



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
01  
Université des frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et physiologie Végétal

كلية العلوم الطبيعية والحياة  
قسم البيولوجيا و فيزيولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : Science de la Nature et la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et physiologie végétal

Intitulé :

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité  
antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de  
l'espèce *Ceratonia siliqua* L. (Elkharoub).**

Présenté et soutenu par :

BELKAMLA Chaima

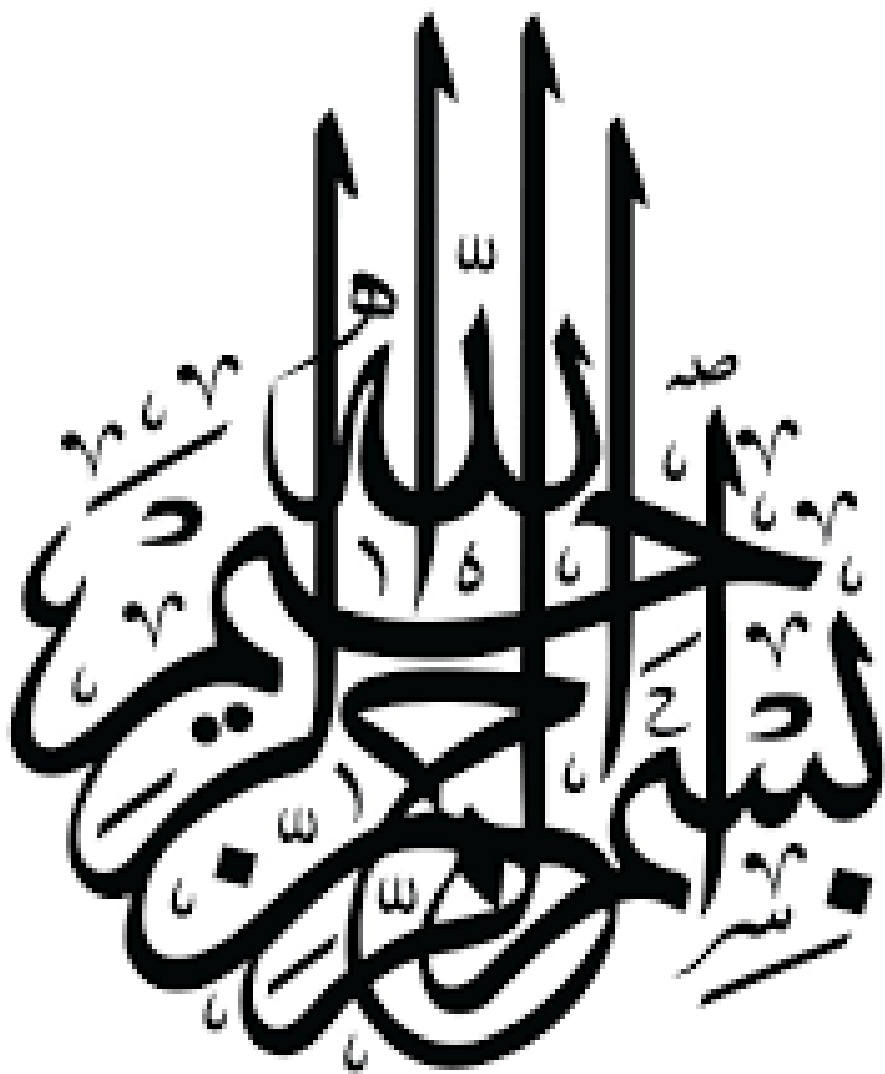
BOUDARBALA Racha

BENLATRECHE Khadija

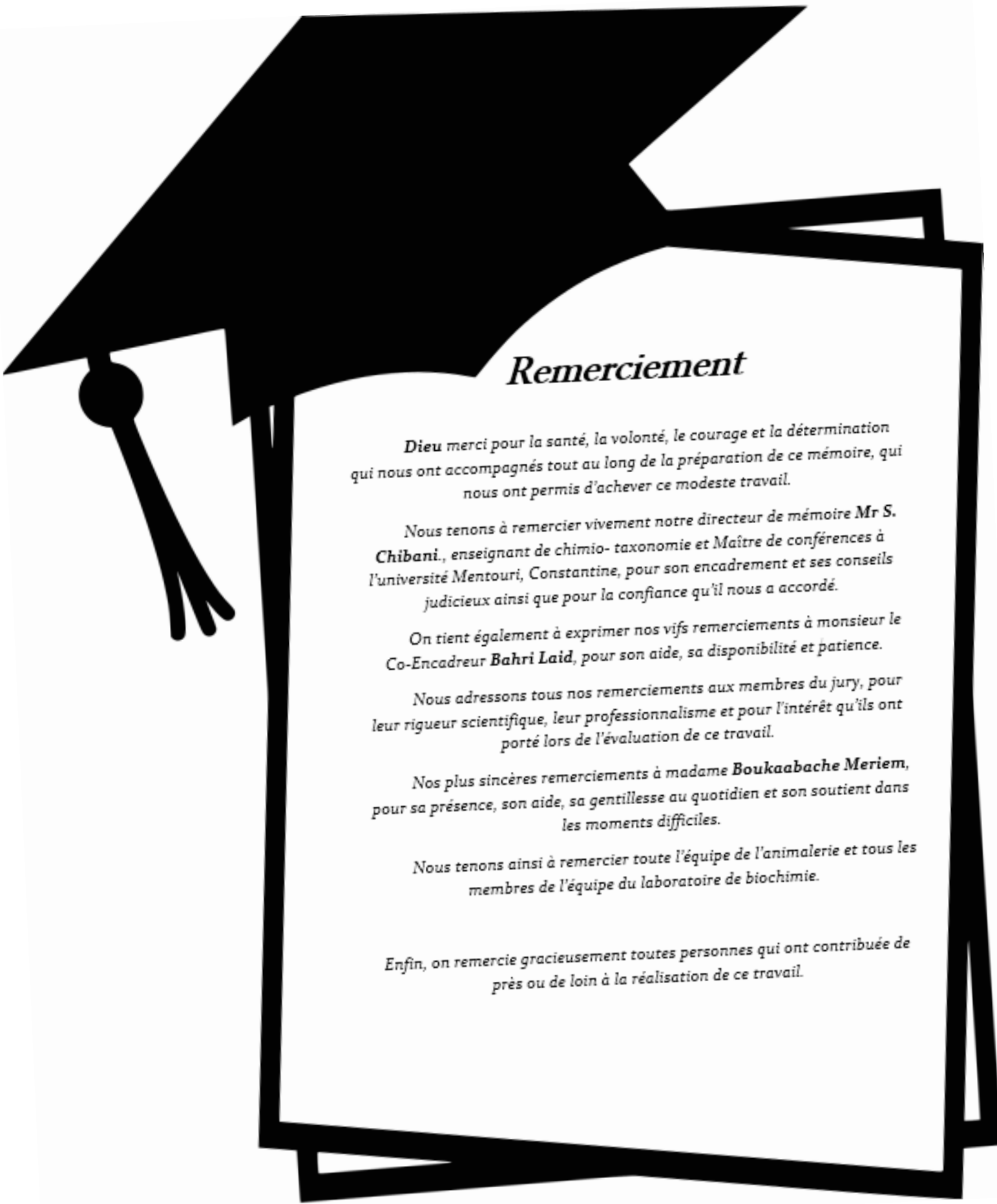
Jury d'évaluation :

- |                       |                   |     |                   |
|-----------------------|-------------------|-----|-------------------|
| – Président de jury : | GHAROUCHA Houcine | Pr  | UFMC1 Constantine |
| – Encadreur :         | CHIBANI Salih     | MCA | UFMC1 Constantine |
| – Examinatrice :      | BAKA Mebark       | Pr  | UFMC1 Constantine |

Année universitaire : 2020\_2021







## *Remerciement*

*Dieu merci pour la santé, la volonté, le courage et la détermination qui nous ont accompagnés tout au long de la préparation de ce mémoire, qui nous ont permis d'achever ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier vivement notre directeur de mémoire **Mr S. Chibani**, enseignant de chimio- taxonomie et Maître de conférences à l'université Mentouri, Constantine, pour son encadrement et ses conseils judicieux ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordé.*

*On tient également à exprimer nos vifs remerciements à monsieur le Co-Encadreur **Bahri Laid**, pour son aide, sa disponibilité et patience.*

*Nous adressons tous nos remerciements aux membres du jury, pour leur rigueur scientifique, leur professionnalisme et pour l'intérêt qu'ils ont porté lors de l'évaluation de ce travail.*

*Nos plus sincères remerciements à madame **Boukaabache Meriem**, pour sa présence, son aide, sa gentillesse au quotidien et son soutien dans les moments difficiles.*

*Nous tenons ainsi à remercier toute l'équipe de l'animalerie et tous les membres de l'équipe du laboratoire de biochimie.*

*Enfin, on remercie gracieusement toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



## Dédicace

*A la mémoire de mon père et mes grand-parents .*

*Je dédie ce mémoire  
A ma mère la lumière de ma vie, la source de  
tendresse et L'exemple du dévouement qui n'a  
pas cessé de m'encourager et De prier pour  
moi.*

*A ma très chère sœur Ines et son mari walid*

*A mon précieux frère Hamza et sa femme  
Assia*

*A mon merveilleux frère Anis*

*A mes chers collègues Chaima et Abir ; En  
témoignage de l'amitié qui nous uni et des  
souvenirs de Tous les moments que nous avons  
passé ensemble, je vous dédi Ce travail et je  
vous souhaite une vie pleine de santé et de  
bonheur.*

## Racha





## Dédicace

*Tout d'abord je tiens à remercier dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la volonté et de m'avoir fourni sa bénédiction  
Je dédie ce modeste travail*

*À mes chères parents Nora et Ali qui sont toujours répondeur présent dans les moments plus difficiles, son soutien, son encouragements et qui sont toujours donnés la force de poursuivre mes études.*

*À mes sœurs Sara, Asma et Rayhana  
À mon petit frère Abdelkader  
À toute ma famille du plus grand au plus petit*

*À tous mes meilleurs amis surtout mes trinôme  
Racha et Abir  
À toute personne qui occupe une place dans mon cœur.*

## Chaïma





## Dédicace

*Je souhaiterais par le présent message dédier des sentiments par des phrases. Avant tout à ma mère Bariza le pilier de mon existence et à mon père Allah yarahmou Abd el rahmen qui sont tous deux les acteurs principaux de ma vie et mes modèles. Ils n'ont jamais cessé d'être un soutien sans failles et de motivation.*

*À mes perles, mes trésors, mes sœurs Houda, Asma, Hayame et Khouloud et à mes beaux-frères Reda et Youssef.*

*A mon précieux et brave frère Seif.*

*A Rachia et Chaima qui comptent énormément pour moi. J'espère que ces quelques mots suffiront pour vous démontrer l'attachement que j'ai envers vous et l'importance de vos présences dans ma vie. Qu'Allah vous préserve.*

## *Khadidja*

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Caractère botanique des Faboideae.....	03
<b>Figure 02</b> : <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	04
<b>Figure 03</b> : Le caroubier ( <i>Ceratonia siliqua</i> L.).....	05
<b>Figure 04</b> : Les feuilles du <i>Caroubier</i> .....	06
<b>Figure 05</b> : les fleurs du caroubier.....	06
<b>Figure 06</b> : Les fruits du <i>Caroubier</i> (Gousses vertes et Gousses mûrs).....	07
<b>Figure 07</b> : Les grains du Caroubier.....	07
<b>Figure 08</b> : Répartition géographique de <i>Ceratonia siliqua</i> L. dans le monde.....	09
<b>Figure 09</b> : Répartition géographique de <i>Ceratonia siliqua</i> L. En Algérie.....	10
<b>Figure 10</b> : type et origine des métabolismes secondaire.....	14
<b>Figure 11</b> : origine biosynthétique des métabolismes secondaires (AHARONI et GALILI 2001).....	15
<b>Figure 12</b> :les principales classes de métabolite secondaire chez les végétaux (Boutefnoucher, 2016).....	16
<b>Figure 13</b> :Les différentes classes des composés phénoliques.....	17
<b>Figure 14</b> : Le squelette des acides phénoliques (Costa et, 2012).....	18
<b>Figure 15</b> : Dérivés de l'acide benzoïque formule générale.....	19
<b>Figure 16</b> : Formule semi-développée d'acide gallique.....	19
<b>Figure 17</b> : Dérivés de l'acide cinnamique formule générale.....	20
<b>Figure 18</b> : Structure de base d'un flavonoïde (HELLER et FORKMANN, 1993).....	21
<b>Figure 19</b> : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Havsteen ,2002).....	22
<b>Figure 20</b> : Les trois principales familles de flavonoïdes (J.P.J.Marais, et al 2007).....	23



<b>Figure 21:</b> La biosynthèse des flavonoïdes ( <b>Bruneton, 1999</b> ).....	24
<b>Figure 22:</b> L'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique coumarine.....	25
<b>Figure 23:</b> Structure des différents types de coumarines de plantes supérieures.....	26
<b>Figure 24:</b> les voies de la biogenèse.....	27
<b>Figure 25:</b> classification des tannins selon leurs structures chimiques.....	28
<b>Figure 26:</b> Structure des tanins hydrolysables (A) et condensés (B) ( <b>McMahon et al 2000</b> ).....	29
<b>Figure 27:</b> Les mécanismes réactionnels de tous les monoterpènes synthèses commencent par l'ionisation du substrat géranyl diphosphate.....	31
<b>Figure 28:</b> Le mécanisme de réaction de toutes les sesquiterpènes synthèses commence par l'ionisation du FPP.....	32
<b>Figure 29:</b> Biosynthèse des alcaloïdes ( <b>Tadeusz Aniszewski, 2007</b> ).....	34
<b>Figure 30:</b> Synthèse des phytostérols du tournesol.....	35
<b>Figure 31:</b> Biosynthèse des 6 anthocyanosides principaux.....	36
<b>Figure 32:</b> Réaction inflammatoire.....	37
<b>Figure 33:</b> L'ensemble des différents types des espèces radicalaires ( <b>Fatmah et al, 2012</b> ).....	38
<b>Figure 34:</b> Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d'une cellule.....	39
<b>Figure 35:</b> Mécanisme d'action anti-oxydante des composés phénoliques ( <b>Leopoldini et al, 2011</b> ).....	40
<b>Figure 36:</b> Réaction inflammatoire.....	43
<b>Figure 37 :</b> les trois organes feuilles fruits et tiges de <i>Cératonia siliqua</i> L.....	44
<b>Figure 38 :</b> Séchage des feuilles, tiges et fruits de <i>Cératonia siliqua</i> L.....	44
<b>Figure 39 :</b> Extrait hydro-méthanolique des feuilles fruits et tiges.....	45
<b>Figure 40 :</b> filtration du macérât des feuilles.....	45
<b>Figure 41 :</b> l'extrait brute des fruits, feuilles et tiges de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	45

<b>Figure 42</b> : flacons Méthanolique, chloroformique et étherique pour les trois organes feuilles, fruits et tiges de <i>Cératonia siliqua</i> L.....	46
<b>Figure 43</b> : développement de la plaque.....	49
<b>Figure 44</b> : Structure chimique du radical libre DPPH.....	51
<b>Figure 45</b> : photographie du DPPH.....	52
<b>Figure 46</b> : photographie de blanc.....	52
<b>Figure 47</b> : photographie des différentes concentrations d'EMCS fruits.....	52
<b>Figure 48</b> : photographie des différentes concentrations d'EMCS feuilles.....	53
<b>Figure 49</b> : photographie des différentes concentrations d'EMCS tiges.....	53
<b>Figure 50</b> :Rats adultes de souche wistar.....	54
<b>Figure 51</b> : injection des rats par voie intra-péritonéale.....	54
<b>Figure 52</b> :Gavage d'une dose de glucose à raison de 2g/kg .....	55
<b>Figure 53</b> : coupe au niveau de la queue du rat.....	55
<b>Figure 54</b> : Mesure du glucose sanguin.....	55
<b>Figure 55</b> : injection du formol 1%.....	56
<b>Figure 56</b> : injection des rats par voie intra-péritonéale.....	57
<b>Figure 57</b> : Mesure du volume de l'œdème.....	57
<b>Figure 58</b> : résultat des quinones de EECS.....	58
<b>Figure 59</b> : résultats des anthraquinones de ECCS.....	58
<b>Figure 60</b> : résultats des Anthocyanes de EMCS.....	59
<b>Figure 61</b> : résultat des criblages des flavonoïdes.....	59
<b>Figure 62</b> : résultat de Criblage des tanins.....	59
<b>Figure 63</b> : Photographies des criblages des stérols, stéroïdes et triterpenes de CS.....	60

<b>Figure 64</b> : photographies des tubes après l'agitation.....	61
<b>Figure 65</b> : photographie de pouvoir aphrogène des saponosides.....	62
<b>Figure 66</b> : photographie des plaques en chauffant.....	62
<b>Figure 67</b> : courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	64
<b>Figure 68</b> : Dosage des polyphénols totaux des extraits EMCS tiges, feuilles et fruits.....	65
<b>Figure 69</b> : Microplaque des tests DPPH.....	66
<b>Figure 70</b> : pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS feuilles.....	67
<b>Figure 71</b> : pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS fruits.....	67
<b>Figure 72</b> : pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS tiges .....	67
<b>Figure 73</b> : Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités par eau physiologique, contrôle et extraits feuilles, fruits et tiges de CS.....	69
<b>Figure 74</b> : Courbe de l'évolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra péritonéale, après l'injection de formol 1%.....	70



## Abréviations et symboles :

- **µg** : microgramme.
- **mg** : Milligramme.
- **µl** : microlitre.
- **nm** : nanomètre.
- **T** : Temps.
- **%** : Pourcentage.
- **v/v** : Rapport volume par volume.
- **AA** : Activités Anti radicalaire.
- **H<sub>2</sub>O** : Eau.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.
- **HCl** : Hydrochloric acid.
- **IC<sub>50</sub>**: Concentration inhibitrice à 50%.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **Abs** : Absorbance.
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle).
- **EE** : Extrait d'éther de pétrole.
- **EC** : extrait chloroformique.
- **EM** : extrait méthanolique.
- **T** : tiges.
- **Fe** : feuilles.
- **Fr** : fruits.
- **µg EAG/mg PS** : microgramme d'équivalent acide gallique par milligramme du poids sec de la plante.
- **CCM.**: Chromatographie sur couche mince.
- **NT**: non testé.
- **MeOH**: Méthanol.
- **BHA** : Butylhydroxyanisol.

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations et symboles

Introduction Générale

Partie I : Présentation botanique de *Ceratonia siliqua* L.

Chapitre I : Revue bibliographique.

I.1. Généralités sur les Fabacées.....	02
I.1.2. Position systématique des Fabacées.....	02
I.1.3. Caractères généraux des Fabaceae et des Faboideae.....	03
I.2. Présentation de l'espèce <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	04
I.2.1 DESCRIPTION botanique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	05
I.2.2. Morphologie et description des principales parties de l'arbre de <i>Ceratonia siliqua</i> L... 05	
❖ Système racinaire .....	05
❖ Les Feuilles.....	05
❖ Les fleurs .....	06
❖ Fruits.....	06
❖ Les grains .....	07
I.2.3. Classification APG III.....	07
I.2.4. Origine de <i>Ceratonia siliqua</i> L. ....	08
I.2.5. Conditions de culture de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	08
I.2.6. Répartition géographique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	08
❖ Dans le monde.....	08
❖ En Algérie.....	09
I.2.7. Composition de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	10
I.2.8. <b>Activité toxicologiques de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....</b>	<b>11</b>
I.2.9. Utilisations et propriétés biologique de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	11

Chapitre II: Métabolites secondaires

II. Généralités sur les métabolites.....	13
II.1. Les métabolites primaires.....	13
II.2. Métabolites secondaires.....	14
II.2.1. Biosynthèse des métabolites secondaires.....	14
II.2.2. Classification des métabolites secondaires.....	15

Les terpènes.....	16
II.2.2.1. Les polyphénols .....	16
a) Généralités sur les polyphénols.....	16
b) Classification des composés phénoliques.....	17
c) Localisation des composés phénoliques.....	17
d) Role et intérêts des composés phénoliques .....	17
II.2.2.2. Les acides phénoliques .....	18
a) Définition des acides phénoliques.....	18
b) Les acides benzoïques.....	18
c) Acide gallique.....	19
d) Les acides cinnamiques.....	20
II.2.2.3. Les flavonoïdes.....	20
a) Définition des flavonoïdes .....	20
b) Classification des flavonoïdes .....	21
c) Structure chimique des flavonoïdes .....	22
d) Localisation des flavonoïdes dans les plantes.....	23
e) Biosynthèse des flavonoïdes.....	23
II.2.2.4. Les anthocyanes .....	24
a) Définition des anthocyanes .....	24
II.2.2.5. Les coumarines .....	25
a) Définition des coumarines.....	25
b) Répartition botanique et localisation des coumarines .....	25
c) Structure chimique des coumarines .....	25
d) Classification des coumarines .....	26
o Coumarines simples.....	26
o Coumarines complexes.....	26
e) Biogenèse des coumarines.....	27
f) Propriétés des coumarines.....	27
II.2.2.6. Les tannins .....	29
a) Définition des tannins.....	28
b) Classification des tannins.....	28



c) Propriété des tannins.....	29
II.2.3. Les terpènes .....	30
a) Définition des terpènes .....	30
b) La classification des terpènes .....	30
c) Biosynthèse des terpènes .....	31
II.2.2.8. Les alcaloïdes .....	32
a) Définition des alcaloïdes .....	32
b) Type des alcaloïdes.....	33
c) Localisation des alcaloïdes.....	33
d) Structure chimique des alcaloïdes .....	33
e) Biosynthèse des alcaloïdes.....	33
f) Propriétés physiques et chimiques des alcaloïdes.....	34
II.2.2.9. Les stérols.....	35
a) Définition des stérols .....	35
II.2.2.10. Les anthocyanes.....	36
a) La biosynthèse des anthocyanes.....	36

### CHAPITRE III : Les activités biologiques

I. Oxydants .....	37
I.1. Les radicaux libres .....	37
I.1.2 Stress oxydant.....	38
I.2. Antioxydants.....	39
I.2.1. Définition .....	39
I.2.2. Les types d'antioxydants.....	40
II. Le diabète .....	40
II.1. Définition de diabète .....	40
II.2. Le diabète de type 2 .....	41
III. L'inflammation.....	43
III.1. Définition de L'inflammation .....	43

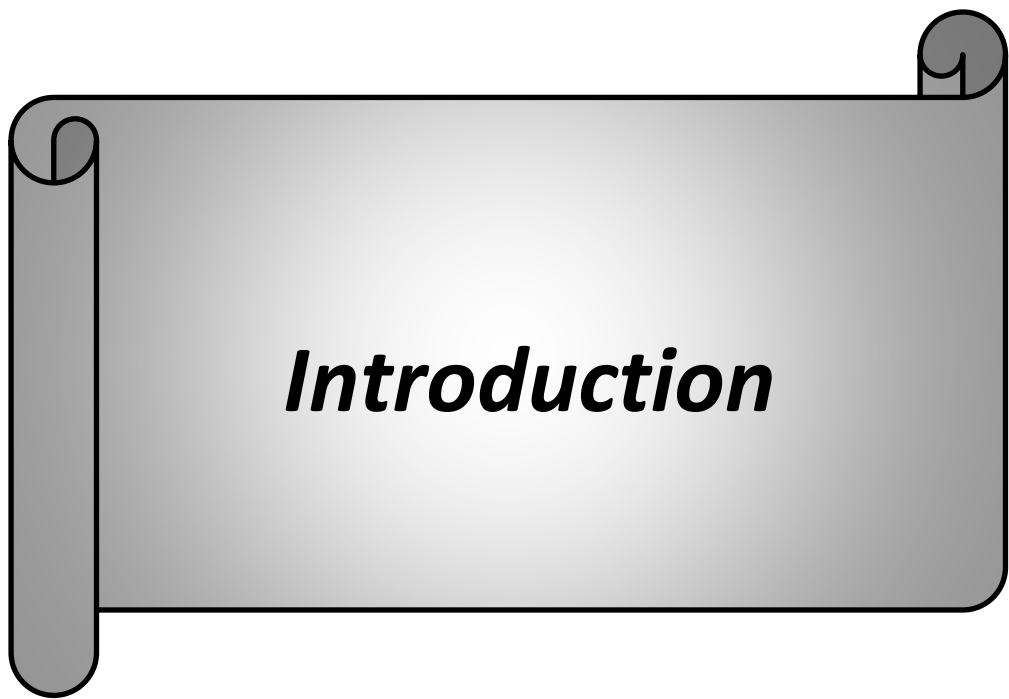
### Chapitre II. Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal.....	44
----------------------------	----

I.1.1. La récolte de la matière végétale.....	44
I.1.2. Broyage des parties sèches .....	44
I.1.3.Extraction des métabolites secondaires.....	45
I.1.4.Préparation de l'extrait hydro méthanolique.....	45
I.2.Tests phytochimiques.....	46
I.2.1. Détection des Polyphénols.....	46
I.2.1.1. Détection des Quinones libres .....	46
I.2.1.2.Criblage des Anthraquinones .....	46
I.2.1.3.Criblage des flavonoïdes .....	46
I.2.1.4.Criblage des Tanins.....	47
I.2.2.Détection des Stérols, Stéroïdes et Triterpènes.....	47
I.2.3.Détection des saponosides.....	48
I.2.4. détection des coumarines .....	48
I.2.5. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM) .....	48
I.2.6. Dosage des composés phénoliques totaux .....	50
II. Activités antioxydants .....	50
Préparation du DPPH.....	52
Procédure.....	52
III. Evaluation de l'activité antidiabétique .....	53
Matériel végétal.....	53
Matériel animal.....	53
Réactifs.....	54
Protocole expérimentale.....	54
IV. évaluation anti-inflammatoire.....	55
Matériel végétal.....	55
Matériel animal.....	55
Réactifs.....	56
Protocole expérimentale.....	56
<b>Résultats et discussion</b>	
I. Screening phytochimique .....	58
I.1. Criblage des composés phénoliques .....	58
I.1.1. Criblage des Quinones .....	58
I.1.2. Criblage des Anthraquinones.....	58

I.1.3. Criblage des Anthocyanes.....	58
I.1.4. Criblage des flavonoïdes .....	59
I.1.5. Criblage des tanins .....	59
I.1.6. Criblage des stérols stéroïdes et triterpenes .....	60
I.2.1. détection des coumarines .....	61
I.2.2. détection des saponosides .....	61
I.2.3. Etude analytique sur chromatographie CCM .....	62
I.2.4. Dosage des composés phénoliques totaux .....	64
II. Activités biologiques.....	65
II.1. Evaluation de l'activité antioxydante .....	65
II.2. Activité antidiabétique .....	68
II.3. Activité anti-inflammatoire .....	70
Conclusion générale .....	72
Références bibliographiques.	
Résumé.	





***Introduction***

### Introduction :

Historiquement, les êtres humains ont utilisés leur environnement et en particulier les plantes, qui forment des sources riches en produits naturels utilisés depuis des siècles pour soigner diverses maladies. L'utilisation des plantes, à des fins thérapeutiques, est rapportée dans la littérature antique, arabe, chinoise, égyptienne, hindoue, grecque et romaine. Le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres de façon empirique [1].

