
- **Do, QD, Angkawijaya, AE, Tran-Nguyen, PL, Huynh, LH, Soetaredjo, FE, Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014).** Effet du solvant d'extraction sur la teneur totale en phénol, la teneur totale en flavonoïdes et l'activité antioxydante de *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302. doi:10.1016/j.jfda.2013.11.001
- **Dra, L. A., Sellami, S., Rais, H., Aziz, F., Aghraz, A., Bekkouche, K., ... & Larhsini, M. (2019).** Antidiabetic potential of *Caralluma europaea* against alloxan-induced diabetes in mice. *Saudi journal of biological sciences*, 26(6), 1171-1178.
- **Dutt, H. C., Singh, S., Avula, B., Khan, I. A., & Bedi, Y. S. (2012).** Pharmacological review of *Caralluma R. Br.* with special reference to appetite suppression and anti-obesity. *Journal of medicinal food*, 15(2), 108-119

F

- **Feinbrun-Dothan N. (1977).** *Flora Palaestina* 3. Jerusalem: Israel Academy of Sciences and Humanities
- **Ferreira, D., & Bekker, R. (1996).** Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Natural Product Reports*, 13(5), 411-433.
- **Formisano, C., Senatore, F., Della Porta, G., Scognamiglio, M., Bruno, M., Maggio, A., ... & Sajeve, M. (2009).** Headspace volatile composition of the flowers of *Caralluma europaea* NE Br.(Apocynaceae). *Molecules*, 14(11), 4597-4613.
- **Franck, L. (2018, 23 Mars).** *FloreAlpes*.
https://www.floreAlpes.com/fiche_carralumaeuropae.com

- **Fuchs, H., Bachran, D., Panjideh, H., Schellmann, N., Weng, A., Melzig, M. F., ... & Bachran, C. (2009).** Saponins as tool for improved targeted tumor therapies. *Current drug targets*, 10(2), 140-151
- **Fuinel, G. (2002).** *Arbres et plantes médicinales du jardin*. Fernand Lanore

G

- **Grover, J. K., Yadav, S., & Vats, V. (2002).** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1), 81-100.
- **Guillouty, A. (2016).** *Plantes médicinales et antioxydants* (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- **Gursoy, N., Tepe, B., & Sokmen, M. (2010).** Evaluation of the chemical composition and antioxidant activity of the peel oil of *Citrus nobilis*. *International Journal of Food Properties*, 13(5), 983-991.

H

- **Hemingway, R. W., Tobiasson, F. L., Wayne McGraw, G., & Steynberg, J. P. (1996).** Conformation and Complexation of Tannins: NMR Spectra and Molecular Search Modeling of Flavan-3-ols. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 34(6), 424-433
- **Heneidak S. (2001).** Biosystematic studies on the species of subfamilies Asclepiadoideae and Periplocoideae (Family Apocynaceae sensu lato) in Egypt. PhD Thesis, Faculty of Science, Suez Canal University

I

- **Issiki, Z., Moundir, C., Marnissi, F., Seddik, N., Benjelloun, N., Zaid, Y., & Oudghiri, M. (2017).** Toxicological evaluation of the aqueous extract of *Caralluma europaea* and its immunomodulatory and inflammatory activities. *Pharmacognosy research*, 9(4), 390.

J

- **Jean, B. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- **Jerković, I., & Marijanović, Z. (2010).** Oak (*Quercus frainetto* Ten.) honeydew honey—approach to screening of volatile organic composition and antioxidant capacity (DPPH and FRAP assay). *Molecules*, 15(5), 3744-3756

- **Jonkers B, Walker CC. (1993).** The asclepiads of Morocco – a short commentary. *Asklepios* 59: 14–21.
- **Jost, J. P., & Jost-Tse, Y. C. (2016).** *Stratégie de défense des plantes contre les maladies et les parasites (et: quelques applications prat.* Editions Publibook

K

- **Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013).** Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013.
- **Klejdus, B., Mikelová, R., Petrlová, J., Potěšil, D., Adam, V., Stiborová, M., ... & Kubáň, V. (2005).** Evaluation of isoflavone aglycon and glycoside distribution in soy plants and soybeans by fast column high-performance liquid chromatography coupled with a diode-array detector. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(15), 5848-5852.

