



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de Vie
قسم بيولوجيا خلوية وجزيئية
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en

Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

Etude biologique de *Ceratonia siliqua L.* dans la région de El Oued

Présentés Par:

Kebsa Safa et Alia Aya et Hakkoum Sara et Fitouri Teber

Devant le jury composé de :

Président :	Dr. Alia Zeid	Université d'El Oued
Examineur :	Dr. Bouras Biya	Université d'El Oued.
Encadreur :	Dr. Tlili Mohammed Laid	Université d'El Oued.
Co-encadreur :	Mr. Aouadi Abdelatif	Université d'El Oued.
Représentant de l'incubateur:	Mr. Zaghdhi Zoubir	Université d'El Oued.

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu tout-puissant qui nous a donné la force et la patience nécessaires pour mener à bien cette étude.

Ensuite, nous tenons à remercier notre encadreur, le professeur **Dr Tlili Mohamed Laid** , qui n'a cessé de nous prodiguer de bons conseils et de nous guider, et qui n'a pas lésiné sur son temps.

Nous tenons également à remercier les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'étudier notre travail et en l'enrichissant de leurs suggestions.

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à la

Co-encadreur, Aouadi Abdelatif

Enfin, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Ainsi que tous les enseignants et informateurs qui ont contribué à notre formation, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos remerciements



الإهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

(وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنين) التوبة/105

صدق الله العظيم

انتهت الرحلة.. لم تكن سهلة وليس من المقرض أن تكون كذلك.. ومهما طالت فستمضي بجلوها ومرها وها أنا الآن وبعون الله تعالى أتم هذا العمل المتواضع.

وفي اللحظة الأكثر فخرا أهدي عملي هذا إلى من أحمل اسمه بكل افتخار (كبسة عبد الحميد) ... طاب بك العمر يا سيد الرجال وطبت لي عمرا يا أبي الغالي ... أرجو من الله أن يمد عمرك لترى ثمرا قد حان قطافها بعد طول انتظار، وستبقى كلماتك نجوم اهتدي بها اليوم وغدا وإلى الأبد ...

إلى قدوتي الأولى ومعنى الحب والتفاني ... إلى بسمه الحياة ومن كان دعاؤها سر نجاحي.. إلى من أرشدتني ورافقتني في كل مشاوير حياتي ولا تزال تفعل إلى الان.. اللهم احفظها ارزقها العفو والعافية.. أُمي الحبيبة (نعمة خيشة)

إلى ضلعي الثابت الذي لا يميل ... إلى من رزقت بهم سندا وملأني الأول والأخير

اخوتي الحبيبتين إيمان ومروة

إلى صديقات المواقف والسنين شريكات الرب والطموح البعيد... أميمة ومروة واية وسلة وجذيمة وصديقات الطفولة

إلى رفاق الخطوة الأولى وان شاء ليست الأخير وبالأخص (فاطمة عليّة) إلى من كانوا سندا

في غراتنا قبل اتصلاطنا ...

إلى كل الأهل والعائلة الكريمة كل باسمه ومقامه ...

صفاء كبسة



Dédicace

Au nom d'Allah, le Miséricordieux, et Louange à Allah, le Seigneur de l'univers,

C'est le fruit de mes efforts que je récolte aujourd'hui, c'est un cadeau que je dédie à :

*Mon cher père Alia Abdelmadjid et ma chère mère Alia Keltoum qui ont sacrifié leur vie
pour ma réussite, qui m'ont encouragé à être ce que je suis.*

*Je suis, avec tant d'amour, chaque ligne de cette mémoire, chaque mot et chaque lettre vous
expriment la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.*

À moi-même, qui ai lutté et supporté jusqu'à atteindre ce stade.

À mes frères : Housseem Eddine, Adnane, Koussai et Yazid.

Et mes sœurs : Rahma, Manel, Hana et Salma.

Membres de ma famille paternelle et maternelle.

Mes amis et collègues de travail : Sara, Safa, Teber.

Merci aux enseignants et aux professeurs à chaque étape de mes études.

*À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail, en particulier le Dr. Tlili, Dr.
Alia Fatma, Dr. Bouras et M. Aouadi et aux responsables de laboratoires.*

Alia Aya.



الإهداء

إلى الأميرة أمي وقد ورثت في جوفها كيف أكون إنسانا قبل أن أصرخ صرختي الأولى في هذا العالم ...

وإلى الطيب والدي وقد ربيت في كنفه على أن أكون صادقاً قبل أن أخطو خطوتي الأولى في طريق الحياة ...

