

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



Université de Tlemcen

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

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire des Produits naturels

« LAPRONA »

MEMOIRE

Présenté par

AZZOUZI Kawther

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 DPPH d'un extrait de *Caralluma
europaea* (Guss.)**

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

Dr CHAOUCHE Tarik Mohammed	Président	MCA à l'Université de Tlemcen
Dr MEZOUAR Dounia	Examineur	MCB à l'Université de Tlemcen
Dr CHAOUCHE Farah	Encadreur	MCA à l'Université de Tlemcen

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

Tout d'abord, j'exprime mes remerciements à **ALLAH** de m'avoir donné la patience, santé, le courage et la force d'aller au bout durant ces longues années d'étude.

J'adresse le grand remerciement au **Dr CHAUCHE-HADDOUCHI Farah**, maître de conférences classe « A » à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir acceptée de m'encadrer, pour ses orientations, sa disponibilité, sa générosité, sa gentillesse, son soutien et ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire.

Je remercie chaleureusement **Dr. CHAUCHE Tarik Mohammed**, maître de conférences classe « A » à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen, qui m'a fait l'honneur par sa présence en qualité de Présidente de jury.

J'exprime ma gratitude au **Dr. MEZOUAR Dounia**, maître de conférences classe « B », Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent à **M^{lle} GHELLAI Imène**, doctorante à l'université de Tlemcen, qui n'a pas hésité à m'aider à la réalisation de ce travail dans le laboratoire, Merci également pour votre disponibilité et votre gentillesse.

Je remercie également tous les membres du laboratoire « LAPRONA » à l'université de Tlemcen.

Je veux également remercier mes collègues et amis de toute la durée d'étude qui ont contribué par leur soutien et amitié.

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui grâce à leur disponibilité et à leur bonne humeur, m'ont soutenu en rendant agréable les moments passés ensemble.

Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

A Mon chère père **Abdellah**, rien ne peut exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour vous. Merci mes chères vos soutien moral et financier, pour vos sacrifices pour me voir réussir. Que Dieu vous garde en bonne santé.

A ma chère Mère **Faiza**, l'impulsion de mon cœur, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, je vous remercie beaucoup pour ta tendresse et gentillesse.

A mes sœurs **Assia** et **Amel** pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études. La fraternité est à l'abri de toutes les intempéries.

Et à ma chère petite nièce **Meriem**.

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

A mes très chères amies **Sara et Nesrine, Riheb et Chaimaa**, dieu seul sait à quel point vous allez me marquer, chacune a sa place unique dans mon cœur, merci pour tous les souvenirs que j'en garde.

A mes amies **Nihel, Wissam, Rim et Djamila**, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études. J'ai passé avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

Sans oublier la promotion de master en Biochimie 2020-2021, en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

Table de matière

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des photos

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

PARTIE 1 Recherche bibliographique..... 3

CHAPITRE I La plante *Caralluma europaea*..... 4

1. Description botanique de genre *Caralluma*..... 5

2. Description botanique de l'espèce *Caralluma europaea*..... 6

2.1. Définition et répartition géographique 6

2.2. Taxonomie..... 7

2.3. Synonymes et noms vernaculaires..... 7

2.4. Morphologie de *Caralluma europaea* 8

3. Utilisation traditionnelle de *C. europaea* 9

4. Composition chimique et activités biologiques de *C. europaea* 9

5. Les études antérieures 10

CHAPITRE II Les métabolites secondaires 12

1. Métabolites secondaires..... 13

2. Les composés phénoliques 13

3. Les flavonoïdes..... 15

3.1. La classification :..... 16

3.2. Les propriétés biologiques des flavonoïdes..... 17

4. Tanins 18

4.1. La classification..... 19

4.2. Les propriétés biologiques des tanins :..... 20

CHAPITRE III Le stress oxydatif et les antioxydants 22

1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS)..... 23

2. Le stress oxydatif..... 23

3. Les antioxydants..... 24

3.1. Classification des antioxydants 24

3.2. Les antioxydants végétaux	25
4. Les méthodes de mesuré l'activité antioxydante.....	26
4.1. Test du piégeage du radical libre (DPPH).....	26
4.2. Le test ABTS.....	27
4.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	28
PARTIE2 Partie expérimentale	29
CHAPITRE IV Matériels et méthodes	30
1. Matériel et méthodes utilisées	31
1.1. Matériel végétal.....	31
1.2. Produits chimiques, réactifs et matériels utilisés.....	31
1.3. Extraction du matériel végétal.....	31
1.4. Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits	32
1.4.1. Polyphénols totaux	32
1.4.2. Flavonoïdes totaux.....	33
1.4.3. Tanins condensés.....	33
1.5. Estimation des activités biologiques, <i>in vitro</i>	34
1.5.1. Détermination de l'activité antioxydante	34
1.6. Analyses statistiques.....	36
CHAPITRE V Résultats et discussion.....	37
1. Résultats	38
1.1 Rendement de l'extrait méthanolique de <i>C. europaea</i>	38
1.2. Analyses quantitatives de polyphénols totaux.....	38
1.3. Analyses quantitatives de flavonoïdes.....	39
1.4. Analyses quantitatives de tanin	40
1.5. Évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT).....	40
1.6. Évaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH.....	41
2. Discussion	43
Conclusion	46
Références bibliographiques.....	48
Annexes	
Résumé	

ملخص

يتكون هذا العمل من تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد والعفص وتقييم النشاط المضاد للأوكسدة في المختبر لمستخلص الميثانول / الأسيتون من الجزء الجوي لمستخلص *Caralluma europaea* الذي يبيعه المعالجون بالأعشاب. معدل الاستخلاص 10.88%. محتويات المستخلص في البوليفينول والفلافونويد والعفص هي 0.17 ± 2.56 mgMS /EAG ± 1.32 ، 0.25 ± 1.23 ECmgg/MS على التوالي. يكشف تقييم التأثير المضاد للأوكسدة للمستخلص عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH بقيمة $IC_{50} = 0.366 \pm 0.007$ mg/ml مما يعكس نشاطاً منخفضاً مقارنةً بالمعيار BHT، تظهر نتيجة القدرة الكلية المضادة للأوكسدة أن المستخلص يحتوي على 1.98 ± 12.43 mgMS /EAA، مقدرة بالنسبة لحمض الأسكوربيك. تشير النتائج إلى أن *C. europaea* لديها قوة معتدلة من مضادات الأوكسدة.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضادات الأوكسدة، *Caralluma europaea*، البوليفينول، الفلافونويد، التانين، DPPH، IC_{50} ، مضادات الأوكسدة، إجمالي القدرة المضادة للأوكسدة.

Résumé

Ce travail constitue à quantifier les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins et à évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, de l'extrait du méthanol/acétone de la partie aérienne de *Caralluma europaea* vendu chez l'herboriste. Le rendement d'extraction est de 10,88 %. Les contenus de l'extrait en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins sont $2,56 \pm 0,17$ mg EAG/g MS, $1,32 \pm 0,16$ mg EC/g MS et $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS, respectivement. L'évaluation de l'effet antioxydant de l'extrait par le piégeage du radical libre DPPH révèle une valeur de CI_{50} de $0,366 \pm 0,007$ mg/ml ce qui reflète une faible activité comparée à celle du standard, le BHT. Le résultat de la capacité antioxydante totale montre que l'extrait a une teneur de $12,43 \pm 1,98$ mg EAA/g MS, estimée par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats suggèrent que *C. europaea* un pouvoir antioxydant modérée.

Mots clés : Activité antioxydante, *Caralluma europaea*, polyphénols, flavonoïdes, tanins, DPPH, CI_{50} , capacité antioxydante totale.

Abstract

This work is to quantify polyphenols, flavonoids and tannins and to evaluate the antioxidant activity, in vitro, of the methanol/acetone extract of the aerial part of *Caralluma europaea* sold at the herbalist. The extraction yield was 10.88%. The contents of polyphenols, flavonoids and tannins in the extract are 2.56 ± 0.17 mg EAG/g DM, 1.32 ± 0.16 mg EC/g DM and 1.23 ± 0.25 mg EC/g DM, respectively. Evaluation of the antioxidant effect of the extract by DPPH free radical scavenging reveals an IC₅₀ value of 0.366 ± 0.007 mg/ml which reflects a low activity compared to that of the standard, BHT. The result of total antioxidant capacity shows that the extract has a content of 12.43 ± 1.98 mg EAA/g DM, estimated against ascorbic acid. The results suggest that *C. europaea* has a moderate antioxidant capacity.

Keywords : Antioxidant activity, *Caralluma europaea*, polyphenols, flavonoids, tannins, DPPH, IC₅₀, total antioxidant capacity.

Liste des photos

Photo 1: Caralluma europaea cachée dans les crevasses des rochers.....	6
Photo2 : Tiges et feuilles de Caralluma europaea.	8
Photo3: Fleurs de Caralluma europaea.....	9

Liste des figures

Figure 1: Carte de distribution de Caralluma europaea (lignes brisées). Sa localité type (Italie, Lampedusa) est marquée par un triangle.....	7
Figure 2: Les deux voies principales de production de composés phénoliques dans les plants	14
Figure 3: Squelette de base des flavonoïdes	16
Figure 4: Principales classes de flavonoïdes	16
Figure 5: Principales sous-classes des flavonoïdes	17
Figure 6: Classification des antioxydants par le Conseil, adaptée de Carocho et Ferreira	25
Figure 7: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)	26
Figure 8: Protocole d'extraction des extraits bruts.	32
Figure 9: Forme réduite du radical DPPH°	35
Figure 10: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés polyphénoliques	39
Figure 11: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	39
Figure 12: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins.....	40
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale.	41
Figure 14: Courbe des pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de C. europaea	42
Figure 15: Courbe des pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de BHT.	43

Liste des tableaux

Tableau 1: Taxonomie de <i>Caralluma europaea</i>	7
Tableau 2: Les rendements et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les extraits du <i>Caralluma europaea</i>	38
Tableau 3: Le résultat de test d'inhibition du radical DPPH•, par l'extrait de <i>C. europaea</i> ...	42
Tableau 4: Le résultat de test d'inhibition du radical DPPH• par le BHT	42
Tableau 5: Les activités antioxydantes (moyenne \pm écart type) de l'extrait de <i>C. europaea</i> (Guss.) et de standard par deux méthodes, la CAT et le piégeage du radical.	43

Liste des abréviations

DPPH : radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

CI50 : concentration d'inhibition a 50%.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

Da : daltons.

VIH : virus sida.

UV-Vis : ultraviolet-visible

FRAP : pouvoir antioxydant réducteur ferrique.

Rdt : rendement.

N : normalité.

CAT : la capacité antioxydante totale.

Introduction

Introduction

Les relations entre les plantes et les hommes existent depuis l'antiquité. L'homme, dans son environnement, a accordé un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (Muthu et al.,2006). En effet, la majeure partie des thérapies implique l'exploitation du principe actif des plantes médicinales (Mpondo et al., 2012). D'autant plus que, ces dernières années, la phytothérapie par les plantes riches en alcaloïdes et en composés phénoliques a connu un grand regain. Ces molécules peuvent produire une action physiologique définie sur le corps humain (Aiyelaagbe et Osamudiamen2009) tels que des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses et antibactériennes, qui pourraient constituer une source de thérapie alternative (Kebbou et al., 2019).

L'une des plantes médicinales utilisées est *Caralluma europaea* de la famille des Apocynaceae (Asclepiadoideae). C'est une plante distribuée dans le sud-est de l'Espagne, le sud de l'Italie, Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye et l'Egypte, jusqu'en Jordanie et sur l'île de Lampedusa. Les espèces de ce genre témoignent de leur valeur pour l'homme (Meve et Heneidak, 2005) et suscitent un grand intérêt dans les domaines scientifiques en raison de ses activités immunostimulantes et pharmacologiques intéressantes (Sireesha et al., 2018). Ces activités pourraient être dues à ses composés phytochimiques (Monte et al., 2014 ; Malladi, et al., 2017).

Les polyphénols, sont particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans plusieurs domaines et comme antioxydants naturels puissants contre les effets du stress oxydant (Oszmianski& al., 2007). L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité antioxydante d'un extrait du *Caralluma europaea*, vendu chez l'herboriste.

Ce travail est subdivisé en deux parties essentielles. La première partie comprend trois chapitres dont :

- Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la plante ;
- Le deuxième chapitre sur les métabolites secondaires ;
- Le troisième chapitre donne un aperçu général sur le stress oxydatif et antioxydants ainsi que sur les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydants.

La deuxième partie expérimentale comprend :

- Le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes, utilisés dans ce travail ;
- Le deuxième chapitre rapporte les résultats et une discussion.

PARTIE 1

Recherche bibliographique

CHAPITRE I

La plante *Caralluma europaea*

1. Description botanique de genre *Caralluma*

Le mot « *Caralluma* » vient du mot arabe « qarh al-luhum », qui signifie blessure dans la chair ou abcès (Adnan et al., 2014).

Des études moléculaires et génétiques modernes ont montré qu'Asclepiadaceae est considéré comme une sous-famille dans la famille d'Apocynaceae (Meve et Liede, 2004). Auparavant, le genre *Caralluma* appartenait à la famille des Asclepiadaceae, également connue sous le nom de famille des Asclépiades (Bensuzan, 2009).

Morphologiquement, la plante de *Caralluma* est érigée, rampante et brouillonne (Meve et Liede, 2004). C'est une herbe d'environ 15-45 cm à 1 m de hauteur avec des tiges sous le gazon. Les fleurs succulentes en forme d'étoile de ces plantes produisent l'odeur la plus désagréable de toutes les plantes succulentes. Habituellement, ces plantes poussent à la fin de l'été et les fleurs nauséabondes sont généralement violettes, noires, jaunes, brunes, rouges ou brun foncé. Ces fleurs sont pollinisées par les mouches, qui sont fortement attirées par ces plantes (Saxena et Sarbhai, 1975). La fleur est en forme d'ombelle et a diverses couleurs sombres. Le calice est divisé en 5 parties, de lobes ovales à linéaires-lancéolés (Bensuzan, 2009).

Caralluma est largement répandu en Asie (en Afghanistan, en Inde, en Iran, au Pakistan et au Sri Lanka), en Afrique, dans la péninsule arabique, aux îles Canaries et en Sud- Est d'Europe (Meve et Liede, 2004).

Les espèces de ce genre sont adaptées aux conditions ensoleillées et peuvent être cultivées à l'extérieur dans des zones douces où la température n'est pas inférieure à 10 ° C ou dans des serres ou des jardins de fenêtres (Mustafa, 2014).

Caralluma est un petit genre de six espèces, montrant une répartition étonnamment septentrionale et étendue. Il existe une variabilité florale et végétative considérable. Ce qui a incité de nombreux taxonomistes et fleuristes régionaux à décrire les races morphologiques, écologiques ou géographiques comme de nouvelles espèces, sous-espèces, variétés ou formes. (Meve et Heneidak, 2005).

2. Description botanique de l'espèce *Caralluma europaea*

2.1. Définition et répartition géographique

Caralluma europaea (Guss.) ou *Apteranthes europaea* (Guss.) Murb., de la famille des Apocynacées, est localement connue sous le nom de « ddagmûs » (Meve et Heneidak, 2005). C'est une espèce succulente sans feuilles, très cachée dans les crevasses des rochers ou des buissons de *Thymus capitatus* et est difficile à voir au premier abord (photo 1) (Dra et al., 2019).



Photo 1: *Caralluma europaea* cachée dans les crevasses des rochers (Garcin, 2018).

Cette espèce a été décrite pour la première fois en Italie, sur la petite île de Lampedusa en Méditerranée (dans les criques de la côte sud) (Gussone, 1839). Elle pousse en Jordanie et dans les pays méditerranéens (Dra et al., 2019). C'est l'une des plantes médicinales les plus couramment utilisées en médecine traditionnelle, distribuée au Maroc, en Egypte, en Espagne, en Italie, en Libye, en Tunisie et en Algérie (figure 1). Sur le côté méditerranéen, la collecte est particulièrement sporadique, indiquant que l'aire de répartition de l'Afrique est partiellement dispersée. Cette espèce préfère les peuplements forestiers ombragés, comme le fond des buissons, où les plantes sont souvent perturbées. Dans un sol sableux profond, ils peuvent facilement former des rhizomes (Meve et Heneidak, 2005).