De nos jours, la recherche scientifique nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnus et répertoriés, et donc mis à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne [2][3].

La plupart des matrices naturelles sont des molécules biologiquement actives qui constituent la clé de voûte du système interactionnel plantes et environnement, et ils sont assez souvent impliqués dans la défense des végétaux. Ces composés d'origines naturels présentent l'avantage d'une très grande diversité structurale possédant un large éventail d'activités biologiques [4].

Les substances naturelles et les plantes en particulier représentent une immense source des composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes, flavonols, tanins condensés...), l'extraction brute, naturelle de ces composés et l'isolation à partir d'espèces de plantes utilisées en médecine traditionnelle peuvent être des ressources prolifiques de nouveaux médicaments [5].

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antidiabétique des extraits méthanoliques des parties aériennes de *Ceratonia siliqua* L., plante médicinale de la famille des Fabacées, connue en Algérie sous le nom Elkharoub.

Notre manuscrit s'articule autour de deux parties :

- La première partie comprend trois chapitres: consacré à étude bibliographique c'est-à-dire la description botanique de la plante *Ceratonia siliqua* L., les métabolites secondaires et ensuite les activités biologiques tels que l'activité anti-oxydante, antidiabétique « Tolérance au glucose » et anti- inflammatoire.
- La deuxième partie représente l'étude expérimentale, regroupé en deux chapitres: matériel et méthodes, suivi des résultats obtenus avec leur discussion.

# **PARTIE I**

## **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**



# *CHAPITRE I*

## **Description botanique**

### I.1. Généralités sur les Fabacées :

Les Fabacées (Fabaceae) ou Légumineuse appartiennent à la famille des légumineuses et se compose de 650 genres et 12 000 espèces.

Selon la classification phylogénétique APG III (2009), elle est divisée en 3 sous-familles : Caesalpinioideae, Mimosoideae et Faboideae.

Cette famille est composée de variétés horticoles et beaucoup d'espèces sont récoltées dans un but alimentaire, tant pour l'alimentation humaine (haricot, pois, fève, soja) qu'animale (trèfle, luzerne, sainfoin), pour leur huile (arachide, soja), leurs fibres, comme combustible, pour leur bois, leur utilisation en médecine (spartéine extraite du genêt à balais, réglisse) ou en chimie [6]

#### I.1.2. Position systématique des Fabacée:

**Tableau 01** : position systématique des fabacées selon différentes approches phylogénétique Ou morphologique [7]

	<b>Engler (1887-1915)</b>	<b>Cronquist(1988)</b>	<b>Thorne (1992)</b>	<b>APG III(2009)</b>
<b>Regne</b>	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
<b>Embrenchement</b>	Embryophyta	Magnoliopsida	Spermatophytae	Spermatophyta
<b>Sous embrenchement</b>	Angiospermae	–	Angiospermae	Angiospermae
<b>Classe</b>	Dicotyledonae	Magnoliopsida	Magnoliidac	Eudicotylcdonae
<b>Sous-classe</b>	Archichlamydeae	Rosidae	Rutanae	Rosidae
<b>Ordre</b>	Rosales	Fabales	Rutales	Eurosidae I
<b>Sous-ordre</b>	Leguminosineae	–	Fabineae	Fabales
<b>Famille</b>	<b>Leguminosae</b>	<b>Fabaceae (=Papilionaceae)</b> Mimosaceae Caesalpinaceae	<b>Fabaceae</b>	<b>Fabaceae (=Leguminosae)</b>
<b>Sous-famille</b>	Faboideae Mimosoideae Caesalpinioideae		Faboideae Mimosoideae Caesalpinioideae Swartzioideae	Faboideae Mimosoideae Caeslpinoideae

#### I.1.3. Caractères généraux des Fabaceae et des Faboideae :

Les fabaceae (anciennement légumineuses) sont définies par six caractéristiques importantes. - Les racines ont des tubercules formés à la suite de l'invasion de bactéries (rhizobium). Rhizobium - une symbiose de légumineuses s'établit : les plantes utilisent le NH<sub>3</sub> synthétisé par les bactéries pour la formation d'acides aminés.

Le Rizovium emprunte l'énergie nécessaire aux sucres formés par les plantes pour fixer l'azote dans l'atmosphère.

-Les feuilles sont définies et généralement composées en une pennées ou bipennées.

-Les douilles (bords d'un motif floral) sont agrandies sous forme de cônes, plateaux, tasses ou fontes.

- Le pistil est excellent libre, mais à quelques exceptions près il se réduit à un carpelle dont les extrémités sont suturées aux nageoires.

-Il suffit que cette lettre soit bilatéralement symétrique (joint) de la fleur.

Chez la plupart des légumineuses, cette zygomorphie s'étend à l'ensemble de la fleur (calice, corolle, Andro city um) selon une forme facilement reconnaissable pour chaque famille.

-Les protéines de graines sont très réduites voire très généralement déficientes.



**Figure 01 : Caractères botaniques des Faboideae [8].**

## **I.2. Présentation de l'espèce *Ceratonia siliqua* L. :**

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre fruitier méditerranéen de la famille des légumineuses (ou famille des Fabacée), qui est utilisé depuis l'Antiquité pour produire des fruits (caroube) pour l'homme et le bétail.

Capable de produire sur des terrains pauvres en marge des cultures ou sur des coteaux difficiles à cultiver, le caroubier a apporté une ressource vitale à de nombreux peuples de Méditerranée [9].

Arbre dioïque, ses individus sont mâles ou femelles, et portent rarement des fleurs hermaphrodites.

Il est naturellement présent dans la végétation forestière ou pré-forestière thermophile de Méditerranée où il est souvent associé à *Pistacia lentiscus* [10].

- **Nom scientifique :** *Ceratonia siliqua* L.
- **Noms communs :** Caroubier, carouge, figuier d'Égypte, pain de saint Jean-Baptiste, fève de Pythagore.
- **Noms anglais:** CAROB, LOCUST TREE, SAINT JOHN'S BREAD.
- **Classification botanique :** famille des fabacées (FABACEAE).
- **Différentes formes et préparations :** poudres, brisures, boissons, sirops, gélules (figure:02).



**Figure 02 :** *Ceratonia siliqua* L.[9]

### **I.2.1. Description botanique de *Ceratonia siliqua* L.**

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre ou arbuste dioïque à feuilles persistantes qui pousse dans la région méditerranéenne.

Il a une bonne tolérance à la sécheresse mais est sensible au froid et peut atteindre 7 à 15 mètres de taille et 1 semaine de longueur. 2 à 3 m au bas du tronc.

La durée de conservation peut atteindre 500 ans. L'écorce du caroubier est lisse et grise lorsqu'il est jeune, brune et rugueuse en vieillissant, et son bois rougeâtre est très dur.[11]



**Figure 03 :** Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)[10]

### **I.2.2. Morphologie et description des principales parties de l'arbre de *Ceratonia siliqua* L.:**

#### **❖ Système racinaire :**

Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18m de profondeur [12].

#### **❖ Les Feuilles:**

Les feuilles du caroubier sont assez grandes (10 à 20 cm de long) et se composent de 4 à 10 folioles ovales (3 à 7 cm de long) se faisant face, vert clair en haut et vert clair en bas.

Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, en juillet .





**Figure 04 :** Les feuilles du *Caroubier*.**[10]**

❖ **Les fleurs :**

Les fleurs du caroubier sont unisexuées (elle sont initialement bi-sexes et au cours de leur développement, l'une des fonctions sexuelle mâle ou femelle est supprimée), nombreuses et très petites, de 6 à 12 mm de long ; constituées d'un calice pourpre sans corolle, sont réunies en grappes axillaires cylindriques, généralement érigées ou ascendantes, brièvement pétiolées, disposées le long d'un axe ou rachis d'une couleur vert-jaunâtre ou rougeâtre de 4 à 10 cm de longueur sur lequel sont insérées entre 10 à 30 fleurs. Le caroubier est considéré comme le seul arbre méditerranéen qui fleurit en été, d'août à octobre ou en automne, de septembre à novembre.



**Figure 05 :** les fleurs du caroubier.**[10]**

❖ **Fruits :**

La carouge ou fruit de caroube est une gousse aux bords irréguliers, oblongue, droite ou recourbée, de 10 à 20 cm de longueur et de 1,5 à 3 cm de largeur , la gousse est composée de trois parties : l'exocarpe, le mésocarpe et les graines, à l'intérieur est séparé par des tranches horizontales charnues, elle contient 4 à 16 graines. La couleur est d'abord verte et brun foncé à maturité.



**Figure 06 :** Les fruits du *Caroubier* (Gousses vertes et Gousses mûrs)[9]

❖ **Les grains :**

Les graines sont de forme ovoïde, de qualité dure, et la dépend de la variété : elles peuvent être brunes, rouge clair ou noires, et la longueur et la largeur sont respectivement de 8-10 mm et 7-8 mm



**Figure 07 :** Les grains du *Caroubier*. [9]

**I.2.3. Classification APG III (2009):**

**Règne:** *Archéplastides.*

**Clade:** *Angiospermes.*

**Clade:** *Dicotylédones vraies.*

**Clade:** *Noyau des Dicotylédones vraies.*

**Clade:** *Rosidées.*

**Clade:** *Fabidées.*

**Ordre:** *Fabales.*

**Famille:** *Fabacées.*

**Genre:** *Ceratonia.*

**Espèce:** *Ceratonia siliqua L.*

#### **I.2.4. Origine de *Ceratonia siliqua* L. :**

Le lieu d'origine du caroubier demeure aberrant. Toutefois, De **Candolle (1983)** et **Vavilov (1951) in:[13]** ont rapporté qu'il serait native de la région Est méditerranéenne (Turquie et Syrie).

Par contre, **Schweinfurth (1894) in:[13]** a insinué qu'il est originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yémen).

Tardivement, il a été considéré, par **Zohary (1973) in: [13]**, comme originaire de la flore d'Indo-Malaisie, groupé avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus* et d'autres plantes.

Par ailleurs, *Ceratonia oreothauma* est la seule espèce connue et originaire du Sud-est d'Arabie (Oumane) et des bordures de la corne africaine (Nord de Somalie) [13].

#### **I.2.5. Conditions de culture de *Ceratonia siliqua* L. :**

Le caroubier est décrit comme une plante à grande adaptabilité au région du bassin méditerranéen[14][15], caractérisé par des conditions climatiques semi-aride méditerranéennes.

Les caroubiers ont un système profondément enraciné permettant une adaptation aux différents types de sols et conditions de salinité .

Pour cela, ils poussent mieux dans les sols calcaires et de préférence les zones côtières proches de la mer. Cependant, le caroubier peut être endommagé par des températures basses inférieures ou égales à  $-4^{\circ}\text{C}$  et ne peut survivre à des températures  $-7^{\circ}\text{C}$ .

Par contre, il peut subir des températures estivales de  $40^{\circ}\text{C}$  accompagnées de vents secs et chauds sans être visiblement affecté. Par ailleurs, pour une maturation complète, les caroubes ont besoin d'une exposition total de 5000 à 6000 heures à des températures supérieures à  $9^{\circ}\text{C}$ , [16].

#### **I.2.6. Répartition géographique de *Ceratonia siliqua* L.:**

##### **❖ Dans le monde :**

Le caroubier est un arbre essentiellement méditerranéen, dont l'aire de répartition s'étend sur l'Asie mineure, l'Afrique du Nord, l'Europe méridionale et la péninsule Ibérique, en effet on le rencontre en allant de l'Espagne et du Portugal jusqu'en Turquie, en passant par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, l'Egypte, mais également en Syrie, en Yougoslavie, en Grèce, à Chypre, en Italie et en France [17][18][19].

Il a été introduit avec réussite dans d'autres pays, notamment en Australie, en Afrique du Sud, aux Etas-Unis, aux Philippines, ainsi qu'en Iran [20].

Actuellement on trouve le caroubier dans plusieurs pays, de l'Europe et de l'Afrique du Nord à l'état sauvage en association avec, l'oléastre, le thuya, le pin, le chêne vert. [21][22].

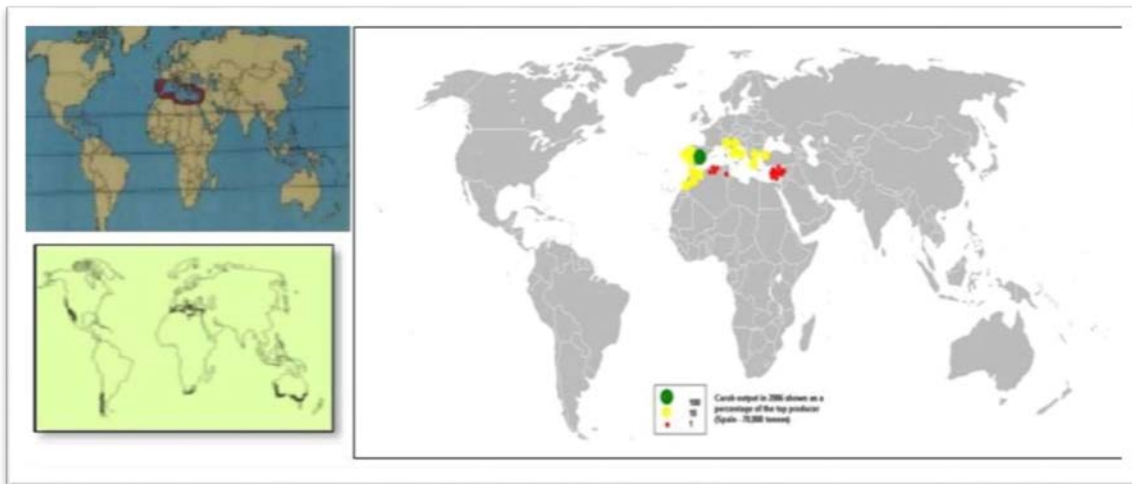


Figure 08 : Répartition géographique de *Ceratonia siliqua* L. dans le monde [22].

#### ❖ En Algérie :

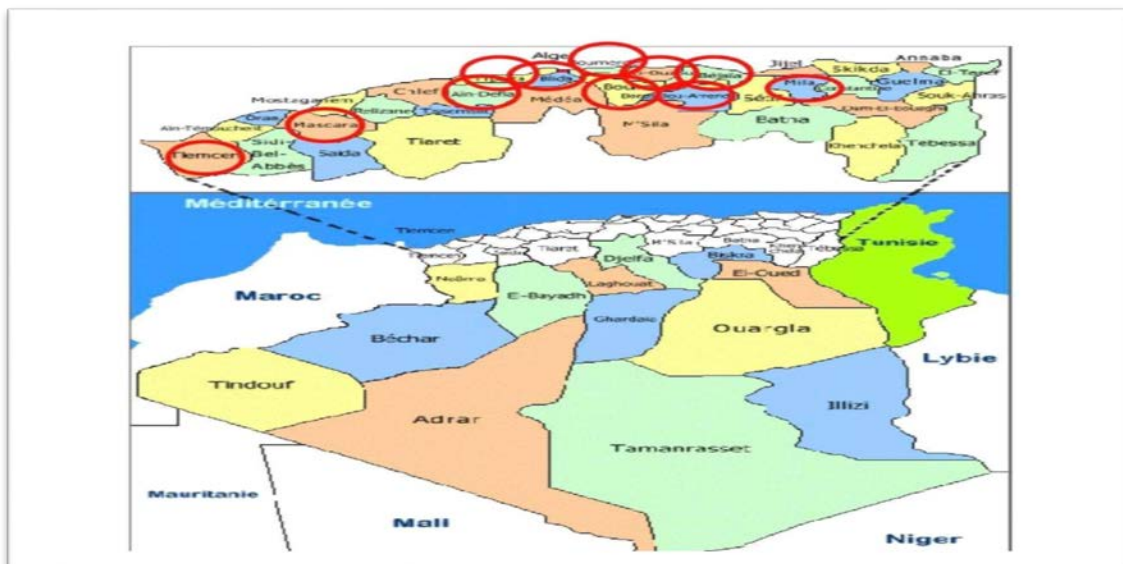
Le Taslaghwa et l'Akharrouv en Kabyle, connus sous le nom scientifique de *Ceratonia Siliqua* L. ou El Kharoub en arabe.

Est un arbre méditerranéen aux nombreuses vertus. En Algérie, on le trouve un peu partout dans le nord du pays, et même au nord du Sahara dans des altitudes de moins de 1700 m.

Dans la wilaya de Boumerdès, les villageois des montagnes ont une longue histoire avec le caroubier, et à Talilt village sis sur les hauteurs de la commune de Beni Amrane, ses quelques habitants continuent encore de tirer bénéfice de cet arbre [23].

En Algérie, comme dans certains pays méditerranéens, les légumineuses et les cerratonies poussent dans des conditions naturelles sauvages sous un bioclimat subhumide, semi-aride et aride. Il est communément associé aux oliviers et aux lentisques.

Suivant ces critères climatiques ; on a établi l'aire de répartition du caroubier en Algérie. Ses lieux de prédilection sont les collines bien ensoleillées des régions littorales ou sublittorales : Sahel algérois, Dahra, Grande-Isser, collines d'Oran et des intérieures (1054ha), il descend jusqu'à Boussaâda, mais n'y porte pas de fruit, et dans la zone de Traras au Nord de Tlemcen (276ha) [24].



**Figure 09 :** Répartition géographique de *Ceratonia siliqua* L. En Algérie [24].

### I.2.7. Composition de *Ceratonia siliqua* L.:

Chaque caroube pèse une quinzaine de grammes et contient de la pulpe charnue constituée de 40 % de sucres (glucose et du saccharose), 35 % d'amidon, 7 % de protéines, et, dans des proportions plus faibles, des graisses, des tannins et des sels minéraux.

La caroube est riche en calcium, phosphore, magnésium, silice, fer et pectine.

Les propriétés épaississantes sont dues à la présence d'un sucre, le galactomannane [25].

**Tableau 02:** composition moyenne de la pulpe de caroube [25].

Composants	%
Sucres	40 - 60
Saccharose	27 - 40
Glucose	3 - 5
Fructose	3 - 8
Protéines	2 - 6
Lipides	0,4 - 0,6
Composées phénoliques	2 - 20
Cendres	2 - 3
Fibres	27 - 50



Le caroubier contient également des composées phénoliques (2 à 20% de M.S) qui lui confèrent différents rôles : antioxydant, facilité de la digestion, baisse du taux cholestérol, ect.

Différentes études ont montré que ces polyphénols sont essentiellement des tanins condensés (16 à 20%), des proanthocyanidines, des flavonoïdes, des ellagitannins, etc. [26][27].

#### **I.2.8. Activité toxicologiques de *Ceratonia siliqua* L. :**

En 2012, **Gulai** et son équipe ont étudié les propriétés toxicologiques de *Ceratinia silqua* L. chez des lapins mâles néo-zélandais. Dans cette expérience, des lapins ont obtenu de l'extrait de caroube en cuisant des fruits de caroube.

Il n'y avait aucun signe toxicologique ou décès associé à l'extrait de caroube, Plus de 7 semaines d'expérience

Le groupe témoin et le groupe de traitement n'ont présenté aucun changement significatif dans les paramètres hématologiques et physiologiques, ainsi que dans l'histologie du foie, des reins, des poumons, du cerveau et du cœur.

On peut conclure que l'administration d'extrait de caroube n'a pas d'effets toxicologiques sur les animaux, en particulier.

#### **I.2.9. Utilisations et propriétés biologique de *Ceratonia siliqua* L. :**

*Ceratonia siliqua* L. est parmi les espèces qui possèdent des propriétés thérapeutiques et diététiques importantes [28].

Elle se présente également comme une essence forestière et arboricole. Il est d'une grande importance économique, écologique et sociale. Son utilisation est multiple et résumée dans le tableau II

**Tableau 03:** Propriété traditionnelles et pharmacologiques de *C. siliqua* L. [28]

Organe	Partie utilisés	Propriétés traditionnelles et biologiques	Références
Fruits	Peuple	Traitement des troubles fonctionnelles digestifs, traitement des diarrhées légères, abaissement du cholestérol sanguin et hépatique, otation la sensation de faim dans les régimes amaigrissantes, traitement de l'insuffisance rénale chronique et l'affectionde la branche, traitement de tuberculose pulmonaire Traitement de la gastrite, l'entérite, les angines, les rhumes et le cancer	Rejeb, 1995 Zunft et al ., 2001 Klenow, 2008 Klenow, 2009
	Graine	Traitement symptomiques des diarrhées du nourrisson et du jeune enfant Activité antioxydant	Bruneton, 1999
	Feuilles	-Diabète -Activité antimicrobienne -Activité cytotoxique -Activité antioxydant -Activité anticancéreuse -Peroxydation des lipides	KivÇak et al., 2002 ; Kumzawa et al., 2002 ; Geuendel et al., 2006 Kaileh et al ., 2007 Custodio et al ., 2009 ;Elhajaji et al ., 2010 ; Nagib et al ., 2010 ;Ben Hsouna et al ., 2011 a ) ;Custodio et al ., 2011 a b )

# **Chapitre II :**

## **Métabolite secondaire**

## **II. Généralités sur les métabolites:**

Les substances naturelles sont des composés organiques formés par des organismes vivants, et leur structure, la chimie de synthèse et la biosynthèse sont les principaux domaines de la chimie organique.

Les composés naturels peuvent être divisés en trois catégories : Premièrement, les composés qui existent dans toutes les cellules et jouent un rôle important dans le métabolisme et la reproduction cellulaires.

Ces composés comprennent des acides nucléiques ainsi que des acides aminés et des sucres courants. Ils sont appelés métabolites primaires. Deuxièmement, les composés de poids moléculaire élevé (polymères) qui forment la structure cellulaire, tels que la cellulose, la lignine et les protéines.

Enfin, les composés caractéristiques d'un nombre limité d'espèces sont des métabolites secondaires[29].

De nombreuses études sur des composés biologiquement actifs ont conduit au développement de nouveaux médicaments, tels que le paclitaxel, qui est utilisé pour traiter divers types de cancer. Les aliments naturels affectent généralement l'écologie en régulant l'interaction entre les plantes, les micro-organismes, les insectes et les animaux.

Ils peuvent également être des agents protecteurs, des attractifs et des phéromones. Il a été montré que de nombreux métabolites dits secondaires jouent un rôle important dans les relations entre les plantes et l'environnement : divers composés phénoliques participent à la filtration des ultraviolets, les anthocyanes sont nécessaires au processus de pollinisation, et la présence d'anticoagulants végétaux a parfois décidé de résister eux, Agent pathogène.

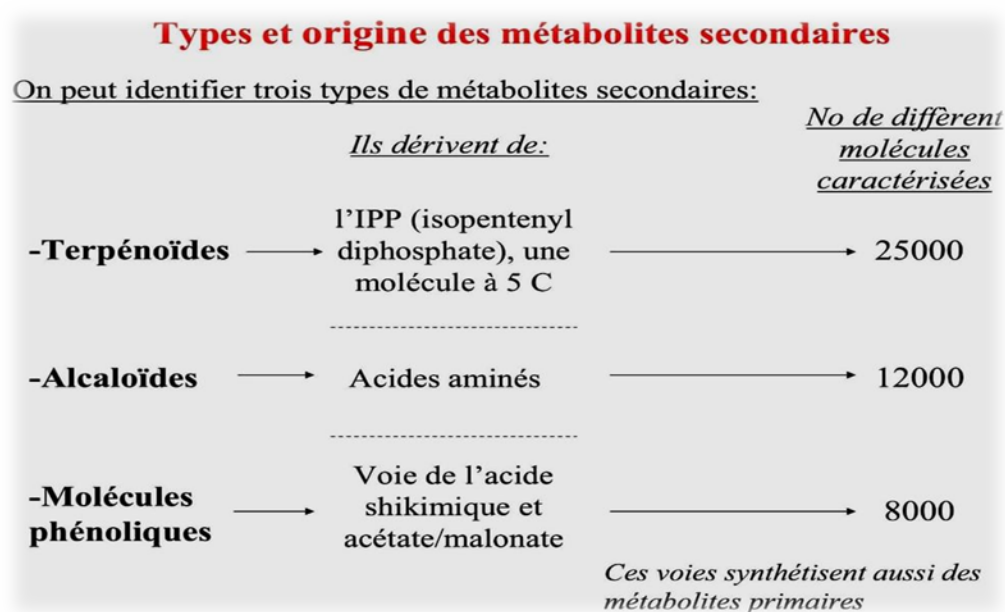
Divisé en trois groupes : Alcaloïdes, terpènes et phénols [30].

### **II.1. Métabolites primaires:**

Un métabolite primaire est un métabolite directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normaux d'organismes ou de cellules. Le composé a généralement une fonction physiologique dans l'organisme, c'est-à-dire une fonction interne. Les principaux métabolites collectent les acides aminés, les lipides, les glucides et les acides nucléiques [31].

## II.2. Métabolites secondaires :

À ce jour, plus de 100 000 métabolites secondaires ont été identifiés et on estime que chaque végétal produit au moins une centaine de molécules différentes. Les métabolites secondaires participent à la vie de relation de la plante, et ils ont des rôles très variés. Ils peuvent servir de défense (sécrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant des rôles bénéfiques (pollinisateurs). Ils peuvent également permettre la communication entre les plantes, par des messages d'alerte par exemple, ou faire partie de la structure de la plante (tanins et lignine)[32].



**Figure 10:** type et origine des métabolismes secondaire [32].

### II.2.1 Biosynthèse des métabolismes secondaire :

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse: la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate.

La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoénolpyruvate, acétyl- CoA), de la voie des pentoses phosphate (glycéraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glycéraldéhyde-3-P et acétyl-CoA).

Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires.

Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phyto anticypines ou de constitution, C'est-à-dire



synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo[33].