إلى إخوتي وأخواني سعادتي وسندي في الحياة ودعمي دائم الذي لا ينتهي

إلى رفاق الخطوة الأولى والخطوة ما قبل الأخيرة، إلى من كانوا خلال السنين العجاف مطرا، أنا ممتنة...

إلى أساتذتي من بداية مسيرتي دراسية إلى لحظة أنا ممتنة على كل شيء

إلى نفسي ونفوس عزيزة، إلى الطفل الذي لا يكبر، لا يزال ماكثا -هو وأحلامه- في أعماق كل منا...

على أمل أن تكبر نحن بما يكفي لتحقيق هذه الأحلام

الحمد لله لأنني حققت أحدها

سارة حكوم



الإهداء

إلى من أفضّلها على نفسي، ولم لا فلقد ضحّت من أجلي ولم تدّخر مجّهدًا في سبيل إسعادي على التّوام (أُمّي الحبيبة).

نسير في دروب الحياة، ويبقى من يُسيطر على أذهاننا في كل مسلك نسلكه.

صاحب الوجه الطيب، والأفعال الحسنة. فلم يخل عليّ طيلة حياته (والدي العزيز).

إلى أصدقائي الذين أشهد لهم بأنهم نعم الرّفقاء في جميع الأمور، إلى اخوتي من كان لهم بالغ في كثير من العثرات والصعاب، وجميع من وقفوا بجواري وساعدوني بكل ما يملكون.

إلى جميع أساتذتي الكرام؛ ممن لم يتوانوا في مد يد العون.

الحمد لله تخرجت، والشكر في البداية وعند الختام، نحن لها وإن أبّت رُغمًا عنها أتينا بها، وها قد تحقق ما كان بالأمس حلمًا أقدم لكم هذا البحث، وأتمنّى أن يجوز على رضاكم. أهدي نفسي أحر التهاني بمناسبة التخرج، الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله

تبر فتوري

RESUME

L'objectif de cette étude était de valoriser l'arbre de caroube "*C. siliqua*" dans la région d'Oued Souf (Algérie), où la culture de la caroube dans le désert algérien est récente. Nous avons évalué les propriétés phytochimiques et biologiques des parties de la plante (feuilles, écorce, fruits et gomme des graines). Les polyphénols ont été extraits par macération dans de l'éthanol à 80%, tandis que la gomme des graines (LBG) a été extraite de manière brute. Nous avons également développé des matériaux nanométriques écologiques et biologiques en utilisant des points quantiques de carbone (CQDs) à partir de la poudre de feuilles de caroube par deux méthodes: simple pyrolyse et la méthode hydrothermale, et nous avons obtenu deux échantillons (CDM1 et CDM2) dont les propriétés ont été analysées par les techniques DRX et FTIR. Nous avons étudié les échantillons choisis en termes de contenu quantitatif des composés phénoliques, évalué leur activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro*. Les contenus les plus élevés de polyphénols ont été enregistrés dans l'écorce et les feuilles ($19,51 \pm 0,64$ et $19,02 \pm 0,88$ mg EAG/g respectivement), tandis que le contenu le plus élevé en flavonoïdes a été trouvé dans les feuilles ($5,05 \pm 0,35$ mg QE/g). Les extraits d'écorce et de feuilles contenaient également la plus grande valeur en tanins condensés ($0,053 \pm 0,008$ et $0,034 \pm 0,003$ mg EC/g respectivement). L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les méthodes FRAP et DPPH, et les résultats ont révélé une réponse forte, avec une bonne corrélation entre l'activité et les contenus en polyphénols et flavonoïdes.

Les extraits étudiés ont montré une activité antibactérienne contre quatre types de bactéries. Les feuilles ont enregistré une activité inhibitrice plus élevée contre les bactéries à Gram négatif, tandis que les fruits ont montré une efficacité supérieure contre les bactéries à Gram positif. Les tests de toxicité ont montré que les extraits (feuilles, fruits, CDM1, CDM2) ne sont pas toxiques même à une concentration de 4500 mg/kg. Dans le test d'œdème, les feuilles ont montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé, tandis que l'extrait CDM1 a obtenu la plus haute protection (93,95%) dans le test de protection de l'albumine de blanc d'œuf contre la dénaturation thermique. Nous avons également étudié l'effet de la gomme des graines comme agent de conservation à des proportions de 20% et 10% sur le fromage frais, et les résultats ont montré des effets positifs sur coliformes fécaux et totaux, FTAM, *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*.