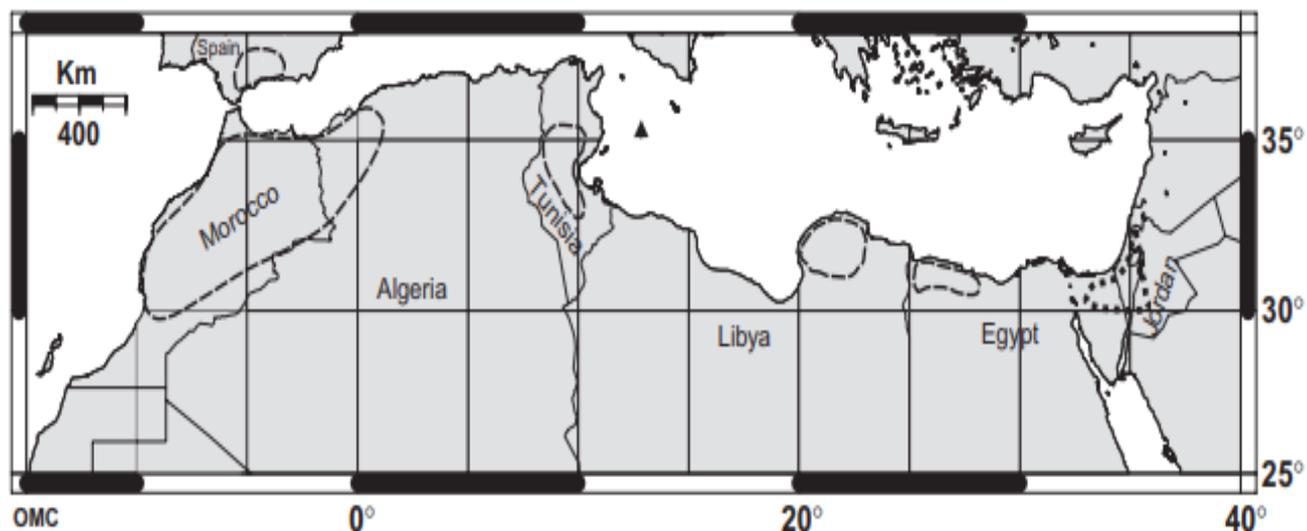


Figure 1: Carte de distribution de *Caralluma europaea* (lignes brisées). Sa localité type (Italie, Lampedusa) est marquée par un triangle (Meve et Heneidak, 2005).

2.2. Taxonomie

Tableau 1: Taxonomie de *Caralluma europaea* (Crespo villalba, 2006).

Famille :	<i>Apocynaceae</i>
Sous- famille :	<i>Asclepioidea</i>
Tribu :	<i>Ceropegieae</i>
Sous-tribu :	<i>Stapeliinae</i>
Genre Espèce :	<i>Caralluma europaea</i>

2.3. Synonymes et noms vernaculaires

- Les synonymes de la plante sont :

Boucerosia europaea (Guss.) G. Nicholson, *Caralluma europaea* (Guss.) NEBr., *Ceropegia europaea* (Guss.) Bruyns, *Desmidorchis europaea* (Guss.) Kuntze, *Stapelia europaea* Guss (Govaerts, 1995) et *Apteranthes europaea* Guss (Meve et Liede, 2004).

- Elle est connue sous les noms vernaculaires suivant : « **Daghmous** », « **Zakkum** » ou « **Tikiwt** » (Bellakhdar et al., 1991 ; Bellakhdar, 1997).

2.4. Morphologie de *Caralluma europaea*

Cette espèce forme de gros blocs d'un diamètre de 15 à 20 cm (**Sajeva et Bellini, 1984**). Sur les roches, les plantes forment généralement des grappes compactes de tiges assez épaisses (jusqu'à 30 mm de diamètre) (**Meve et Heneidak, 2005**). Sa tige est quadrilatérale, les plus jeunes sont verts et ont de petites feuilles qui se fanent rapidement, tandis que les plus anciennes sont grises, brûlées par le soleil et en forme de vent, symbolisant l'île (**Photo 2**) (**Sajeva et Bellini, 1984**).



Photo2 : Tiges et feuilles de *Caralluma europaea* (**Homrani Bakali, 2018**).

La forme de rudiment foliaire est une caractéristique de haute spécificité taxonomique dans de nombreux groupes de cette famille et elle est très variable chez *Caralluma europaea*. Les couleurs vont du vert clair uniforme au vert foncé ou bleu-vert foncé, et souvent mouchetées de vert foncé ou de violet (**Meve et Heneidak, 2005**).

La disponibilité accrue de matériel végétal a prouvé la variabilité infraspécifique surtout en ce qui concerne la structure, de taille et la ciliation de la corolle florale (**Jonkers et Walker, 1993**.) qui ont une odeur de l'urine et une douce odeur de pourriture sensu. La couleur de base de la surface de la corolle, constituée de poils simples ou de cils en surface.

En Europe et en Afrique, il existe des rayures transversales denses, dont la couleur va du rouge brique au rouge violacé (**Photo 3**). Il existe d'autres formes avec des rayures brunes grossières sur fond vert (**Meve et Heneidak, 2005**) ou brun rougeâtre avec des rayures

jaunes. Les fleurs ont 10 à 15 mm de diamètre (Sajeva et Costanzo, 1994). Le fruit est un follicule qui se dessèche à maturité (Sajeva, 1984).



Photo3: Fleurs de *Caralluma europaea* (Hassler, 2021).

3. Utilisation traditionnelle de *C. europaea*

En médecine traditionnelle, il est recommandé de mélanger la partie aérienne de *C. europaea* avec du miel ou du lait, sous forme de jus ou de poudre pour lutter contre les maladies, telles que l'inflammation, les ulcères, le diabète et les bactéries infectieuses (Bellakhdar et al., 1991).

4. Composition chimique et activités biologiques de *C. europaea*

Les espèces du genre *Caralluma* sont connues pour leur richesse en composés phénoliques (Villano et al., 2007 ; Priya et al., 2012 ; Devi et Dhamotharan, 2016). Le criblage phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, alcaloïdes, quinones, tanins catéchiques, tanins galliques et saponines (N'Guessan et al., 2009 ; Dohou et al., 2003). Une corrélation positive a été trouvée entre la propriété antioxydante et les polyphénols qui sont bien connus pour posséder une activité antioxydante élevée (Villano et al., 2007).

Les espèces du genre *Caralluma* sont riches en glycosides polyhydroxypregnane estérifiés, dont certains ont montré une activité antitumorale, tandis que d'autres sont considérés comme des précurseurs cardénolides. Ce genre est également caractérisé par la présence de flavones glycosides (Bader et al., 2003).

Quatre des volatiles les plus abondants (pentane, hexadécane, heptane et acide hexadécanoïque) sont trouvés dans *C. europaea* qui sont phéromone mâle pour *Danaus Chrysippus* (un papillon dont les larves sont riches en cardénolides comme les Apocynaceae) (Schulz et al., 1993).

Le genre a été largement exploré pour une variété d'activités pharmacologiques (antiparasitaires, neuroprotectrices...) (Wen et al., 2016). En raison de ses effets thérapeutiques présumés, la littérature antérieure a rapporté certaines activités pharmacologiques de *C. europaea* telles que les activités antinociceptives, antiulcéreuses, antihyperglycémiques, antioxydantes et cytotoxiques, anti-inflammatoires, anti-kystes, anticancéreux, anti-diabétiques, anti-gastro-intestinaux, anti-athérosclérose et antimicrobiens (Adnan et al., 2014).

5. Les études antérieures

Les études antérieures sur *Caralluma europaea* montrent que :

Une étude de l'activité antioxydante évaluée par la méthode de piégeage du radical (DPPH), a montré que l'huile essentielle présentait une activité antioxydante avec la valeur de $CI_{50} 1,45 \pm 0,019$ mg/ml. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a inhibé les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* à des concentrations de 7,5 mg/ml, 7,5 mg/ml, 3,75 mg/ml et 3,75 mg/ml respectivement). En revanche les bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* et *Pseudomonas aeruginosa*) ont été inhibées avec les valeurs de CMI les plus élevées (30 mg/ml), indiquant que l'huile essentielle a une faible activité contre les bactéries Gram-négatives. L'huile essentielle a également montré une activité anticandidale intéressante contre les souches de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. Krusei*, et *C. parapsilosis* avec des valeurs CMI de 3,75 mg/ml, 7,5 mg/ml, 7,5 mg/ml, 1,875 mg/ml, respectivement) (Ait Dra et al., 2018 a).

L'étude antidiabétique a montré une activité anti hyperglycémique évidente et puissante de l'extrait méthanolique de cette plante à une dose de 500 mg/Kg contre le diabète induit par l'alloxan chez les souris (Ait Dra et al., 2018 b).

L'étudié sur la toxicité aiguë, de deux extraits (éthanoliques et acétate d'éthyle) de *C. europaea*, a montré que la DL_{50} évaluée, *in vivo*, sur des souris est supérieure à 5 g/kg. En

CHAPITRE I : La plante *Caralluma europaea*

fait, aucune mortalité ou signe de toxicité et aucun changement de poids corporel n'a été observé pendant les 48 heures suivant l'administration d'une dose unique (0,5, 1, 2,5 et 5 g/kg de poids corporel) de chacun de ces deux extraits (**Kebbou et al., 2019**).

L'activité antiproliférative des composés naturels des parties aériennes de *Caralluma europaea* a été testée contre deux lignées cellulaires humaines de cancer du sein, MDA-MB-231 et MCF-7 (cellules tumorales mammaires la plus utilisée dans les laboratoires de recherche sur le cancer du sein). Les saponines ont clairement montré une activité antiproliférative significative sur les deux lignées cellulaires, avec des valeurs de CI_{50} de 5,097 μ g / ml et 4,195 μ g / ml contre MCF7 et MDA-MB-231, respectivement. Les résultats suggèrent que cette plante peut avoir un potentiel considérable pour le développement d'agents anticancéreux naturels efficaces. Le contenu phénolique des parties aériennes de *C. europaea* a été déterminé. La valeur était de $51,42 \pm 0,003$ mg équivalent d'acide gallique/g d'extrait. Concernant la teneur totale en flavonoïdes, la valeur était de $20,06 \pm 0,007$ mg équivalent de la catéchine /g d'extrait. En ce qui concerne l'étude de l'activité antioxydante, la fraction riche en flavonoïdes ($CI_{50} = 1,51$ mg/ml) était plus prononcée par rapport aux autres extraits hydroéthanoliques ($CI_{50} = 1,628$ mg/ml), aux saponines ($CI_{50} = 1,94$ mg/ml) et aux mucilages ($CI_{50} = 9,674$ mg/ml) par la méthode de piégeage du radical DPPH.

L'analyse statistique a montré une différence significative entre les valeurs CI_{50} de tous les extraits testés et celle de l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,23$ mg/ml) (**Amrati et al., 2020**).

CHAPITRE II

Les métabolites secondaires

1. Métabolites secondaires

Contrairement aux métabolites primaires qui sont des protéines, des glucides et des lipides, les plantes ont des métabolites dits « secondaires » (**Krief, 2003**). Ce sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes et elles sont responsables des fonctions périphériques indirectement nécessaires à la vie des plantes (**Boudjouref, 2011**).

Les métabolites secondaires sont exprimés dans différentes parties de plantes (feuille, racine, bourgeon, écorce), à différents stades de croissance (plantule, graines, arbres matures), sous différentes pressions de l'environnement (microorganismes envahissants, herbivores) (**Verpoot, 1998**).

Ils participent à l'adaptation des plantes à l'environnement, à la régulation des symbioses et autres interactions plantes-animaux à la tolérance des plantes aux différents stress biotiques (pathogènes, blessures, symbiose) ou non biotiques (lumière, rayonnements ultraviolets, basse température, carences) et pour attirer les agents responsables de la pollinisation. Ils peuvent être des anti-nutriments et nombreux sont toxiques. (**Boubakri, 2014 ; Mansour, 2015**).

2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont les métabolites secondaires les plus abondants et les plus omniprésents dans le règne végétal. À l'heure actuelle, il existe plus de 8 000 structures phénoliques connues, avec des structures et des poids moléculaires très divers, allant des simples composés phénoliques <100 Da à des structures hautement polymérisées> 30 000 Da. Les polyphénols sont largement distribués dans les aliments humains (aliments et boissons d'origine végétale) et contribuent leurs qualités organoleptiques des aliments végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (**Visioli et al., 2000 ; Ky et al., 2016**).

Ils sont dérivés par deux voies métaboliques principales : la voie de l'acide shikimique et la voie acétate / acide malonique (**Ghasemzadeh, A. et Ghasemzadeh, N. 2011**).

La voie de l'acide shikimique est la voie essentielle pour la biosynthèse des acides aminés aromatiques : phénylalanine, tyrosine et tryptophane utilisés comme précurseurs des flavonoïdes, acides phénoliques, alcaloïdes ... (**Ghasemzadeh, A. et Ghasemzadeh, N. 2011**).

La glycolyse et la β -oxydation conduisent à la formation d'acétyl-CoA qui à son tour produit du malonate et la condensation répétée d'unités « d'acétate » produit la cyclisation de la chaîne polycétonique et la formation de composés phénoliques (**Figure 2**) (**Akroum, 2010**).

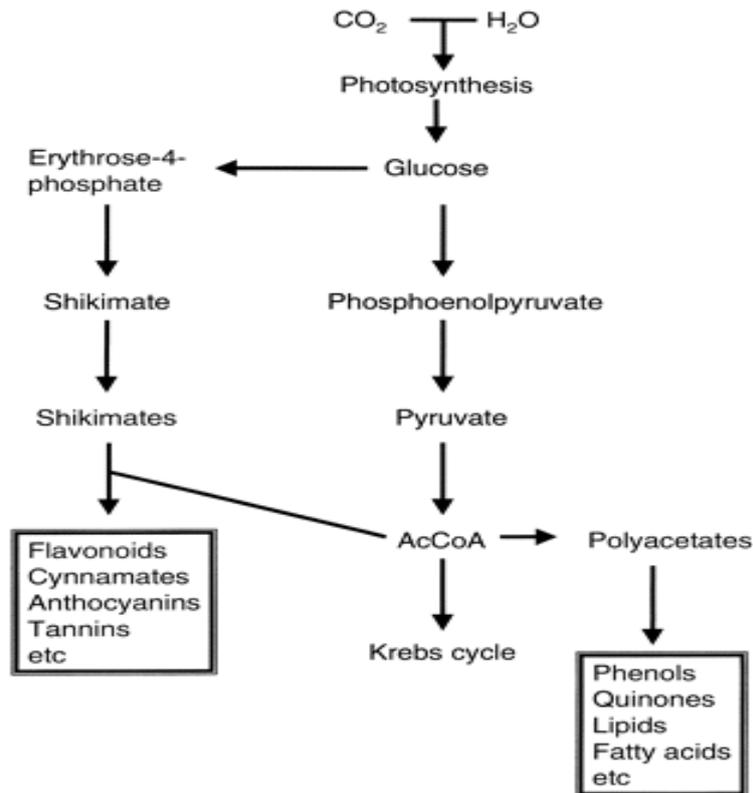


Figure 2: Les deux voies principales de production de composés phénoliques dans les plantes (Visioli et al., 2000).

Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytoplasme et sont donc stockés dans des vacuoles spécifiques et des parois. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués avec des sucres ou des acides organiques, augmentant ainsi leur solubilité et limitant leur toxicité pour les cellules. Au niveau de la paroi, ils ont constaté que la lignine et les flavonoïdes sont principalement liés à la structure pariétale (Bénard, 2009).

Ils ont une structure commune contenant un noyau benzénique aromatique avec un ou plusieurs substituants hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : ester ou hétéroside. Ils représentent un groupe large et diversifié de molécules composé de deux familles principales : les flavonoïdes basés sur un squelette commun $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ (les flavones, les flavanones, les flavonols, les isoflavones, les anthocyanes, les proanthocyanidines et les flavanols) et les non-flavonoïdes (les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines, les coumarines et les tanins) (Ky et al., 2016).

Ils présentent des propriétés antibactériennes et sont des phytoalexines (Hoffmann, 2003). Ce sont de puissants antioxydants (Oszmianski et al., 2007) parce qu'ils peuvent piéger les radicaux libres et activer d'autres antioxydants présents dans le corps. Ce principe a été utilisé pour fabriquer une variété de médicaments, tels que le Daflon (Kenny et al., 2007).

3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus répandu et le plus commun de composés phénoliques végétaux et sont les principaux composants colorants des plantes à fleurs (**Koes et al., 2005**).