L

- **Lamb, B. M., Bensusan, K., Amezian, M., & Wagner, D. R. (2009).** Moroccan Asclepiads following autumn storms. *Cactus and Succulent Journal*, 81(5), 240-255.
- **Lapierre, C. (1993).** Application of new methods for the investigation of lignin structure
- **Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., & Toscano, M. (2004).** Propriétés antioxydantes des composés phénoliques : mécanisme de transfert de l'atome H contre les électrons. *The Journal of Physical Chemistry A* , 108 (22), 4916-4922.
- **Leopoldini, M.; Russo, N.; Toscano, M. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem*, 125, 288–306.
- **Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M., & Li, H.-B. (2014).** *Ressources et activités biologiques des polyphénols naturels.* *Nutriments*, 6(12), 6020-6047
- **Liu, X., Zhan-Guo, G., Wu, Y., Stevens, R. C., Jacobson, K. A., & Zhao, S. (2018).** Author Correction: Salvianolic acids from antithrombotic Traditional Chinese Medicine Danshen are antagonists of human P2Y 1 and P2Y 12 receptors. *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*, 8, 1-4.

M

- **Macheix, J. J. (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?. *Acta botanica gallica*, 143(6), 473-479.
- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* PPUR presses polytechniques
- Maeda, H., & Dudareva, N. (2012). La voie du shikimate et la biosynthèse des acides aminés aromatiques chez les plantes. *Revue annuelle de biologie végétale* , 63 , 73-105.
- **Maheshu, V., Priyadarsini, DT et Sasikumar, JM (2014).** Capacité antioxydante et analyse des acides aminés de *Caralluma adscendens* (Roxb.) Haw var. *fimbriata* (mur.) Grav. & Mayur. parties aériennes. *Journal des sciences et technologies alimentaires* , 51 (10), 2415-2424.
- **Marouf, A., & Reynaud, J. (2007).** *La botanique de A à Z: 1 662 définitions.* Dunod.
- **Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., & Araújo, M. E. M. (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food chemistry*, 103(3), 778-786.
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., ... & Cheng, K. J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469-485
- Meng, X. H., Liu, C., Fan, R., Zhu, L. F., Yang, S. X., Zhu, H. T., ... & Zhang, Y. J. (2018). Antioxidative flavan-3-ol dimers from the leaves of *Camellia fangchengensis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(1), 247-254.
- **Meve, U., & Liede, S. (2002).** A molecular phylogeny and generic rearrangement of the stapelioid Ceropogoneae (Apocynaceae-Asclepiadoideae). *Plant Systematics and Evolution*, 234(1), 171-209.
- **Meve, U., & Heneidak, S. (2005).** A morphological, karyological and chemical study of the *Apteranthes* (*Caralluma*) *europaea* complex. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 149(4), 419-432

- **Miliauskas G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.A., (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85, 231-23

N

- **Nagpala, EG, Guidarelli, M., Gasperotti, M., Masuero, D., Bertolini, P., Vrhovsek, U., & Baraldi, E. (2016).** Variation des polyphénols dans les fruits du cultivar de fraise sensible Alba au cours de la maturation et lors de l'interaction avec des agents pathogènes fongiques et implication possible dans la tolérance des fruits non mûrs. *Journal de chimie agricole et alimentaire* , 64 (9), 1869-1878.

O

- **Okuda, T. (2005).** Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*, 66(17), 2012-2031
- **Ollerton, J., & Raguso, R. A. (2006).** The sweet stench of decay. *New Phytologist*, 172(3), 382-385
- **Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002).** Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3122-3128.

P

- **Panglossi, H. V. (2006).** *Antioxidants: new research.* Nova Publishers.
- **Parejo, I., Codina, C., Petrakis, C., & Kefalas, P. (2000).** Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II)/EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH·(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay. *Journal of Pharmacological and toxicological Methods*, 44(3), 507-512
- **Perron, N. R., García, C. R., Pinzón, J. R., Chaur, M. N., & Brumaghim, J. L. (2011).** Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5), 745-753.
- **Pizzi, A. (2003).** Principles of polymer networking and gel theory in thermosetting adhesive formulations. *Handbook of adhesive technology, revised and expanded.* CRC Press, New York, 181-192.

- **Pizzi, A. (2006).** Recent developments in eco-efficient bio-based adhesives for wood bonding: opportunities and issues. *Journal of adhesion science and technology*, 20(8), 829-846
- **Prabakaran, R., & Kalimuthu, K. (2013).** Antibacterial activity of the whole plant of *Caralluma nilagiriana* Kumari et Subba Rao—an endemic medicinal plant species. *Int J Pharm Bio Sci*, 4(1), 42-48
- **Prieto P, Pineda M, Aguilar M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341
- **Priya D, Rajaram K, Suresh-kumar P (2012).** Études antioxydantes in vitro et phytochimiques préliminaires de la paroi de *Caralluma fimbriata*. *Journal international de recherche pharmaceutique* 4:44-48