Mots clés: *C. siliqua*, gomme de caroube, points quantiques de carbone (CQDs), composés phénoliques, antioxydants, antibactérien et anti-inflammatoire.

Abstract

This study aimed to valorize the carob tree "*C. siliqua*" in the Oued Souf region (Algeria), where carob cultivation in the Algerian desert is recent. We evaluated the phytochemical and biological properties of the plant parts (leaves, bark, fruit, and seed gum). Polyphenols were extracted by maceration in 80% ethanol, while seed gum (LBG) was extracted in crude form. We also developed environmentally and biologically nanometric materials using carbon quantum dots (CQDs) from carob leaf powder through two methods: simple pyrolysis and the hydrothermal method, obtaining two samples (CDM1 and CDM2), whose properties were analyzed using XRD and FTIR techniques. The selected samples were studied for their quantitative phenolic compound content, and their antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities were evaluated both *in vivo* and *in vitro*. The highest polyphenol contents were recorded in the bark and leaves ($19,51 \pm 0,64$ and $19,02 \pm 0,88$ mg EAG/g respectively), while the highest flavonoid content was found in the leaves ($5,05 \pm 0,35$ mg QE/g). Bark and leaf extracts contained the highest value of condensed tannins ($0,053 \pm 0,008$ and $0,034 \pm 0,003$ mg EC/g respectively). Antioxidant activity was assessed using the FRAP and DPPH methods, and the results revealed a strong response, with a good correlation between activity and polyphenol and flavonoid contents.

The studied extracts demonstrated antibacterial activity against four types of bacteria. The leaves demonstrated higher inhibitory activity against Gram-negative bacteria, while the fruits showed greater effectiveness against Gram-positive bacteria. Toxicity tests showed that the extracts (leaves, fruit, CDM1, CDM2) were non-toxic even at a concentration of 4500 mg/kg. In the edema test, leaves showed the highest inhibition rate, while the CDM1 extract achieved the highest protection rate (93,95%) in the egg albumin denaturation protection test. We also studied the effect of seed gum as a preservative at 20% and 10% ratios on fresh cheese, and the results showed positive effects on coliformes fécaux et totaux, FTAM, *Salmonella* et *Staphylococcus aureus*.

Keywords: *C. siliqua*, Carob gum, carbon quantum dots (CQDs), phenolic compounds, antioxidants, antibacterial, anti-inflammatory

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تثمين شجرة الخروب *C. siliqua* " في منطقة وادي سوف (الجزائر)، حيث تُعد زراعة الخروب في صحراء الجزائر حديثة. قمنا بتقييم الخصائص الفيتوكيميائية والبيولوجية لأجزاء النبات (الأوراق، اللحاء، الفاكهة، وسمغ البذور). تم استخلاص البوليفينولات بالنقع في الإيثانول 80%، بينما تم استخراج سمغ البذور (LBG) بشكل خام. كما عملنا على تطوير مواد متناهية الصغر بيئيًا وبيولوجيًا باستخدام النقاط الكمومية الكربونية (CQDs) من مسحوق أوراق الخروب عبر طريقتين: المعالجة الحرارية البسيطة والطريقة الحرارية المائية، وحصلنا على عينتين (CDM1 و CDM2) وتم تحليل خصائصهما بتقنيتي DRX و FTIR. درسنا العينات المختارة من حيث المحتوى الكمي للمركبات الفينولية، وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة، والبكتيريا، والالتهابات في الجسم الحي والمختبر. سجلت أعلى محتويات البوليفينولات في اللحاء والأوراق ($19,51 \pm 0,64$ و $19,02 \pm 0,88$ mg EAG/g على التوالي)، بينما كان أعلى محتوى للفلافونويدات في الأوراق ($5,05 \pm 0,35$ mg QE/g) وتحتوي مستخلصات اللحاء والأوراق على أعلى قيمة من العفص المكثف ($0,053 \pm 0,008$ و $0,034 \pm 0,003$ mg EC/g على التوالي). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتي FRAP و DPPH، وكشفت النتائج عن استجابة قوية، مع علاقة جيدة بين النشاط ومحتويات البوليفينولات والفلافونويدات.