Ils sont connues d'être synthétisées par les plantes en réponse à des infections microbiennes (**Dixon et al., 1983**) et leurs activités et leurs propriétés chimiques (la délocalisation des électrons, le réarrangement moléculaire, le piégeage ROS, la liaison hydrogène intra et intermoléculaire, la chélation des ions métalliques, les effets stériques et les propriétés électroniques) dépendent de leur structure, du degré d'hydroxylation, d'autre substitution et conjugaison et du degré de polymérisation (**Kelly et al., 2002 ; Li et al., 2018**).

Ils ont une structure benzo- γ -pyrone (**Mahomoodally et al., 2005**). Ayant une chaîne principale de 15 atomes de carbone, qui sont composés de deux cycles benzéniques A et B reliés par un cycle pyranne hétérocyclique (cycle C) pour former le noyau flavane C₆-C₃-C₆ qui sont représentés sur la **figure 3** (**Petrussa et al., 2013**). Le noyau B et le pont de carbone constituent une unité phénylpropanoïdes synthétisée à partir de la phénylalanine dérivant de la voie de l'acide shikimique, et le noyau A provenant à partir de la condensation des 3 unités d'acétate via la voie de l'acide malonique (**Crozier, 2003**).

Les flavonoïdes se présentent sous forme d'aglycones, de glycosides et de dérivés méthylés (**Li et al., 2018**).

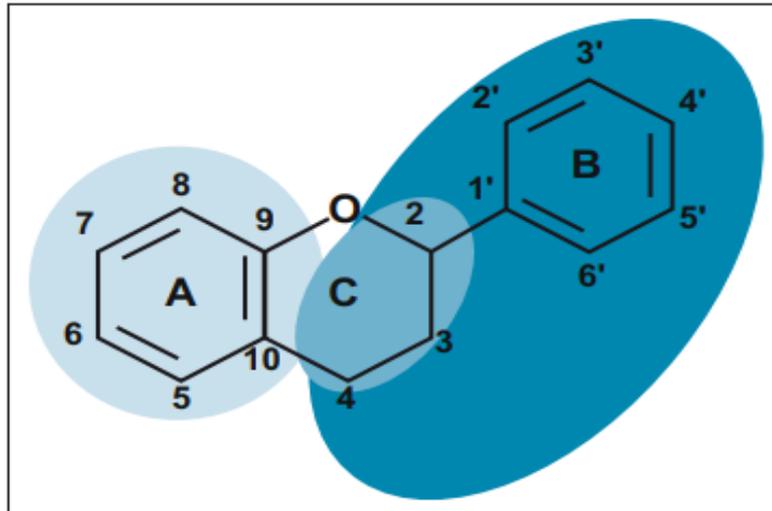


Figure 3: Squelette de base des flavonoïdes (Chira et al., 2008).

En bleu ciel, pont 3 carbones ; en bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique ; en bleu foncé, partie provenant de la voie de l'acétate

3.1. La classification :

La position du substituant aryle divise la famille des flavonoïdes en différentes catégories, à savoir les flavonoïdes (2-arylflavanes), les isoflavonoïdes (3-arylflavones) et les néoflavonoïdes (4-arylflavanes) (Kumar et Pandey, 2013). De plus, les flavonoïdes apparaissent souvent sous la forme de composés de flavane à chaîne ouverte pour produire de la chalcone, ou sous la forme de dérivés du cycle C à 5 chaînons, des auronnes et les auronols (figure 4).

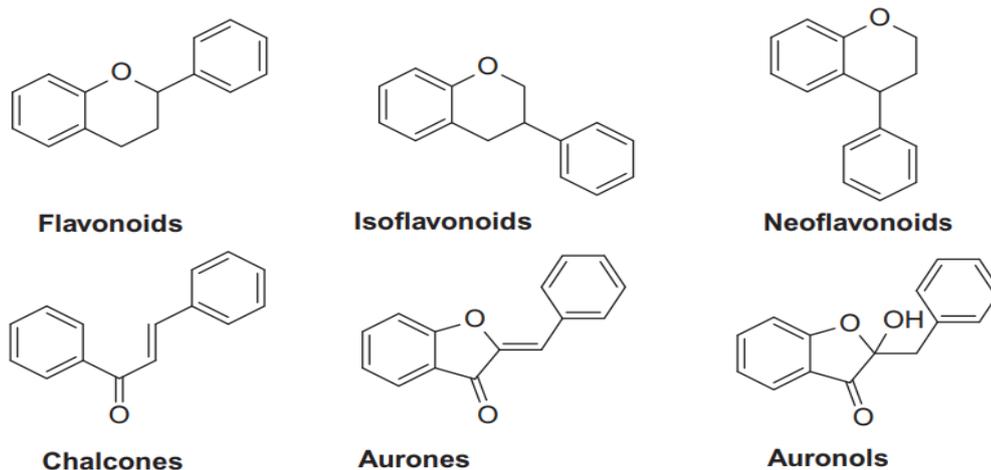


Figure 4: Principales classes de flavonoïdes (Catarino et al., 2016).

Généralement, les changements dans le niveau d'oxydation et les modèles de substitution du cycle C impliquent le groupe fonctionnel cétone (pyrone ou furanone) et / ou le groupe 3-hydroxyle sur le noyau du flavonoïde, ce qui entraîne diverses classes, y compris les flavones, les flavon-3-ols et flavanones, dihydroflavon-3-ol et les anthocyanines (**figure 5**). La plupart des flavonoïdes naturels ont divers substituants sur leurs cycles A et B, tels que le groupe hydroxyle et le groupe méthoxyle (**Kumar et Pandey, 2013**).

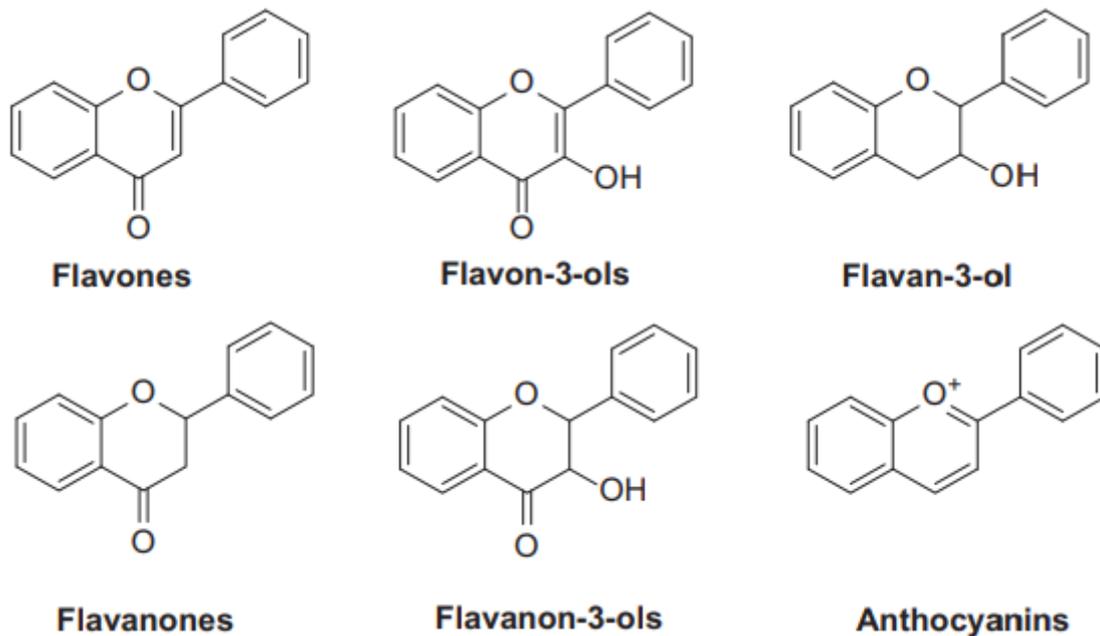


Figure 5: Principales sous-classes des flavonoïdes (**Catarino et al., 2016**).

3.2. Les propriétés biologiques des flavonoïdes :

Le comportement et l'activité biologique des flavonoïdes dépendent de sa structure chimique (y compris la structure de base, la configuration, le nombre et la distribution des groupes hydroxyle, ainsi que le type et le degré de substitution des groupes fonctionnels) et des propriétés physicochimiques telles que taille, solubilité, et lipophilie (**Hollman et al., 1995**).

Les flavonoïdes peuvent réduire la fragilité des capillaires et protéger les cellules épithéliales de l'attaque des espèces réactives de l'oxygène, préservant ainsi la structure des vaisseaux sanguins (**De Feudis, 1998**).

Des études épidémiologiques, animales et cliniques ont lié la consommation d'une alimentation riche en flavonoïdes à la réduction du risque de maladie cardiovasculaire et ont mis en évidence leur capacité antioxydante et l'amélioration de la fonction endothéliale, propriétés antithrombotiques et hypolipidémies de divers flavonoïdes (**Stangl et al., 2007**).

Certains flavonoïdes ont une activité antioxydante plus élevée que certains antioxydants courants, tels que les vitamines C et E (**Prior et Cao, 2000**) et jouent un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs et ont des effets thérapeutiques dans diverses pathologies, en particulier les cardiopathies ischémiques, l'athérosclérose et le cancer (**Jang et al., 1997**).

Ce pouvoir antioxydant est dû à leurs fonctions de piègeurs de radicaux libres (**Hanasaki et al., 1994**) et à leur interaction avec différentes enzymes (**Bors et al., 1996**). Il existe une structure O-dihydroxy dans le cycle B, ce qui leur confère une plus grande stabilité pour la forme radicale et participe à la délocalisation des électrons. La fonction 4-oxo de la double liaison associée au cycle C et les groupes 3- et 5-OH avec fonction 4-oxo dans les anneaux A et C sont nécessaires pour exercer un potentiel antioxydant maximal (**Merck, 2000**).

Les autres effets pharmacologiques des flavonoïdes comprennent les antibactériens, anti-inflammatoires (**Iranshahi et al., 2015**), hépatoprotecteurs (**Vázquez et al., 2017**), rénoprotecteurs (**Athira et al., 2016**), anti-diabétiques (**Keshari et al., 2016**), cardioprotecteurs (**Testai, 2015**), anti-neurodégénératifs (**Ayuso et al., 2017**), protection gastro-intestinale (**Antonisamy et al., 2016**), antigénotoxiques et antimutagène (**Zarev et al., 2017**), antiprolifératifs, anti-métastases et cardioprotecteurs (**George et al., 2017**). Des études épidémiologiques ont prouvé que la consommation de flavonoïdes est inversement proportionnelle à l'incidence du cancer (**Petrick et al., 2015**).

4. Tanins

Le terme « tanin » est très ancien et reflète des techniques traditionnelles. « Tannage » (imperméable et conservation) est un terme utilisé dans la littérature scientifique pour décrire le processus de transformation des cuirs ou des peaux brutes d'animaux en cuirs durables (**Shahat et Marzouk, 2013**).

Les tanins sont un groupe de métabolites secondaires phénoliques des végétaux, de poids moléculaire relativement élevé, avec la capacité de se complexer fortement avec les glucides et les protéines (**Porter in : Harborne, et Dey, 1989**). Ils se présentent sous forme de poudre amorphe ou masse lâche et brillante, jaune clair ou blanche, presque incolore, avec une odeur et une astringence étrange (**Falbe et Regitz, 1995**).

Les tanins ont 12 à 16 groupes phénoliques et 5 à 7 cycles aromatiques avec un poids moléculaire relatif de 1000 Da (**Ky et al., 2016**)

CHAPITRE II : Les métabolites secondaires

Ces substances ont une importance nutritionnelle importante. Ils sont largement répandus dans les arbres, les arbustes, les légumineuses, les céréales. D'une manière générale, les parties vulnérables des plantes, à savoir les nouvelles feuilles et fleurs, ont une concentration de tanin plus élevée, et divers facteurs tels que la température, l'intensité lumineuse, le stress hydrique et les nutriments, la qualité du sol et la topographie influencent sur la concentration de tanin dans les plantes (**Frutos et al., 2004**). Ils sont liés à la prévention des infections, des insectes ou des herbivores (**Haslam, 1989**).

Les tanins sont utilisés comme caustiques pour les colorants cationiques (colorants de tanin) dans l'industrie de la teinture, et ils sont également utilisés dans la production d'encre (encre au gallate de fer). Dans l'industrie alimentaire, les tanins sont utilisés pour clarifier le vin, la bière et les jus de vin (**Würdig et Woller, 1989**), et comme coagulant dans la production de caoutchouc (**Falbe et Regitz, 1995**).

4.1.La classification

Les tanins sont subdivisés en deux groupes :

- **Tanins hydrolysables (TH)** : Ce sont les tanins galliques et ellagitannins (**Ky et al., 2016**). Ce sont des composés contenant un noyau central de glucose ou d'un autre polyol estérifié avec de l'acide gallique, appelés gallotannins, ou avec de l'acide hexahydroxydiphénique, appelés ellagitannins. La grande variété de la structure de ces composés est due aux nombreuses possibilités de formation de liaisons oxydatives. Les réactions d'oxydation intermoléculaires donnent naissance à de nombreux composés oligomères ayant un poids moléculaire compris entre 2 000 et 5 000 Daltons (**Khanbabaee et van Ree, 2001**).

-**Les tanins condensés (TC)** : Sont des oligomères ou des polymères de flavan-3-ols liés par des liaisons carbonées entre flavonoïdes. On les appelle proanthocyanidines car elles sont décomposées en anthocyanidines par oxydation catalysée via un acide après chauffage dans une solution alcoolique acide (**Koleckar et all., 2008**).

La même plante peut contenir à la fois des TH et des TC, mais certaines plantes peuvent contenir principalement des TH, tandis que d'autres contiennent des TC (**Haslam, 1989**) et certains types de TC peuvent dominer dans certaines plantes (**Waghorn, 2008**).

4.2. Les propriétés biologiques des tanins :

Les tanins sont généralement un ingrédient actif des plantes médicinales. Ils sont largement utilisés, avec des utilisations allant du tannage connu aux utilisations médicales en passant par l'industrie alimentaire. (Haslam et Nat, 1996).

En médecine, en particulier dans les médecines naturelles asiatiques (japonaises et chinoises), des extraits de plantes contenant des tanins sont utilisés comme astringents, anti-diarrhée (Yoshida et al., 1991), diurétiques (Hatano et al., 1991), anti-tumeurs gastriques et duodénum (Saijo et al., 1989), anti-inflammatoires, antiseptiques et hémostatiques (Haslam, 1989). Des tests biologiques approfondis ont montré que de nombreux représentants de cette catégorie ont des activités antivirales, antibactériennes et antitumorales (Grunwald et Nachr, 1998 ; Haslam, 1996). Par exemple, certains tanins peuvent inhiber sélectivement la réplication du VIH (Kashiwada et al., 1992). Il existe des preuves épidémiologiques suffisantes que les tanins peuvent être utilisés pour le traitement externe de l'inflammation et des blessures cutanées, et la consommation de tanin peut empêcher l'apparition de maladies chroniques (Serrano et al., 2009).

Les effets biologiques des tanins ont été largement étudiés à l'aide de divers modèles *in vitro* ou *in vivo* :

- **Bioactivité, *in vitro***

Les tanins ont une variété d'activités biologiques *in vitro*, dont les propriétés antioxydantes et antibactériennes ont été la recherche la plus approfondie. Ils peuvent inhiber la peroxydation lipidique et ont la capacité de piéger les radicaux libres, qui sont très importants dans l'état prooxydant des cellules. La plupart de l'activité des tanins, y compris leurs capacités à piéger les radicaux libres, dépend en grande partie de leurs structures et de leur degré de polymérisation (Tian et al., 2012 ; Jerez et al., 2007). De plus, les tanins semblent affecter la croissance bactérienne par de multiples mécanismes. Celles-ci sont indirectes, en inhibant les enzymes microbiennes extracellulaires, ainsi qu'en privant les microbes des substrats nécessaires à leur croissance. Ils peuvent également être directs, agissant sur le métabolisme microbien en inhibant la phosphorylation oxydative (Okuda et Ito, 2011 ; Serrano et al., 2009). L'activité antivirale se produit principalement en inhibant l'absorption virale (Okuda, et Ito, 2011 ; Cheng et al., 2002).