R

- **Ramesh, M., Rao, Y. N., Kumar, M. R., Mohan, G. K., Kumar, B. R., Rao, A. A., ... & Reddy, B. M. (1999).** Flavone glycoside from three *Caralluma* species. *Biochemical systematics and ecology*, 1(27), 85-86.
- **Raphaël, O. K., Frédéric, C. M., Benjamin, K. A. B., & Kouamé, D. B. (2020).** Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de deux Annonaceae endémiques (*Uvaria chamae* et *Monanthes capea*) de Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 31(3), 575-586.
- **Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- **Record, I. R., Dreosti, I. E., & McInerney, J. K. (2001).** Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture. *British Journal of Nutrition*, 85(4), 459-464
- **Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.

- **Rizwani, GH, Usmanghani, K., Ahmad, M. et Ahfou, VU (1990).** Glycosides de flavone de *Caralluma tuberculata* NE Brown. *Journal des sciences pharmaceutiques du Pakistan*, 3: 27–32.
- **Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424.
- **Roy, M. K., Koide, M., Rao, T. P., Okubo, T., Ogasawara, Y., & Juneja, L. R. (2010).** ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: relationship between total polyphenol and individual catechin content. *International journal of food sciences and nutrition*, 61(2), 109-124.

S

- **Sajeva, M. (1984),** *Caralluma europaea* (Guss. N.E.Br. and its type locality: Lampedusa Island. *British Cactus and Succulent Journal*, 2: 40-42.
- **Sano, A., Uchida, R., Saito, M., Shioya, N., Komori, Y., Tho, Y., & Hashizume, N. (2007).** Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 53(2), 174-182.
- Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Takeuchi, M., & Ochi, H. (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 37-41
- **Saayman, H. M., & Roux, D. G. (1965).** The origins of tannins and flavonoids in black-wattle barks and heartwoods, and their associated non-tannin components. *Biochemical Journal*, 97(3), 794
- **Schlienger, J. L. (2014).** *Nutrition clinique pratique: chez l'adulte, et l'enfant* Elsevier Masson
- Schofield, P., Mbugua, DM et Pell, AN (2001). Analyse des tanins condensés : une revue. *Science et technologie de l'alimentation animale* , 91 (1-2), 21-40
- **Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I., & Milner, J. A. (2007).** A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of nutritional biochemistry*, 18(9), 567-579.
- **Singh, J. (2008).** Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 67, 32-35.

- **Ślusarczyk, S., Hajnos, M., Skalicka-Woźniak, K., & Matkowski, A. (2009).** Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turcz. *Food Chemistry*, 113(1), 134-138.
- **Sprenger, G. A. (2006).** Aromatic amino acids. In *Amino acid biosynthesis~ pathways, regulation and metabolic engineering* (pp. 93-127). Springer, Berlin, Heidelberg.
- **Sun B, Richardo-da-Silvia JM, Spranger I. 1998.** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274.

V

- **Vermeris W, Nicholson R. 2006.** Phenolic Compound Biochemistry. Edition Springer

W

- **Wink, M. (1993).** Allelochemical properties or the raison d'etre of alkaloids. In *The alkaloids: chemistry and pharmacology* (Vol. 43, pp. 1-118). Academic press.

X

- **Xu, F., Cao, S., Shi, L., Chen, W., Su, X., & Yang, Z. (2014).** Blue light irradiation affects anthocyanin content and enzyme activities involved in postharvest strawberry fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(20), 4778-4783.

Y

- **Yang, M., Wu, Z., Wang, Y., Kai, G., Njateng, G. S. S., Cai, S., ... & Cheng, G. (2019).** Acute and subacute toxicity evaluation of ethanol extract from aerial parts of *Epigynum auritum* in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110534.

Z

- **Zito, P., Sajeve, M., Bruno, M., Maggio, A., Rosselli, S., Formisano, C., & Senatore, F. (2010).** Essential oil composition of stems and fruits of *Caralluma europaea* NE Br.(Apocynaceae). *Molecules*, 15(2), 627-638.
- **Zito, P., & Sajeve, M. (2011).** *Caralluma europaea* on Lampedusa Island. *Asklepios*, 112, 3-14

- **Zorrilla Tejada, R. (2019).** Étude des interactions entre l'epigallo-catéchine-3-gallate et la B-lactoglobuline et de leurs effets sur les propriétés fonctionnelles et biologiques du système

ملخص

الفينولية في مستخلص هذا النبات ، وتقييم النشاط المضاد *Caralluma europaea* إنه نبات طبي يعرض أنشطة بيولوجية مختلفة. يسمح العمل الحالي بتقدير مستويات المركبات للأكسدة في المختبر بطريقتين مختلفتين.