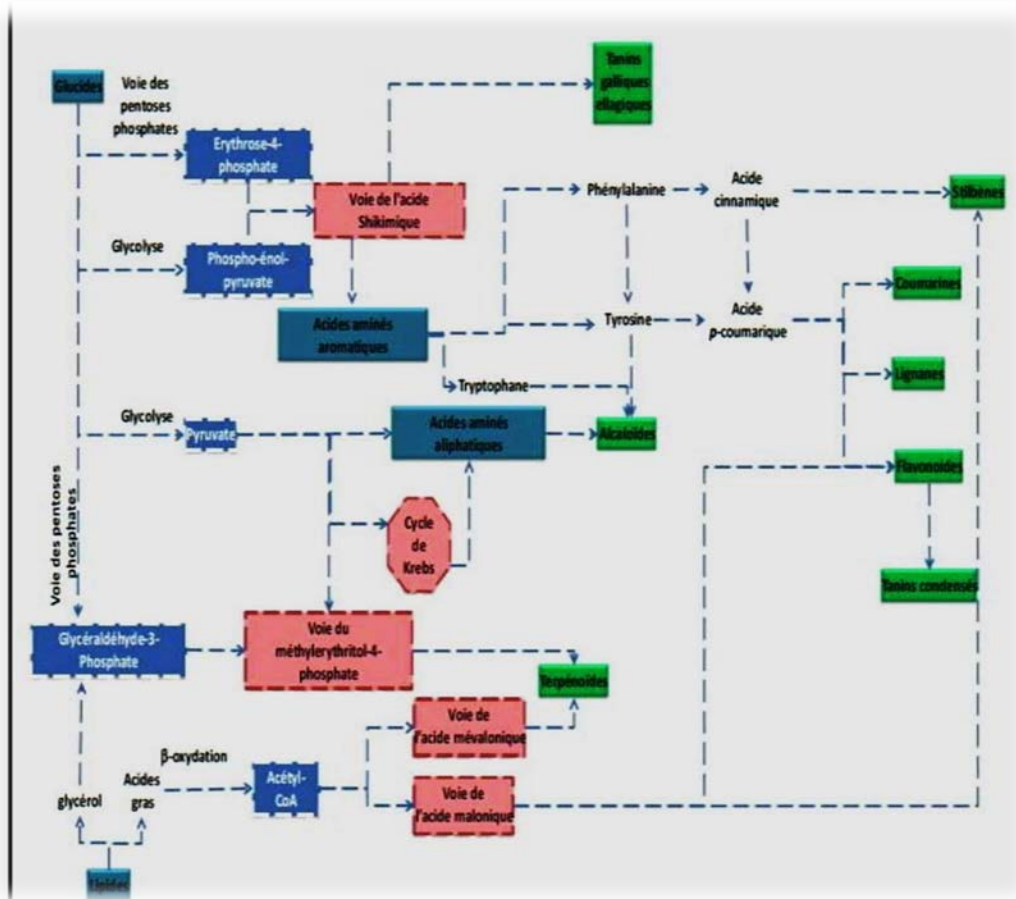
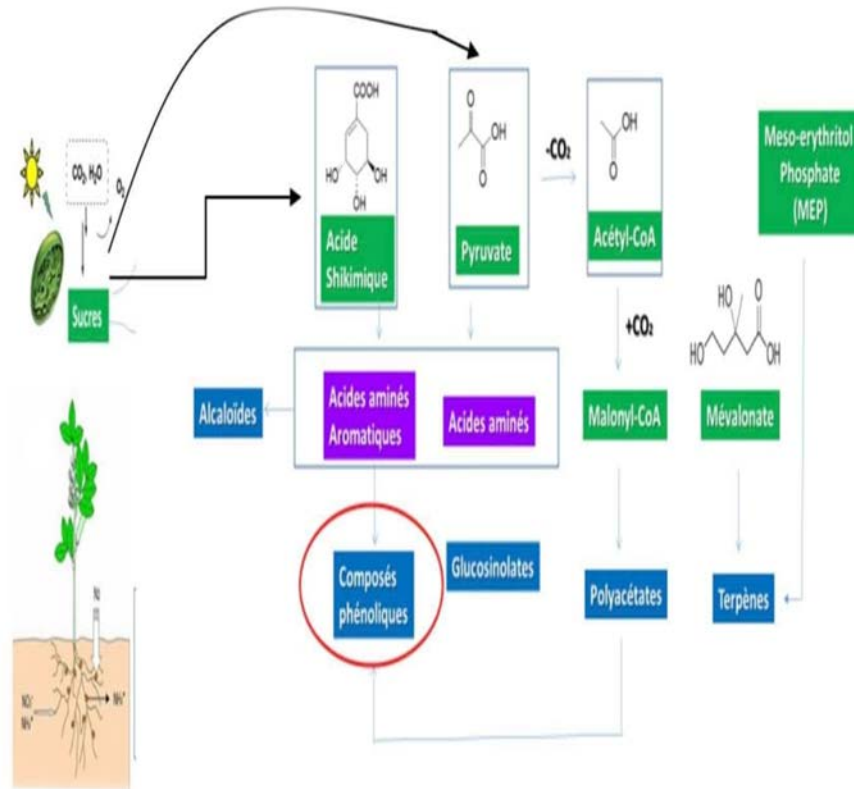


Figure 11: origine biosynthétique des métabolismes secondaires [33].

## II.2.2. Classification des métabolismes secondaire :

Les trois classes principales de métabolites secondaires chez les plantes sont :

- ❖ **Les phénols** : tanins, lignine, mélanine, flavonoïdes.
- ❖ **Les composées azotées**: alcaloïdes, bétalaïne, hétérosides cyanogènes et glucosinolates.
- ❖ **Les terpènes** : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sésquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40) et polyterpènes (plus que C40).



**Figure 12:** les principales classes de métabolite secondaire chez les végétaux [33].

## II.2.2.1. Les polyphénols :

### a. Généralité sur les polyphénols :

Le phénol, un composé organique aromatique, se trouve dans de nombreuses plantes, ils ont généralement des effets antiseptiques, antibactériens et insectifuges ; le plus simple d'entre eux est le phénol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), qui est antibactérien ; l'autre est l'acide salicylique (aspirine), qui se forme dans les saules, la violette et les glycosides de spiraea, il a des propriétés antiseptiques, analgésiques et anti-inflammatoires.

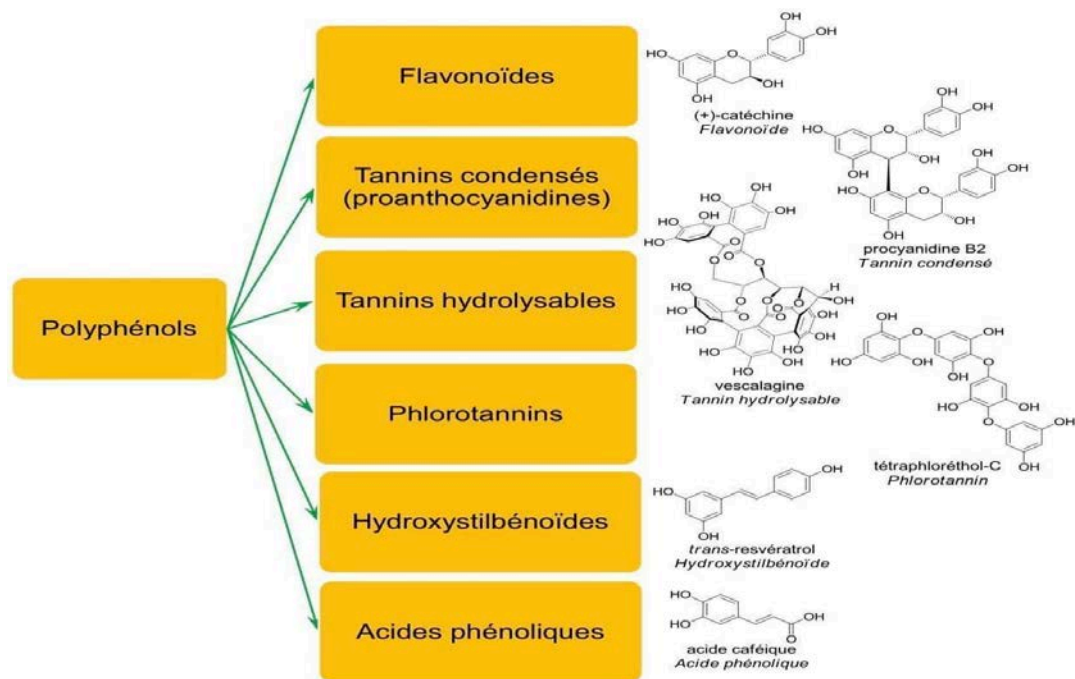
Il existe également des acides hydroxycinnamiques, dont le café, l'acide férulique et l'acide érucique, qui constituent la base des esters d'acide phénolique, des coumarines, des glycosides et des lignanes, ainsi que la cynarine, le composant principal de l'artichaut, qui a pour effet de protéger et d'abaisser le cholestérol. .

La curcumine, le composant principal du curcuma, anti-inflammatoire et abaissant la glycémie Cette classe comprend également le stilbène, qui se trouve dans la peau des raisins et du vin rouge et a des effets antioxydants, anti-inflammatoires, anticoagulants et anti-allergiques, ainsi que les quinones, dont l'antraquinone et la naphthoquinone. Ces dernières ont des Propriétés antimicrobiennes et anticancéreuses, telles que la peau de noix.

### b. . Classification des composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont un grand group de substances chimiques, qui contiennent au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyle.

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment: les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les phytostérols.



**Figure 13:** Les différentes classes des composés phénoliques [34].

### c. . Localisation des composés phénoliques:

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois).

Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin ...etc.

### d. Rôle et intérêt des composés phénoliques :

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère anti-oxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de plusieurs maladies.

En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses.

Plusieurs études ont été réalisées sur l'impact de la consommation de végétaux sur la santé.

La plupart d'entre elles ont mis en évidence une baisse du facteur de risque pour de nombreuses affections telles que l'infarctus et le cancer [34].

#### II.2.2.2. Les acides phénoliques :

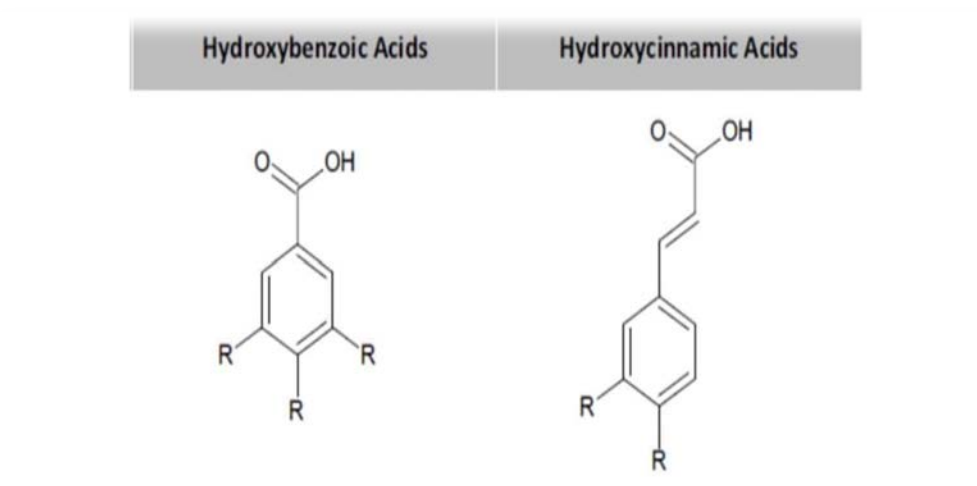
##### a) Définition des acides phénoliques :

Les acides phénoliques constituent la classe majeure des composés phénoliques se trouvent surtout dans les aliments d'origine végétale. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire.

leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques [35].

Un acide-phénol (ou acide phénolique) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [36].

Ils sont représentés par deux sous-classes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

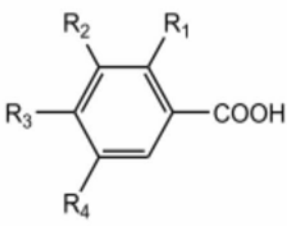


**Figure 14:** Le squelette des acides phénoliques [36].

##### b) Les acides benzoïques :

Les acides benzoïques présentent une structure en C6-C1, composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone.

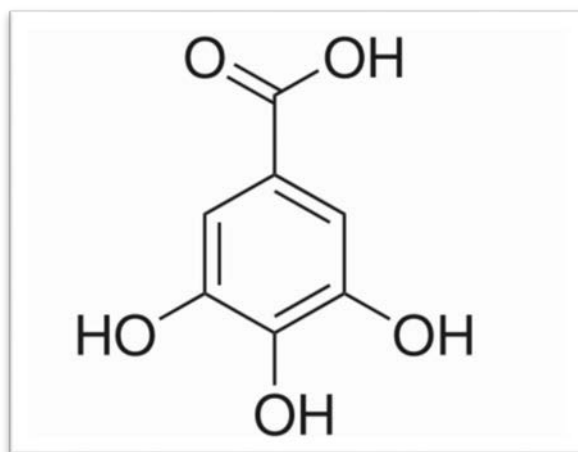
Ces composés sont universellement distribués dans le règne végétal, on trouve l'acides gallique, protocatechuique, vanillique et syringique [37].

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p-hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentsique

**Figure 15:** Dérivés de l'acide benzoïque formule générale.[37]

**c) acide gallique :**

L'acide gallique est un polyphénol produit par les plantes, qui montre des propriétés anti-oxydantes. Il est communément utilisé pour mesurer la concentration en polyphénols mais peut également être utilisé pour mesurer la capacité anti-oxydante, il est présent dans une large variété d'échantillons alimentaires à base végétale.



**Figure 16 :** Formule semi-développée d'acide gallique.[33]

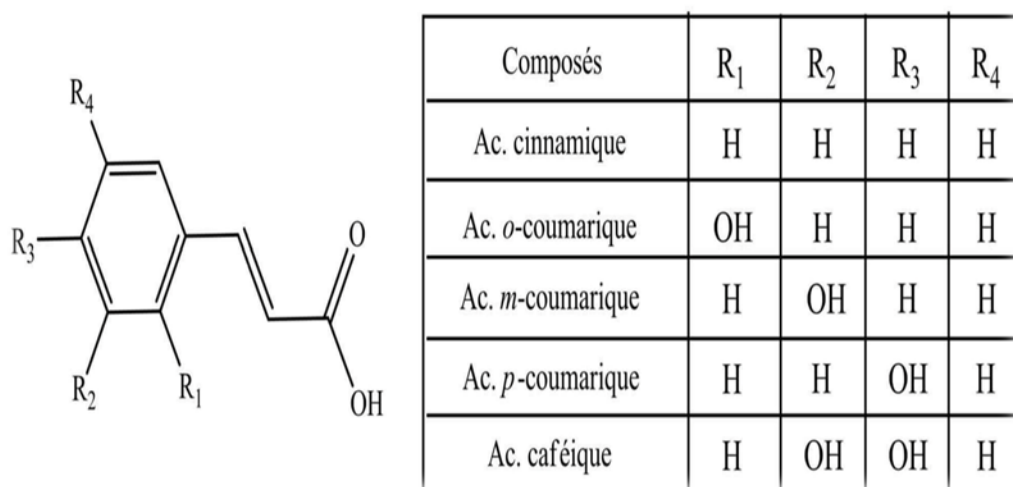
#### d) Les acides cinnamiques :

L'acide cinnamique de formule  $C_6H_5-CH=CHCOOH$  est un acide organique qui se présente sous la forme d'une poudre blanche inodore, avec une faible solubilité dans l'eau, il a été découvert et purifié par **Péligot et Dumasen (1834) in:[38]**.

La structure de l'acide cinnamique est divisée en trois unités : acide carboxylique, oléfine et un anneau benzène.

Dans la nature l'acide cinnamique (l'acide 3-phényle-2-propénoïque, généralement désigné sous le nom de l'acide cinnamique ( $C_9H_8O_2$ )) [38].

Existe dans les plantes comme précurseur de divers phénylpropanoïdes tels que les lignines, les flavonoïdes, et les coumarines [39].



**Figure 17:** Dérivés de l'acide cinnamique formule générale.[38]

#### II.2.2.3. Les flavonoïdes:

##### a) Définition des flavonoïdes :

Les flavonoïdes Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal.

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

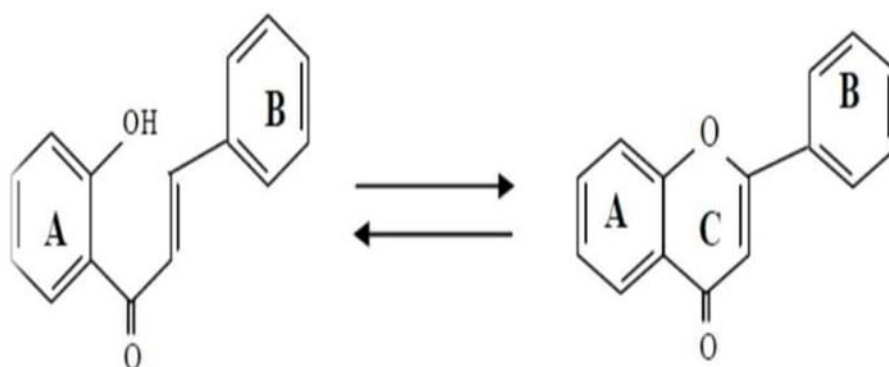
On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes.

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes et leur nombre ne cesse



d'accroître. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) (27); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C et leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire.

On distingue différentes structures des flavonoïdes parmi lesquels se trouvent : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanes, les flavan - 3-oles, les flavylum, les chalcones, les aurones, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanes, les ptérocarpanes, les coumaronochromones, les 3-arylcoumarines, les coumestanes, les roténoïdes.



**Figure 18:** Structure de base d'un flavonoïde.[40]

#### b) Classification des flavonoïdes :

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base.

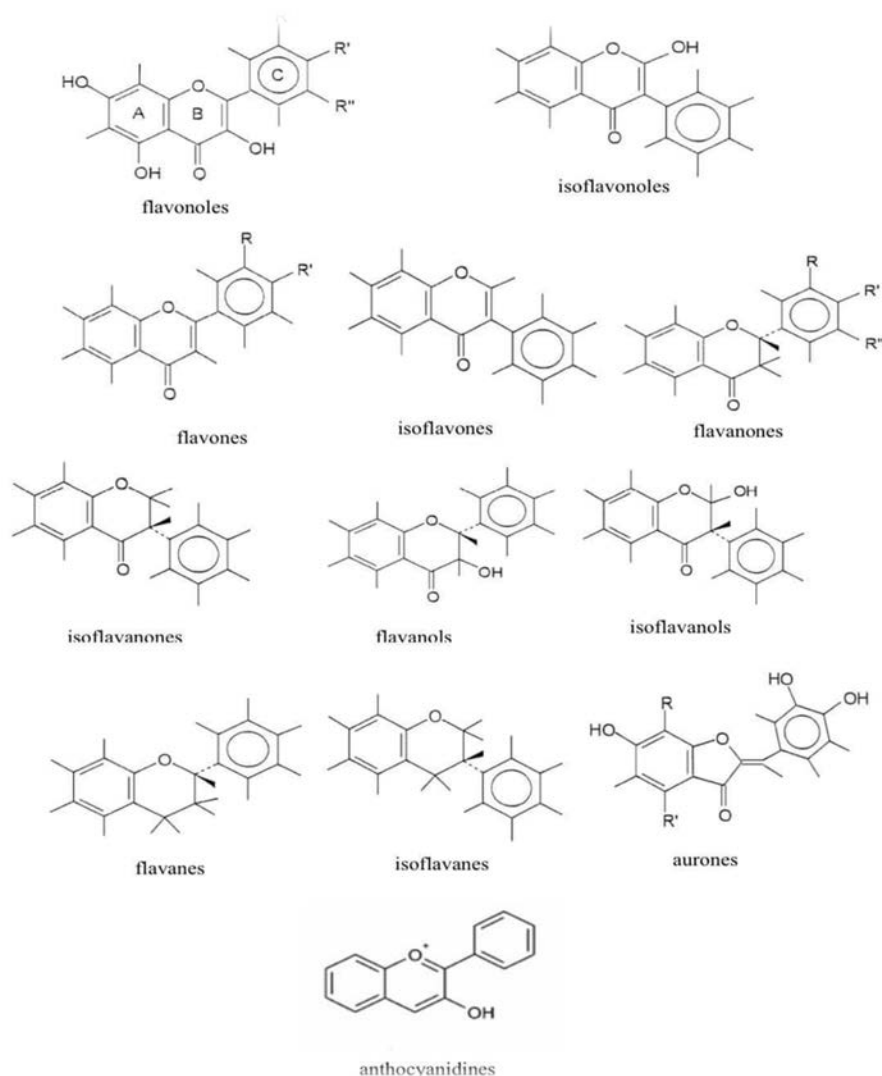
Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3. Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.→

Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé→ Flavanone.

Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est→ nommé Flavone.

Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné→ par le nom de Flavonol.

Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane.

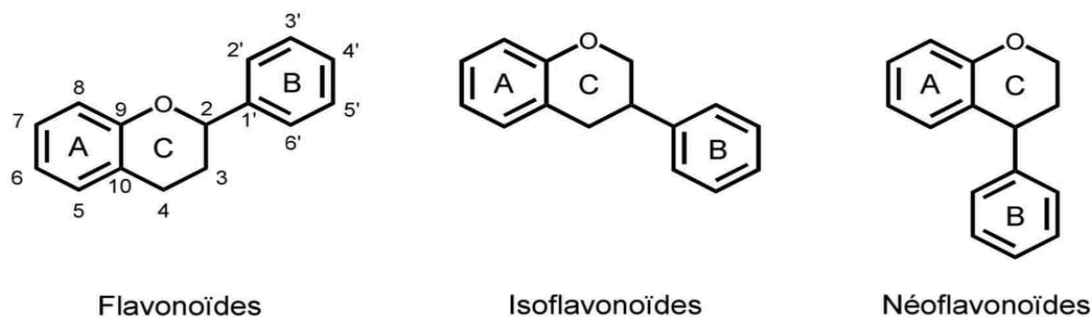


**Figure 19:** Structures des squelettes de base des flavonoïdes [40].

### c) Structure chimique des flavonoïdes :

La structure flavonoïde est organisée autour de la chaîne C6-C3-C6 du 1,3-diphénylpropane, où deux cycles aromatiques C6 (marqués A et B) sont reliés par une liaison C3 propane, cela se traduit par la formation d'un cycle C6 aromatique appelé cycle hétérocyclique C.

Selon la position relative des deux cycles aromatiques en C6 dans la chaîne du propane, trois types d'isomères naturels ont été identifiés : les flavonoïdes, les isoflavones et les nouveaux flavonoïdes.



**Figure 20:** Les trois principales familles de flavonoïdes [40].

#### d) Localisation des flavonoïdes dans les plantes:

Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures particulièrement dans certaines familles: Polygonacées, Rustacées et légumineuses.

Les formes hétérosides des flavonoïdes sont hydrosolubles s'accablent dans les vacuoles.

Ils sont largement distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes, abondants dans les légumes présents dans les aliments de nature végétale (légumes, céréales, légumineuses, fruits .... etc) et boissons (vin cidre, bière, thé, cacao ....etc).

Cette présence est grande partie influencée par des facteurs génétiques et des conditions environnementales. D'autres facteurs tels que la germination, le degré de maturité, la variété, le traitement et le stockage ont également une influence sur la teneur des composés phénoliques des plantes [40].

Ils se localisent dans tous les organes aériens avec une teneur maximale dans les feuilles et les boutons floraux.

#### e) Biosynthèse des flavonoïdes:

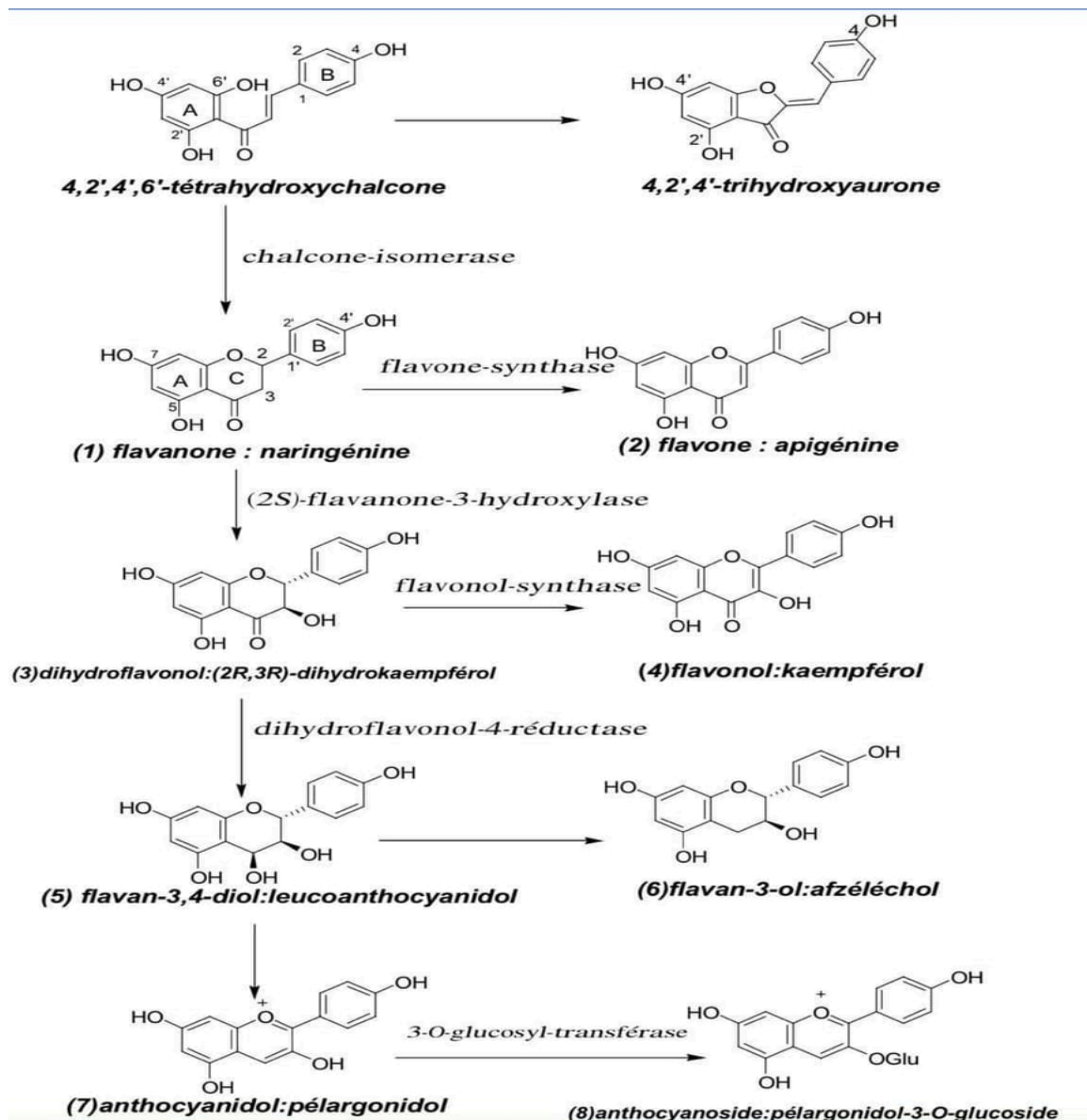
Les flavonoïdes sont formés par la condensation de 3 groupes acétate (sous) 4'(hydroxy)cinnamoyl-CoA acide ; cette condensation conduit à la formation de 2 cycles benzéniques A et B, est relié par une chaîne de 3 atomes de carbone (cycle hétérocyclique C).

La chalcone synthase ou flavone synthase (la deuxième enzyme clé de ce métabolisme) est un complexe multi-enzymatique.

Il se compose de trois positions, chaque position garantit l'ajout séquentiel d'unités d'acide malonique et l'accepteur est l'acide p-(OH)-cinnamique ou l'acide caféique. Les flavonoïdes sont synthétisés dans le chloroplaste par le cinnamoyl-CoA (à partir du cinnamoyl-CoA). Réticulum endoplasmique).

Les molécules d'acide flavonoïde quittent le chloroplaste et s'accumulent dans des vacuoles (anthocyanes).

Selon l'état d'oxydation du noyau hétérocyclique, le noyau hétérocyclique est généralement formé par condensation avec la chaîne latérale du phénol OH du noyau A et de l'acide cinnamique, et il existe de nombreuses variantes. Flavonoïdes [41].



**Figure 21:** La biosynthèse des flavonoïdes [41].

## II.2.2.4. Les anthocyanes :

### a. Définition des anthocyanes :

Les anthocyanes sont des hétérosides oxygénés liés par leur fonction réductrice à une molécule non glucidique.

Les anthocyanes ont une structure de base commune, le cation flavylium ou 2-phényl-1-benzopyrilium. L'aglycone de l'anthocyane est appelé anthocyanidine [42].