Les autres activités biologiques comprennent l'activité cardioprotectrice, l'inhibition de la libération d'histamine et l'activité cytotoxique. Le tanin a un effet cardioprotecteur en

induisant la stabilité du tissu péricardique, en inhibant la dégradation enzymatique de l'élastine et en réduisant la calcification de la paroi aortique liée au glutaraldéhyde (Karthikeyan et al., 2007 ; Beretta et al., 2009).

- **Bioactivité, *in vivo***

Dans la plupart des expériences *in vivo*, on utilise principalement des extraits, des jus ou des fruits dont l'activité décrite est connue ou supposée être bénéfique pour la santé (Chandranayagam et al., 2013 ; Xiong et al., 2014 ; Vasconcelos et al., 2010). Les activités les plus étudiées : activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antivirale, activité cardioprotectrice, inhibition de la libération d'histamine, activité cytotoxique, effets anti-obésité, propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes (Sieniawska et Baj, 2017).

CHAPITRE III

Le stress oxydatif et les antioxydants

1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) sont des molécules dérivées de la réduction de l'oxygène ayant un seul électron dans leur couche externe (**Rezaire, 2012**). Ils comprennent, par exemple, l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le radical hydroxyle (HO^{\cdot}) (**Bailly et al., 2008**).

Les ROS peuvent être produits soit par des sources externes (par exemple, la fumée de tabac, le stress), ou en tant que sous-produits pendant le transport d'électrons mitochondrial de la respiration aérobie ou par des enzymes oxydoréductases et des oxydations catalysées par des métaux (**Cederbaum et al., 2009**). Au cours de l'oxydation, elles sont produites à de faibles niveaux dans des conditions physiologiques normales, nécessaires au maintien des fonctions cellulaires normales telles que la signalisation, l'immunité et l'homéostasie (**West et al., 2011**). Mais leurs effets biologiques dépendent des types de cellules ou de tissus en relation avec la production d'enzymes, la transduction de signaux et la réparation de l'ADN (**George et al., 2018**). Les cellules ont développé un système de défense antioxydant pour maintenir l'équilibre entre la production de ROS et leur élimination (**West et al., 2011**).

Le déséquilibre entre la production de ROS et les systèmes de défense antioxydants enzymatiques est appelé stress oxydatif (**Qian et al., 2018**). La production excessive de ROS au-delà des mécanismes de défense de l'organisme peut être extrêmement nocive pour les fonctions cellulaires en endommageant les acides nucléiques, en oxydant les protéines et en provoquant une peroxydation des lipides (**Sánchez, 2016**). Les dommages cellulaires résultant sont apparus comme un facteur majeur du vieillissement et des maladies dégénératives du vieillissement telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, le déclin du système immunitaire, les maladies du foie, le diabète sucré, l'inflammation et le dysfonctionnement cérébral, entre autres (**Halliwell, 1994 ; Kozarski, 2015**).

Les antioxydants s'opposent au stress oxydatif en neutralisant les radicaux libres, car ce sont des agents réducteurs qui réagissent avec les ROS et les tamponnent comme une forme de défense contre le stress oxydatif (**Sies, 1994**).

2. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif reflète un déséquilibre entre la production excessive de radicaux oxygène d'un organisme et sa capacité réduite à se détoxifier (**Meng et al., 2017**), conduisant à une perturbation de la signalisation et à des dommages moléculaires (**Sies, 2015**).

Néanmoins, l'exposition au tabac, à l'alcool, aux radiations ou aux toxines environnementales induit la production d'un nombre excessif de d'espèces réactives, qui perturbent l'équilibre entre l'oxydation et l'anti-oxydation (Li et al., 2015 ; Zhou et al., 2016).

De nombreuses études mettent en lumière le rôle important de la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le développement de différents types de cancer, car cela augmente les mutations et les dommages de l'ADN, augmentant la tendance aux altérations du génome et la croissance des cellules cancéreuses (Nogueira et Hay, 2013 ; Prasad et al., 2017). Bien qu'un traitement antioxydant soit considéré comme une chimioprévention pouvant potentiellement protéger des lésions oxydatives (Tong et al., 2015).

3. Les antioxydants

Un antioxydant est un agent réducteur défini comme une molécule qui peut recevoir des électrons et/ou donner de l'hydrogène (Griffiths, 2016). Ce sont des molécules qui empêchent l'oxydation ou inactivent les espèces réactives de l'oxygène et préviennent ainsi les dommages oxydatifs des cellules et des tissus corporels (Halliwell, 2007).

Il est essentiel que le système antioxydant humain puisse fonctionner de manière optimale afin d'assurer la protection de l'environnement des facteurs de stress abiotiques environnementaux, tels que les radiations et les toxines environnementales (Xu et al., 2017 ; Cassidy et al., 2020).

3.1. Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon le solvant de milieu en deux groupes de base : **(1) lipophiles** et **(2) hydrophiles**. Un autre critère de classification des antioxydants est le site de leur origine et la voie de leur pénétration dans l'organisme. De ce point de vue, ils peuvent être classés en : **(1) exogènes**, pénétrant dans l'organisme depuis l'extérieur (Santrucek et Krepelka, 1988) et qui sont principalement des dérivés des aliments et des plantes médicinales, tels que les fruits, les légumes, les céréales, les herbes médicinales traditionnelles (Cai et al., 2004 ; Zhang et al., 2016), et **(2) endogènes**, synthétisés dans l'organisme et transportés jusqu'au site d'action par le système humoral. Ainsi, les antioxydants peuvent être répartis dans les deux groupes de base suivants : **(1) les antioxydants naturels** et **(2) les antioxydants synthétiques** (Santrucek et Krepelka, 1988).

Les antioxydants sont aussi classés en deux catégories : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (**figure 6**). Chaque catégorie joue un rôle complémentaire de protection contre les radicaux libres dans les systèmes humains. (**Carocho et Ferreira, 2013**).

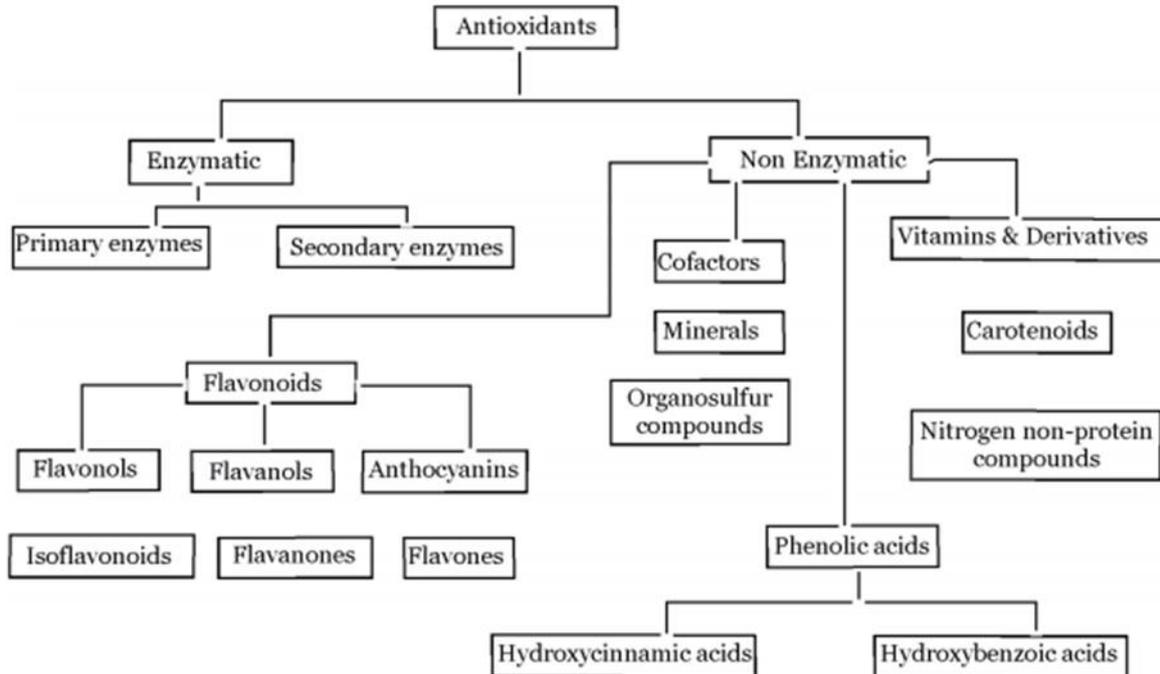


Figure 6: Classification des antioxydants par le Conseil, adaptée de Carocho et Ferreira (**Carocho et Ferreira, 2013**).

3.2. Les antioxydants végétaux

Pour prévenir les dommages oxydatifs, les plantes possèdent un vaste système de défense antioxydant composé d'enzymes et de métabolites tels que des métabolites secondaires (les polyphénols, les flavonoïdes...) et qui participent à la détoxification des ROS sous différents stress environnementaux (**Du et al., 2018 ; Nadarajah, 2020**).

Il a été suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire (**Yang et al., 2008**). Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leurs activités anti oxydantes du fait de la présence de nombreux groupements fonctionnels hydroxyles, pouvant réagir avec les radicaux libres (**Roudsari et al., 2009**).

Il existe une relation entre la structure des polyphénols et leur capacité à piéger les radicaux libres. Les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes sont capables de réduire

rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO•), alkoxydes (RO•) et hydroxyle par transfert d'hydrogène (Morand et Milenkovic, 2014).

4. Les méthodes de mesuré l'activité antioxydante

Sur la base des réactions chimiques impliquées, les principaux tests de capacité antioxydante peuvent être grossièrement divisés en deux catégories : (1) les tests basés sur la réaction de transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) et (2) les tests basés sur la réaction de transfert d'électrons simples (ET). Les tests basés sur le transfert d'électron unique impliquent une réaction d'oxydoréduction avec l'oxydant (Huang et al., 2005).

Pour mieux évaluer les capacités antioxydantes des extraits de produits naturels, en particulier ceux qui sont fréquemment consommés par les gens, différents tests d'évaluation ont été mis au point (Xu et al., 2017). Parmi lesquels :

4.1. Test du piégeage du radical libre (DPPH)

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), l'un des rares radicaux azotés organiques stables, est utilisé pour analyser l'activité antioxydante (Zaghdoudi et al., 2016). Le DPPH possède une couleur violette profonde et un maximum d'absorption UV-Vis à 515 nm (Prior, et al., 2005). Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Osman, 2011 ; Floegel et al., 2011). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 7) (Popovici et al., 2009).

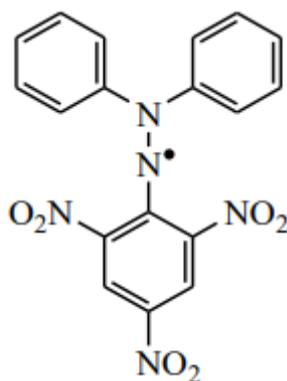


Figure 7: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (Osman, 2011).

Les composés testés (antioxydants) réduisent le radical DPPH de couleur violette intense (à température ambiante) en DPPH-H. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne d'une disparition de la coloration violette (**Hadj Salem, 2009**). Le pouvoir réducteur peut être évalué en mesurant la diminution de son absorbance. Au final, les résultats sont indiqués par la CI_{50} (**Antolovich et al., 2002**).



Avec : AH : un antioxydant

La méthode a pour avantages d'être relativement simple et peu coûteuse (**prior et al., 2005**). Cependant, elle a pour inconvénients que des antioxydants peuvent rester inertes face au DPPH relativement stable. De plus, certaines réactions avec le DPPH sont réversibles et peuvent mener à une sous-estimation du potentiel des produits testés, et beaucoup d'antioxydants peuvent réagir plus lentement avec le DPPH (**Huang et al., 2005**).

De point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• est recommandé pour des composés contenant les groupes SH•, NH• et OH•. Le test s'effectue à température ambiante, cela évitera toute dégradation thermique des molécules thermolabiles (**Salah et al., 1995**).

4.2. Le test ABTS

Une deuxième méthode colorimétrique qui se base sur un essai de décoloration est rapportée afin de détecter le pouvoir antiradicalaire d'un composé donné. Le radical préformé 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ou $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium (**Re et al., 1999**). La formation de radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense. En présence d'un donneur de H^{\bullet} , le passage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 734 nm. Cette décoloration résulte d'une réaction entre le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ et un donneur de H^{\bullet} (**Hadj Salem, 2009**).

Cette méthode a pour avantages sa simplicité à mettre en œuvre et sa rapidité. De plus, la solution d'ABTS est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques et n'est pas affectée par la force ionique (**Awika et al., 2003**).

4.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des produits testés à réduire le fer (le passage de la forme ferrique à ferreux) (**pellegrini et al., 2003**).

Toutefois, la principale limite de cette méthode réside dans le temps de réaction. En effet, le potentiel de plusieurs molécules ne peut être mesuré par FRAP, comme certains phénols qui réagissent plus lentement et demandent un temps de réaction plus long pour leur détection (30 minutes) (le même inconvénient que pour la méthode ABTS) (**Huang et al., 2005**). De plus, elle n'est pas capable de détecter les protéines ou les composés contenant le groupe sulfhydryle SH, incluant les thiols, qui peuvent transférer l'hydrogène (**Prior et al., 2005**).

PARTIE2

Partie expérimentale

CHAPITRE IV

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes utilisés

Le présent travail a été réalisé dans le laboratoire des Produits naturels « LAPRONA », département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen.

1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes fraîches de *Caralluma europaea* ont été achetées chez l'herboriste à Tlemcen (Algérie). Le matériel végétal est découpé en petits morceaux et séché à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 10 jours. La plante sèche a été broyée à l'aide de moulin afin d'obtenir une poudre.

1.2. Produits chimiques, réactifs et matériels utilisés

- Méthanol ; Acétone ; Carbonate de sodium ; Folin-Ciocalteu ; Acide gallique ; Chlorure d'aluminium (AlCl_3) ; Nitrite de sodium (NaNO_2) ; Soude (NaOH) ; Catéchine ; 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH) ; Vanilline ; Acide chlorhydrique (HCl) ; Acide ascorbique ; Acide sulfurique (H_2SO_4) ; Phosphate de sodium ; Molybdate d'ammonium ; Butylhydroxytoluène (BHT).
- Rotavapor ; Balance ; Agitateur ; Spectrophotomètre.

1.3. Extraction du matériel végétal

Les extraits ont été obtenus par une macération à température ambiante, sous agitation magnétique, pendant 24 h de 9g de la poudre de plante dans 140 ml d'un mélange méthanol/acétone (50/50 : v/v). Les extraits ont été évaporés à l'aide d'un rotavapor à 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec (**Figure 8**) (**Annexe 1**).

L'extrait sec est pesé et nous avons déterminé le rendement en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt \%} = [\text{P1} - \text{P2} / \text{P3}] \times 100$$

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

Les rendements ont été énoncés dans la moyenne \pm écart type de trois répétitions. L'extrait sec est repris, dans quelques millilitres de méthanol pour les dosages et les évaluations de l'activité antioxydante. Il a été conservé à 4°C pour une utilisation ultérieure.

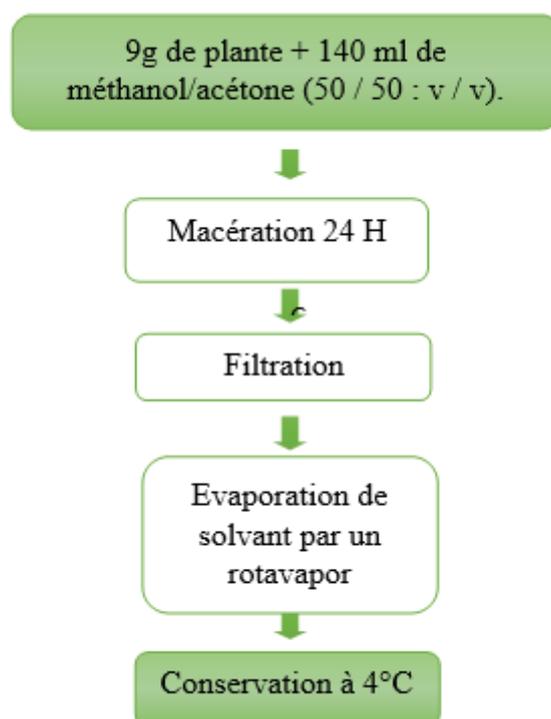


Figure 8: Protocole d'extraction des extraits bruts.

1.4. Quantification de quelques classes phénoliques dans les extraits

1.4.1. 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 (**Annexe 2**).

Ce dosage est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

Une gamme étalon à base de l'acide gallique est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 µg/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).