أظهرت المستخلصات المدروسة نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد أربعة أنواع من البكتيريا، حيث سجلت الأوراق نشاط تثبيط أعلى ضد البكتيريا سالبة الغرام، بينما أظهرت الفاكهة فعالية أكبر ضد البكتيريا موجبة الغرام. أظهرت اختبارات السمية أن المستخلصات (الأوراق، الفاكهة، CDM1، CDM2) غير سامة حتى بتركيز 4500 mg/kg. في اختبار الودمة، أظهرت الأوراق أعلى نسبة تثبيط، بينما حقق مستخلص CDM1 أعلى نسبة حماية (93,95%) في اختبار حماية ألومين البيض من التمسح الحراري. كما درسنا تأثير سمغ البذور كمادة حافظة بنسب 10% و 20% على الجبن الطازج، وأظهرت النتائج تأثيرات إيجابية على القبوليات البرازية والكلية، FTAM، السالمونيلات والمكورات العنقودية الذهبية.

الكلمات المفتاحية: *C. siliqua*، سمغ الخروب، النقاط الكمومية كربونية، (CQDs)، المركبات الفينولية، مضادات الأكسدة، مضاد البكتيريا والالتهابات

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des Abréviations	
INTRODUCTION	
PARTIE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I: Généralités sur Les plantes caroubier (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	
I.1. Taxonomie et terminologie	5
I.2. Classification systématique	6
I.3. Description botanique	6
I.3.1. Arbre	6
I.3.2. Tronc	7
I.3.3. Feuilles	8
I.3.4. Fleur	8
I.3.5. Fruit	9
I.3.6. Graine	9
I.4. Distribution géographique du caroubier	10
I.4.1. Distribution géographique dans le monde	10
I.4.2. Distribution géographique en Algérie	11
I.5. Utilisation de la poudre de caroube	12
I.5.1. Utilisation agroalimentaire	12
I.5.2. Utilisation cosmétique	12
I.5.3. Utilisation chimique	13
CHAPITRE II. Généralités sur les composés biologiquement actif	
II.1. Polyphénols	15
II.1.2. Biosynthèse	15
II.1.3. Flavonoïde	15
II.1.4. Tanins	16
II.1.4.1. Tanins hydrolysables	16
II.1.4.2. Tanins condensés (proanthocyanidines)	17
II.2. Points quantiques de carbone (CQD)	17
II.2.1. Bio-applications du CQDs	18
II.2.2. Méthodes de synthèse de points quantiques de carbone	19
II.2.2.1. Méthode hydrothermale	19
II.2.2.2. Méthode solvothermique	19

Table des matières

II.2.3. Techniques de caractérisation des points de carbone quantiques	19
II.2.3.1. Spectroscopie FTIR	19
II.2.3.2. Diffraction des rayons X (DRX)	19
II.3. Gomme des graines de caroube (Galactomannanes)	19
II.3.1. Structure	20
II.3.2. Propriétés des galactomannanes	21
II.3.3. Application	21
CHAPITRE III. Généralités sur les activités biologiques	
III.1. Activité antioxydant	24
III.1.1. Antioxydants enzymatiques	24
III.1.1.1. Superoxyde dismutases (SOD)	24
III.1.1.2. Catalases (CAT)	25
III.1.1.3. Peroxydases (GPx)	25
III.1.1.4. Le système thiorédoxine	25
III.1.2. Antioxydants non enzymatiques	26
III. 1.2.1. Ascorbate et α -tocopherol	26
III.1.2.2. Glutathion	26
III.1.2.3. Flavonoïdes	26
III.2. Méthodes d'évaluation des activités antioxydantes	26
III.2.1. Test de réduction du radical DPPH	26
III.2.2. Test du pouvoir de réduction du fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	27
III.3. Activité anti-inflammatoire	27
III.3.1. Inflammation	27
III.3.1.1. Types de la réaction inflammatoire	28
III.3.1.2. Les Biomarqueurs de l'inflammation	28
III.3.2. Anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)	28
Partie 02. Partie expérimentale	
Chapitre I. Matériel et méthodes	
I.1. Matériel	32
I.1.1. Matériel chimique	32
I.1.2. Matériel biologique	33
I.1.2.1. Matériel végétal étudié	33
I.1.2.2. Bactéries	34
I.1.2.3. Matériel animal	35
I.2. Méthodes	35
I.2.1. Extraction	35
I.2.1.1. Préparation d'extraits par macération	35
I.2.1.2. Préparation de gomme de caroube (LBG)	36
I.2.1.3. Préparation d'extrait de points de carbone quantique (CQDs)	37