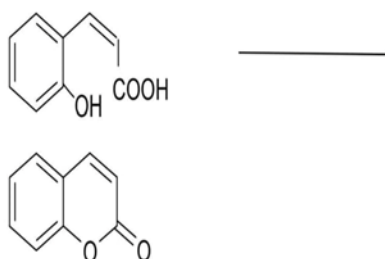
Sa structure se distingue par le nombre et la position de groupes hydroxyls et méthyls sur le noyau B.

La principale caractéristique des anthocyanes est leur diversité de couleur allant du bleu, au rouge, mauve, rose et orange [43].

#### II.2.2.5. Les coumarines :

##### a) Définition des coumarines :

A. Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo- $\alpha$  pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique.



**Figure 22:** L'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique coumarine.[33]

Les coumarines tirent leur nom de (coumarou) nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odorata* Willd., Fabaceae) d'où fut isolée, **en 1820**, la coumarine.

##### b) Répartition botanique et localisation des coumarines :

Elles sont surtout présentes chez les Dicotylédones et abondantes dans certaines familles : Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae, Oléaceae, Loganiaceae, Solanaceae, Asteraceae et Hippocastanaceae.

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés.

##### c) Structure chimique des coumarines :

Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- $\alpha$ -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple.

À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures .

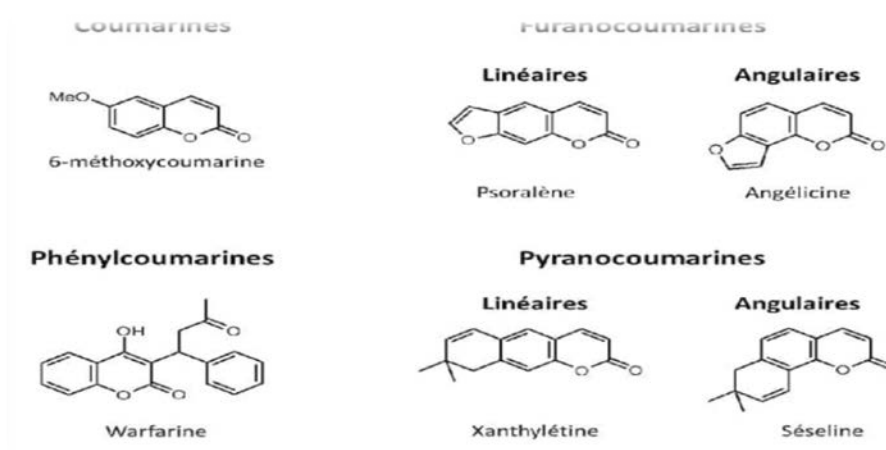
#### d) Classification des coumarines :

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques, étherifiées ou non (à l'exception de la coumarine proprement dite) ; c'est pourquoi on les rattache souvent aux polyphénols. On les divise en :

- Coumarines simples : les coumarines les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH<sub>3</sub>) en 6 et 7.
- Coumarines complexes où un noyau furanne ou pyrane est associé au noyau benzo  $\alpha$  pyrone.

On distingue :

- les furocoumarines (ou furanocoumarines) :
- Les furocoumarines (furobenzo- $\alpha$ -pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple.
- Les pyranocoumarines (benzodipyran-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires.
- Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple et sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse



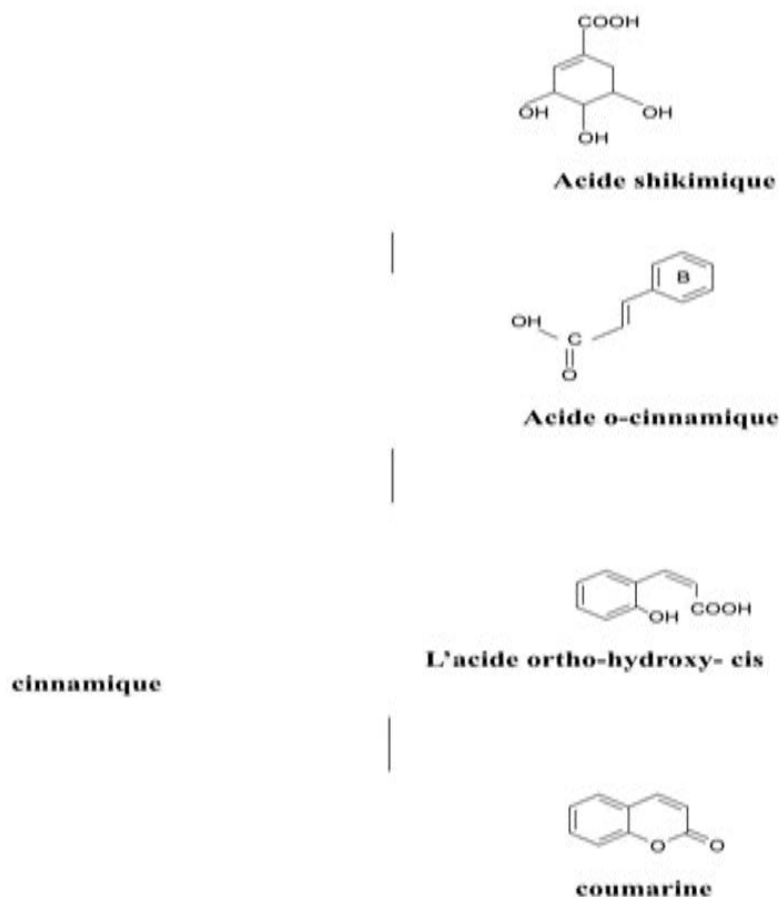
**Figure 23:** Structure des différents types de coumarines de plantes supérieures.[33]

#### e) Biogenèse des coumarines :

Le phénylpropane (ensemble C6-C3) est à l'origine du noyau aromatique et de l'hétérocycle pyronique.

Il se forme à partir de l'acide shikimique et de l'acide pyruvique; les intermédiaires sont la phényl-alanine, l'acide cinnamique, l'acide o-coumarique.

La cyclisation de l'acide o-coumarique aboutit directement aux coumarines.



**Figure 24:** les voix de la biogenèse.[33]

#### f) Propriétés des coumarines :

Les coumarines sont utilisées comme agents de saveur ou dans les parfums (la fève de tonka est parfois utilisée pour l'aromatisation des tabacs) ; on les utilise aussi dans l'industrie pharmaceutique, la coumarine a des propriétés anti-inflammatoires, l'esculétine ou l'esculine sont des agents vitaminiques P à action marquée sur la perméabilité capillaire, ou encore le dicoumarol.

#### II.2.2.6. Les tannins :



### a) Définition des tannins :

Les tanins sont des métabolites secondaires de certaines plantes terrestres vasculaires, on les rencontre dans toutes les parties du végétal (racine, écorce, feuilles, enveloppe des graines, liège, fruits non mûrs, galles, etc.).

Ce sont des molécules de nature phénolique (polyphénols hydrosolubles de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 kDa) dont l'un des rôles est de protéger les plantes de l'attaque de certains parasites et des herbivores [44].

L'analyse des tanins est d'intérêt pour les professionnels de multiples domaines dont la chimie, la pharmacologie, la science agro-alimentaire, la nutrition animale, l'écologie et la physiologie végétale [45].

### b) Classification des tannins :

L'élucidation de la structure chimique des tanins a permis de les classer en tanins hydrolisables, condensés et complexes comme le montre la figure ci-dessous.



**Figure 25:** Classification des tannins selon leurs structures chimiques.[44]

#### ❖ Tannins hydrolysables :

##### ▪ Gallotannins :

Les gallotannins ou tannins galliques sont formés autour d'un sucre (glucose ou dérivé du D-glucose) comportant plusieurs liaisons esters avec des acides galliques (ou leurs dérivés).

Il peut se constituer des chaînes latérales de plusieurs acides galliques liés selon un mode meta- ou para.

### ▪ Ellagitannins :

Les ellagitannins ou tanins ellagiques sont formés autour d'un sucre (glucose ou dérivé du D-glucose) comportant plusieurs liaisons esters avec des acides ellagiques.

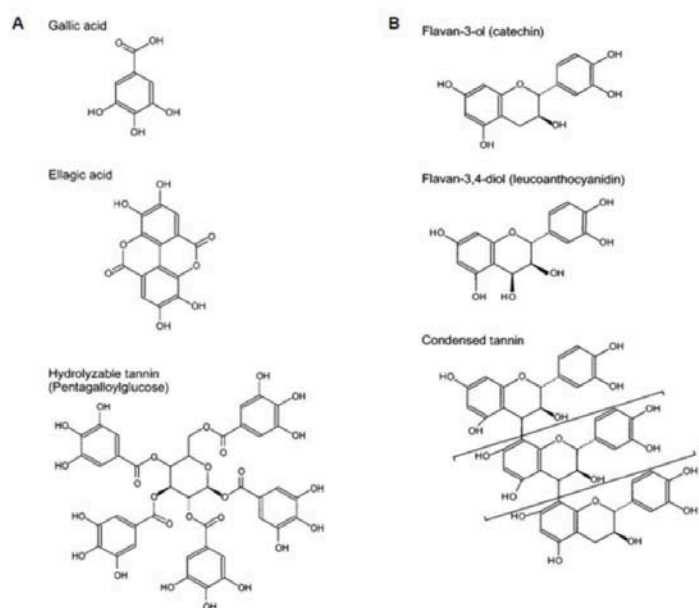
Avec plus de 500 composés, les ellagitannins forment le groupe le plus important de tanins.

### ❖ Les tanins complexes :

Les tanins complexes sont construits par une unité gallotanin ou ellagitannin comportant une liaison à une flavonoïde.

### ❖ Tannins condensées (non hydrolysables) :

Les tanins condensés sont des oligomères ou polymères de flavanoides. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone de type 4→8 ou 4→6. Ils sont non hydrolysables mais traités à chaud par un acide, ils se dégradent en pigments colorés formés d'anthocyanidols.



**Figure 26:** Structure des tanins hydrolysables (A) et condensés (B) [46].

### c) Propriété des tannins:

Ils ont des propriétés surtout astringentes :

- Les tanins sont principalement utilisés en usage externe en particulier contre des blessures, plaies ou hémorroïdes. En usage interne on les utilise aussi contre la diarrhée et la gastro-entérite.
- Il faut savoir qu'en usage interne les tanins ne sont pas absorbés par l'organisme.

- Ils peuvent toutefois se fixer à des substances toxiques et les “neutraliser” au niveau du tractus gastro-intestinal puis sont éliminés ensemble (tanins-agents toxiques) par les selles.
- Les tanins présentent aussi des propriétés antioxydantes, antibactériennes et parfois calmantes.

### II.2.2.7. Les terpènes :

#### a) Définition des terpènes :

Les terpènes sont des composants organiques aromatiques dérivés de l'isoprène (hydrocarbure de 5 atomes de carbone) qui se trouvent dans tout type de végétation et sont importants dans de nombreuses interactions biotiques [47], ils sont les sources des arômes et des goûts, mais ont également des propriétés et des bénéfices très importantes, connues depuis la nuit des temps. Ils assurent plusieurs actions à leur plante, telles que la protection, la défense, la reproduction, ou influe sur leur maturation et sur leur métabolisme.

#### b) La classification des terpènes :

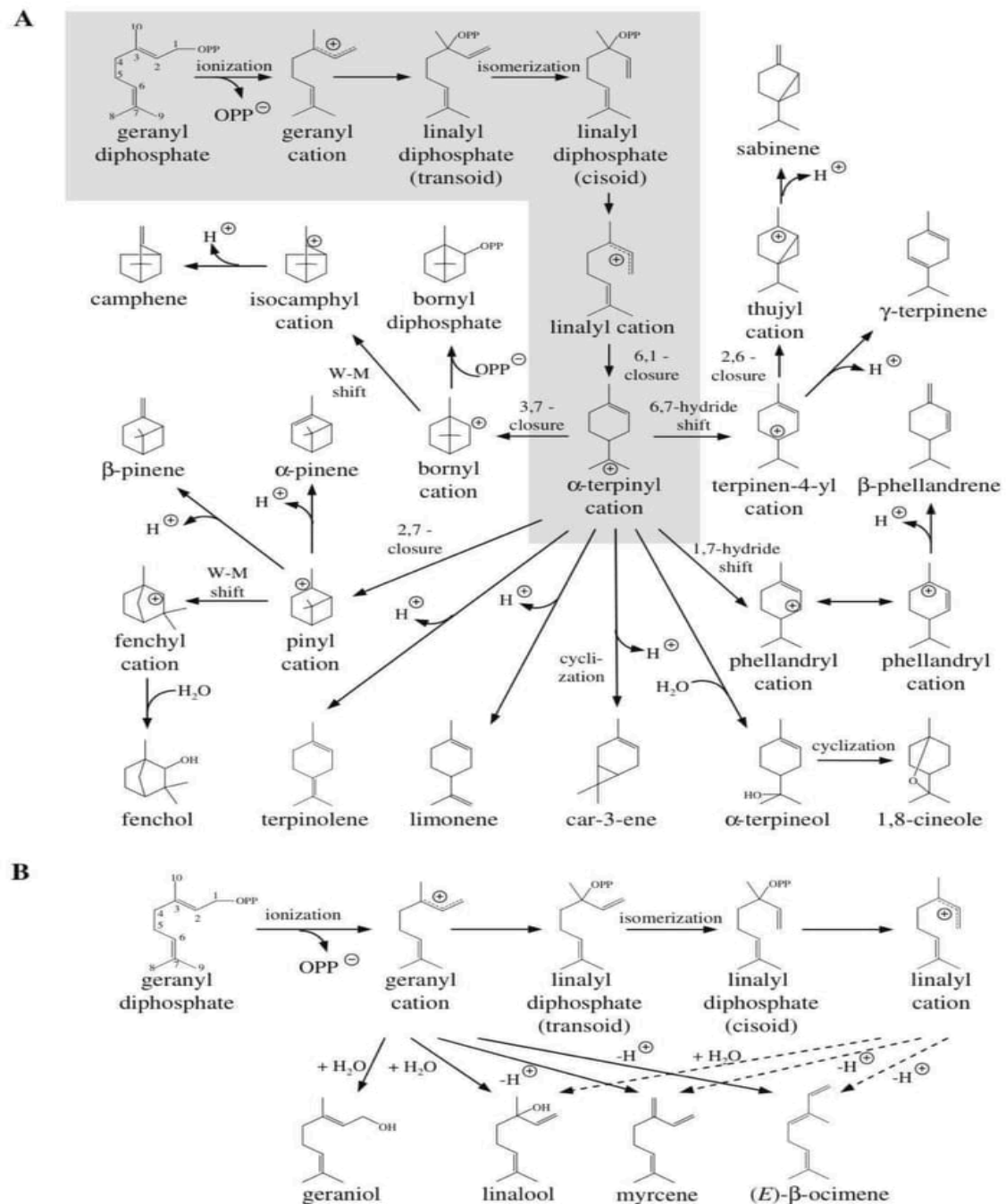
Les terpènes en fonction de leur structure chimique est similaire à celle des terpènes, qui sont classés en fonction du nombre d'unités isoprènes présentes et dans le cas des triterpènes, si cyclés.

**Tableau 04 : La classification des terpènes [47]**

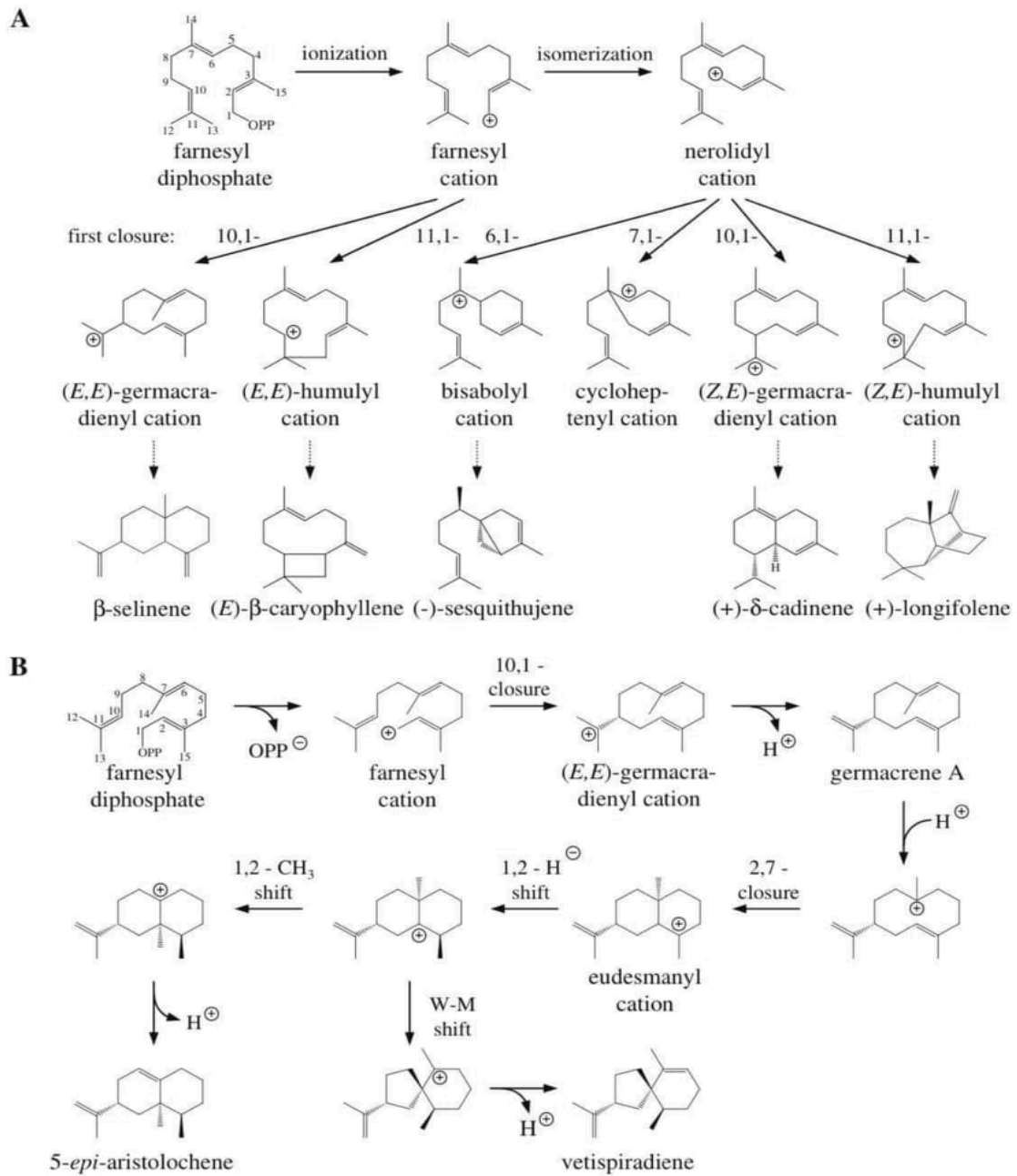
<b>Classification</b>	<b>Unité d isoprène</b>	<b>Les atomes de carbone</b>
emiterpeni	1	5
monoterpènes	2	10
sesquiterpeni	3	15
diterpeni	4	20
sesterpeni	5	25
triterpènes	6	30
Polyterpènes	>6	>30

#### c) Biosynthèse des terpènes :

Bien qu'il puisse sembler synthétisé structurellement par polymérisation de l'isoprène, les terpènes sont biosynthétisés à partir de groupes acétyle d'organismes acétyl-coenzyme A (Acétyl-CoA) à travers la voie métabolique de l'HMG-CoA réductase. Les intermédiaires de la biosynthèse sont l'acétyl-CoA et ses pyrophosphorici et les esters phosphoriques, l'isoprène, le pyrophosphate isopentenyl et pyrophosphate diméthylallyl.



**Figure 27:** Les mécanismes réactionnels de tous les monoterpènes synthèses commencent par l'ionisation du substrat géranyl diphosphate.[47]



**Figure 28:** Le mécanisme de réaction de toutes les sesquiterpènes synthases commence par l'ionisation du FPP.[47]

## II.2.2.8. Les alcaloïdes :

### a) Définition des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés d'origine naturelle qui sont présents dans certains groupes de plantes. Plus de 3 000 différents types d'alcaloïdes ont été identifiés chez les plantes.

### b) Type des alcaloïdes :

Il existe trois principaux types d'alcaloïdes: alcaloïdes pas hétérocyclique, ou des alcaloïdes atypiques (protoalkaloids, des amines organiques), telles que par exemple la colchicine. pseudo-alcaloïdes, dérivés de terpénoïdes ou purine. alcaloïdes hétérocycliques ou alcaloïdes typiques.

**c) Localisation des alcaloïdes :**

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles ou dans les fruits

**d) Structure chimique des alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés chimiques et les composés sont des substances formées lorsque deux éléments ou plus sont chimiquement liés entre eux.

Les scientifiques classent les composés d'après les groupes qui les ont créés. Les composés alcaloïdes contiennent un groupe amine (un groupe amine contient un atome d'azote et une paire d'électrons libres).

En général, un alcaloïde est constitué de : un groupe amine; un ou plusieurs atomes de carbone; et plusieurs atomes d'hydrogène (H).

**e) Biosynthèse alcaloïdes :**

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines qui sont couplées à d'autres squelettes carbonés.

La strictosidine et la norcoclaurine sont deux composés centraux source de la moitié des alcaloïdes connus.



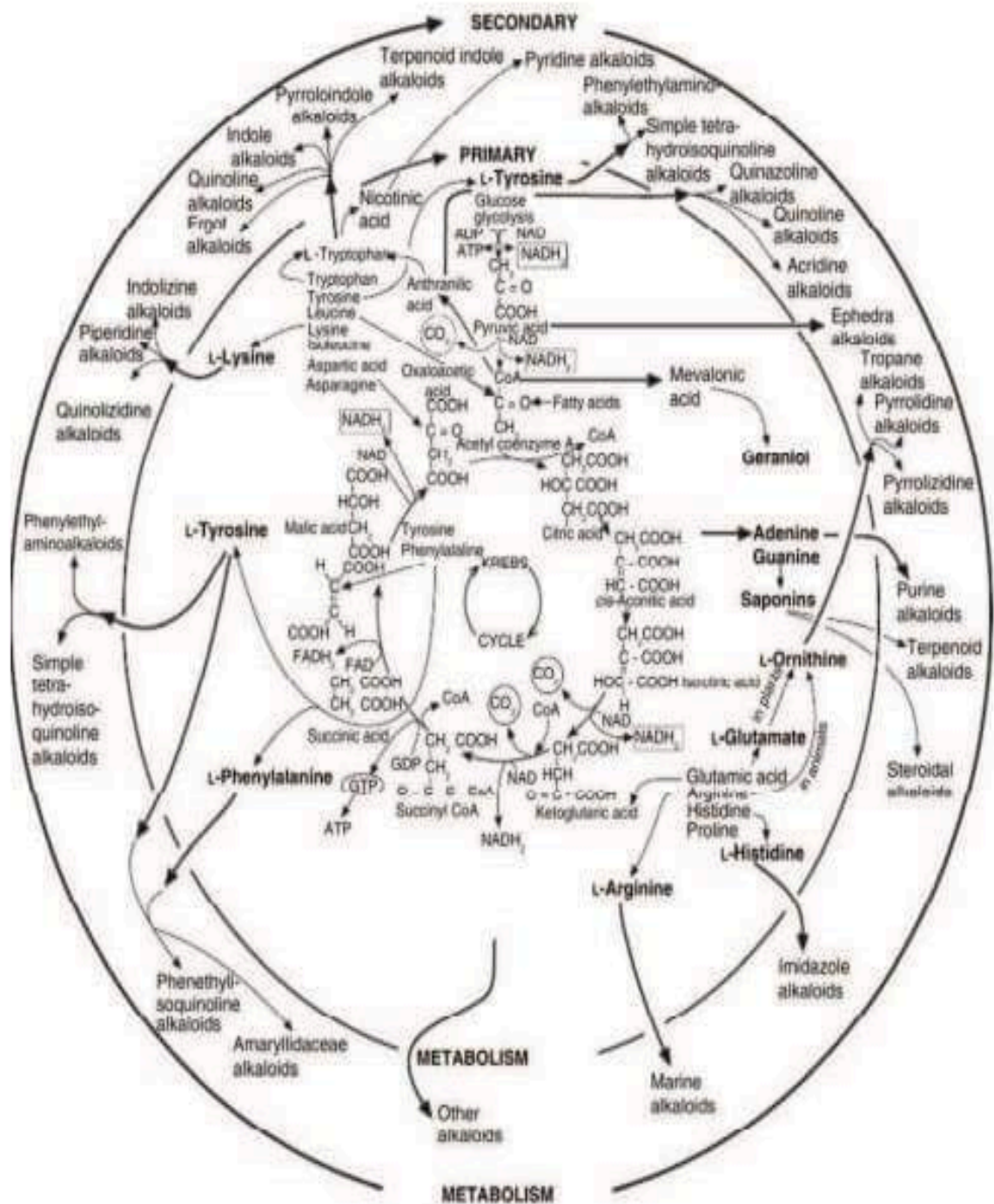


Figure 29: Biosynthèse des alcaloïdes [48].

**f) Propriétés physiques et chimiques des alcaloïdes :**

Les alcaloïdes ne constituent pas un groupe homogène de corps comparables à celui des protéines, glucides, lipides; ce sont des composés complexes, aux formules compliquées.

Tous les alcaloïdes renferment de l'azote N, de l'hydrogène H<sub>2</sub> et du Carbone C.

La plupart contiennent de l'O2, comme la morphine: C17 H19NO3, la codéine C18H21N03, l'atropine C17H23NO3, la cocaïne C17H21N04, la quinine C20H24N2O2.

Ce sont généralement des solides cristallisables, peu solubles dans l'eau, solubles dans le chloroforme, l'éther, l'alcool, le toluène, et l'éther de pétrole. La présence d'azote les rapproche des amines, et leur réaction générale plus ou moins accusée est une réaction alcaline, c'est justement ce qui rappelle leur nom "alcaloïde".

Leur solution bleuit la teinture rouge de tournesol, ils précipitent par les tanins et l'acide picrique, ils montrent des colorations particulières en présence de divers réactifs: exemple, l'acide sulfovanidique colore en rouge l'atropine, en orange la quinine, en vert la colchicine, en brun la morphine [48].

### II.2.2.9. Les stérols:

#### a) Définition des stérols :

Les stérols végétaux, également appelés phytostérols, sont en quelques sortes le cholestérol du monde végétal. Ce sont des substances dont la structure chimique est très proche de celle du cholestérol sanguin de l'être humain.