1.4.2. 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 (**Annexe 2**).

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.

Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée à des concentrations allant de 0 à 500 µg/mL. Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont alors exprimées en milligramme équivalent catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

1.4.3. 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 de 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 (**Annexe 2**).

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).

1.5. Estimation des activités biologiques, *in vitro*

1.5.1. Détermination de l'activité antioxydante

a. Capacité antioxydante totale : 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 (100 µl). Comme pour les polyphénols totaux, l'activité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ gMS).

b. Piégeage du radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

- **Principe**

Le DPPH° (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. La méthode de DPPH° présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH° (de couleur

violette), en présence des molécules dites « antioxydantes » afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical (**fig.13**). La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

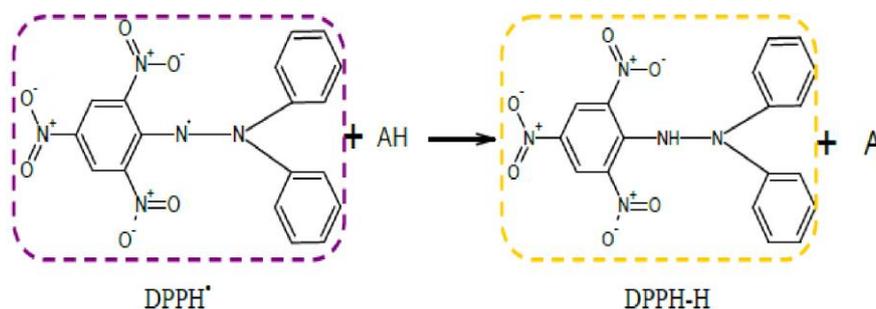


Figure 9: Forme réduite du radical DPPH°

• Mode opératoire

Le protocole expérimental suivi est celui d'**Atoui et al. (2005)** : 50 µl de chaque extrait (à différentes concentrations : 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 et 16 mg/mL) sont ajoutés à 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à 6.34×10^{-5} M (0.0025 g dans 100 ml méthanol). Pour chaque concentration un blanc est préparé. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (**Annexe 3**). Le témoin positif utilisé est le butylhydroxytoluène (BHT). 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.

1.6. Analyses statistiques

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des moyennes \pm écarts-types des trois mesures parallèles en utilisant EXCEL (2019). Les valeurs des concentrations (Dosage et CAT) et de CI_{50} ont été calculées à partir des équations linéaires des courbes tracées sur EXCEL.

CHAPITRE V

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Rendement en extrait de *C. europaea*

Le rendement en extrait de la partie aérienne de *Caralluma europaea*, préparé par macération avec le mélange méthanol-acétone (50/50 : v/v), est de 10, 88% (**tableau 2**).

Tableau 2: Les rendements et les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés (moyenne \pm écart type) dans les extraits du *Caralluma europaea*.

Rendement (%)	Teneur en Polyphénols totaux		Teneur en Flavonoïdes		Teneur en tanin	
	mg EAG/g extrait	mg EAG/g MS	mg EAG/g extrait	mg EAG/g MS	mg EAG/g extrait	mg EAG/g MS
10,88%.	23,80 \pm 1,59	2,56 \pm 0,17	12,08 \pm 1,49	1,32 \pm 0,16	12,31 \pm 2,51	1,23 \pm 0,25

1.2. Analyses quantitatives de polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait de *C. europaea* a été faite en utilisant la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Elle est déterminée à partir de l'équation de la droite d'étalonnage tracée en utilisant l'acide gallique comme standard : $y = 0,0024x$ avec un $R^2 = 0,9998$ (**figure 10**). Le résultat est ensuite converti en mg d'équivalent acide gallique/g de la matière végétale sèche de départ et/ou par g d'extrait sec. La valeur est de 2,56 \pm 0,17 mg EAG/g MS (23,80 \pm 1,59 mg EAG/ g extrait sec) (**tableau 2**).

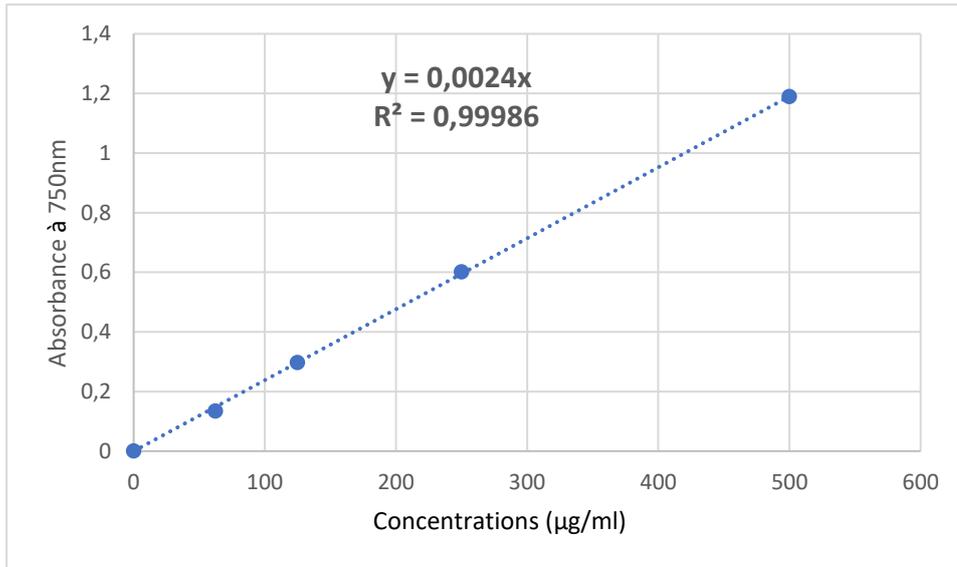


Figure 10: Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés polyphénoliques.

1.3. Analyses quantitatives de flavonoïdes

La concentration de flavonoïdes dans l'extraits de *C. europaea* était déterminée par la méthode spectrophotométrique avec du chlorure d'aluminium. Le contenu en flavonoïdes a été déterminé à partir de l'équation de la droite d'étalonnage de la catéchine : $y = 0,0023 x$ avec un $R^2=0,9984$ (figure 11). Le résultat est ensuite converti en mg d'équivalent catéchine par g de la matière végétale sèche de départ et/ou par g d'extrait sec. La concentration en flavonoïdes est de $1,32\pm 0,16$ mg EC/g MS ($12,08\pm 1,49$ mg EC/ g extrait sec) (tableau 2).

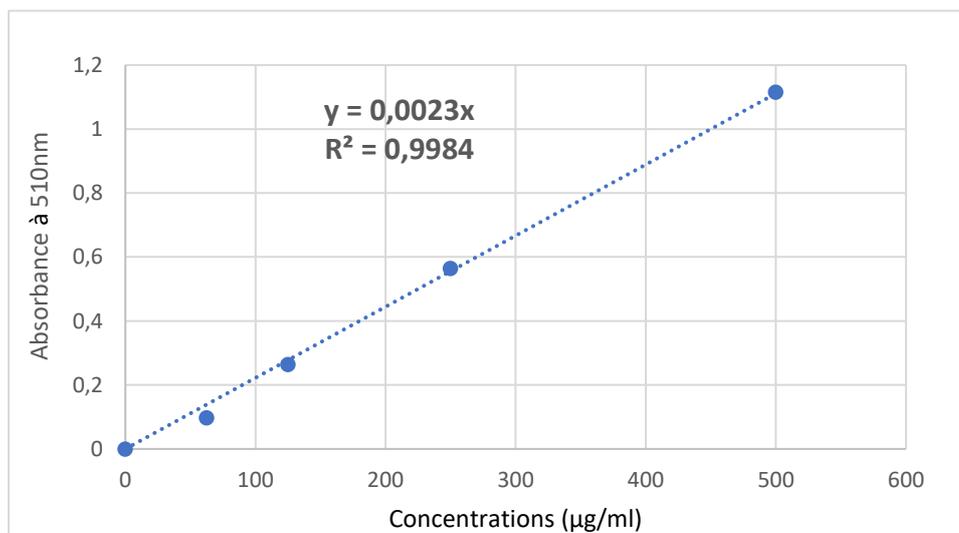


Figure 11: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

1.4. Analyses quantitatives de tanin

Le contenu en tanins dans les parties aériennes de *C. europaea* a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y=0,0005x$; $R^2=0,9971$) (Figure 12). Le résultat est ensuite converti en mg d'équivalent catéchine/g de la matière végétale sèche de départ et/ou par g d'extrait sec. La valeur est de $1,23\pm 0,25$ mg EC/g MS ($12,31\pm 2,51$ mg EC/ g extrait sec) (tableau 2).

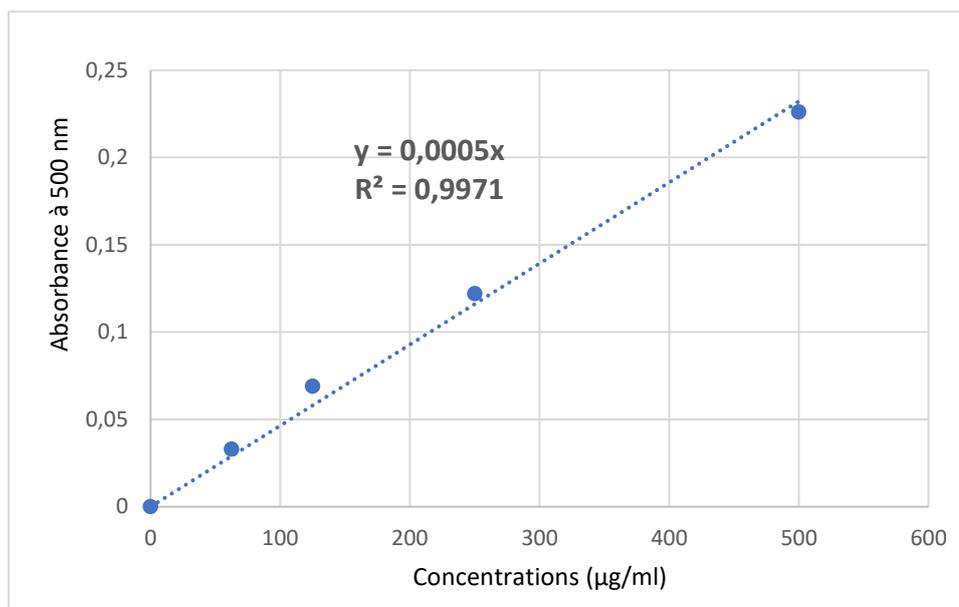


Figure 12: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins.

1.5. Évaluation de la capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale est déterminée par la méthode de phosphomolybdène. La teneur est estimée grâce à l'équation de la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique ($y = 0,00264 x$; $R^2 = 0,9961$) (figure 13). Ensuite, la capacité antioxydante totale a été rapportée en milligramme d'équivalents d'acide ascorbique par g de la matière végétale sèche de départ et/ou par g d'extrait sec. Elle est de $12,42 \pm 1,98$ mg EAA/ g MS ($114,26 \pm 18,20$ mg EAA/ g extrait sec).

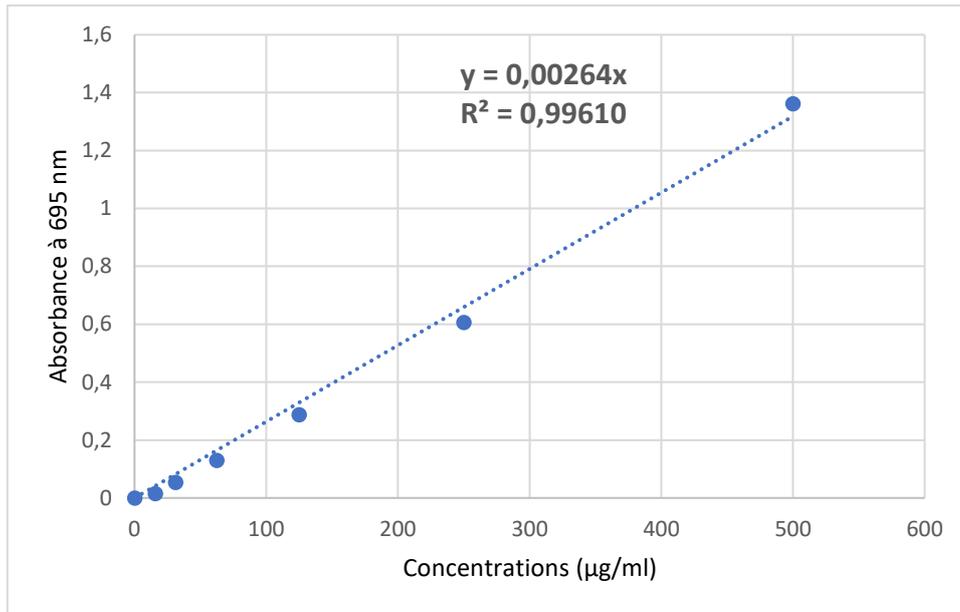


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale.

1.6. Évaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH

Le profil de l'activité antiradicalaire a été testé par la méthode du DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). Les résultats de test d'inhibition du radical DPPH•, par l'extrait de la partie aérienne de *C. europaea*, sont présentés dans le Tableau 3. L'extrait a inhibé le radical DPPH• de manière dose- dépendante. La valeur de CI_{50} ($0,366 \pm 0,007$ mg/ml) a été obtenue à partir du graphe des pourcentages de l'inhibition de DPPH en fonction des concentrations ($y = 3,4069 x$; $R^2 = 0,9989$) (**Figure 14**). Cette valeur est nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Des valeurs de CI_{50} plus faibles indiquent une activité antioxydante plus forte.

En ce qui concerne l'antioxydant synthétique, le BHT, les pourcentages d'inhibition sont représentés dans le Tableau 4 et dans la **Figure 15**. L'extrait de la plante présente une activité antioxydante nettement inférieure à celle du produit de référence, le BHT (CI_{50} de $13,39 \pm 0,54$ µg/ml).

CHAPITRE V : Résultats et discussions

Tableau 3: Le résultat de test d'inhibition du radical DPPH•, par l'extrait de *C. europaea*

Concentration (mg/ml)	6	8	10	12	14	16
%d'inhibition	16,44	27,28	33,00	38,54	47,18	56,99

Tableau 4: Le résultat de test d'inhibition du radical DPPH• par le BHT

Concentration (µg/ml)	100	200	300	400	500	600
%d'inhibition	14,01	22,75	29,82	42,54	47,68	54,49

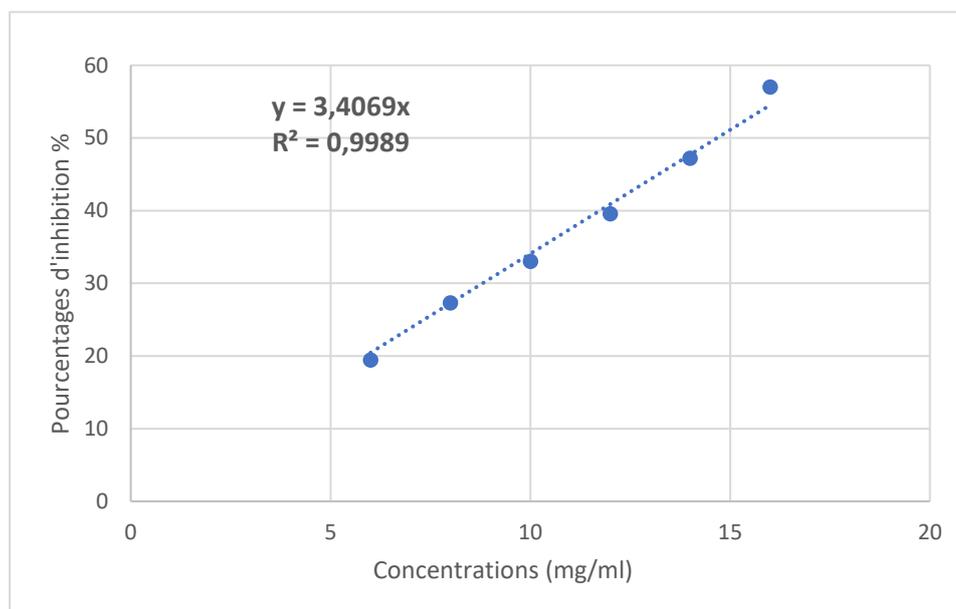


Figure 14: Courbe des pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait de *C. europaea*

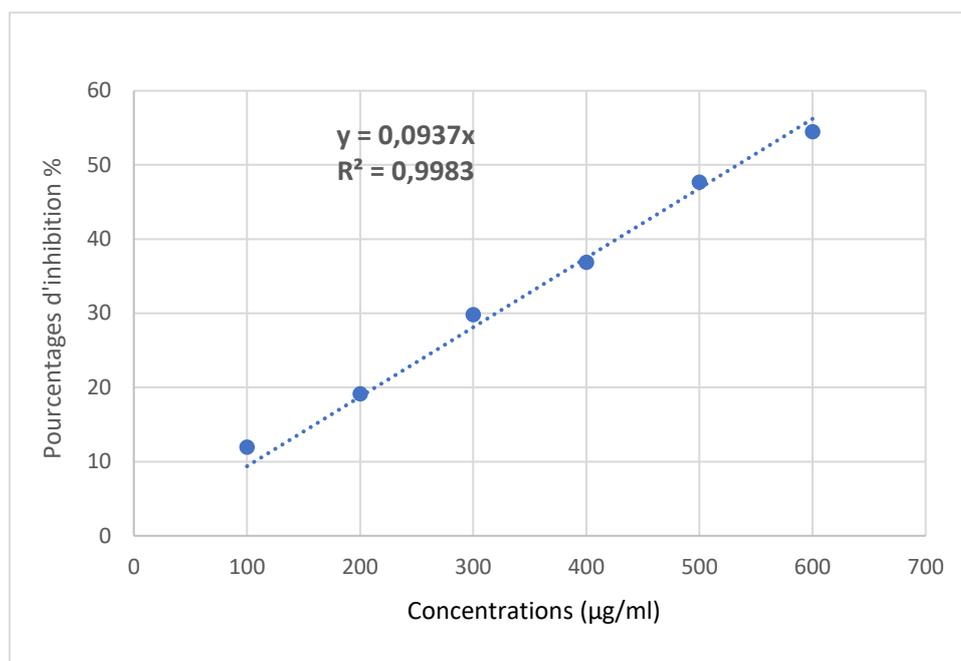


Figure 15: Courbe des pourcentages d'inhibitions du DPPH en fonction des concentrations de BHT.