Table des matières

I.2.1.3.1. Synthèse de points de carbone quantique : Méthode simple pyrolyse (CQDs M1)	37
I.2.1.3.2. Synthèse de points de carbone quantique: Méthode hydrothermale (CQDs M2)	37
I.2.1.3.3. Caractérisation des CQDs M1 et CQDs M2	37
I.2.2. Dosage des composés phénoliques	37
I.2.2.1. Dosage de polyphénols totaux	37
I.2.2.2. Dosage de flavonoïdes	38
I.2.2.3. Dosage de tanins condensés	38
I.2.3. Evaluation des activités biologiques	38
I.2.3.1. Activité antioxydant	38
I.2.3.1.1. Test de DPPH	38
I.2.3.1.2. Test de FRAP	39
I.2.3.2. Test toxicité	39
I.2.3.3. Activité anti inflammatoire	40
I.2.3.3.1. <i>In vitro</i>	40
I.2.3.3.2. <i>In vivo</i>	40
I.2.3.4. Activité antibactérienne	44
I.2.3.4.1. Préparation des extraits	44
I.2.3.4.2. Préparation des milieux de culture	44
I.2.3.4.2. Expérience	44
I.3. Effet du LBG sur la durée de conservation du fromage frais	44
I.3.1. Fabrication des fromages frais	44
I.3.2. Mode opératoire	47
I.3.2.1. Préparation de la solution mère	47
I.3.2.2. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FTAM)	47
I.3.2.3. Dénombrement des coliformes totaux	47
I.3.2.4. Dénombrement des coliformes thermotolérants à 44°C	47
I.3.2.5. Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase +	48
I.3.2.6. Recherche de <i>Salmonella</i>	48
I.2.5. Analyse statistique	48
Chapitre II. Résultats et discussion	
II.1. Rendement	50
II.2. Caractérisation des CQDs M1 et CQDs M2	53
II.2.1. Structure cristalline et composition	53
II.2.2. Analyse spectroscopique FTIR	53
II.3. Dosage des composés phénoliques	54
II.3.1. Dosage de polyphénols totaux	54
II.3.2. Dosage des flavonoïdes	56
II.3.3. Dosage de tanins condensé	57
II.4. Activité antioxydante	60

Table des matières

II.4.1. Test du DPPH	60
II.4.2. Test de FRAP	62
II.5. Test toxicité	65
II.6. Activité anti inflammatoire	66
II.6.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	66
I.6.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	68
II.7. Activités antibactériennes	73
II.8. Effet du LBG sur la durée de conservation du fromage frais	77
II.9. Analyses statistiques : analyse en composantes principales (ACP)	80
Conclusion	83
Bibliographies	87

Liste de figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Caroubier (<i>ceratonia siliqua L.</i>)	5
Figure 02	Arbre du caroubier (<i>ceratonia siliqua L.</i>)	7
Figure 03	Tronc du caroubier	8
Figure 04	Feuilles du caroubier	8
Figure 05	Fleurs du caroubier, a : mâles ; b : femelles, d : hermaphrodites	9
Figure 06:	Fruits et graines de dix variétés de caroube d'Algérie	10
Figure 07	L'aire de répartition du caroubier dans le monde	11
Figure 08	Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques	12
Figure 09	Représentation structurelle des CQD	17
Figure 10	Image numérique d'une image de fluorescence <i>in vivo</i> d'une rats ayant reçu une injection de CQDs, prise à différentes longueurs d'onde d'excitation.	18
Figure 11	Schéma de l'administration de gènes à l'aide de CQD	18
Figure 12	(a) Coupe transversale d'une graine de caroube, (b) Photographie des composants constitutifs de la graine.	20
Figure 13	Gomme et la germe de caroube	20
Figure 14	Structure de la gomme de caroube; rapport mannose (α 1,4) galactose (β 1,6)	21
Figure 15	Enlèvement de différentes espèces réactives d'oxygène par enzymes antioxydants	24
Figure 16	Schéma récapitulatif de l'inflammation aiguë et de l'inflammation chronique	28
Figure 17	La plante de caroubier	33
Figure 18	Poudre des fruits, feuilles, d'écorce, gomme de caroube	34
Figure 19	Schéma montrant le processus d'extraction des parties de la plante <i>C. siliqua</i>	36
Figure 20	Schéma montrant l'expérience d'Œdème de la patte induit par la carraghénane chez les rats.	43