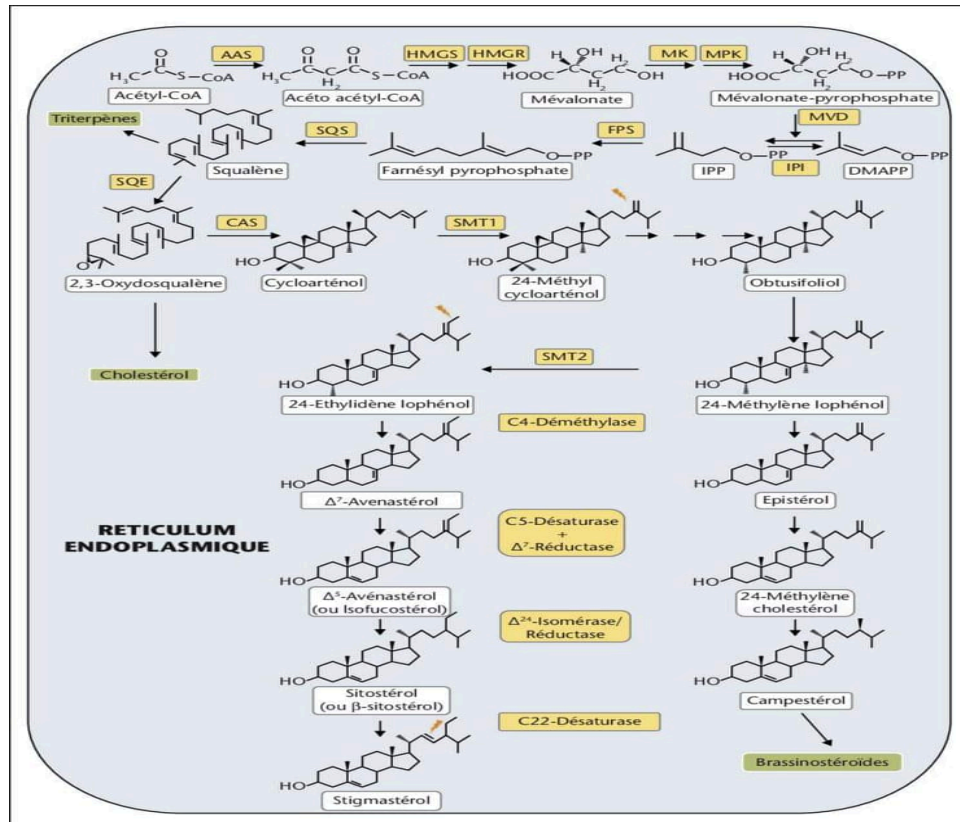


Figure 30: Synthèse des phytostérols du tournesol.[48]

## II.2.2.10. Les anthocyanes

### a) La biosynthèse des anthocyanes :

La biosynthèse des anthocyanes comporte une voie commune puis 3 voies parallèles aboutissant à la pélagonidine, la cyanidine et la delphinidine.

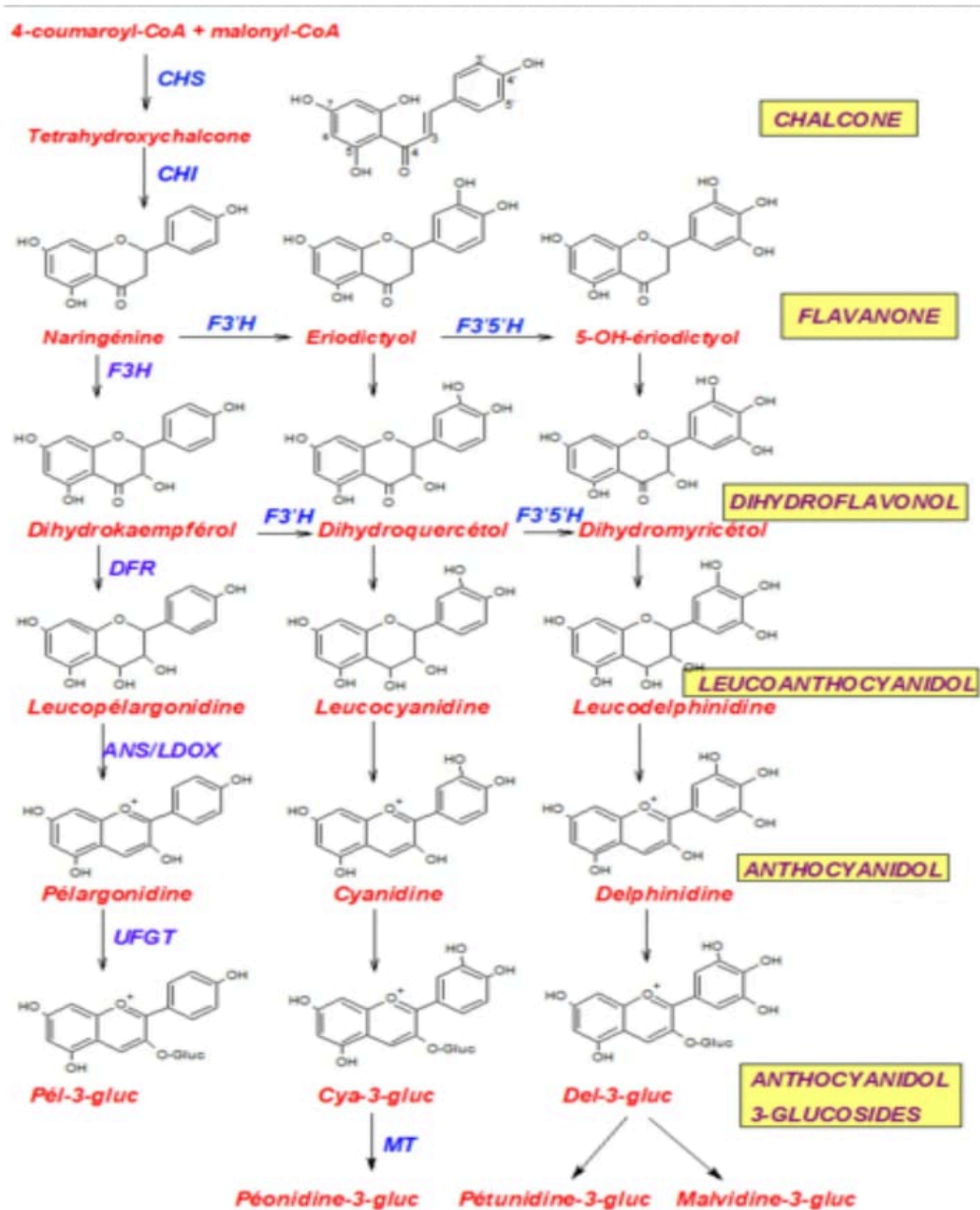


Figure 31: Biosynthèse des 6 anthocyanosides principaux.[33]

## ***CHAPITRE III***

# **Les activités biologiques**

## I. Oxydant :

### I.1. Les radicaux libres :

Ce sont des espèces chimiques, capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre, donc sont des espèces chimiques instables, très réactives [49].

- **Différentes types des radicaux libres :**

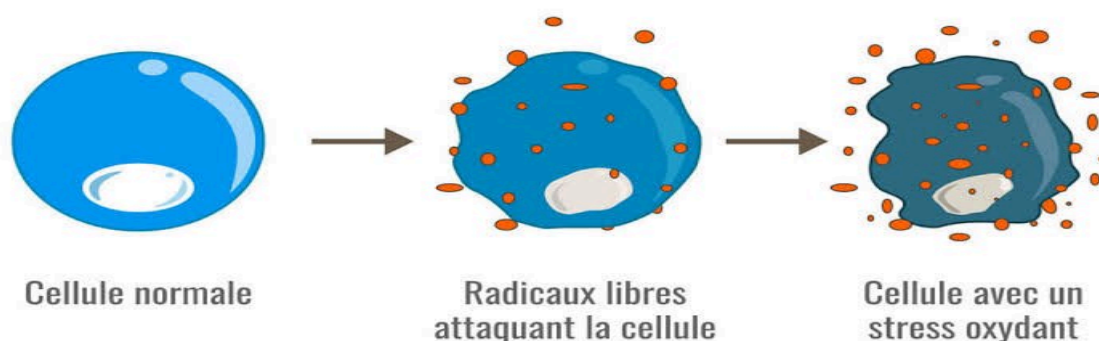
Les espèces radicalaires les plus importantes en biologie sont les radicaux libres oxygénés (RLO) et le monoxyde d'azote (NO) (Lacollry *et al*, 2007).

Radicaux	Non Radicaux
<b>Espèces réactives d'oxygène</b>	
Superoxide, O <sup>•</sup> <sub>2</sub> Hydroxyl, OH <sup>•</sup> Peroxyl, ROO <sup>•</sup> Alkoxy, RO <sup>•</sup> Hydroperoxyl, HO <sub>2</sub>	Hydrogen peroxide, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Hypochlorous acid, HOCl <sup>-</sup> Ozone, O <sub>3</sub> Singlet oxygen, <sup>1</sup> O <sub>2</sub> Peroxynitrite, ONOO <sup>-</sup>
<b>Espèces réactives d'azote</b>	
Nitric oxide, (nitrogen mono) NO <sup>•</sup> Nitrogen dioxide, NO <sup>•</sup> <sub>2</sub>	Peroxynitrite, ONOO <sup>-</sup> Alkyl peroxynitrites, ROONO Dinitrogen trioxide, N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Dinitrogen tetroxide, N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> Nitrous acid, HNO <sub>2</sub> Nitronium anion, NO <sub>2</sub> <sup>+</sup> Nitroxyl anion, NO <sup>-</sup> Nitrosyl cation, NO <sup>+</sup> Nitryl chloride, NO <sub>2</sub> Cl
<b>Espèces réactives chlorés</b>	
Atomic chlorine, Cl <sup>•</sup>	Hypochlorous acid, HOCl Chlorine, Cl <sub>2</sub> Nitronium (nitryl ) Chloride, NO <sub>2</sub> Cl

**Figure 32:** L'ensemble des différents types des espèces radicalaires [50].

### I.1.1. Stress oxydant :

## STRESS OXYDANT



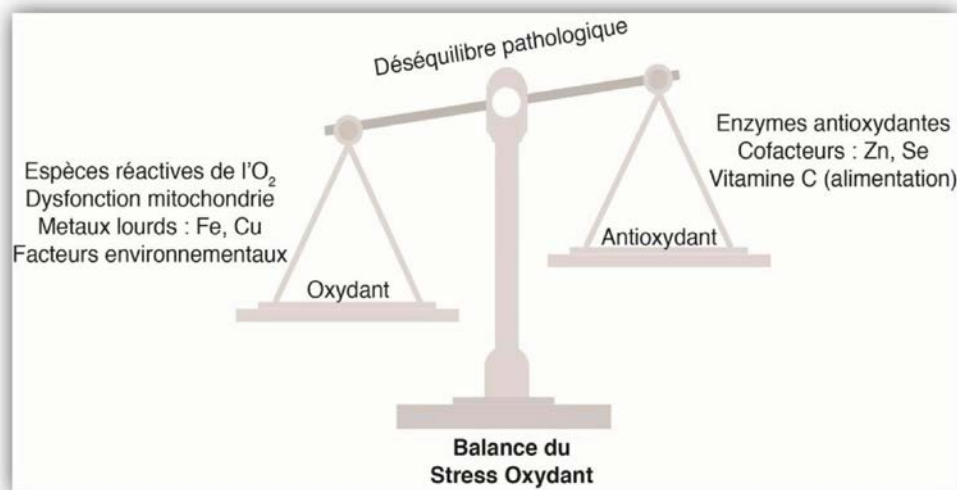
**Figure 33:**Le stress oxydant.[53]

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) [51]. Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme [51].

Ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaire : les lipides avec perturbations des membranes cellulaires, les protéines avec altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation [52].

De nombreuses affections humaines ou animales incluent donc un stress oxydant, local ou général, dans leur pathogenèse au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel [53].





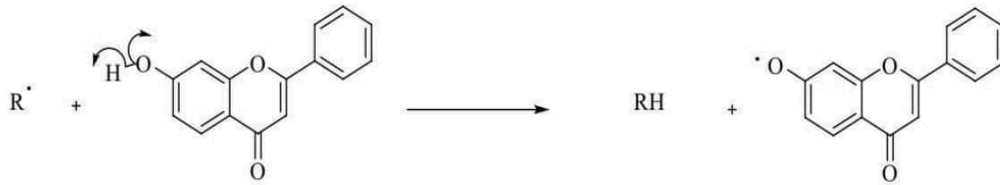
**Figure 34:** Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d'une cellule [52].

## I.2. Antioxydant :

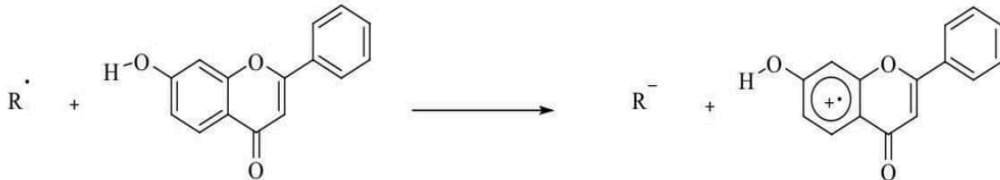
### I.2.1. Définition

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles décrites ci-dessus ou désactiver directement les ROS. Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions: systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres. [54].

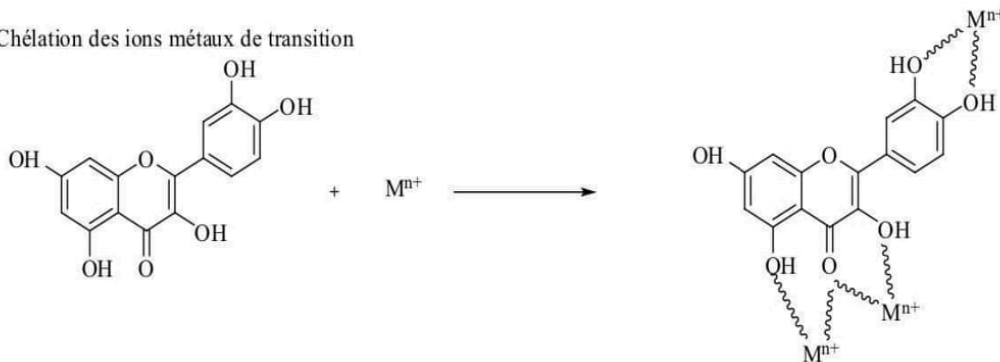
Transfert de proton (HAT)



Transfert d'électron (SET)



Chélation des ions métaux de transition



**Figure35:** Mécanisme d'action anti-oxydante des composés phénoliques [55].

## I.2.2. Les types d'antioxydants :

Il existe plusieurs types et sources d'antioxydants :

- 1 /. Endogène : Les systèmes de défense enzymatiques des radicaux libres => Superoxyde dismutases => Catalases => Glutathion peroxydases
- 2 /. Exogène : => Les polyphénols => Les vitamines => Les oligoéléments

## II. Le diabète :

### II.1. Définition :

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. Le diabète correspond à une élévation anormale de la glycémie, définie

par le taux de sucre dans le sang. Cette augmentation de la glycémie peut provoquer à plus ou moins long terme des lésions de différents organes, comme les yeux, les

reins, les nerfs et les vaisseaux sanguins En 2014, 8,5 % des adultes de 18 ans et plus étaient atteints de diabète. En 2016, le diabète a directement provoqué 1,6 millions de décès, tandis que l'hyperglycémie a entraîné 2,2 millions de décès en 2012 [61].

## **II.2. Type de diabète :**

Il existe trois types de diabète : le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel. On dit d'une personne qu'elle est diabétique lorsque son taux de sucre dans le sang est : À deux reprises  $\geq 1,26$  g/L à jeun Ou  $\geq 2$  g/L à n'importe quel moment de la journée, et qu'il est associé à des symptômes : par exemple : soif importante, envie fréquente d'uriner, amaigrissement. Ou  $\geq 2$ g/L 2 heures après ingestion de 75g de glucose.

### **a) Le diabète de type 1 :**

Le diabète de type 1 est un diabète insulino-dépendant, ce qui signifie qu'il est principalement lié à un défaut d'insuline. En effet, le diabète de type 1 est dû à une défaillance du système immunitaire qui pour une raison encore inconnue, se retourne brutalement contre ses propres cellules, les cellules du soi. On parle alors de réaction auto-immune [60].

### **b) Le diabète de type 2 :**

Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente de diabète, avec 90 % des cas. Il se manifeste généralement à l'âge adulte, chez les individus de 40 ans et plus. Malheureusement, on constate qu'il apparaît également chez des personnes de plus en plus jeunes, en raison entre autres de l'augmentation du taux d'obésité.

**Tableau 05:** Caractéristiques cliniques distinctives du diabète [61].

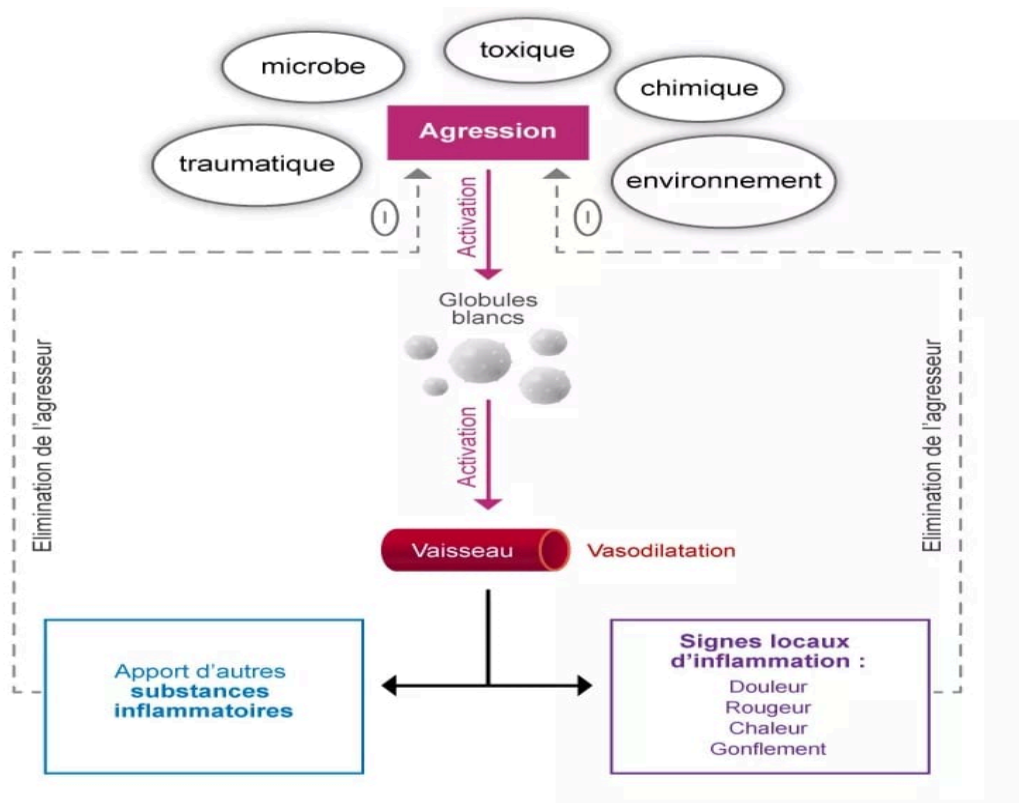
Caractéristiques cliniques	Diabète de type 1	Diabète de type 2	Diabète monogéneque
Age au moment du diagnostic	Le plus souvent <25 ans, mais peut survenir à tout âge (mais pas avant l'âge de 6 mois)	Le plus souvent <25 ans, mais hausse de la fréquence chez les adolescents parallèle au taux croissant d'obésités chez les enfants et les adolescents	Le plus souvent <25 ans ; diabète néonatal si <6 mois
Poids	Généralement mince, mais compte tenu de l'épidémie d'obésités, peut être en surpoids ou obese	Présence chez > 90 % des personnes en surpoids	Similaire par rapport a la population général
Auto_anticorp anti ilots de Langerhans	Habituellement positif	Négatif	Négatif
Peptide C	Sous le seuil de détection du faible	Taux normal ou élève	Taux normal
Production d'insuline	Non	Oui	Oui, en général
Traitement de première intention	Insuline	Anti hyperglycémiant autre que l'insuline, dépendance graduelle a l'insuline peut survenir	Dépend du sous – type
Antécédents	Peu fréquents (5% à 10 %)	Fréquents (75 % à 90%)	Mode de transmission autosomique observé sur plusieurs générations

Acidocétose diabétique	Courante	Rare	
---------------------------	----------	------	--

### **III. L'inflammation:**

#### **III.1. Définition de L'inflammation :**

L'inflammation ou réaction inflammatoire est un mécanisme naturel qui va se mettre en place quand l'organisme subit une agression : chimique, toxique, microbienne, traumatique. La réaction inflammatoire est essentiellement locale, avec une mobilisation de cellules qui jouent un rôle important dans l'inflammation, les globules blancs. Localement les globules blancs sécrètent des molécules qui vont conduire à une vasodilatation des vaisseaux. Cette dilatation des vaisseaux permet l'afflux d'autres cellules qui viennent en renfort pour lutter contre l'agression. Si l'inflammation ne peut pas être contrôlée, le système de défense devient de plus en plus important, avec une mise en place d'une réponse du système immunitaire. La réaction inflammatoire locale va se manifester par une rougeur, une douleur, une chaleur et un gonflement, qui se traduit par le gonflement des vaisseaux et l'afflux de sang de cellules pour la défense locale. La réaction inflammatoire est indispensable à l'organisme : elle permet l'élimination des agresseurs et assure la réparation des lésions. Elle s'arrête lorsque les agressions disparaissent. L'inflammation, c'est donc notre système de défense, qui en temps normal, est bénéfique [59].



**Figure 36:** Réaction inflammatoire [59].

***Partie II***  
***Etude expérimentale***



# **Chapitre I:**

## **Matériel et méthode**

## I. Matériel et méthode

### I.1. Matériel végétal :

Nous avons fait nos expériences dans laboratoire Biochimie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université des frères Mentouri, Constantine. Sure l'espèce *Ceratonia siliqua* L., appartenant à la famille des fabacées

Une étude et un screening trois organes différents de la plantes *Ceratonia siliqua* L. qui sont : tiges, feuilles et fruits. Pour la mise en évidence de métabolites secondaires tels que les composés phénoliques, Terpènes et alcaloïdes

#### I.1.1. La récolte de la matière végétale :

On a était récolé la plante *ceratonia siliqua* L\_ le mois d'octobre 2020 au niveau de l'université frère Mentouri Constantine 1.



**Figure 37** : les trois organes feuilles fruits et tiges de *Ceratonia siliqua* L.

#### I.1. 2. Broyage des parties sèches :

On était broyé les différents organes du matériel végétal sélectionnés (tiges, feuilles et fruits) de la plante étudiée après le séchage jusqu'à Obtenir d'une texture prête à la préparation des extraits.



Poudre des Feuilles.

Morceaux de tiges.

Broyat du fruits.

**Figure 38** : Séchage des feuilles, tiges et fruits de *Ceratonia siliqua* L.

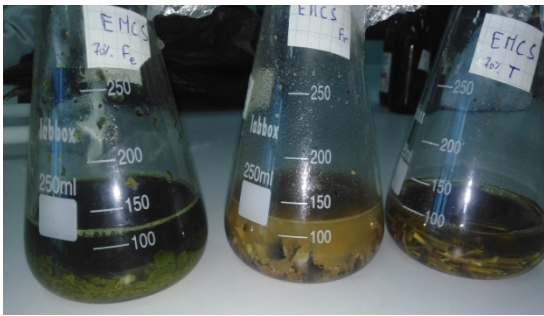
### I.1.3. Extraction des métabolites secondaires :

Dans cette étape on a utilisé la méthode de macération la plante en contacte au froid avec un solvant quelconque pour obtenir le maximum de molécules chimiques contenues.

### I.1.4. Préparation de l'extrait hydro méthanolique :

#### Le protocole :

- 100g de matérielle végétale dessus dans 70% méthanol, Après une macération de 72 heures à température ambiante, le mélange est filtré. Cette étape est répète trois fois pour les trois organes (tiges, feuilles; fruits).



**Figure 39 :** Extrait hydro-méthanolique des feuilles fruits et tiges.



**Figure 40:** filtration du macérât des feuilles.

- Après la filtration on met l'extraite méthanolique dans un évaporateur rotatif a une température 40°C. afin d'obtenir un extrait sec.
- Enfin on a obtenir un extraits organiques brute, qui sera récupéré dans des boites de pétris stériles puis conservés jusqu'à l'utilisation.



Fruit



feuille



tige

**Figure 41 :** l'extrait brute des fruits, feuilles et tiges de *Ceratonia siliqua* L.

## I.2. Teste phytochimiques :

Notre études ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, coumarines, terpènes, composés réducteurs,...) dans notre organe végétale par des réactifs chimiques spécifiques en tubes.

### I.2.1. Détection des Polyphénols :



**Figure 42** : flacons Méthanolique, chloroformique et étherique pour les trois organes feuilles, fruits et tiges de *Ceratonia siliqua* L.

#### I.2.1.1. Détection des Quinones libres :

0.5 g de matériel végétal sec et broyé et placé dans des tubes avec 20 à 30 ml d'éther de pétrole Après agitation et un repos de 24heures, après les extraits sont filtrés.

La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH (10%), lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet [56].

#### I.2.1.2. Criblage des Anthraquinones :

À l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute du KOH aqueux 10 % (v/v).

Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse rouge [56].

#### I.2.1.3. Criblage de Flavonoïdes :

Se réalise à partir de 30 mg d'extrait hydrométhanolique reparti dans 3 tubes, le 1<sup>er</sup> servant de témoin, les 2 autres pour les deux tests (test de Wil stater et test de Bate-Smith) :

- **Test de Wilstater** : HCl concentré en présence de trois ou quatre tournures de magnésium. Le changement de coloration est observé.
- **Test de Bate-smith** : Additionner dans le 3<sup>ème</sup> tube HCl concentré (0,5ml) et porter au bain-marie pendant trente minutes. L'apparition d'une coloration rouge dénote la présence de leucoanthocyanes.

#### **I.2.1.4. Criblage des Tanins :**

100mg d'extrait hydrométhanolique sont dissout dans 25ml d'eau distillée chaude puis additionner de trois à quatre de NaCl 10%, la solution ainsi obtenue est filtrée, le filtrat est ensuite réparti dans quatre tubes à essai, le 4<sup>ème</sup> tube servant de témoin :

- Tube n°1: addition de quatre à cinq gouttes de gélatine à 1%.
- Tube n°2: addition de quatre à cinq gouttes de gélatine salée (gélatine 1% + NaCl 10%) L'apparition d'une précipitation par la gélatine salée signifie la présence de Tanins.
- Tube n°3: addition de quatre à cinq gouttes de FeCl<sub>3</sub>1% La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchique.

#### **I.2.2. Détection des Stérols, Stéroïdes et Tritéropènes :**

##### **➤ Protocole expérimentale :**

Dépigmenter 100mg d'extrait hydro alcoolique par addition de 10ml de cyclohexane et agitation pendant 5minutes. Dissoudre le résidu dépigmenté dans 10ml de chloroforme. Sécher la solution obtenue sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>anhydre, puis filtrer. Répartir le filtrat dans quatre tubes à essai, le 4<sup>ème</sup> tube servira de témoin.

- Tube n°1: test de Salkowski: incliner le tube à 45°, ajouté 1 à 2ml de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Le changement de coloration est noté immédiatement. Agiter le mélange légèrement et noter le changement graduel de coloration : une coloration rouge indique la présence de stérols insaturés.
- Tube n°2: test de Libermann-Burschard : additionner trois gouttes d'anhydride acétique puis agiter légèrement. Ajouter une goutte de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Le changement de coloration est observé pendant une heure, une coloration bleu-vert indique la présence de stéroïdes tandis que rouge-violet à rose dénote la présence de tritéropènes.
- Tube n°3: Test de Badjet-Kedde: Additionner quelques grains d'acide picrique. L'apparition d'une coloration orange est due aux stéroïdes lactoniques.
- Tube 4 : Test de Badjet-Kedde: Addition de quelques grains d'acide picrique l'apparition d'une coloration orange montre des stéroïdes lactoniques.