Tableau 5: Les activités antioxydantes (moyenne ± écart type) de l'extrait de *C. europaea* (Guss.) et de standard par deux méthodes, la CAT et le piégeage du radical.

Extrait	Capacité antioxydante totale		CI 50/DPPH (mg/mL)	
	(mg EAA/ g extrait)	(mg EAA/g MS)	L'extrait	BHT
<i>C. europaea</i>	114,26 ±18,20	12,43 ± 1,98	0,366± 0,007	13,39 ±0,54

2. Discussion

Caralluma europaea a été utilisé traditionnellement dans la médecine pour traiter plusieurs maladies dont le kyste, le goitre et le diabète sucré (Bellakhdar, 1997). La littérature antérieure a rapporté certaines activités pharmacologiques de *C. europaea* du Maroc telles que les activités antioxydantes et anti-inflammatoires etc (Amrati et al., 2020). Ces activités pourraient être dues à ses composés phytochimiques (Monte et al., 2014 ; Malladi et al., 2017).

Le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux. Barroso et al., ont observé que les rendements d'extraction en

polyphénols sont plus élevés avec les solvants de polarité inférieure à celle de l'eau (**Barroso et al., 2014**).

Les composés phénoliques sont des métabolites végétaux omniprésents et le principal groupe de composés qui contribuent aux propriétés antioxydantes ; ils peuvent jouer un rôle important dans l'initiation des actions délétères des radicaux libres (**Wang et al., 2010**). Les espèces du genre *Caralluma* sont connues pour leur richesse en composés phénoliques (**Priya et al., 2012 ; Devi et Dhamotharan, 2016**) et elles ont été étudiées par certains chercheurs sur le contenu phénolique et l'activité antioxydante. Leurs résultats montrent la richesse de ces espèces en polyphénols antioxydants. Concernant l'extrait de *C. europaea* étudiée, le résultat en polyphénols est de $2,56 \pm 0,17$ mg EAG/g MS ($23,10$ mg EAG /g d'extrait). Une teneur inférieure à celle trouvée par Amrati et al. (2020) ($51,42 \pm 0,003$ mg EAG /g d'extrait) pour l'extrait hydroéthanolique de *C. europaea* du Maroc (**Amrati et al., 2020**). Par ailleurs, elle est comparable avec celle de l'extrait éthanolique ($20,93 \pm 0,30$ mg EAG/g d'extrait) et plus importante que celle de l'extrait d'acétate d'éthyle ($14,84 \pm 0,58$ mg EAG/g d'extrait) de la même espèce étudiée par **Kebbou et al., 2019**.

Le dosage a permis de quantifier des teneurs en flavonoïdes et en tanins condensés dans l'extrait de la plante qui sont respectivement $1,32 \pm 0,16$ mg EC/g MS ($12,08 \pm 1,49$ mg EC/ g d'extrait) et $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS ($12,31 \pm 2,51$ mg EC/ g d'extrait). La teneur en flavonoïdes est inférieure à celle de l'extrait hydro- éthanolique, exprimée en mg équivalent quercétine ($20 \pm 0,007$ mg QE/g d'extrait sec) mais plus importante que celles des extraits méthanolique ($3,7 \pm 1,16$ mg QE/g extrait sec) et aqueux ($3,1 \pm 0,54$ mg QE/g extrait sec) (**Amrati et al., 2020**).

La teneur en tanins condensés est beaucoup plus importante par rapport aux résultats de **Kebbou et al., (2019)** sur la partie aérienne de la même espèce et qui sont : $2,47 \pm 0,01$ mg EC/g DW d'extrait d'acétate d'éthyle et $2,28 \pm 0,03$ mg EC/g DW d'extrait méthanolique (**Kebbou et al., 2019**).

Ces différences peuvent être dues à la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait, à la méthode d'extraction (**Stanković, 2011**) et au type d'étalon utilisé (**Djeridane et al., 2010**).

Le résultat de la capacité antioxydante totale de plante montre que les absorbances du standard (l'acide ascorbique) augmentent en fonction de la concentration.

CHAPITRE V : Résultats et discussions

La capacité antioxydante de l'extrait de *C. europaea* qui est de $114,26 \pm 18,20$ mg EAA/ g d'extrait) est inférieure par rapport aux résultats de Marwah et al., (2007), exprimés par rapport à l'acide gallique, pour les extraits éthanoliques de *C. flava*, (335 ± 0.5 mg EAG/g d'extrait) et de *C. quadrangulaa* (899 ± 29.2 mg EAG /g d'extrait).

Dans notre travail, nous avons adopté le test DPPH pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de la partie aérienne de *C. europaea* et la valeur de CI_{50} qui est de $0,366 \pm 0,007$ mg/ml reflète une faible activité comparée à celle du BHT ($13,39 \pm 0,54$ μ g/ml), et aux extraits éthanolique ($34,60 \pm 0,300$ μ g/ml) et de l'acétate d'éthyle ($20,60 \pm 0,120$ μ g/ml) de la même espèce étudiée par **Kebbou et al. (2019)**.

Ainsi que notre activité anti-radicalaire de *C. europaea* est inférieur à celui mentionnés dans le travail de **Amrati et al., (2020)** qui montre une efficacité de l'extrait hydroéthanoliques à piéger le radical DPPH en enregistrant une IC_{50} égale $1,628$ mg/ml.

Également notre résultat de piégeage du radical de l'extrait du *C. europaea* possède une activité antioxydante inférieur à celle étudiée par Ait Dra et al., (2018), qui montre une activité anti-radicalaire IC_{50} égale à $1,45 \pm 0,019$ mg/ml de l'huile essentielle du *C. europaea*. Par ailleurs, ils fait la comparaison avec de référence, l'hydroxytoluène butylé (BHT) et la quercétine, qui présente une activité antioxydante (IC_{50} $2,59 \pm 0,07$ μ g/ml et de $1,98 \pm 0,07$ μ g/ml respectivement) inférieur à celle d'huile essentielle.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le monde végétal synthétise une série importante de métabolites secondaires, en particulier les composés phénoliques qui agissent comme des agents antioxydants de premier ordre ce qui leur donne le pouvoir d'être utilisé dans des applications thérapeutiques.

Cette recherche a mis en évidence la valeur de la partie aérienne de l'espèce *C. europaea* pour son activité antioxydante démontrée, *in vitro*, avec la quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins.

La plante expérimentée nous a permis de déterminer la rentabilité de l'extrait préparé par le mélange méthanol/acétone (50/50) est qui est de 10,88%. Les méthodes spectrophotométriques nous ont permis la quantification déterminant la teneur en polyphénol totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu et en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium ainsi que la détermination de la teneur en tanins à la vanilline avec les valeurs respectives suivantes : $2,56 \pm 0,17$ mg EAG/g MS, $1,32 \pm 0,16$ mg EC/g MS et $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS.

Par ailleurs, l'activité antioxydante de notre extrait par la méthode du piégeage du radical DPPH a été comparée avec celle de l'antioxydant synthétique, le BHT. Il en ressort que l'extrait est faiblement actif par rapport à cet antioxydant avec une valeur de CI_{50} de $0,366 \pm 0,007$ mg/ml car les piègeurs les plus efficaces de ce radical sont ceux possédant la valeur de CI_{50} la plus basse. La capacité antioxydante totale, estimée par rapport à l'acide est de $12,43 \pm 1,98$ mg EAA/g MS.

La comparaison de ces résultats standards et les travaux antérieurs nous mène à suggérer que l'extrait de *C. europaea* a un pouvoir antioxydant modérée.

Dans l'avenir d'autres études photochimiques et biologiques sur cette plante nous permettrons l'isolement des molécules responsables des activités observées ouvrant la voie à l'élargissement de l'arsenal thérapeutique des médicaments à base de plantes. Il s'agit de :

- Elargir le panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et d'autres tests biologiques (anti tumorale, anti-inflammatoire, anticancéreuse ...).

- Rechercher les mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire par des études, *in vivo* afin de déterminer les tissus et organes cibles de ces molécules

Références bibliographiques

A

Adnan, M., Jan, S., Mussarat, S., Tariq, A., Begum, S., Afroz, A., & al., (2014). A review on ethnobotany, Phytochemistry and pharmacology of plant genus *Caralluma* R. Br. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(10), 1351-68. Doi : <https://doi.org/10.1111/jphp.12265>

Ait Dra, L., Aghraz, A., Boualy, B., Oubaassine, S., Barakate, M., Markouk M., et Larhsini, M.(2018a). Chemical Characterization and In vitro Antimicrobial Activity of *Caralluma europaea* Essential Oil and Its Synergistic Potential with Conventional Antibiotics. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences* 19(4). 1-11.

Ait Dra, L., Sellami, S., Rais, H., Aziz, F., Aghraz, A., Bekkouche, K., Markouk, M., et Larhsini M.(2018b). Antidiabetic Potential of *Caralluma europaea* against Alloxan- Induced Diabetes in Mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, page 27.

Aiyelaagbe, O.O., et Osamudiamen, P.M. (2009). Criblage phytochimique des composés actifs dans les feuilles de *Mangifera indica* d'Ibadan, État d'Oyo. *Recherche en sciences végétales*, 2, 11-13.

Akroum, S. (2010). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANTINE-ALGERIE.

Amrati, F.E., Bourhia, M., Slighoua, M., Ibnemoussa, S., Bari, A., Ullah, R., Amaghnouje, A., Di- Cristo, F., El Mzibri, M., Calarco, A., Benbacer, L., et Boust, D. (2020). Étude phytochimique sur les activités antioxydantes et antiprolifératives de l'extrait marocain de *Caralluma europaea* et de ses classes de composés bioactifs. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves*, 11(2), 554.

Amrati, F.E., Bourhia, M., Slighoua, M., Ibnemoussa, S., Bari, A., Ullah, R., Amaghnouje, A., Di- Cristo, F., El Mzibri, M., Calarco, A., Benbacer, L., et Boust, D. (2020). Étude phytochimique sur les activités antioxydantes et antiprolifératives de l'extrait marocain de *Caralluma europaea* et de ses classes de composés bioactifs. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves*, 11(2), 554.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127(1), 183–198. <https://doi.org/10.1039/b009171p>

Antonisamy, P., Subash-Babu, P., Albert-Baskar, A., Alshatwi, A.A., Aravinthan, A., Ignacimuthu, S., Choi, K.C., Lee, S.C., & Kim, J.H. (2016). Experimental study on gastroprotective efficacy and mechanisms of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn. In different experimental models. *J. Funct. Foods*, 25, 302–313.

Athira, K.V., Madhana, R.M., Lahkar, M. (2016). Flavonoids, the emerging dietary supplement against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Chem. Biol. Interact.* 248, 18–20. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.02.005>.

Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions : Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27-36.

Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L. Screening. (2003). Methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6657-6662.

Ayuso, M. I., Gonzalo-Gobernado, R., & Montaner, J. (2017). Neuroprotective diets for stroke. *Neurochemistry international*, 107, 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.01.013>

B

Bader, A., Braca, A., De Tommasi, N. & Morelli, I. (2003). Further constituents from *Caralluma negevensis*. *Phytochemistry*, 62(8), 1277-1281.

Bailly, C., El Maarouf Bouteau, H., et Corbineau, F. (2008). Role de la signalisation par les espèces réactives de l’oxygène dans la germination et la levée de dormance des semences. *Journal de la Société de Biologie*, 202 (3), 241-248.

Barroso, M.R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A.M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I.P., ... & Ferreira, I.C. (2014). Exploration du potentiel antioxydant des composés phénoliques *Helichrysum stoechas* (L.) Moench pour des applications cosmétiques : Caractérisation chimique, microencapsulation et incorporation dans une crème hydratante. *Cultures et produits industriels*, 53, 330-336.

Bellakhdar, J. (1997). La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle : Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires. Casablanca : Ibis press, édition le Fennec et Paris.

Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle : médecine arabe ancienne et savoirs populaire, first ed. Ibis Press, France.

- Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., & Younos, C.** (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *Journal of ethnopharmacology*, 35(2), 123–143. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90064-k](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90064-k)
- Bénard, C.** (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.
- Bensuzan, K.** (2009). Taxonomy and conservation status of Moroccan stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae-Stapeliinae). *Bull Inst Sci Univ Rabat*. 31, 67–77.
- Benzie, I.F., & Szeto, Y.T.** (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 633–636. <https://doi.org/10.1021/jf9807768>
- Beretta, G., Rossoni, G., Santagati, N. A., & Facino, R. M.** (2009). Anti-ischemic activity and endothelium-dependent vasorelaxant effect of hydrolysable tannins from the leaves of *Rhus coriaria* (Sumac) in isolated rabbit heart and thoracic aorta. *Planta medica*, 75(14), 1482–1488. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185797>
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., and Stettmaier, K.** (1996). Flavonoids and Polyphenols : Chemistry and Biology, in : Handbook of Antioxidants, (E. Cadenas and L. Packer, eds.), pp. 409–466, Marcel Dekker, New York, NY.
- Boubakri, C.** (2014). "Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques". Thèse en vue de l'obtention Du diplôme de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra. P176.
- Boudjouref, M.** (2011). Etude De L'Activité Antioxydante Et Antimicrobienne D'Extraits D'*Artemisia Campestris* L. Thèse De Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 P.
- Bougandoura N. et Bendimerad N.** (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L) Briq. Nature et technologie 9 : 14-19

C

Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences*, 74(17), 2157–2184. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.047>

Carocho, M., & Ferreira, I.C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy : natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and futures perspectives. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 51, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>

Casas-Grajales, S., Vázquez-Flores, L. F., Ramos-Tovar, E., Hernández-Aquino, E., Flores-Beltrán, R. E., Cerda-García-Rojas, C. M., Camacho, J., Shibayama, M., Tsutsumi, V., & Muriel, P. (2017). Quercetin reverses experimental cirrhosis by immunomodulation of the proinflammatory and profibrotic processes. *Fundamental & clinical pharmacology*, 31(6), 610–624. <https://doi.org/10.1111/fcp.12315>

Cassidy, L., Fernandez, F., Johnson, J.B., Naiker, M., Owoola, A.G., & Broszczak, D.A. (2020). Oxidative stress in alzheimer's disease : A review on emergent natural polyphenolic therapeutics. *Complementary therapies in medicine*, 49, 102294. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102294>

Catarino, M.D., Talhi, O., Rabahi, A., Silva, A.M.S., & Cardoso, S.M. (2016). Le potentiel anti-inflammatoire des flavonoïdes : aspects mécaniques. Dans *Studies in Natural Products Chemistry*, 48, 65-99.