Liste des figures

Figure 21	Diagramme de fabrication du fromage frais	46
Figure 22	Photo fromage frais finale	46
Figure 23	Diagramme de diffraction des rayons X (DRX) des A:CQD M1 B: CQD M2	53
Figure 24	Spectre FTIR A:CQDs M1 B:CQDs M2	54
Figure 25	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	55
Figure 26	Teneurs en polyphénols totaux.	55
Figure 27	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.	56
Figure 28	Teneur en flavonoïde totaux.	57
Figure 29	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.	58
Figure 30	Teneurs en tanins condensés	58
Figure 31	Résultats des IC50 du radical DPPH	60
Figure 32	Résultats des A0,5 de la réduction de fer.	63
Figure 33	Coupes histologie de tissu hépatique coloré à l'hématoxyline- éosine (G x 40).	66
Figure 34	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf.	67
Figure 35	Effet anti-inflammatoire de l'extrait de <i>C. siliqua</i> sur l'œdème de la patte arrière induit expérimentalement chez les rats.	68
Figure 36	Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par les extraits de <i>C. siliqua</i> induit par la carraghénane chez les rats.	69
Figure 37	Coupes histologie de tissu hépatique par l'extrait 500 mg/kg. Coloration hématoxyline éosine (G×40).	71
Figure 38	Effet de différents extraits sur quatre types de bactéries testées	75
Figure 39	Plan factoriel de l'ACP effectuée sur les valeurs des activités biologiques des 4 échantillons.	81

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Classification systématique du caroubier	6
Tableau 02	Produits dérivés de la graine de caroube et leurs applications	22
Tableau 03	Appareillage, milieu de culture, produits chimiques et réactifs.	32
Tableau 04	Les souches bactéries et les effets sur la santé	34
Tableau 05	Rendement et Caractéristiques physiques des différents extraits	50
Tableau 06	Quelques études antérieures du test FRAP sur les feuilles et les fruits de <i>C. siliqua</i> .	64
Tableau 07	Taux de la CRP étudié chez les rats.	70
Tableau 08	Résultats des tests d'activité antibactériennes des extraits	74
Tableau 09	Résultats dénombrement des coliformes fécaux et totaux, FTAM, <i>Salmonella</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	77
Tableau 10	Aspect des fromages à différentes concentrations de LBG pendant le stockage à froid.	79
Tableau 11	Matrice de corrélation (Pearson (n))	81

Liste des abréviations

- (%) : Pourcentage.
- °C : degré Celsius
- Ac : Absorbance du contrôle.
- AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
- As : Absorbance de l'échantillon
- ATCC : American Type Culture Collection
- *C. siliqua* : *Ceratonia siliqua* L
- CDM1 : CQDs M1 points de carbone quantique Méthode simple pyrolyse
- CDM2 : CQDs M2 points de carbone quantique Méthode hydrothermale
- CQDs : CDs : Quantum carbon dots ou Points de carbone quantique
- CRP : C réactive ou C-reactive protein
- DMSO : Diméthyle sulfoxyde
- DPPH : Diphenyl-picrylhydrazyl
- DRX : X-ray diffraction ou diffraction des rayons X
- EDTA : Éthylènediaminetétraacétique
- Ex- CDM1 : Extrait de CDM1
- Ex- CDM2 : Extrait de CDM2
- Ex- Feuilles : Extrait de feuilles
- Ex- Fruits : Extrait de fruits
- F : Feuilles
- F LBG : Fromage avec gomme de caroube ou Fromage avec Locust Bean Gum
- FFC : Fromage frais de chèvre
- FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power
- FTAM : flore aérobie mésophile totale
- FTIR : Fourier-transform infrared ou infrarouges par transformée de Fourier
- G : Fruits
- g : Gramme
- HCL : acide chlorhydrique
- IC50 : concentration inhibitrice de 50%
- JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

Liste des abréviations

- Kg : Kilogramme
- L : litre
- LBG : Locust Bean Gum ou Gomme de caroube ou galactomannane
- L : Écorce
- MAE : Extraction assistée par macération
- mg EAG/g : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait
- mg EC/g : milligramme équivalent de la catéchine par gramme d'extrait
- mg QE/g : milligramme équivalent de la quercétine par gramme d'extrait
- mg/Kg : milligramme par kilogramme
- mg/ml : milligramme par millier
- min : minutes
- ml : Millilitre
- ml / Kg : millilitre par kilogramme
- PH : Potentiel hydrogène
- T° : Température
- VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar



INTRODUCTION

Introduction

Le milieu scientifique s'intéresse de plus en plus à l'amélioration des connaissances humaines sur les plantes médicinales et à la compréhension de la complexité extraordinaire de la chimie des plantes ayant des effets thérapeutiques. Par conséquent, la valeur médicale des plantes augmente de plus en plus d'un point de vue scientifique, ce qui fournit un argument solide pour leur utilisation en médecine, notamment pour la prévention. En peu de temps, l'industrie des plantes médicinales est devenue le secteur le plus important de l'économie. Elle est rapidement devenue le secteur à la croissance la plus rapide dans l'industrie pharmaceutique (Gherdia, 2005).