### **I.2.3. Détection des saponosides :**

Pour l'identification rapide d'un organe a saponosides, il suffit de mettre en évidence leur pouvoir aphrogène en observant la mousse très fine qui se forme après une simple agitation énergique (pendant 15 secondes) de cette poudre en présence d'eau distillé et sa persistance au moins 10 min., 1 g de poudre végétal est introduit dans des tubes avec 10 ml d'eau distillée puis on chauffe le mélange au bain marie à 85°C Pendant 20 min, après on agite vigoureusement chaque tube, en position horizontale pendant 15 secondes environ portoir, après 10 min au repos on compare les hauteurs des mousses.

- Pas de mousse : test négatif.
- Mousse moins de 1cm : test faiblement positif.
- Mousse de 1 à 2cm : test positif.
- Mousse plus de 2cm : test très positif.

### **I.2.4. détection des coumarines :**

2g de poudre végétale, on ajoute 10ml de méthanol, après une agitation de quelque minutes et une filtration, les extraites méthanolique sont soumis à une CCM.

#### **➤ Préparation de l'éluant :**

Un mélange de toluène et d'acétate d'éthyle (34 :14)

#### **➤ Préparation des plaques :**

La visualisation du chromatogramme, après migration se réalise sous une lampe UV la longueur d'onde utilisée 365nm.

### **I.2.5. Chromatographie analytique sur couche mince (CCM) :**

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange. Cette technique a été utilisée pour visualiser la séparation des molécules des deux extraits.

#### **➤ Principe :**

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité. Un mélange de composés est placé sur un support solide (phase stationnaire) plongé dans un solvant (phase mobile) qui se déplace par capillarité le long de la phase stationnaire. La phase mobile va entraîner les composés qui migreront à une hauteur variante en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile. On peut ainsi caractériser les composés selon leur Rf.

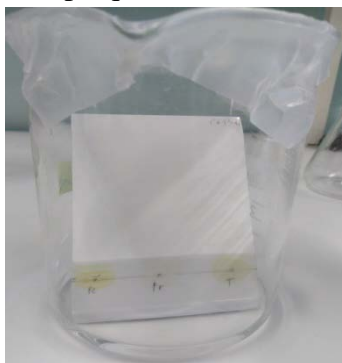
#### **➤ Mode opératoire :**

A. **Préparation de la phase mobile** : La cuve de migration est partiellement remplie du mélange de solvant (phase mobile) afin qu'elle soit saturée en vapeur d'éluant ce qui facilite et améliore la migration. La phase mobile est constituée d'un mélange de solvants. Différents systèmes solvants ont été essayés pour définir celui qui donne une meilleure séparation.

**Tableau 06:** Les différents systèmes solvants utilisés pour la CCM.

Les systèmes solvants utilisés	Systèmes solvants	Proportions
	Hexane/acétate d'éthyle	(2 :8) ; (v/v)
	Acétate d'éthyle/ Méthanol / Eau distillée	(10 / 1 / 0,5) ; (v/v/v)
	Ether de pétrole/acétate d'éthyle	(8/2) ; (v/v)
	Chloroforme/méthanol	(9/1) ; (v/v)

- B. **la phase stationnaire** : La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice sur des plaques en aluminium.
- C. **Le dépôt des échantillons** : Le dépôt se fait à l'aide d'une pipette pasteur sur les points marqués au long de la ligne de la plaque CCM. Le diamètre de la tâche ne doit pas dépasser 4 mm pour réussir la séparation des échantillons. Pour chaque extrait on fera 2 à 3 dépôts successifs. Le dépôt de produit doit être effectué de façon homogène à l'aide d'un capillaire sans creuser le support solide. (Erika et.al, 2008).
- D. **Développement des plaques** : Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (chromatographie ascendante) (Sine, 2003). Lorsque le front de séparation arrive à 2 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, on retire cette dernière de la cuve. La plaque est séchée à l'air libre.



**Figure 43:** développement de la plaque



### **I.2.6. dosage des composés phénoliques totaux :**

#### **1. Préparation de Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7,5% :**

7,5 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et sont dissouts dans 100 mL d'Eau distillée.

#### **2. Préparation de l'extrait de plante :**

Une masse de 1mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 mL de Méthanol.

#### **3. Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois :**

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10 mL avec l'eau distillée (9mL).

#### **4. Procédure :**

Une prise de 400 uL d'extrait de plante dilué méthanolique est mélangé avec 2000 µL de FCR dilué (1 :10) et 1500 uL de carbonate de sodium (7,5%), Après un repos de 2 h à l'obscurité, la lecture est effectuée à une longueur d'onde de 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé par le méthanol [56].

## **II. Activité biologique :**

### **II.1. Activités antioxydants :**

L'activité antioxydants des trois extraits feuilles, fruits et tiges de la plante *Ceratonia siliqua* L.

#### **➤ Préparation des solutions :**

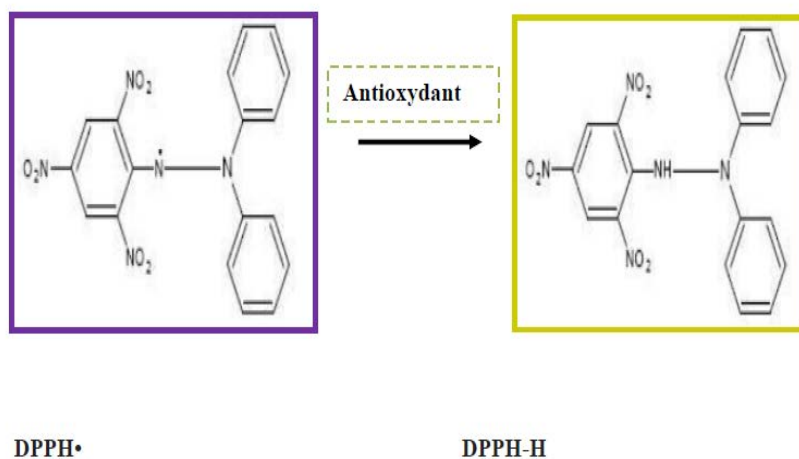
A partir de chaque extrait, sont préparées 7 solutions de concentration : ( $\frac{1}{1}, \frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{8}, \frac{1}{16}, \frac{1}{32}, \frac{1}{64}$ ) à partir d'une solution mère à 500 µg/ mL (20 mg d'extrait solubilisés dans 10 ml de MeOH) (Tableau 06).

**Tableau 07:** préparation des solutions.

Solutions préparées	Numérotations des solutions	Concentration solution	Concentration finale
0.5 mg d'extrait + 1 mL MeOH	<b>S1</b>	<b>2000</b>	<b>400</b>
Prélever 0.5 mL de (S1) + 0.5 mL MeOH	<b>S2</b>	<b>1000</b>	<b>200</b>
Prélever 0.5 mL de (S2) + 0.5 mL MeOH	<b>S3</b>	<b>500</b>	<b>100</b>
Prélever 0.5 mL de (S3) + 0.5 mL MeOH	<b>S4</b>	<b>250</b>	<b>50</b>
Prélever 0.5 mL de (S4) + 0.5 mL MeOH	<b>S5</b>	<b>125</b>	<b>25</b>
Prélever 0.5 mL de (S5) + 0.5 mL MeOH	<b>S6</b>	<b>62.5</b>	<b>12.5</b>
Prélever 0.5 mL de (S6) + 0.5 mL MeOH	<b>S7</b>	<b>31.25</b>	<b>6.25</b>

➤ **Principe:**

Le composé chimique DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote [58] (Figure 25).



**Figure 44 :** Structure chimique du radical libre DPPH.

### ➤ Préparation du DPPH :

Dissoudre 1.5 mg de DPPH dans un volume de 25mL de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 517 nm dans le spectrophotomètre.



Figure 45: photographie du DPPH.



Figure 46: photographie de blanc.

### ➤ Procédure :

Une prise de 40 uL d'extrait dilué méthanolique est mélangé avec 160 uL de DPPH, On laisse à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes, On mesure l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (AA %) en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

- **AA %:** Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).
- **Abs Échantillon :** Absorbance de l'échantillon.
- **Abs Contrôle :** Absorbance du contrôle négatif.

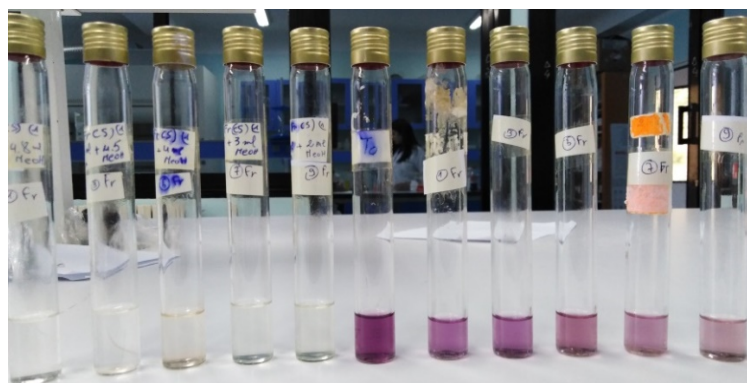
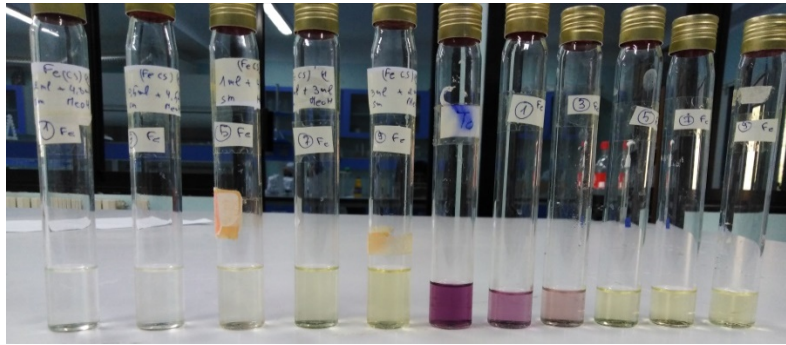
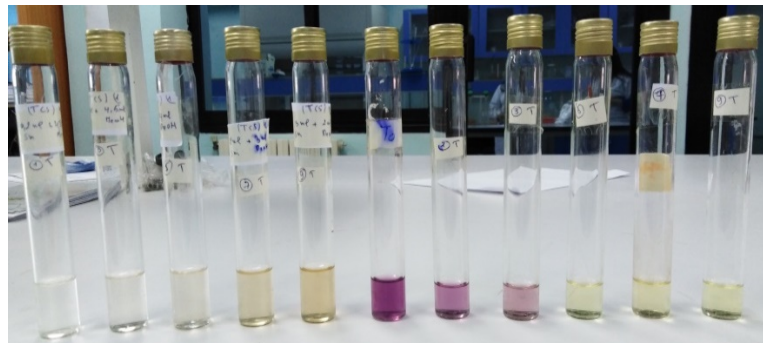


Figure 47: photographie des différentes concentrations d'EMCS fruits.



**Figure 48:** photographie des différentes concentrations d'EMCS feuilles.



**Figure 49:** photographie des différentes concentrations d'EMCS tiges.

## II.2. Evaluation de l'activité antidiabétique :

L'hyperglycémie provoquée par voie orale, aussi appelée test de tolérance au glucose, permet de voir comment notre organisme réagit après avoir ingéré du sucre. Pour cela, le taux de sucre dans le sang est mesuré à jeun et après la consommation de sucre. La glycémie s'autorégule grâce à la production d'insuline, une hormone sécrétée par le pancréas.

### ➤ Matériel végétal :

Constitué extraits hydrométhanoliques de feuilles, tige et fruits de la plante *cératonia siliqua* L. préparés par macération.

### ➤ Matériel animal :

Nous avons utilisé Des rats adultes males de souches Wistar dont le poids entre 250 et 350g, ont été obtenus auprès de l'animalerie de l'université des frères Mentouri.

Les rats ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard (25°C) avec un cycle de 10/14 h (lumière/obscurité), et disposés d'un libre accès à la nourriture et à l'eau de robinet.

### ➤ Réactifs :

- Solution de glucose 4g/kg dans du sérum physiologique.

- Extraits méthanoliques des feuilles, fruits et tige de *ceratonia siliqua* L. : 300mg/kg
- Du bionorm comme antidiabétique oral de référence a raison de 0.5mg/1000g
- L'eau physiologique 250mg/kg comme substance témoins.

➤ **Protocole expérimentale :**

Après 16 heures de jeûne des rats, les rats est prêt pour une expérience diabétique. Dans notre expérience, nous utilisons 4 lots homogènes de 4 rats male par gavage au glucose.



**Figure 50:** Rats adultes de souche wistar.

- Lot 1 (control négative) reçoit un gavage de l'eau physiologique NaCl 0.9% à raison de 250mg/kg, avant 30 min de l'administration de glucose.
- Lot 2 (control positive) reçoit un gavage de bionorm à raison de 0.5mg/kg avant 30 min de l'administration de glucose
- Lot 3, 4 et 5 reçoivent respectivement un gavage des trois extraits EMCS feuilles, tige et fruits de *Cératonia Siliqua* L. à raison de 200mg/kg.



**Figure 51:** injection des rats par voie intra-péritonéale.

- Ensuite reçu le glucose de 4g/kg de poids des rats corporel d'une solution de glucose à 100 mg / ml administré par gavage



**Figure 52:** Gavage d'une dose de glucose à raison de 2g/kg.

- On a mesuré du taux glucose sanguin est faite à l'aide d'un glucomètre et des bandelettes adaptées (accu-check active, Roche) le sang est prélevé au niveau de la veine principale de la queue (obtenu par une coupe de 2mm).



**Figure 53:** coupe au niveau de la queue du rat.



**Figure 54:** Mesure du glucose sanguin.

- Enfin on a mesuré le glucose sanguin a :t-30min, t 0, t30min, t60min, t120min et a t180min.

### **II.3. évaluation anti-inflammatoire :**

#### **➤ Matériel végétal :**

Constitué extraits hydrométhanoliques de feuilles, tige et fruits de la plante *cératonia siliqua* L. préparés par macération.

#### **➤ Matériel animal :**

Nous avons utilisé Des rats adultes males de souches Wistar dont le poids entre 250 et 350g, ont été obtenus auprès de l'animalerie de l'université des frères Mentouri Constantine1.



Les rats ont été maintenus dans des conditions de laboratoire standard (25°C) avec un cycle de 10/14 h (lumière/obscurité), et disposés d'un libre accès à la nourriture et à l'eau de robinet.

➤ **Réactifs :**

- Solution de formol 1% dans du sérum physiologique.
- Extraits méthanoliques des feuilles, fruits et tige de *ceratonia siliqua* : 200mg/kg
- Du diclofinac comme anti-inflammatoire oral de référence à raison de 10mg/kg
- L'eau physiologique 4ml/kg comme substance témoins.

➤ **Protocole expérimentale :**

L'œdème de l'inflammation est provoqué par l'injection dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de formol à 1% au niveau de la voûte plantaire de la patte droite du rat. L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par le Pléthysmomètre ce qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire. Pour chaque essai de l'activité anti-inflammatoire, Cinq lots de quatre rats ont été utilisés. Ces rats ont été mises à jeun, 17 heures avant l'essai [57].

- Lot 1(contrôle négative) témoin : Les rats de ce lot reçoivent 4ml/kg de la solution véhicule (eau physiologique) par voie intra-péritonéale (ip), 30 mn avant l'injection de 0.01 ml de formaldéhyde 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du rat.



**Figure 55:** injection du formol 1%.

- Lot 2(contrôle positive) référence : Les rats de ce lot ont été traités par voie (ip) avec un anti-inflammatoire utilisé (Diclofinac) en thérapeutique, 30 mn avant l'injection du formol, l'administration de l'anti-inflammatoires fait à raison de 25mg/kg.
- Lot 3,4 et 5 essai : L'extrait à tester est administré aux souris par voie (ip) à raison de 200 mg/kg ; 30 mn avant l'injection du formol.





**Figure 56:** injection des rats par voie intra-péritonéale.

Le suivi de l'évolution de l'œdème se fait par mesure des deux pattes : une patte traitée P(t) et une patte non traitée P(nt), et ceci à 0, 30, 60, 120, 180 mn après injection du formol. L'activité anti-inflammatoire des produits testés et son évolution ont été estimés par la détermination des pourcentages moyens d'inhibition de l'œdème, calculés suivant la formule.

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times \frac{(Vt-V0) \text{ témoin} - (Vt-V0) \text{ traité}}{(Vt-V0) \text{ témoin}}$$

- V0 représente le volume de la patte à t=0 (avant injection du formol),
- Vt représente le volume de la patte à un temps (t) quelconque.



**Figure 57:** Mesure du volume de l'œdème.

## *Chapitre II*

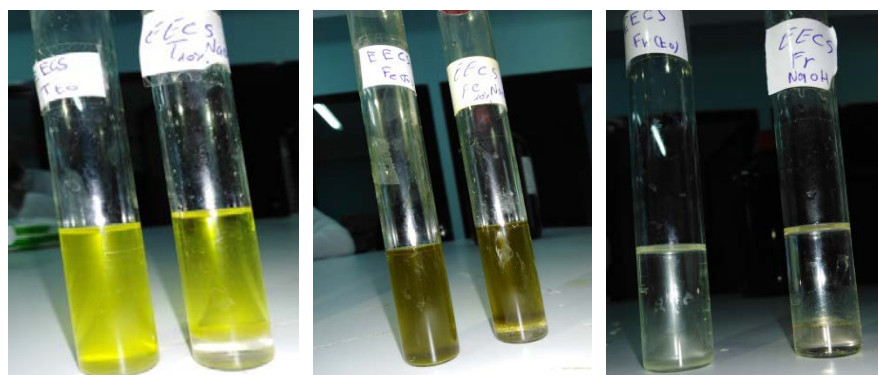
*Résultats et discussion :*

## I. Screening phytochimique :

### I.1 Criblage des composés phénoliques :

#### I.1.1. Criblage des quinones :

Le réactif NaOH utilisé pour la détection des quinones dans les extraits éthériques des organes étudiés (tiges, feuilles et fruits) ne contiennent pas des Quinones.



ECCS tiges

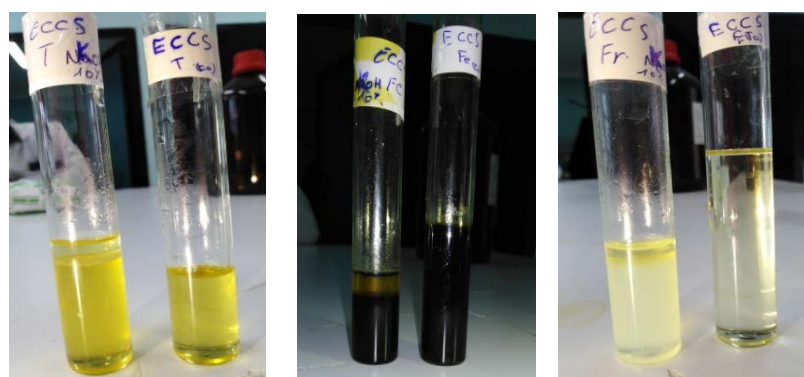
ECCS feuilles

ECCS fruits

Figure 58: Photographies des criblages des quinones.

#### I.1.2. Criblage des Anthraquinones :

La mise en évidence des Anthraquinones à l'aide du réactif spécifique KOH a montré que les extraits chloroformiques des tiges, feuilles et fruits de la plante *Ceratonia siliqua* L. sont dépourvus de ces substances.



ECCS tiges

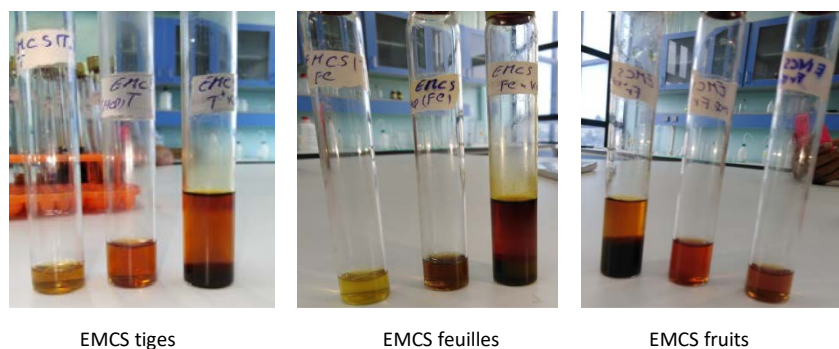
ECCS feuilles

ECCS fruits

Figure 59: Photographies de mise en évidence des anthraquinones.

#### I.1.3. Criblage des Anthocyanes :

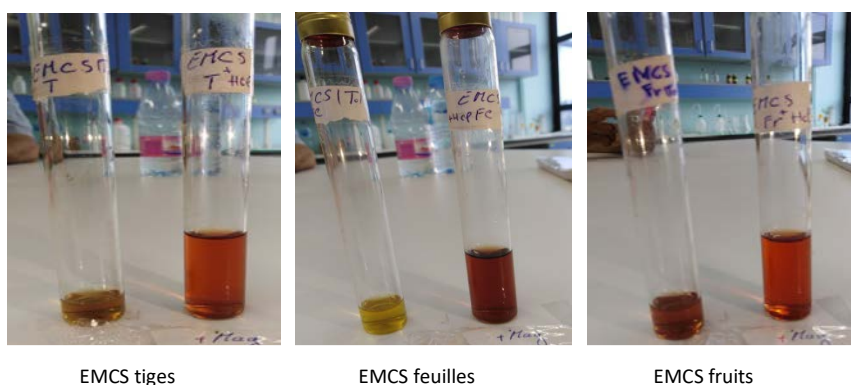
L'investigation phytochimique pour la détection des anthocyanes dans les extraits méthanoliques des tiges, feuille et fruit de l'espèce *ceratonia siliqua* L. a révélé que ces organes sont riches en anthocyanes.



**Figure 60:** photographie de mise en évidence Anthocyanes.

#### I.1.4. Criblage des Flavonoïdes :

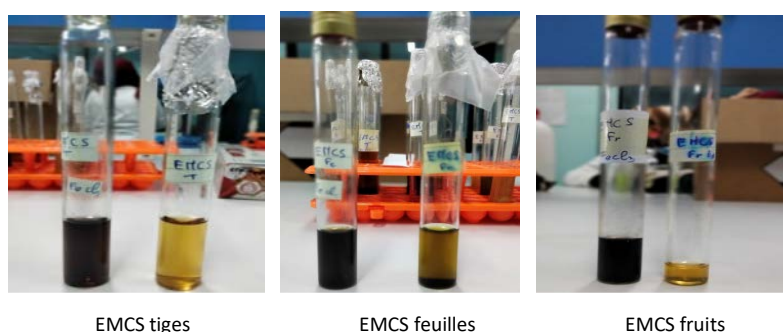
Le criblage des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des tiges, feuille et fruit de l'espèce *Ceratonia siliqua L.* est confirmé par l'apparition d'une couleur rouge intense dans tous les tests réalisés ce qui indique que tous ces organes sont riches en flavonoïdes.



**Figure 61:** Photographies des criblages des flavonoïdes.

#### I.1.5. Criblage des tanins :

Le réactif  $FeCl_3$  utilisé dans un extrait Méthanolique apparition une couleur bleu noir des organes étudiés feuilles, tiges et fruits de la plante *Ceratonia Siliqua L.* sont riches en tanins galliques.



**Figure 62:** résultat de Criblage des tanins.

**Tableau 08 :** Résultats du criblage des composés phénoliques de *Ceratonya siliqua* L.

Plante	<i>Ceratonya siliqua</i> L.		
Organes	Tiges	Feuilles	Fruits
Quinones	–	–	–
Anthraquinones	–	–	–
Anthocyanes	+	+++	+++
Flavonoïdes	+	+++	++
Tanins	+	++	+++

- : Réaction négative.

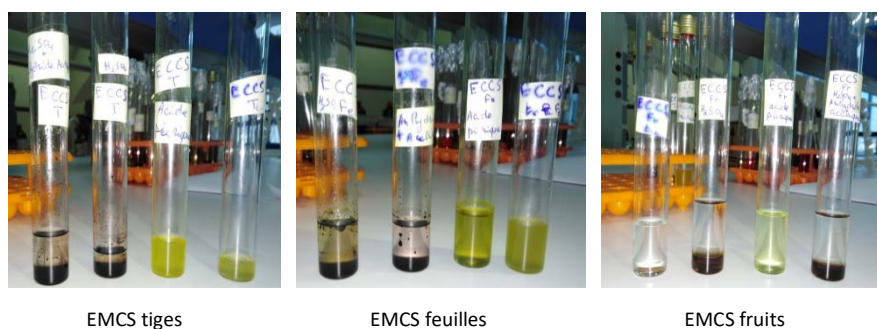
+ : Réaction faiblement positive.

++ : Réaction moyennement positive.

+++ : Réaction fortement positive.

#### I.1.6. Criblage des stérols, stéroïdes et tritérpènes :

La mise en évidence des stérols, stéroïdes et tritérpènes a élucidé la présence en abondance de stérol insaturé dans les feuilles et les tiges suivi des fruits. Les tritérpènes sont fortement présents dans les feuilles et fruits et absence totale des stéroïdes lactoniques dans les organes de la plante étudiée.



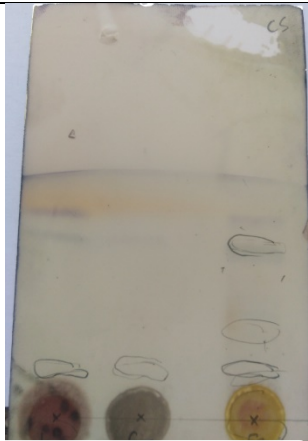

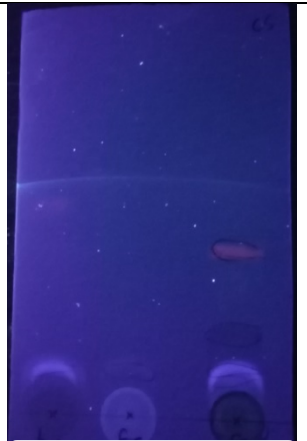
**Figure 63:** Photographies des criblages des stérols, stéroïdes et tritérpènes de CS.

**Tableau 09:** Résultats de criblage des stérols, stéroïdes et tritérpènes.

Plante	<i>Cératonya siliqua</i> L.		
Organes	Tiges	feuilles	Fruits
Stérols insaturés	+++	+++	+
Stéroïdes et tritérpènes	+++	+++	+++
Stéroïdes lactoniques	–	–	–

### I.2.1. détection des coumarines :

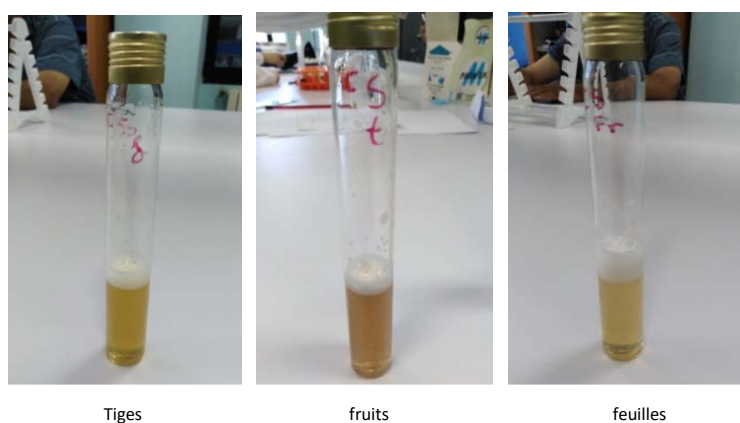
**Tableau 10** : chromatogrammes des coumarines des extraits EMCS (feuilles, fruits et tiges).