Cederbaum, A. I., Lu, Y., & Wu, D. (2009). Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Archives of toxicology*, 83(6), 519–548. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0432-0>

Chandranayagam, C., Veeraraghavan, G., Subash, A., & Vasanthi, H.R.(2013). Restauration de l'hépatotoxicité induite par l'arsénite par la fraction riche en tanins bruts de Theobroma cacao chez des rats Sprague Dawley. *Recherche alimentaire internationale*, 50(1), 46-54.

Cheng, H. Y., Lin, C. C., & Lin, T. C. (2002). Antiherpes simplex virus type 2 activity of casuarinin from the bark of *Terminalia arjuna* Linn. *Antiviral research*, 55(3), 447–455. [https://doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00077-3](https://doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00077-3)

Chira, K., Suh, J.H., Saucier, C., & Teissèdre, P.L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytonutrition fondamentale*, 6 (2), 75–82. Doi : 10.1007 / s10298-008-0293-3

Crespo villalba, M.B. (2006). Changements nomenclaturels dans apteranthes mikan(asclepiadoideae, apocynaceae). *Flore Montiberica*, 32, 15-20.

Crozier, A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products : An overview. In : Goldberg G (ed) *Plants : Diet and Health*. British Nutrition Foundation, Chapman Hall, Londres, 27-48

Cuyppers, A., Hendrix, S., Amaral Dos Reis, R., De Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., Jozefczak, M., Loix, C., Vercampt, H., Vangronsveld, J., & Keunen, E. (2016). Hydrogen Peroxide, Signaling in Disguise during Metal Phytotoxicity. *Frontiers in plant science*, 7, 470. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00470>

D

De Feudis, F. V. (1998). *Ginkgo biloba extract (EGB 761) : From chemistry to the clinic*. Wesbaden : Ullstein Medical.

Devi, S. G., & Dhamotharan, R. (2016). “Preliminary studies on phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of *Caralluma fimbriata*,” *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(4), 1097–1107.

Devi, S. G., & Dhamotharan, R. (2016). Preliminary studies on phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of *Caralluma fimbriata*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(4), 1097-1107.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (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., Dey, P. M., & Lamb, C. J. (1983). Phytoalexins : enzymology and molecular biology. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 55, 1–136. <https://doi.org/10.1002/9780470123010.ch1>

Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M., Stocker, P. (2010) Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol.*(48) 2599–606

Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Alain, B., & Najib, G. (2003) “Screening phytochimique d’un endémique ibéro-marocaine, *ymelaea lythroides*,” *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 142, 61–78.

Dra, L. A., Sellami, S., Rais, H., Aziz, F., Aghraz, A., Bekkouche, K., Markouk, M., & Larhsini, M. (2019). Antidiabetic potential of *Caralluma europaea* against alloxan-induced diabetes in mice. *Saudi journal of biological sciences*, 26(6), 1171–1178. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.05.028>

Du, B., Kreuzwieser, J., Winkler, J. B., Ghirardo, A., Schnitzler, J. P., Ache, P., Alfarraj, S., Hedrich, R., White, P., & Rennenberg, H. (2018). Physiological responses of date palm (*Phoenix dactylifera*) seedlings to acute ozone exposure at high temperature. *Environmental pollution (Barking, Essex :1987)*, 242(PtA), 905–913. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.059>

F

Falbe, J., & Regitz, M. (1995). *Römpp-Chemie-Lexikon*. Georg Thieme, Stuttgart, New York.

Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S. I. & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048

Fruto, P., Hervas, G., Giraldez, F.J., & Mantecon, A.R. (2004). Tannins and Ruminant Nutrition : Review. *Revue espagnole de recherche agricole*, 2, 191-202. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2004022-73>

G

Garcin, A. (2018). Biodiversité végétale du sud-ouest marocain.

George, S., Hamblin, M. R., & Abrahamse, H. (2018). Effect of red light and near infrared laser on the generation of reactive oxygen species in primary dermal fibroblasts. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 188, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.09.004>

George, V. C., Dellaire, G., & Rupasinghe, H. (2017). Plant flavonoids in cancer chemoprevention : role in genome stability. *The Journal of nutritional biochemistry*, 45, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.11.007>

Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids : Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* 5 (31), 6697-6703.

Govaerts, R.(1995). Liste de contrôle mondiale des plantes à graines 1 (1, 2) : 1-483, 1-529. MIM, Deurne.

Griffiths, H.R.(2016). Antioxidants : Characterization and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 221-226. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00037-4>

Grunwald, P. (1998). Brücke in den Fernen Osten. *Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium*, 46(9), 853-857.

Gussone, G. (1839). Notizie sulle Isole Linosa, Lampione, e Lampedusa, e descrizione du una nuova specie di Stapelia che trovasi in questa iltima. *Atti Della Reale Accademia Delle Scienze [Botanica]*, 4, 73–97

H

Hadj Salem, J. (2009). Extraction, Identification, caractérisationsdesactivitésbiologiquesdeflavonoïdede *Nitraria retusa*et synthèse de dérives acyles de ces molécules par voie enzymatique. (INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE)

Halliwel, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease : curiosity, cause, or consequence ? *Lancet* (London, England), 344(8924), 721–724. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)92211-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)92211-x)

Halliwel, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society transactions*, 35(5), 1147–1150. <https://doi.org/10.1042/BST0351147>

Hanasaki, Y., Ogawa, S., & Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free radical biology & medicine*, 16(6), 845–850. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90202-x](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90202-x)

Références bibliographiques

Haslam E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs : possible modes of action. *Journal of natural products*, 59(2), 205–215. <https://doi.org/10.1021/np960040+>

Haslam, E. (1989). Plant Polyphenols : Vegetable Tannins Revisited. Chemistry and Pharmacology of Natural Products, Cambridge University Press, Cambridge, 165.

Hassler, M. (2021). World Plants : Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World (version 2021-03-17). In : Catalogue of Life

Hatano, T., Yazaki, K., Okonogi, A. & Okuda, T. (1991). Tanins des espèces *Stachyurus*. II. Praecoxines A, B, C et D, quatre nouveaux tanins hydrolysables des feuilles de *Stachyurus praecox*. *Chem. Pharm. Bull.*, 39(7), 1689-1693.

Hoffmann, D. (2003). Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine. Edition Inner Traditions / Bear & Co., p 90.

Hollman, P. C., de Vries, J. H., van Leeuwen, S. D., Mengelers, M. J., & Katan, M. B. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *The American journal of clinical nutrition*, 62(6), 1276–1282. <https://doi.org/10.1093/ajcn/62.6.1276>

Homrani Bakali, A. (2018). Biodiversité végétale du sud-ouest marocain.

Hu, C.H., Wang, P.Q., Zhang, P.P., Nie, X.M., Li, B.B., Tai, L., Liu, W.T., Li, W.Q., & Chen, K.M. (2020). NADPH Oxidases : The Vital Performers and Center Hubs during Plant Growth and Signaling. *Cells*, 9(2), 437. <https://doi.org/10.3390/cells9020437>

Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

I

Iranshahi, M., Rezaee, R., Parhiz, H., Roohbakhsh, A., & Soltani, F. (2015). Protective effects of flavonoids against microbes and toxins : The cases of hesperidin and hesperetin. *Life sciences*, 137, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.07.014>

J

Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., Fong, H. H., Farnsworth, N. R., Kinghorn, A. D., Mehta, R. G., Moon, R. C., & Pezzuto, J. M. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* (New York, N.Y.), 275(5297), 218–220. <https://doi.org/10.1126/science.275.5297.218>

Jerez, M., Touriño, S., Sineiro, J., Torres, J.L., & Núñez, M.J. (2007). Procyanidines d'écorce de pin : Relations entre structure, composition et activité antiradicalaire. *Chimie alimentaire*, 104(2), 518-527.

Jonkers, B., & Walker, C.C. (1993). The asclepiads of Morocco – a short commentary. *Asklepios*, 59, 14–21.

K

Karthikeyan, K., Bai, B. R., & Devaraj, S. N. (2007). Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *International journal of cardiology*, 115(3), 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.03.016>

Kashiwada, Y., Huang, L., Kilkuskie, R.E., Bodner, A. J., & Lee, K.H.(1992).Nouveaux dérivés d'hexahydroxydiphényle comme inhibiteurs puissants de la réplication du VIH dans les lymphocytes H9.*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2(3), 235-238.

Kebbou, A., Ait Laaradia, M., Oufquir, A., Aarab, A., El Gabbas, Z., Rais, H., Zyad, A., et Chait A. (2019). Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Caralluma europaea* (Eddaghmous) in Mice. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19(4), 272-285.

Kebbou, A., Ait Laaradia, M., Oufquir, S., Aarab, A., El Gabbas, Z., Rais, H., Zyad, A., et Chait, A. (2019). Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Caralluma europaea* (Eddaghmous) in Mice. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19 (4), 272-285.

Kebbou, A., Ait Laaradia, M., Oufquir, S., Aarab, A., El Gabbas, Z., Rais, H., Zyad, A., et Chait, A. (2019). Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of *Caralluma europaea* (Eddaghmous) in Mice. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 19 (4), 272-285.

Kelly, E.H., Anthony, R.T., & Dennis, J.B. (2002). « Antioxydants flavonoïdes : chimie, métabolisme et relations structure-activité », *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.

Kenny, T. P., Keen, C. L., Schmitz, H. H., & Gershwin, M. E. (2007). Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, 232(2), 293–300.

Keshari, A. K., Kumar, G., Kushwaha, P. S., Bhardwaj, M., Kumar, P., Rawat, A., Kumar, D., Prakash, A., Ghosh, B., & Saha, S. (2016). Isolated flavonoids from *Ficus racemosa* stem bark possess antidiabetic, hypolipidemic and protective effects in albino Wistar rats. *Journal of ethnopharmacology*, 181, 252–262.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.004>

Khanbabaee, K., & van Ree, T. (2001). Tannins : classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641–649. <https://doi.org/10.1039/b101061l>

Koes, R., Verweij, W., & Quattrocchio, F. (2005). Flavonoids : a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in plant science*, 10(5), 236–242.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.03.002>

Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., & Opletal, L. (2008). Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 8(5), 436–447. <https://doi.org/10.2174/138955708784223486>

Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., & van Griensven, L. (2015). Antioxidants of Edible Mushrooms. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(10), 19489–19525.
<https://doi.org/10.3390/molecules201019489>

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. Museum *national d'histoire naturelle - MNHN PARIS.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids : an overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>

Ky, I., Le Floch, A., Zeng, L., Pechamat, L., Jourdes, M., & Teissedre, P.L. (2016). Tannins, *Encyclopedia of Food and Health*, 247-255. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00683-8>

L

Li, D., Sun-Waterhouse, D., Wanga, Y., Qiaoa, X., Chena, Y., Lia, F. (2018). Module de référence en science alimentaire.

Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>

M

Mahomoodally, M.F., Gurib-Fakim A., & Subratty, A.H. (2005). « Activités antimicrobiennes et profils phytochimiques des plantes médicinales endémiques de Maurice », *Pharmaceutical Biology*, 43(3), 237–242.

Malladi, S., Nadh Ratnakaram, V., Suresh Babu, K., & Pullaiah, T. (2017). “Phytochemical screening of caralluma lasiantha isolation of C21 pregnane steroid,” *Oriental Journal of Chemistry*, 33(2), 963–967.

Malladi, S., Ratnakaram, V. N., Suresh Babu, K., & Pullaiah, T. (2017). Phytochemical Screening of Caralluma lasiantha Isolation of C21 Pregnane Steroid. *Oriental Journal of Chemistry*, 33(2), 963–967. <https://doi.org/10.13005/OJC/330248>

Marwah, R.G., Fatope, M.O., Al Mahrooqi, R., Varma, G.B., Al Abadi, H., et Al-Burtamani S.S. (2007). Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food Chemistry*, 101, 465–470.

Mansor, S. (2015). Evaluation de l’effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : Artemisiaabsinthium L, Artemisia herba alba Asso et Hypericum scarboides- Etude in vivo. Université, Sciences et de la Technologie d’Oran Mohamed Boudiaf. P19.

Meena, K.K., Sorty, A.M., Bitla, U.M., Choudhary, K., Gupta, P., Pareek, A., Singh, D. P., Prabha, R., Sahu, P.K., Gupta, V.K., Singh, H.B., Krishanani, K.K., & Minhas, P.S. (2017). Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants : The Omics Strategies. *Frontiers in plant science*, 8, 172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00172>

Références bibliographiques

- Meng, D., Zhang, P., Zhang, L., Wang, H., Ho, C.T., Li, S., & Zhao, H.** (2017). Détection de réactions redox cellulaires et dosages d'activité antioxydante. *Journal of Functional Foods*, 37, 467-479. Doi : 10.1016/j.jff.2017.08.008.
- Merck, S.A.** (2000). Industrias Químicas : Bioflavonoides : Quercetina y Rutina. Informe a Profesionales.
- Meve, U., & Liede, S.** (2004). Subtribal division of Ceropogoneae (Apocynaceae-Asclepiadoideae). 53(1), 61–72.
- Meve, U., & Heneidak, S.** (2005). Une étude morphologique, caryologique et chimique du complexe *Apteranthes* (*Caralluma*) *europaea*. *Biol. J. Linnean Soc.*, 149, 419–432.
- Monte, L. G., Santi-Gadelha, T., Reis L. B., & al.,** (2014). “Lectin of *Abelmoschus esculentus* (okra) promotes selective antitumor effects in human breast cancer cells,” *Biotechnology Letters*, 36(3), 461–469.
- Monte, L.G., Santi-Gadelha, T., Reis, L.B., Braganhol, E., Prietsch, R.F., Dellagostin, O.A., ... & Pinto, L.S.** (2014). La lectine d'*Abelmoschus esculentus* (okra) favorise des effets antitumoraux sélectifs dans les cellules cancéreuses du sein humaines. *Lettres de biotechnologie*, 36 (3), 461-469.
- Morand, C., Milenkovic, D.** (2014). Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*, 42, 47-62
- Mpondo, E, Dibong, S.D., Ladoh, Y.C.F., Priso, R.J., Ngoye, A.** (2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal & Plant Sciences* 15, 2083-2098.
- Mustafa, K.** (2014). A report on Domestication of wild *Caralluma tuberculata* Department of Botany. *Kohat Univeristy of Science and Technology*, Kohat, Pakistan.
- Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., Ignacimuthu, S.** (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 4269-4310.

N

Références bibliographiques

Nadarajah, K.K. (2020). ROS Homeostasis in Abiotic Stress Tolerance in Plants. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5208. <https://doi.org/10.3390/ijms21155208>

N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G.N., Traoré, D., & Aké-Assi, L.(2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1), 1-15. <https://doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>

Nogueira, V., & Hay, N.(2013). Molecular pathways : reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 19(16), 4309–4314. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1424>

O

Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tanins de structure constante dans les plantes médicinales et alimentaires - tanins hydrolysables et polyphénols liés aux tanins. *Molécules*, 16 (3), 2191-2217.

Osman A. M. (2011). Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) with (+) -catechin : evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH· and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and biophysical research communications*, 412(3), 473–478. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.07.123>

Oszmianski, J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., & Swiader, K. (2007). Tanins antioxydants issus des racines des plantes rosacées. *Chimie alimentaire*, 100 (2), 579-583.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of the browning reaction : antioxidative activities of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition*, 44(66), 307-315.

P

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., et al. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*, 133(9), 2812–9.

- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F.** (2003). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. *J.Nutr*, 133, 2812-2819.
- Petrick, J. L., Steck, S. E., Bradshaw, P. T., Trivers, K. F., Abrahamson, P. E., Engel, L. S., He, K., Chow, W. H., Mayne, S. T., Risch, H. A., Vaughan, T. L., & Gammon, M. D.** (2015). Dietary intake of flavonoids and oesophageal and gastric cancer : incidence and survival in the United States of America (USA). *British journal of cancer*, 112(7), 1291–1300. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.25>
- Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A.** (2013). Plant flavonoids--biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 14950–14973. <https://doi.org/10.3390/ijms140714950>
- Pincemail, J., Degrune, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., & Defraigne, J.O.** (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21, 66–75.
- Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B.** (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4, 25-39.
- Porter, J.L., in : Harborne, J.B., & Dey, P.M.** (1989). *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, London, 389 – 419.
- Prasad, S., Gupta, S. C., & Tyagi, A. K.** (2017). Reactive oxygen species (ROS) and cancer : Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer letters*, 387, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.03.042>
- 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.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K.** (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Prior, R., Cao, G.H.(2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35, 588–592

Priya, D., Rajaram, K., & Suresh-kumar, P. (2012). In *vitro* antioxidant and preliminary phytochemical studies of *Caralluma fimbriata* wall. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 44-48.