C. siliqua., connue sous le nom de "caroubier", est l'une des plantes ayant des propriétés thérapeutiques importantes. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies telles que le diabète, l'hypertension et les troubles digestifs. L'activité du caroubier est généralement attribuée à un ou plusieurs des composants actifs de la plante. Les composants actifs découverts dans les plantes médicinales incluent les polyphénols, connus pour leurs nombreuses activités biologiques, telles que les activités antivirales, anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses et antimicrobiennes (Yang et al., 2001; Gherdia, 2005).

Toutes les parties du caroubier (feuilles, gousses, graines, écorce et gomme) sont utiles et précieuses dans de nombreux domaines industriels, notamment l'industrie alimentaire où la gomme de caroube purifiée (E410) dérivée de la pulpe est utilisée. Elle est employée dans la composition de divers aliments, cosmétiques, médicaments, comme agent épaississant, agglomérant et stabilisant dans les formulations d'émulsions (Calixto et Canellas, 1982).

D'autre part, dans la quête de développer des matériaux nanométriques écologiques et biocompatibles, les points de carbone (CDs) sont des nanoparticules excellentes. Il s'agit d'une nouvelle catégorie de matériaux nanométriques carbonés principalement fabriqués à partir de sources de carbone, ce qui les rend biocompatibles et non toxiques. Ils sont considérés comme une alternative prometteuse aux points quantiques toxiques à base de métal en raison de leur composition, leur compatibilité biologique et leurs propriétés optiques et fluorescentes exceptionnelles avec un rendement quantique élevé. Plusieurs méthodes ont été utilisées pour les préparer, qu'elles soient physiques ou chimiques, caractérisées par leur simplicité et leur faible coût (Lim et al., 2015).

Introduction

Dans ce contexte, notre étude se concentre sur l'évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro*, et antibactérienne des parties de la plante *C. siliqua*, et des points de carbone quantiques extraits de ses feuilles.

Notre plan de travail s'est divisé en deux parties principales : la première est une recherche bibliographique divisée en trois chapitres (général : sur la plante *C. siliqua*, sur les composés chimiques d'intérêt biologique, et sur l'étude des activités antioxydantes et anti-inflammatoires). La seconde partie est expérimentale, divisée en deux chapitres (matériaux et méthodes, résultats et discussion):

- Préparation de l'extrait alcoolique (éthanolique) des parties de la plante (feuilles, écorce, fruit) par macération.
- Extraction de la gomme brute des graines de caroube (LBG).
- Synthèse des points de carbone quantiques par deux méthodes différentes et caractérisation de leurs propriétés.
- Quantification de certains métabolites connus pour leurs activités biologiques.
- Étude de l'activité antioxydante en utilisant les tests FRAP et DPPH.
- Évaluation de la toxicité des extraits sélectionnés.
- Étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* et *in vitro*.
- Étude de l'activité antibactérienne.
- Test de l'effet de la gomme de graines de caroube sur la durée de conservation du fromage frais.

En plus d'une conclusion et des perspectives futures pour poursuivre cette étude.



PARTIE 1: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I. Généralités sur
les plantes caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)

I.1. Taxonomie et terminologie

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) doit son nom à la forme de ses gousses qui, une fois arrivées à maturité, ressemblent à des cornes. Étymologiquement, le terme latin *Ceratonia* provient du grec *keratia* qui signifie petite corne. Quant au nom d'espèce *siliqua*, il désigne en latin, une silique c'est-à-dire une gousse (**Figure 01**) (Batlle et Tous, 1997).