Espèce	Œil nue	UV a 365nm	UV a 254nm
<i>Ceratonia siliqua</i> L.			
	Tiges fruits feuilles	Tiges fruits feuilles	Tiges fruits feuilles

Criblage des coumarines, sur plaques CCM f<sub>254</sub> avec l'éluant comme phase mobile, acétate d'éthyle : toluène (34 : 14) et visualisée sous UV a démontré la présence des spots bleu qui signifient l'existence des coumarines dans les tiges, feuilles et fruits du caroubier.

### I.2.2. détection des saponosides :

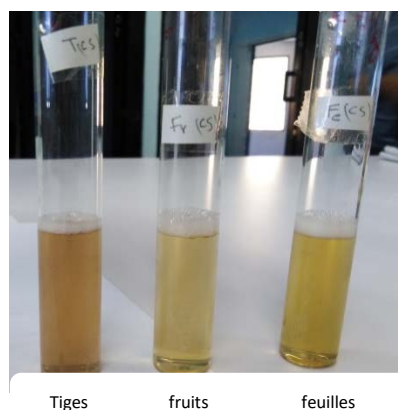
Après une simple agitation des trois tubes pendant 15 secondes. Après 10 min au repos on compare les hauteurs des mousses.



**Figure 64**: photographies des tubes après l'agitation.

On calcule l'indice de mousse nous avons constaté que les tiges, feuilles et fruits du caroubier ne contiennent pas des saponosides.

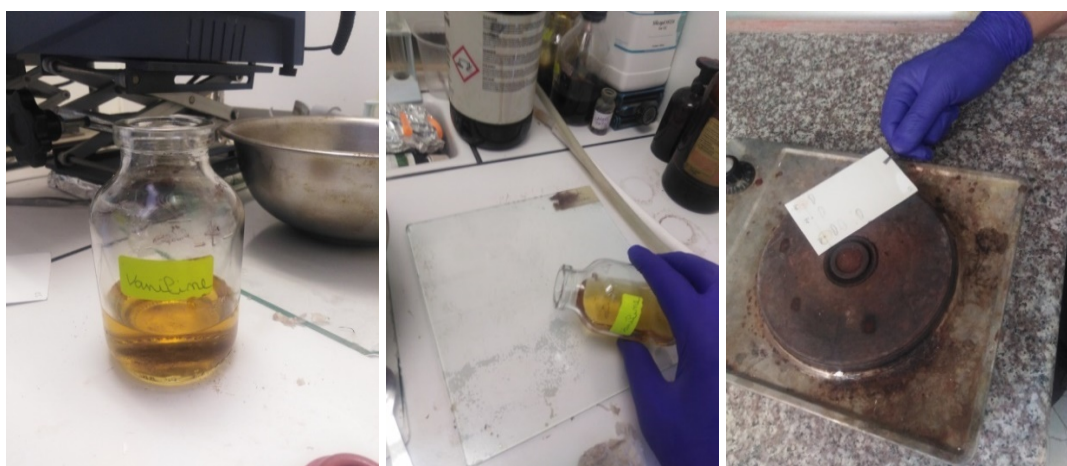




**Figure 65:** photographie de pouvoir aphrogène des saponosides.

### I.2.3. Etude analytique sur chromatographie CCM :


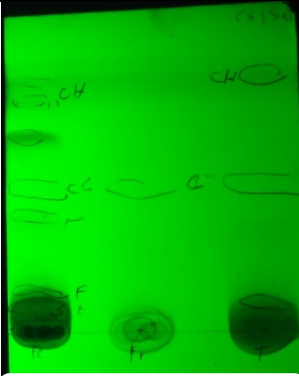
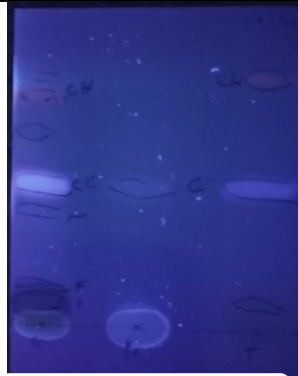
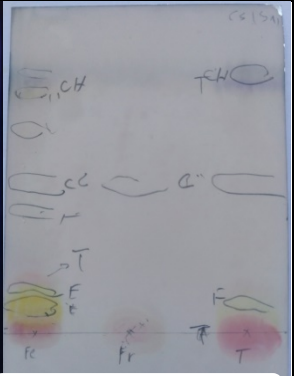


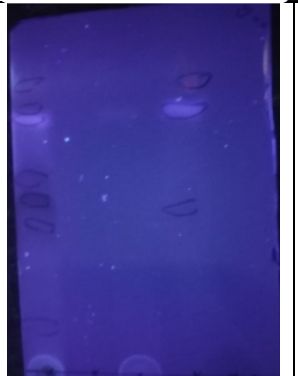


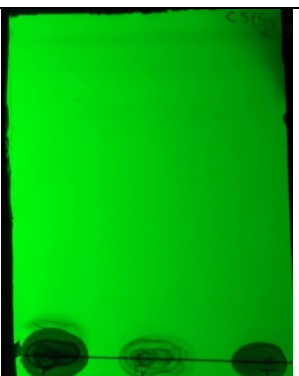
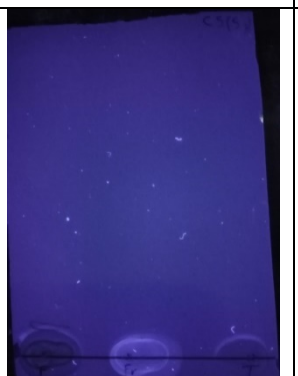
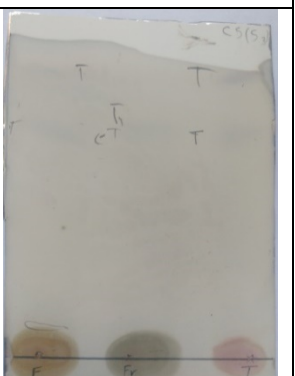
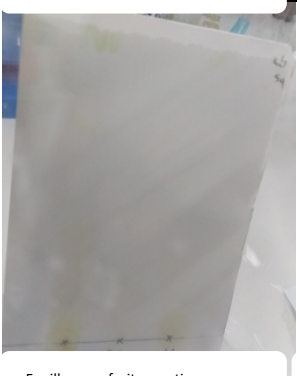
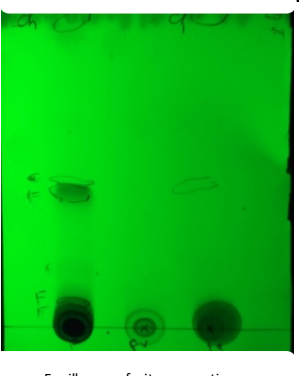


L'étude analytique des extraits méthanoliques des tiges, feuilles et fruits de *Ceratonia siliqua* L. sur plaques CCM f<sub>254</sub>, visualisé sous UV 365nm/254nm et révélé avec la Vanilline a élucidé la présence de flavonoïdes, coumarines, tanins, acides phénoliques, stérols et terpènes.



**Figure 66:** photographie des plaques en chauffant.



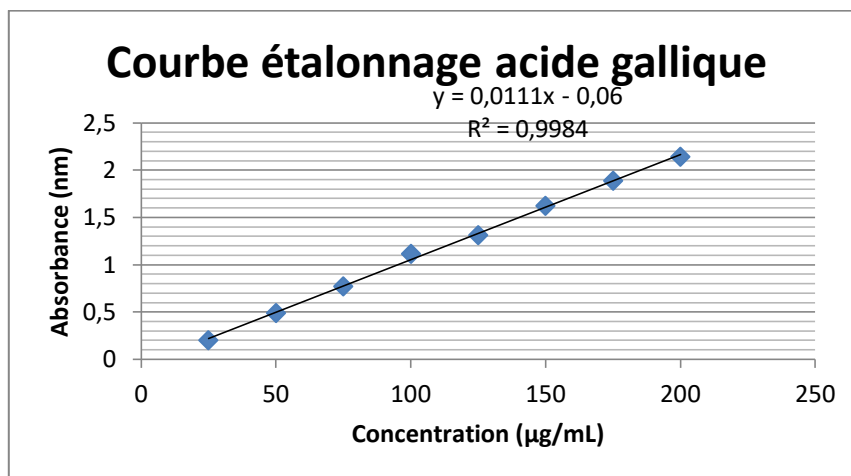
**Tableau 11** : Résultats des plaques CCM pour des extraits feuilles, fruits et tiges d'EMCS.

Solutions	Œil nue	UV 365nm	UV 254nm	Apré révélation
S1	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges
S2	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges
S3	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges
S4	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges	 Feuilles fruits tiges

#### I.2.4. Dosage des composés phénoliques totaux :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotomètre avec le réactif de folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la **Figure 68** :

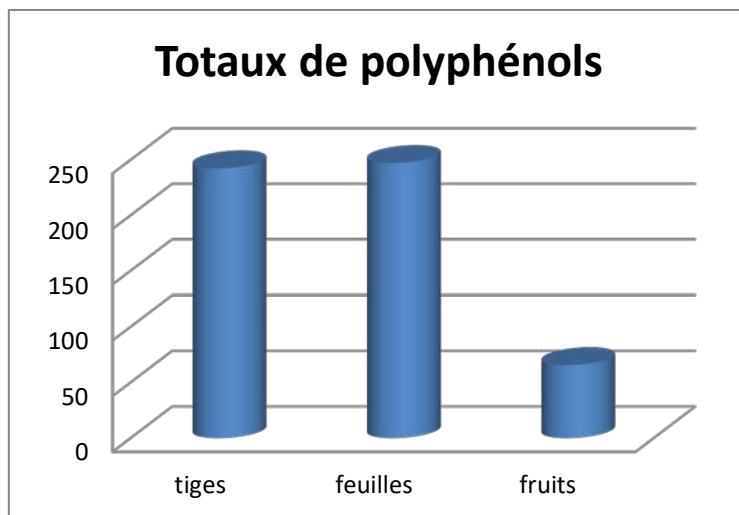


**Figure 67:** courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les quantités des polyphénols totaux correspondantes à chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique et déterminé par l'équation de type :  $y = 0.011x - 0.06$  ( $Y$  : l'absorbance,  $x$  : la concentration de la solution d'acide gallique µg/ml), sachant que  $R^2 = 0.9984$ . Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 12:

**Tableau 12:** Taux des polyphénols totaux existants dans les extraits EMCS feuilles, fruits et tiges

Organes	Tiges	Feuilles	Fruits
Taux des polyphénols	242.36± 0.122	247.09± 0.091	65.54± 0.014



**Figure 68:** Dosage des polyphénols totaux des extraits EMCS tiges, feuilles et fruits.

Nos résultats révèlent que les deux organes feuilles et tiges sont riches en composés phénoliques ( $247.09 \pm 0.091$ ,  $242.36 \pm 0.122$ ), suivis des fruits ( $65.54 \pm 0.014$ ).

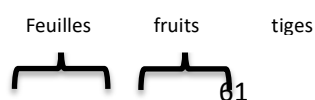
Donc on peut considérer la plante *Ceratonia siliqua* L. comme une source de polyphénols.

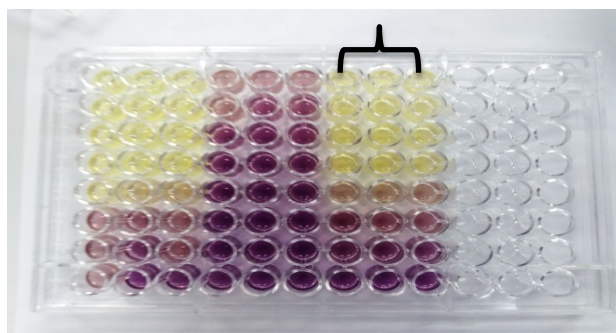
## II. Activité biologique :

### II.1. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante par le Test de piégeage du radical libre DPPH des extraits méthanoliques (tiges, feuilles et fruits) de la plante *Ceratonia siliqua* L. et de l'antioxydant standard BHA.

Le radical DPPH a été évalué 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.



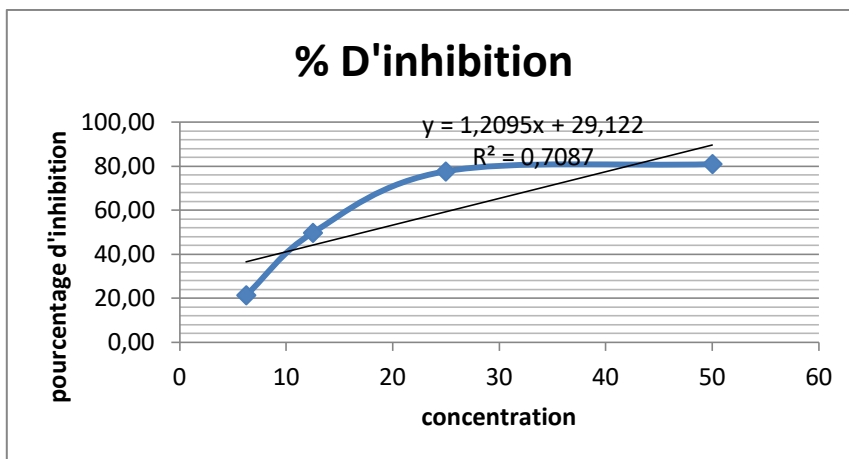


**Figure 69:** Microplaque des tests DPPH.

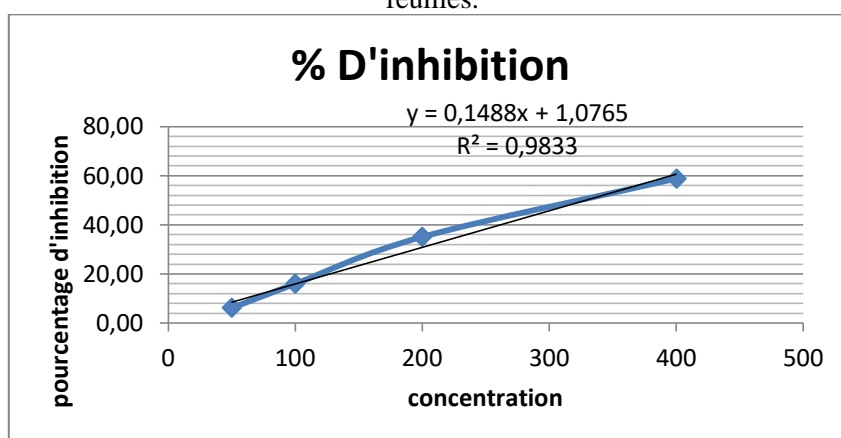
**Tableau 13 :** Activité antioxydants par le test DPPH.

Extraits	% D'inhibition							
	6.25µg/ml	12.5µg/ml	25µg/ml	50µg/ml	100µg/ml	200µg/ml	400µg/ml	IC50µg/ml
<b>Feuilles</b>	21.43±0.00	49.79±4.17	77.72±2.86	80.94±0.31	81.84±0.33	81.91±0.64	82.38±1.78	14.71±0.56
<b>Fruits</b>	-8.23±0.60	-7.14±1.23	-1.86±4.01	6.10±0.38	15.97±0.88	42.27±13.43	58.80±1.29	324.56±1.24
<b>Tiges</b>	21.61±2.66	38.47±15.78	70.77±2.97	79.85±1.21	80.58±0.29	78.91±0.41	77.21±0.66	15.56±0.13
<b>BHA</b>	69.00±0.48	83.72±0.66	88.93±0.75	90.58±0.56	NT	NT	NT	2.23±0.61

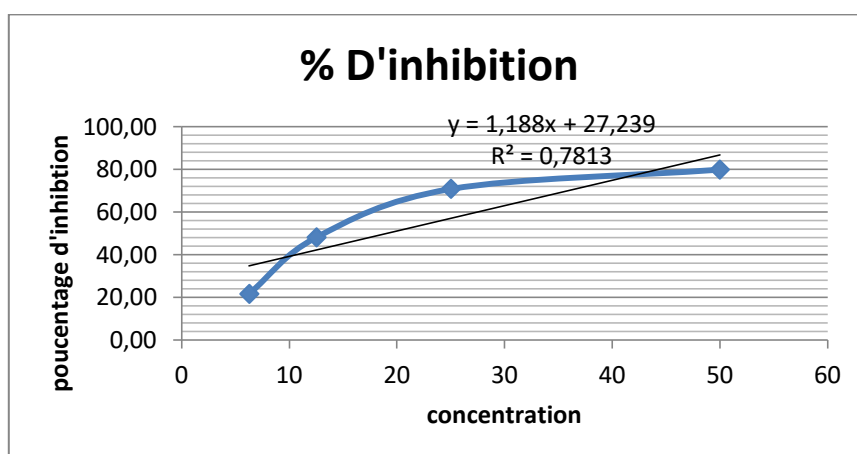
Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires. La capacité antioxydante est liée inversement à l'IC<sub>50</sub> d'un composé. L'IC<sub>50</sub> exprime la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydants d'un composé est élevée. La concentration de l'échantillon essentiel pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.



**Figure 70:** pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS feuilles.



**Figure 71:** pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS fruits.



**Figure 72:** pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations d'extrait EMCS tiges.

➤ **Discussion :**

Selon les résultats obtenus, les extraits méthanoliques des tiges et feuilles possèdent un potentiel antioxydant puissant puisque leur IC<sub>50</sub> est de l'ordre (15.56± 0.13) et (14.71±0.56)

(324.56±1.24) ce qui est proche à celui de la référence BHA (34,69 mg/ml. ) .Par contre l'extrait des fruits a une faible activité antioxydante avec CI50 tres élevé estimé à (2.23± 0.61).

Les polyphénols contenus dans les extraits de *Ceratonia siliqua* L. sont probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits d'autant plus que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique trouvé est toujours supérieure que celle de l'extrait aqueux

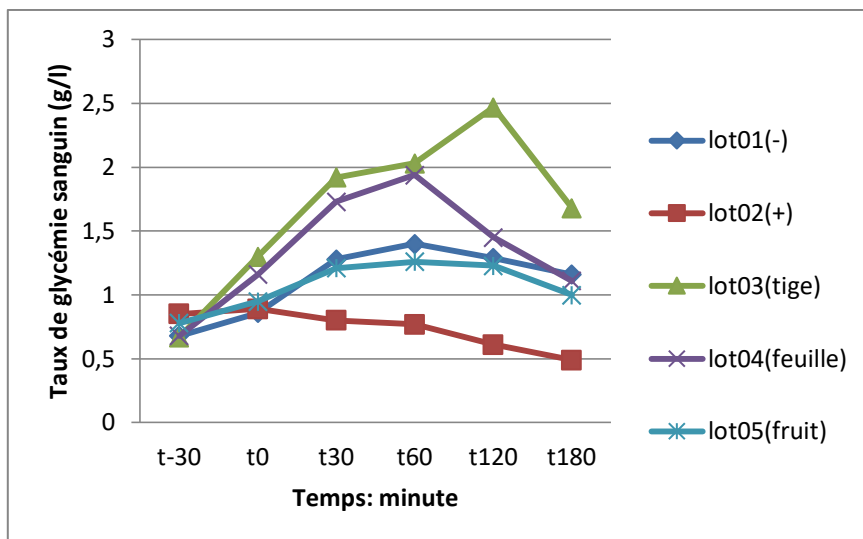
## II.2. Activité antidiabétique :

L'étude, in vivo de l'effet antidiabétique des extraits méthanoliques tiges, feuilles et fruits de la plante *Ceratonia siliqua* L. sur des rats hyperglycémiant.

Le test de tolérance au glucose provoqué par voie orale a été comparé par un anti-diabétique qui est le médicament Bionorme et l'eau physiologique (NaCl 0.9%,) à 10ml/kg comme témoin. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (14).

**Tableau 14:** Résultats du taux de glycémie.

Lot	Rats	Poids (g)	Dose (ml)	T-30min	t0	30 min	+60min	+120 min	+180 min
lot 01 eau physiologique	R01	321	1	0,66	0,83	1,39	1,6	1,4	1,23
	R02	340	1	0,7	0,9	1,18	1,21	1,19	1,09
	<b>Moyenne</b>			<b>0.68</b>	<b>0.86</b>	<b>1.28</b>	<b>1.40</b>	<b>1.29</b>	<b>1.16</b>
lot 02 contrôle (+)	R03	331		0,94	0,91	0,8	0,75	0,5	0,56
	R04	334		0,77	0,88	0,81	0,79	0,72	0,43
	<b>moyenne</b>			<b>0.85</b>	<b>0.89</b>	<b>0.80</b>	<b>0.77</b>	<b>0.61</b>	<b>0.49</b>
lot 03 C.siliqua tiges	R06	279	1,6	0,68	1,13	2,33	2,28	2,82	2,35
	R05	293	1,6	0,74	1,35	1,28	2,11	2,13	1,29
	R01	334	1,6	0,64	1,26	1,85	2,77	2,34	1,78
	R02	280	1,6	0,65	1,46	2,24	2,06	2,6	1,33
	<b>moyenne</b>			<b>0.67</b>	<b>1.3</b>	<b>1.92</b>	<b>2.03</b>	<b>2.47</b>	<b>1.68</b>
Lot 04 C.siliqua feuilles	R06	372	1,6	0,65	0,96	1,34	1,41	1,42	1,07
	R03	297	1,6	0,77	1,47	2,19	2,25	1,1	1,21
	R04	268	1,6	0,68	1,28	2,08	2,68	1,71	1,31
	R05	264	1,6	0,64	0,93	1,32	1,43	1,58	0,88
	<b>moyenne</b>			<b>0.68</b>	<b>1.16</b>	<b>1.73</b>	<b>1.94</b>	<b>1.45</b>	<b>1.11</b>
LOT 05 C.siliqua Fruits	R03	374	1,6	0,84	1,1	1,17	1,21	1,18	1,08
	R01	315	1,6	0,73	0,78	1,19	1,28	1,16	0,99
	R04	374	1,6	0,73	0,88	0,96	1,11	1,25	0,98
	R02	334	1,6	0,85	1,06	1,52	1,46	1,34	0,97
	<b>moyenne</b>			<b>0.78</b>	<b>0.95</b>	<b>1.21</b>	<b>1.26</b>	<b>1.23</b>	<b>1.00</b>



**Figure 73:** Graphique représentatif du taux de glycémie des rats traités par eau physiologique, contrôle et extraits feuilles, fruits et tiges de CS.

➤ **Discussion:**

**Lot 01** (témoin) : les rats qui ont reçus de l'eau physiologique, la glycémie de ces rats a augmenté de 0.68 g/l (t<sub>0</sub>) jusqu' à 1.29g/l (t<sub>180</sub>).

**Lot 02** (Contrôle +): Le glibenclamide (substance de référence), à la dose de 30 mg/kg, entraine également une diminution de la glycémie des rats traités.

Après l'administration du glucose, le taux de glycémie augmente, progressivement atteignant la valeur maximale de 93.5 mg/dl. A partir de t<sub>120</sub> à t<sub>180</sub>, c'est l'hypoglycémie avec des valeurs 0,72 et 0,43.

**Lot 03** : Les rats de l'extrait EMCS tiges, leur glycémie forte augmentation atteignant le pic à la valeur de 2.47 g/l à 120 min.

**Lot 04** : Les rats de l'extrait EMCS feuilles, la glycémie de ces rats est en augmentation non significative, atteignant la valeur maximale de l'ordre 1,94 à 120, à partir de ce temps ca sera une baisse de la glycémie avec la valeur de 1.23g/l à t : 180 mn.

**Lot 05** : Les rats de ce lot et qui ont reçus l'extrait EMCS fruits. On a remarqué une augmentation de la glycémie allant de 0,78 à 1,26 aux moments t<sub>0</sub> à t<sub>60</sub>. A partir de t<sub>120</sub> à t<sub>180</sub>

C'est la baisse de la glycémie, et le retour à la normale (1 g/l) est enregistré à t<sub>180</sub>.



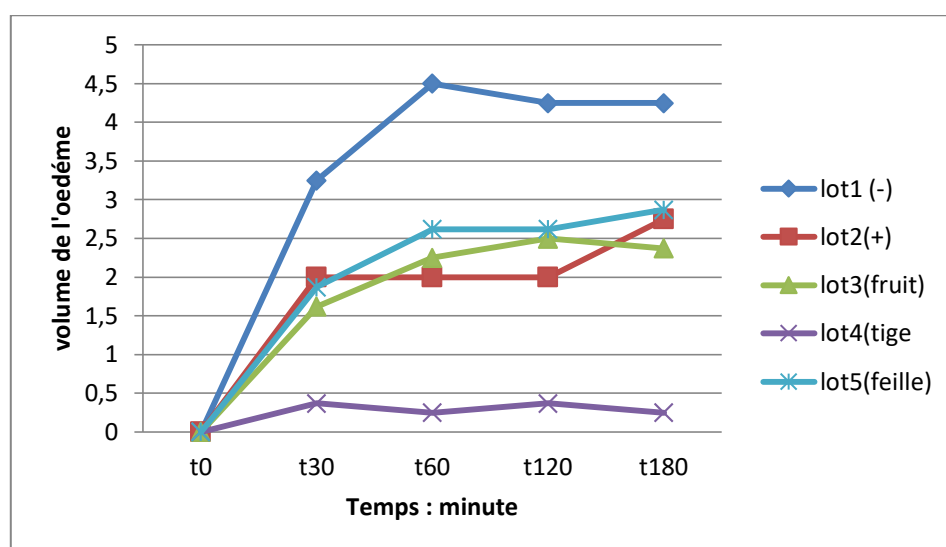
Les résultats obtenus ont montré que les extraits méthanoliques des fruits et des feuilles ont une activité antidiabétique modéré, suivi des tiges à faible activité.

### II.3. Activité anti-inflammatoire :

L' évaluation, *in vivo* de l' activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des tiges, feuilles et fruits de la plante *Ceratonia siliqua* L. sur des rats Winstar à la dose de 200 mg/kg en administration par voie intra-péritonéale, Les expériences sont réalisées sur le modèle de l'oedème de la patte des rats induit par le formol 5%. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'un médicament le diclofénac qui est un anti-inflammatoire non stéroïdiens et à ceux du contrôle négatif (eau physiologique).

**Tableau 15** : Evolution de l'œdème traité par l'eau physiologique, Diclofinac et EMCS

MI \ min	t <sub>0</sub>	t <sub>30</sub>	t <sub>60</sub>	t <sub>120</sub>	t <sub>180</sub>
Eau physiologique	0	3.25	4.5	4.25	4.25
Diclofinac	0	2	2	2	2.75
EMCS (fruits)	0	1.62	2.25	2.5	2.37
EMCS (feuilles)	0	1.87	2.62	2.62	2.87
EMCS (Tiges)	0	0.37	0.25	0.37	0.25



**Figure 74:** Courbe de l'évolution de l'œdème en présence d'un prétraitement par voie intra péritonéale, après l'injection de formol 1%.