Priya, D., Rajaram, K., & Suresh-kumar, P. (2012). In *vitro* antioxidant and preliminary phytochemical studies of *Caralluma fimbriata* wall. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 44-48.

Puchau, B., Zulet, M.A., de Echávarri, A.G., Hermsdorff, H.H., Martínez, J.A.(2009). Dietary total antioxidant capacity : a novel indicator of diet quality in healthy young adults. *J Am Coll Nutr*, 28(6), 648–56.

Q

Qian, X., Nie, X., Yao, W., Klinghammer, K., Sudhoff, H., Kaufmann, A. M., & Albers, A. E. (2018). Reactive oxygen species in cancer stem cells of head and neck squamous cancer. *Seminars in cancer biology*, 53, 248–257.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.06.001>

R

Re, R., Pellegrini, N., A. Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 26, 1231-1237.

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.

REZAIRE, A. (2012). Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa), Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne.

Roginsky, V., Lissi, E.A.(2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem*, 92, 235-254.

Roudsari, M., Chang, P., Pegg, R., Robert, T.(2009). Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chemistry*, 114, 717-726

S

Saijo, R., Nonaka G.I., &Nishioka, I. (1989). Tanins et composés apparentés. LXXXIV. : Isolement et Caractérisation de Cinq Nouveaux Tanins Hydrolysables de l'Écorce de Mallotus japonicus.*Chem. Pharm. Bull.*, 37(8), 2063-2070.

Sajeva, M. (1984). *Caralluma europaea* (Guss.) N. E. Br. and its Type Locality : Lampedusa Island. *British Cactus and Succulent Journal*, 2, 40-42.

Sajeva, M., Bellini, E. (1984). *Caralluma europaea* (Guss.) N.E.Br. and its Type Locality : Lampedusa Island. *British Cactus & Succulent Journal*, 2(2), 40-42.

Sajeva, M., Costanzo, M. (1994). *Succulents. The Illustrated Dictionary.* Cassell plc, London UK.

Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Rice-Evans, C.A. (1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339-346.

Sánchez, C. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and systems biotechnology*, 2(1), 13–22.<https://doi.org/10.1016/j.synbio.2016.12.001>

Santrucek,M., & Krepelka, J. (1988). Antioxidants-potential chemotherapeutic agents. *Drugs Future*, 13(11), 973.

Schulz, S., Boppré, M., & Vane-Wright, R.I. (1993). Specific mixture of secretions from male scent organs of African milkweed butterflies (Danainae). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 342, 161–181

Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins : current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition & food research*, 535(2), 310–329.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.200900039>

Shahat, A.A., &Marzouk, M.S. (2013). Tannins and Related Compounds from Medicinal Plants of Africa Abdelaaty, *Medicinal Plant Research in Africa*. 449- 555. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00013-8>

Sieniawska, E.,& Baj, T. (2017). Tannins, Pharmacognosy. Lublin, Poland. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00010-X>

Sies, H. (1994). Strategies of antioxidant defense. *EJB Reviews* 1993, 101-107.

Sies, H. (2015). Oxidative stress : a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*, 4, 180–183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>

Sireesha, M., Venkata Nadh, R., Babu, K., &Sreenivasulu, M. (2018). “Phytochemical library of caralluma genus,” *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(4), 1201–1213.

Stangl, V., Dreger, H., Stangl, K., & Lorenz, M. (2007). Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system. *Cardiovascular research*, 73(2), 348–358. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.08.022>

Stanković, M.S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. extracts. *Kragujevac J Sci*,(33) 63–72

Sun, B., Richardo-da-Silvia, J.M., Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274.

T

Testai, L. (2015). Flavonoids and mitochondrial pharmacology : A new paradigm for cardioprotection. *Life sciences*, 135, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.04.017>

Tian, Y., Zou, B., Li, C.M., Yang, J., Xu, S.F., & Hagerman, A.E.(2012). Le tanin de kaki de haut poids moléculaire est un puissant antioxydant à la fois ex vivo et in vivo. *Food Research International*, 45 (1), 26-30.

Tong, L., Chuang, C.C., Wu, S., & Zuo, L. (2015). Reactive oxygen species in redox cancer therapy. *Cancer letters*, 367(1), 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.07.008>

V

Vasconcelos, P. C., Andreo, M. A., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C. A., & Pellizzon, C. H. (2010). Effect of Mouriri pusa tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of ethnopharmacology*, 131(1), 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.06.017>

Vermerris, W., Nicholson, R. (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Edition Springer.
Verpoorte, R. (1998). Exploration of nature's chemodiversity : the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today*, 3(5), 232–238. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(97\)01167-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01167-7)

Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M.C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>

Visioli, F., Borsani, L., & Galli, C. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease : the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular research*, 47(3), 419–425. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(00\)00053-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(00)00053-5)

W

Waghorn, G.(2008). Effets bénéfiques et néfastes des tanins condensés alimentaires pour une production ovine et caprine durable - Progrès et défis. *Science et technologie de l'alimentation animale*, 147 (1-3), 116-139.

Wang, H., Gan, D., Zhang, X., & Pan, Y. (2010). “Antioxidant capacity of the extracts from pulp of *Osmanthus fragrans* and its components,” *LWT. Food Science and Technology*, 43(2), 319–325.

Wen, S., Chen, Y., Lu, Y., Wang, Y., Ding, L., Jiang, M et al. (2016). Cardénolides de la famille des apocynacées et leur activité anticancéreuse. *Fitoterapia*, 112, 74–84.

West, A.P., Shadel, G.S., & Ghosh, S. (2011). Mitochondria in innate immune responses. *Nature reviews. Immunology*, 11(6), 389–402. <https://doi.org/10.1038/nri2975>

Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz., D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G., & al. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods : a preliminary study. *J Food Compos Anal*, 17(3-4), 407–22.

Würdig, G., & Woller, R. (Eds.). (1989). *Chimie des weines*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.

X

Xiong, Z., Yu, Q.N., Zou, Z.B., He, Z.H., Zhang, S.J., Xu, R.C., & al., (2014). Protective effects of tannins in *Sanguisorbae radix* on myelosuppression mice. *Chinese Herbal Medicines*, (6), 222-227.

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants : Extraction, Assessment and Resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>

Y

Yang, J., Guo, J., & Yuan, J. (2008). Propriétés antioxydantes in vitro de la rutine, *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1060- 1066.

Yoshida, T., Ohbayashi, H., Ishihara, K., Ohwashi, W., Haba, K., Okano, Y., Shingu, T., & Okuda, T. (1991). Tanins et polyphénols apparentés des plantes mélastomatacées. I. Tanins hydrolysables de *Tibouchina semidecandra* COGN. *Chem. Pharm. Bull.*, 39(9), 2233-2240.

Z

Zaghdoudi, K., Framboisier, X., Frochot, C., Vanderesse, R., Barth, D., Kalthoum-Cherif, J., Blanchard, F., & Guiavarc'h, Y. (2016). Response surface methodology applied to Supercritical Fluid Extraction (SFE) of carotenoids from Persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Food chemistry*, 208, 209–219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.104>

Zarev, Y., Foubert, K., Lucia de Almeida, V., Anthonissen, R., Elgorashi, E., Apers, S., Ionkova, I., Verschaeve, L., & Pieters, L. (2017). Antigenotoxic prenylated flavonoids from stem bark of *Erythrina latissima*. *Phytochemistry*, 141, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.06.003>.

Zhang, J.J., Li, Y., Zhou, T., Xu, D.P., Zhang, P., Li, S., & Li, H.B. (2016). Bioactivities and Health Benefits of Mushrooms Mainly from China. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(7), 938. <https://doi.org/10.3390/molecules21070938>

Références bibliographiques

Zhou, Y., Zheng, J., Li, S., Zhou, T., Zhang, P., & Li, H.B.(2016). Alcoholic Beverage Consumption and Chronic Diseases. *International journal of environmental research and public health*, 13(6), 522. <https://doi.org/10.3390/ijerph13060522>

Annexes

Annexe 1 : Préparation de l'extrait de *Caralluma europaea*

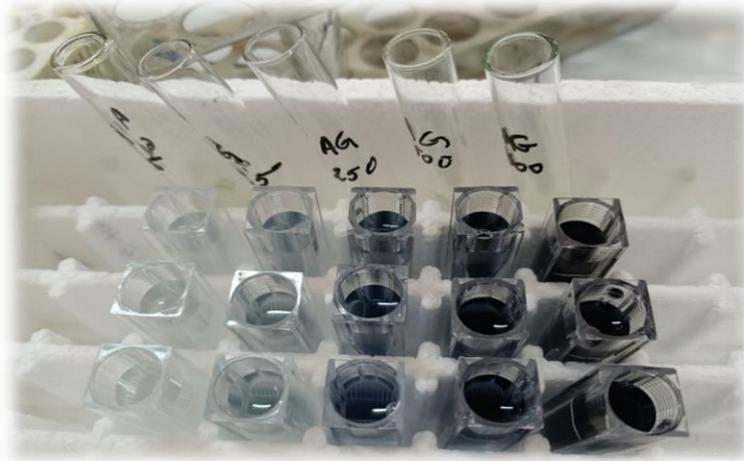
1 ^{ère} filtration	2 ^{ème} filtration	Extrait de méthanol/acétone (50/50) après filtration
		

Filtration de l'extrait de *Caralluma europaea*

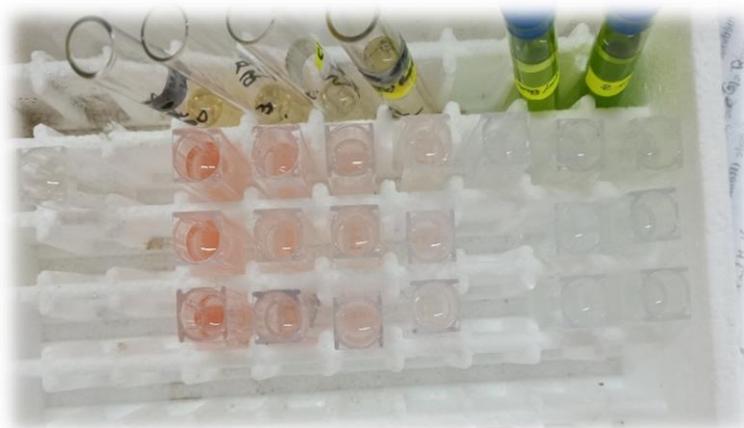
Evaporation à l'aide d'un Rotavapor	Extrait après évaporation	
		

Evaporation de l'extrait de *Caralluma europaea*

Annexe 2 : Gammes d'étalonnage pour les dosages des composés phénoliques dans l'extrait de *Caralluma europaea*



Gamme d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

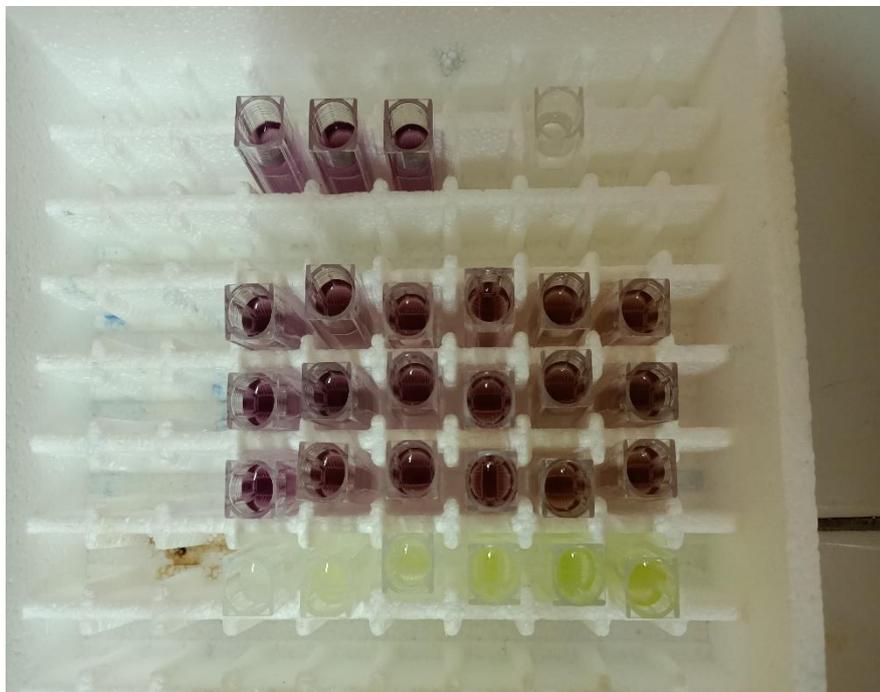


Gamme d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés



Gamme d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

Annexe 3 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait de *Caralluma europaea*



Résumé

Ce travail constitue à quantifier les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins et à évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, de l'extrait du méthanol/acétone de la partie aérienne de *Caralluma europaea* vendu chez l'herboriste. Le rendement d'extraction est de 10,88 %. Les contenus de l'extrait en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins sont $2,56 \pm 0,17$ mg EAG/g MS, $1,32 \pm 0,16$ mg EC/g MS et $1,23 \pm 0,25$ mg EC/g MS, respectivement. L'évaluation de l'effet antioxydant de l'extrait par le piégeage du radical libre DPPH révèle une valeur de CI_{50} de $0,366 \pm 0,007$ mg/ml ce qui reflète une faible activité comparée à celle du standard, le BHT. Le résultat de la capacité antioxydante totale montre que l'extrait a une teneur de $12,43 \pm 1,98$ mg EAA/g MS, estimée par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats suggèrent que *C. europaea* un pouvoir antioxydant modérée.

Mots clés : Activité antioxydante, *Caralluma europaea*, polyphénols, flavonoïdes, tanins, DPPH, CI_{50} , capacité antioxydante totale.

Abstract

This work is to quantify polyphenols, flavonoids and tannins and to evaluate the antioxidant activity, *in vitro*, of the methanol/acetone extract of the aerial part of *Caralluma europaea* sold at the herbalist. The extraction yield was 10.88%. The contents of polyphenols, flavonoids and tannins in the extract are 2.56 ± 0.17 mg EAG/g DM, 1.32 ± 0.16 mg EC/g DM and 1.23 ± 0.25 mg EC/g DM, respectively. Evaluation of the antioxidant effect of the extract by DPPH free radical scavenging reveals an IC_{50} value of 0.366 ± 0.007 mg/ml which reflects a low activity compared to that of the standard, BHT. The result of total antioxidant capacity shows that the extract has a content of 12.43 ± 1.98 mg EAA/g DM, estimated against ascorbic acid. The results suggest that *C. europaea* has a moderate antioxidant capacity.

Keywords : Antioxidant activity, *Caralluma europaea*, polyphenols, flavonoids, tannins, DPPH, IC_{50} , total antioxidant capacity.

ملخص

يتكون هذا العمل من تحديد كمية البوليفينول والفلافونويد والعفص وتقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمستخلص الميثانول / الأسيتون من الجزء الجوي لمستخلص *Caralluma europaea* الذي يبيعه المعالجون بالأعشاب. معدل الاستخلاص 10.88%. محتويات المستخلص في البوليفينول والفلافونويد والعفص هي 2.56 ± 0.17 mg EAG/g MS، 1.32 ± 0.16 mg EC/g MS، 1.23 ± 0.25 mg EC/g MS، على التوالي. يكشف تقييم التأثير المضاد للأكسدة للمستخلص عن طريق محاصرة الجذور الحرة DPPH بقيمة $IC_{50} = 0.366 \pm 0.007$ mg/ml مما يعكس نشاطاً منخفضاً مقارنةً بالمعيار BHT، تظهر نتيجة القدرة الكلية المضادة للأكسدة أن المستخلص يحتوي على 12.43 ± 1.98 mg EAA/g MS، مقدرة بالنسبة لحمض الأسكوربيك. تشير النتائج إلى أن *C. europaea* لديها قوة معتدلة من مضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضادات الأكسدة، *Caralluma europaea*، البوليفينول، الفلافونويد، التانين، DPPH، IC_{50} ، مضادات الأكسدة، إجمالي القدرة المضادة للأكسدة.