يتم الاستخراج عن طريق النقع في خليط (50/50) ميثانول / أسيتون.

المردود من هذا الاستخراج هو 88,10 بالمئة .

كشف التحليل الكمي للمستخلص عن طريق المقاييس اللونية عن ثراء هذه النبتة بإجمالي البوليفينول والفلافونويد والعص بقيم و 15.0 ± 60.2 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ المادة الجافة و 20.1 ± 18.0 و 23.1 ± 25.0 مغ مكافئ الكاتيشين / غ المادة الجافة على التوالي.)

يشير النشاط المضاد للأكسدة من خلال طريقة السعة الكلية لمضادات الأكسدة إلى أن مستخلص نباتنا يُظهر نشاطًا مضادًا للأكسدة ، في إشارة إلى المعيار (حمض الأسكوربيك) ، يقدر ب 03.13 ± 58.0 مغ مكافئ حمض الاسكوربيك / غ المادة الجافة .

يُظهر اختبار ABTS أن هذا المستخلص له نشاط مضاد للأكسدة بقيم تبلغ IC50 إلى 20.6 ± 29.0 مغ/مل.

ومع ذلك، لا يزال هذا النشاط أقل من نشاط TROLOX.

مصدر للمركبات الفينولية ذات الفعالية المضادة للأكسدة المعتدلة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها مستخلص *Caralluma europaea* ، المحضر بالميثانول و الاسيتون هو

IC 50 , ABTS , *Caralluma europaea* . **الكلمات المفتاحية :** إجمالي البوليفينول ، الفلافونويد ، التانينات ، النشاط المضاد للأكسدة ، إجمالي القدرة المضادة للأكسدة

Résumé :

Caralluma europaea est une plante médicinale qui présente différentes activités biologiques. Le présent travail permet l'estimation des teneurs en composés phénoliques d'un extrait de cette plante, et l'évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro*, par deux méthodes différentes.

L'extraction est faite par macération au mélange méthanol/acétone (50/50 : v/v). Le rendement de cette extraction est de 10.88 %. L'analyse quantitative de l'extrait par des dosages colorimétriques a révélé une richesse de *C. europaea* en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins avec des valeurs de 2.60 ± 0.15 mg EAG/g MS, 1.20 ± 0.18 mg EC/ g MS et 1.23 ± 0.25 mg EC/ g MS, respectivement.

L'activité antioxydante par la méthode de la capacité antioxydante totale indique que l'extrait de notre plante présente une activité antioxydante, en se référant au standard (acide ascorbique), de 13.03 ± 0.58 mg EAA/ g MS. Le test à l'ABTS ressort que cet extrait a une activité antioxydante avec une valeur de CI_{50} de 6.20 ± 0.29 mg/ml. Cependant, cette activité reste inférieure comparée à celle du Trolox.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait *Caralluma europaea*, préparé au mélange méthanol/ acétone, est une source de composés phénoliques à activité antioxydante modérée.

Mots clés : *Caralluma europaea*, polyphénol totaux, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, ABTS, CI_{50} , capacité antioxydante totale.

Abstract :

Caralluma europaea is a medicinal plant which presents different biological activities. The present work allows the estimation of the phenolic compounds contents of an extract of this plant, and the evaluation of the antioxidant activity, *in vitro*, by two different methods.

The extraction is done by maceration in methanol/acetone mixture (50/50 : v/v). The yield of this extraction is 10.88%. The quantitative analysis of the extract by colorimetric assays revealed a richness of *C. europaea* in total polyphenols, flavonoids and tannins with values of 2.60 ± 0.15 mg EAG/g DM, 1.20 ± 0.18 mg EC/ g DM and 1.23 ± 0.25 mg EC/ g DM, respectively.

The antioxidant activity by the total antioxidant capacity method indicates that our plant extract has an antioxidant activity, referring to the standard (ascorbic acid), of 13.03 ± 0.58 mg EAA/ g DM. The ABTS test shows that this extract has an antioxidant activity with an IC50 value of 6.20 ± 0.29 mg/ml. However, this activity remains lower compared to that of Trolox.

The results obtained show that the *Caralluma europaea* extract, prepared in methanol/acetone mixture, is a source of phenolic compounds with moderate antioxidant activity.

Keywords: *Caralluma europaea*, total polyphenol, flavonoids, tannins, antioxidant activity, ABTS, IC50, total antioxidant capacity.