➤ **Discussion :**

Après l'injection de l'eau physiologique, le formol entraîne une augmentation significative du volume de la patte des rats de :  $3.25 \pm 0,15$ ,  $4.5 \pm 0,21$ ,  $4.25 \pm 0,18$  et  $4.25 \pm 0,12$  à 30, 60, 120 et 180min respectivement

L'injection du Diclofénac à la dose de 10 mg/kg par voie i-p prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte du rat. Elle est de  $2 \pm 0,07$ ,  $2 \pm 0,09$ ,  $2 \pm 0,5$  et  $2.75 \pm 0,11$  de 30, 60, 120 et 180 min.

L'extrait EMCS tiges a fortement inhibé l'évolution du volume de l'œdème de la patte du rat et apparaît plus meilleur que le médicament (Diclofenac), avec des valeurs à 0.37, 0.25, 0.37, 0.25 à 30min, 60min, 120min, 180min.

Pour les extraits EMCS feuilles et fruits on remarque une légère augmentation du volume de l'œdème similaire à celle du contrôle positif (Référence). Les valeurs d'inhibitions enregistrées pour les feuilles sont 1.87, 2.62, 2.62, 2.87 et 1.62, 2.25, 2.5, 2.37 pour les fruits, pendant les temps 30, 60, 120 et 180 min.

Les résultats de l'effet des extraits EMCS tiges sur l'inflammation induite pour le formol sur les pattes des rats ont montré une forte inhibition du développement de l'œdème, plus efficace que celle de la référence, le diclofinac. Les feuilles et fruits du caroubier noble ont montré une activité anti-œdémateuse similaire à celle médicament. De ce fait on conclut que les tiges, feuilles et fruits de la plante *Ceratonia siliqua* L. Possèdent un pouvoir anti-inflammatoire puissant. Ce qui explique son importance nutritionnelle et en agro-alimentaire et pour le soulagement de diverses affections.

# **Conclusion générale**

## Conclusion :

Les plantes médicinales sont l'ensemble des plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques. Elles occupent une place importante dans la pharmacopée africaine.

De nos jours encore, elles jouent un rôle déterminant dans le traitement de certaines pathologies.

*Ceratonia siliqua* L ou familièrement connue sous le nom du Caroubier est l'une des plantes largement cultivées dans la zone méditerranéenne, Elle est largement cultivée pour son fruit, la caroube, à des fins ornementales et industrielles.

Le présent travail rapporte une étude phytochimique et biologique réalisées sur les différents extraits obtenus à partir des feuilles, de la tige et du fruit du caroubier afin de connaître leurs compositions ainsi que leurs activités thérapeutiques.

Au terme de cette étude, les résultats obtenus peuvent être synthétisés comme suit : - Selon les différentes méthodes de criblage des composés phénoliques appliqués nous avons confirmé d'une part que les extraits analysés sont dépourvus de quinones et d'anthraquinones. D'autre part différents composés ont été détectés en fortes teneurs notamment les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins à l'instar des coumarines qui ont été détectés suite à une analyse chromatographique sur couche mince.

Quant aux stérols insaturés, stéroïdes et triterpènes le criblage réalisé a affirmé leur présence en fortes quantités dans les différentes parties de la plante. -La quantification par la méthode colorimétrique adoptée de Singleton et Ross nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux : L'analyse de la teneur des composés phénoliques des trois extraits méthanoliques (tiges, feuilles, fruits) par la méthode colorimétrique adoptée de Singleton et Ross, nous révèle une composition différente d'un point de vue quantitatif. Les deux extraits méthanoliques (tiges et feuilles) sont caractérisés par les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux soit  $247.09 \pm 0.091$  mg EAG/g (feuilles),  $242.36 \pm 0.122$  mg EAG/g (tiges) et que l'extrait méthanolique des fruits a une teneur moyenne de ces composés  $65.54 \pm 0.014$  (mg EAG/g).

Le potentiel antioxydant des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une activité, les résultats révèlent que l'extrait méthanolique feuilles présente l'activité la plus élevée avec une IC<sub>50</sub> de  $14.71 \pm 0.56$  µg/ml suivi de l'extrait méthanolique des tiges avec une IC<sub>50</sub> de  $15.56 \pm 0.13$  µg/ml, alors que on remarque que l'extrait méthanolique des fruits a présenté significativement activité

antioxydants très faible par rapport à tous les extraits étudiés où IC50 égalent à  $324.56 \pm 1.24$  µg/ml.

Concernant la mesure de l'activité anti-inflammatoire in vivo, l'inhibition du développement de l'œdème de la patte induit par le formol (1%) chez les rats permet de conclure que les trois extraits méthanolique tiges, feuilles et fruits possèdent une activité anti-inflammatoire importante. Cette activité est comparable à celle de diclofénac qui est un anti-inflammatoire de référence.

L'activité antidiabétique in-vivo réalisé sur les extraits déjà mentionnés a montré que cette plante ne possède aucun sur le taux de la glycémie sanguine et donc on ne peut pas dire que la plante possède une activité antidiabétique.

Ces activités biologiques sont probablement liées à la richesse de l'espèce en métabolites secondaires notamment en flavonoïdes.

Et comme perspectives de recherches il faut prévoir de :

- Approfondir cette étude avec des tests d'activités anti oxydantes et anti-inflammatoires en utilisant d'autres concentration.
- La réalisation d'autres activités biologiques telles que les activités anticancéreuses, et antibactériennes, mais surtout d'envisager des essais cliniques in vivo (modèle animal) pour mieux cerner les interactions moléculaires de ces composés vis-à-vis de leurs cibles.
- Confirmer scientifiquement les connaissances traditionnelles.

# Résumé

## Résumé :

L'intérêt grandissant porté pour les plantes provient du fait de la présence de substances actives présentant de nombreuses actions biologiques bénéfiques. Notre étude est portée sur l'analyse phytochimique et l'étude de l'activité biologique (anti-inflammatoire, antidiabétique et antioxydant) des extraits méthanoliques de trois parties aériennes (feuilles, tiges, fruits) d'une plante médicinale appartenant à l'espèce *Ceratonia siliqua* L.

El kharoub (*Ceratonia siliqua* L.), est un arbre fruitier méditerranéen de la famille des Légumineuses (ou Fabacée). Elle possède des multiples effets thérapeutiques et une variété des activités biologiques.

Ce travail a porté dans un premier temps à le screening phytochimique, des parties aériennes, (tiges, feuilles et fruits) de la plante, les résultats obtenus montre que notre plante est riche en stérol, stéroïdes, triterpènes, anthocyane, flavonoïdes, tanins. Le dosage des composés phénoliques, par la méthode colorimétrique adopté de Singleton et Ross a révélé que les extraits méthanoliques des parties aériennes, (tiges, feuilles et fruits) de la plante *Ceratonia siliqua* L. ont une forte teneur en polyphénol totaux de l'ordre de  $242.36 \pm 0.122$  (Tiges),  $247.09 \pm 0.091$  (Feuilles),  $65.54 \pm 0.014$  (Fruits) en (mg EAG/gMS).

Les activités antioxydant et anti-inflammatoire d'extraits méthanoliques des feuilles, tiges et des fruits de cette espèce ont été évaluées. Les trois extraits ont montré une activité antioxydant déterminée avec le test DPPH in vitro. De plus, L'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des feuilles, tiges et fruits de *Ceratonia siliqua* L. été étudié in vivo sur des rats mâles de souche Wistar en mesurant l'évolution de l'œdème plantaire induit par le formol (1%) en présence d'un traitement diclofenac (lot positive +) et l'eau physiologique (lot négative -). Les résultats de cette étude ont montré que les deux extraits méthanolique des organes aériennes (feuilles et fruits) d'espèce *Ceratonia siliqua* L. ont moyennement inhibé le développement de l'œdème, et que l'extrait de tiges de la même plante possèdent une meilleure activité réductrice du volume de l'œdème par rapport à celle du référence, le diclofenac.

Nous avons évalué aussi l'effet anti diabétique in vivo à partir du test de tolérance au glucose provoqué par voie orale réalisé sur les rats de souche wistar albinos, il semble que l'extrait métabolique des deux organes (feuilles et tiges) de plante *Ceratonia siliqua* L. n'a aucun effet significatif sur la glycémie. Et pour l'extrait de fruit de la même plante montrent une légère diminution de la glycémie des rats. D'après ces résultats on peut dire que notre plante étudié n'a aucun pouvoir hyperglycémie.

**Mot clés :** *Ceratonia siliqua* L., Fabacée, activité biologique, composés phénoliques, flavonoïdes.



**Abstract**

The growing interest in plants stems from the presence of active substances with numerous beneficial biological actions. our study is focused on the phytochemical analysis and the study of the biological activity (anti-inflammatory, anti-diabetic and antioxidant) of the methanolic extracts of three aerial parts (leaf, stem, fruit) of a medicinal plant belonging to the species *Ceratonia siliqua* L.

El kharoub (*Ceratonia siliqua* L.), is a Mediterranean fruit tree of the Leguminous (or Fabaceae) family. it has multiple therapeutic effects and a variety of biological activities. This work initially focused on the phytochemical screening of the aerial parts (stems, leaves and fruits) of the plant, the results obtained show that our plant is rich in sterol, steroids, triterpenes, anthocyanins, flavonoids, tannins.

The determination of the phenolic compounds, by the colorimetric method adopted by Singleton and Ross, revealed that the methanolic extracts of the aerial parts (stems, leaves and fruits) of the *Ceratonia siliqua* L. plant have a high total polyphenol content of the order of  $242.36 \pm 0.122$  (Stems),  $247.09 \pm 0.091$  (Leaves),  $65.54 \pm 0.014$  (Fruits) in (mg EAG / gMS).

The antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic extracts (leaves, stems and fruits) of this species were evaluated. All three extracts showed antioxidant activity determined with the DPPH in vitro test. In addition, the anti-inflammatory effect of methanolic extracts from the leaves, stems and fruits of *Ceratonia siliqua* L. was studied in vivo on male rats of the Wistar strain by measuring the evolution of plantar edema induced by formalin (1%). in the presence of a diclofenac treatment (positive + batch) and physiological water (negative - batch). The results of this study showed that the two methanolic extracts (leaves and fruits) of the species *Ceratonia siliqua* L. moderately inhibited the development of edema, and that the extract of the stems of the same plant has a better reducing activity. edema volume compared to that of the reference, diclofenac.

we also evaluated the anti-diabetic effect in vivo from the oral glucose tolerance test carried out on rats of the albino wistar strain, it seems that the methanolic extract of the two organs (leaves and stem) of the *Ceratonia siliqua* L. plant has no significant effect on blood sugar. And for the fruits extract of the same plant show a slight decrease in blood sugar in rats. From these results it can be said that the plant we studied has no antihyperglycemic effect.

**Keywords :** *ceratonia siliqua* L., Fabaceae, biological actions, phenolic compounds, flavonoids.

ملخص:

نوع الاهتمام المتزايد بالنباتات من وجود مواد فعالة لها العديد من الإجراءات البيولوجية المفيدة. تركز دراستنا على التحليل الكيميائي النباتي ودراسة النشاط البيولوجي (مضاد للالتهابات، مضاد السكري و مضاد الأكسدة) للمستخلصات الميثانولية لثلاثة أجزاء هوائية (الأوراق ، الساق ، الفاكهة) لنبات طبي ينتمي إلى الأنواع *Ceratonia siliqua* L. الخروب (*Ceratonia siliqua* L.) ، هي شجرة فاكهة متوسطة من عائلة البقوليات ( Fabacée) له تأثيرات علاجية متعددة ومجموعة متنوعة من الأنشطة البيولوجية. ركز هذا العمل في البداية على الفحص الكيميائي النباتي للأجزاء الهوائية (السيقان والأوراق والفاكهة) للنبات ، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن نباتنا غني بالستيرول ، والمنشطات ، والترتربين ، والأنثوسيانين ، والفلافونويد ، والعفص . أظهر تقدير المركبات الفينولية ، بطريقة القياس اللوني التي اعتمدها سينجمتون وروس ، أن المستخلصات الميثانولية للأجزاء الهوائية (السيقان والأوراق والفاكهة) لنبات *Ceratonia siliqua* L. تحتوي على نسبة عالية من البوليفينول الكلي بترتيب من  $242.36 \pm 0.122$  (جذع) ،  $247.09 \pm 0.091$  (أوراق) ،  $65.54 \pm 0.014$  (فاكهة) في (mg .EAG/gMS)

تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات من المستخلصات الميثانولية (الأوراق والسيقان والفاكهة) لهذه الأنواع. أظهرت جميع المستخلصات الثلاثة نشاطاً مضاداً للأكسدة تم تحديده بواسطة اختبار DPPH في المختبر. بالإضافة إلى ذلك تمت دراسة التأثير المضاد للالتهابات للمستخلصات الميثانولية من أوراق وساق وثمار نبات *Ceratonia siliqua* في الجسم الحي على ذكور الفئران من سلالة ويستار عن طريق قياس تطور الوذمة الأخصوية التي يسببها الفورمالين (1٪) باستخدام ديكلوفيناك كمرجع ايجابي و الماء الفيسيولوجي كمرجع سلبي . أظهرت نتائج هذه الدراسة أن المستخلصين الميثانوليين (الأوراق والثمار) لنوع *Ceratonia siliqua* L. أعاقا بشكل معتدل تطور الوذمة ، وأن مستخلص السيقان من نفس النبات اكثر فعالية مقارنة بالديكلوفيناك .

قمنا أيضاً بتقييم التأثير المضاد لمرض السكري في الجسم الحي من اختبار تحمل الجلوكوز المحرض عن طريق الفم على الفئران من سلالة ويستار البيضاء ، ويبدو أن المستخلص الأيضي للعضوين (الأوراق والساق) لنبات *Ceratonia siliqua* L. ليس له تأثير كبير على سكر الدم. وبالنسبة لمستخلص الفاكهة من نفس النبات يظهر انخفاض طفيف في نسبة السكر في الدم لدى الفئران. من هذه النتائج يمكن القول أن النبات الذي درسناه ليس لديه قوة مضادة لارتفاع السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية: النشاط البيولوجي, المركبات الفينولية, الفلافونويد, *Ceratonia siliqua* L, Fabaceae.

# Référence

1. Nacoulma, O.G. , (1996). Thèse doctorat d'état. Université de Ouagadougou.,Burkina-faso .
2. Bourgaud, F. ; Gravot, A . ; Milesi, S. et Gontier, E., (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science* 161. P:839-851.
3. Kar A. (2007) *Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie* ;Ed 2 : New age international publishers. P: 1-30.
4. Wills, R.B.H., Bone,K., Morgan, M. (2000) Herbal products : Active constituents, modes of action and quality of control. *Nutrition Research Reviews*, 13 : 47-77.
5. Karmakar, I., Kanti, P. (2011) Scavenging activity of curcuma caesia rhizome against reactive oxygen and nitrogen species. *Orient Pharmacology Experimental medicine*, 11:221-228.
6. Wojciechowski, M. F., Lavin, M., and Sanderson, M. J. (2004) A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family, *American Journal of Botany* 91, 1846-1862.
7. Boutaghane, N., (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algérienne *Genista ulicina* spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (sch.Bip.) coss & Kralik ex Batt (Asteraceae).
8. Bonnier., Douin, R. (1990) La grande flore en couleurs, Tome 1 . BX 9020668
9. Baumel, A., Médail, F., Viruel, J., La Malfa, S., and Sanguin, H. (2017) Le caroubier, un arbre ancien et précieux sur le pourtour méditerranéen.
10. Baumel, A., Mirleau, P., Viruel, J., Bou Dagher Kharrat, M., La Malfa, S., Ouahmane, L., Diadema, K., Moakhar, M., Sanguin, H., and Médail, F. (2018) Assessment of plant species diversity associated with the carob tree (*Ceratonia siliqua*, Fabaceae) at the Mediterranean scale, *Plant Ecology and Evolution* 151, 185-193.
11. Biner, B.; Gubbuk, H. ; Karhan, M. ; Aksu, M.; & Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*, 100(4), 1453-1455.
12. Gharnit ,N .(2003) Caractérisation et essai de régénération in vivo du caoubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la provincede chefchaouen (Nord-ouest du Maroc). Thèse de Doctorat en science. Université Abdelmalek Essaadi. Tanger.
13. Hillcoat, D., Lewis, G., and Verdcourt, B. (1980) A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic, *Kew Bulletin*, 261-271.

14. Batlle, I. (1997) Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.), Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1–79
15. Zengin, E., SAĞLIKER, H. A., and Darici, C. (2008) Carbon mineralization of *Ceratonia siliqua* L. soils under different temperature and humidity conditions, *Turkish Journal of Botany* 32, 123-127.
16. Batlle, I. (1997) *Carob tree: Ceratonia siliqua* L.-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Vol. 17, Bioversity International. pp.92
17. Boudy,P. (1950) Economie forestière Nord Africain, Tome II : Monographie et traitement des essences forestières. Ed. Larose. Paris, pp.443-445.
18. Gharnit ,N. (2003). Caractérisation et essai de régénération in vivo du caoubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la provincede chefchaouen (Nord-ouest du Maroc). Thèse de Doctorat en science. Université Abdelmalek Essaadi. Tanger.
19. Rejeb, MN. (1995). le caroubier en Tunisie : situation et perspectives d'amélioration. In Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF.John ibbey Eurotext. Paris, pp. 79-85
20. Rejeb, M., Laffray, D., and Louguet, P. (1991). Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie, Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France. P, 417-426.
21. Aafi, A. (1996). Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Centre Nationale de la Recherche Forestière. Rabat (Maroc). 10p.
22. Batlle, I. (1997). Carob tree: *Ceratonia siliqua* L.-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Vol. 17, Bioversity International. pp.97
23. Arbane, O., ( 2015). LE Caroubier - *Ceratonia siliqua* L.: Arbre aux multiples vertus, sous-exploité, EL watan.
24. Lavallee, P., (1962). Le Caroubier, son utilisation dans l'alimentation du bétail en Algérie et en Tunisie, Alger, 47p.
25. Avallone, R.; Plessi, M.; Baraldi, M., and Monzani, A., (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua* L.): protein, fat, carbohydrates, and tannins, *Journal of food composition and analysis* 10, 166-172.
26. Owen, R., Haubner, R., Hull, W., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., and Haber, B., (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, *Food and Chemical Toxicology* 41, 1727-1738.

27. Makris, D. P., and Kefalas, P., (2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants, *Food Technology and Biotechnology* 42, 105-108.
28. Ait Chitt M.; Lazrak A. (2007). Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°1533, IAV Rabat, pp. 1-4.
29. Bruneton, J. (1999). Pharmiognosie, phytochimie, plante médicinales, 2eme édition, paris: Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisire, p 1120.
30. Benhanza, L., ( 2008). Ffets biologique de la petite centauree erythraea centaurium(1.)Pers, Universite Mentouri Constantine.
31. Article originale (2008). Activité anti-hyperglycémiant de la fraction f2 de l'extrait totale acetonique des feuilles de *Vernonia colorata* (composeae), Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines, 15: 6-10.
32. Laberche, J. C.,. *Liver BIOLOGIQUE VEGETALE* 3<sup>ème</sup>, Edition Professeur des Universités à l'IUT d'Amiens, p 45-54.
33. Aharoni, A., and Galili, G. (2011) Metabolic engineering of the plant primary–secondary metabolism interface, *Current opinion in biotechnology* 22, 239-244.
34. Patel, S. (2015). An Underutilized Tropical Plant *Psidium cattleianum* (Strawberry Guava). Springer International Publishing. Pp 7-13.
35. Yezza, S., Bouchama S.,( 2014). Index des métabolites secondaires végétaux, Université Kasdi Merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques, p47.
36. Ignat, I. ; Volf, I., and Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables, *Food chemistry* 126, 1821-1835.
37. Crozier, A., Clifford, M. N., and Ashihara, H. (2008). *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*, John Wiley & Sons.
38. Patra, K., Bose, S., Sarkar, S., Rakshit, J., Jana, S., Mukherjee, A., Roy, A., Mandal, D. P., and Bhattacharjee, S. (2012). Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid, *Chemico-biological interactions* 195, 231-239.
39. Noda, S.; Miyazaki, T.; Miyoshi, T.; Miyake, M.; Okai, N.; Tanaka, T.; Ogino, C.; and Kondo, A. (2011). Cinnamic acid production using *Streptomyces lividans* expressing phenylalanine ammonia lyase, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 38, 643-648.



40. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, (2ème éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 110p.
41. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, (3ème éd.). Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, 1120p.
42. Harborne, J. B., and Williams, C. A. (2001) Anthocyanins and other flavonoids, *Natural product reports* 18, 310-333.
43. Tanaka, Y., Sasaki, N., and Ohmiya, A. (2008) Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids, *The Plant Journal* 54, 733-749.
44. Brillouet, J.-M.; Romieu, C.; Schoefs, B.; Solymosi, K.; Cheynier, V.; Fulcrand, H.; Verdeil, J.L., and Conéjéro, G. (2013) .The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta, *Annals of Botany* 112, 1003-1014.
45. Herderich, M.J.; Smith P.A., AGJWR. (2005). Volume 11, Number 2, 205-214.
46. Mc Mahon L.R., McAllister T.A., Berg B.P., Majak W., Acharya S.N., Popp J.D., Coulman B.E., Wang Y. & Cheng K.J., (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Can J. Plant Sci.*, 80 (3) , 469-485.
47. Goodwin, T.W., (1971). *Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry*. Academic Press, Londres
48. R. Merghem., (2009) , << élément de biochimie végétale >> bahaeddine édition, Algérie.
49. Tessier, F., & Marconnet, P. (1995).Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*, 10(1), 1-13.
50. Fatmah, A., Siti, B., Zariyantey, A., Nasar, A., & Jamaludin, M., (2012). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complications.
51. J. Haleng , J. Pincemail , J.O. Defraigne , c. cHarlier , J.P. cHaPelle , << Le stress oxydant >> , *Rev Med Liege* (2007) ; 62 : 10 : 628-638.
52. Halliwell B. & Gutteridge J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th edition. Oxford University Press, USA. 704p. In.
53. A. Favier, << Stress oxydant et pathologies humaines >>, (2008), Département de biologie intégrée du Chu de Grenoble, F 38700 La Tronche, et SCIB-LAN Centre nucléaire de Grenoble, F 38054 Grenoble.

54. Thomas DESMIER , << LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS >> , THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE , UNIVERSITÉ DE LIMOGES ,(2016) .
55. Leopoldini, M., N. Russo. & M. Toscano (2011). "The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." Food Chemistry 125(2): 288-306.
56. Ribereau, G.P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.
57. Epa, G Dasilva, M pazos,& E García-Egido... - The Journal of., (2015) - Elsevier ... Volume 26, Issue 11, November (2015), Pages 1385-1392. The Journal of Nutritional Biochemistry.
58. Pokorny J. et ai., (2001): Antioxydants in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 1 85573-463X

➤ **Site internet :**

59. <https://public.larhumatologie.fr/linflammation?fbclid=IwAR31wj3afAQnzaiTKC4DIFxYF8-rnwc9g-OdyPUtdoikRrfTRZd r8bSWZJ4>
60. [https://infosdiabete.com/diabete/diabetedetype1/?fbclid=IwAR2kFekjDBIG\\_dit6OIH1eRiQRhAyLOtyzeJt6nznafO0Par198WpxFBFQ](https://infosdiabete.com/diabete/diabetedetype1/?fbclid=IwAR2kFekjDBIG_dit6OIH1eRiQRhAyLOtyzeJt6nznafO0Par198WpxFBFQ)
61. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2499922-diabete-type-1-2-definition-causes-symptomes-traitement-regime-complic>

Année universitaire : 2020-2021	Présenté par : <b>BELKAMLA Chaima</b> <b>BOUDARBALA Racha</b> <b>BENLATRECHE Khadidja</b>
<b>Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de l'espèce <i>Ceratonia siliqua L.</i> (Elkharoub).</b>	
<b>Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master</b> <b>Domaine : science de la nature et la vie                      Filière : sciences Biologiques</b> <b>Spécialité : Biologie et physiologie végétal</b>	
<p><b>Résumé :</b></p> <p>L'intérêt grandissant porté pour les plantes provient du fait de la présence de substances actives présentant de nombreuses actions biologiques bénéfiques. Notre étude est portée sur l'analyse phytochimique et l'étude de l'activité biologique (anti-inflammatoire, antidiabétique et antioxydant) des extraits méthanoliques de trois parties aériennes (feuilles, tiges, fruits) d'une plante médicinale appartenant à l'espèce <i>Ceratonia siliqua L.</i></p> <p>El kharoub (<i>Ceratonia siliqua L.</i>), est un arbre fruitier méditerranéen de la famille des Légumineuses (ou Fabacée). Elle possède des multiples effets thérapeutiques et une variété des activités biologiques.</p> <p>Ce travail a porté dans un premier temps à le screening phytochimique, des parties aériennes, (tiges, feuilles et fruits) de la plante, les résultats obtenus montre que notre plante est riche en stérol, stéroïdes, triterpenes, anthocyanes, flavonoïdes, tanins. Le dosage des composées phénoliques, par la méthode colorimétrique adoptée par Singleton et Ross a révélé que les extraits méthanoliques des parties aériennes, (tiges, feuilles et fruits) de la plante <i>Ceratonia siliqua L.</i> ont une forte teneur en polyphénol totaux de l'ordre de 242.36±0.122 (Tiges), 247.09±0.091 (Feuilles), 65.54±0.014 (Fruits) en (mg EAG/gMS).</p> <p>Les activités antioxydante et anti-inflammatoire d'extraits méthanoliques des feuilles, tiges et des fruits de cette espèce ont été évaluées. Les trois extraits ont montré une activité antioxydante déterminée avec le test DPPH in vitro. De plus, L'effet anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des feuilles, tiges et fruits de <i>Ceratonia siliqua L.</i> a été étudié in vivo sur des rats mâles de souche Wistar en mesurant l'évolution de l'œdème plantaire induit par le formol (1%) en présence d'un traitement diclofénac (lot positif +) et l'eau physiologique (lot négatif -). Les résultats de cette étude ont montré que les deux extraits méthanoliques des organes aériennes (feuilles et fruits) de l'espèce <i>Ceratonia siliqua L.</i> ont moyennement inhibé le développement de l'œdème, et que l'extrait de tiges de la même plante possède une meilleure activité réductrice du volume de l'œdème par rapport à celle de référence, le diclofénac.</p> <p>Nous avons évalué aussi l'effet anti diabétique in vivo à partir du test de tolérance au glucose provoqué par voie orale réalisé sur les rats de souche wistar albinos, il semble que l'extrait métabolique des deux organes (feuilles et tiges) de la plante <i>Ceratonia siliqua L.</i> n'a aucun effet significatif sur la glycémie. Et pour l'extrait de fruit de la même plante montrent une légère diminution de la glycémie des rats. D'après ces résultats on peut dire que notre plante étudiée n'a aucun pouvoir hyperglycémique.</p>	
<b>Mot clés:</b> <i>Ceratonia siliqua L.</i> , Fabacée, activité biologique, composées phénoliques, flavonoïdes.	
<b>Laboratoire de recherche : BIOCHIMIE APPLIQUEE</b>	
<p><b>Jury d'évaluation :</b></p> <p>– <b>Président de jury :</b> GHAROUCHA Houcine PR UFMC1 Constantine</p> <p>– <b>Encadreur :</b> CHIBANI Salih MCA UFMC1 Constantine</p> <p>– <b>Examinatrice :</b> BAKA Mebark PR UFMC1 Constantine</p>	
<b>Date de soutenance : 18/07/2021</b>	