Figure 01: Caroubier (*ceratonia siliqua* L.) (Source : <https://www.exotic-seeds.store/fr/home/graines-de-caroubier.html>)

La dénomination vernaculaire du caroubier diffère d'une région à une autre dans le monde:

- Dans les pays francophones, il est dit: caroubier, carouge et/ou figuier d'Égypte.
- Dans les pays anglophones: carob et/ou locust bean
- En Allemagne: Johannisbrotbaum.
- Dans les pays arabes: kharrub dérive de l'hébreu kharuv, le caroubier peut avoir
- Aussi une dénomination vernaculaire différente d'une région à une autre dans un même pays, comme c'est le cas en Algérie où il est connu sous le nom de kharrûb par les arabophones et tislighwa par les amazighophones.

Cette espèce appartient au genre *Ceratonia* de la sous-famille des *Caesalpinioïdae*, de la famille des *Fabaceae* (légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), classe des *Magnoliopsid* (Quezel, 1963). Le genre *Ceratonia* est considéré comme l'un des genres de légumineuses les plus archaïques (Tucker, 1992). Les légumineuses sont des membres

importants des régions tropicales, subtropicales et végétations tempérées dans le monde. C'est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, et comprend 650 genres et plus 18 000 espèces (Polhill et *al.*, 1981). Taxonomiquement, *Ceratonia* est complètement isolée de tous les autres genres de sa famille (Zohary, 1973 ; Hillcoat et *al.*, 1980 ; Tucker, 1992) considéraient la caroube comme un vestige très isolé d'une partie de la famille des légumineuses aujourd'hui largement éteinte.

I.2. Classification systématique

Tableau 01: Classification systématique du caroubier (Ghedira et Goetz, 2019).

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplanatae
Superdivision	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Rosanae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae (Légumineuses)
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> L.

I.3. Description botanique

I.3.1. Arbre

Le caroubier (*Ceratonia siliqua*) est un arbre à feuilles persistantes dioïque, cultivé dans la région méditerranéenne. Tolérant à la sécheresse, mais sensible au froid, il peut atteindre une hauteur de 7 à 15 mètres, avec une base du tronc mesurant 2 à 3 mètres de circonférence. Il peut vivre jusqu'à 500 ans. L'écorce du caroubier est lisse et grise lorsqu'il est jeune, devenant brune et rugueuse en vieillissant, et son bois rougeâtre est très dur. (figure 02) (Biner et *al.*, 2007).

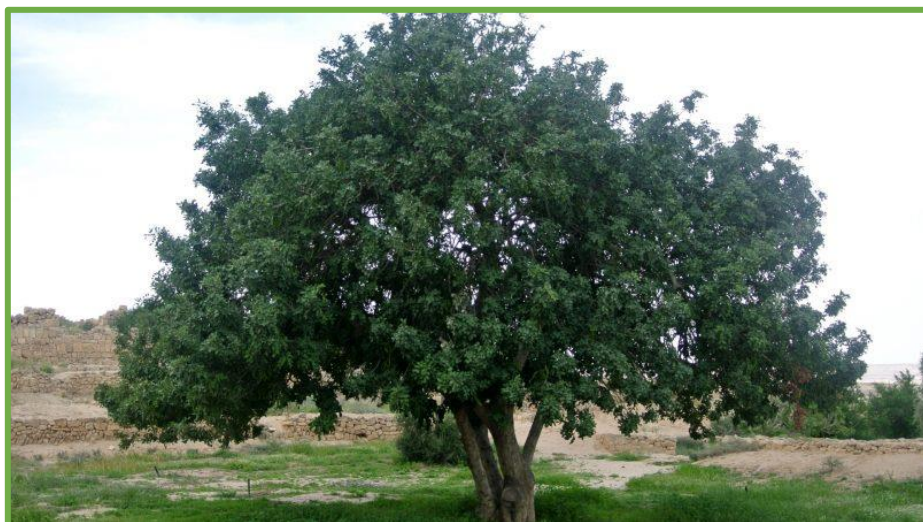


Figure 02: Arbre du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) (Source : <https://antropocene.it/en/2022/10/29/ceratonia-siliqua-en/>).

Il existe de nombreuses variétés de *C. siliqua*, notamment :

- **Casude** : est largement répandue en Espagne. Les arbres sont femelles et les fruits sont droits, de couleur brun foncé. Il contient un pourcentage de riche en sucres, allant de 56,7% à 51,7%, les fruits mûrissent en octobre.
- **Sanrafe** : Sa culture est répandue dans les zones côtières. Les arbres sont hermaphrodites, autofertiles et les fruits sont de couleur brun clair. Légèrement courbé, teneur en sucre : 47,5%. Les fruits mûrissent en octobre.
- **Tontillo** : C'est une variété répandue sur l'île des Seychelles, ses arbres sont hermaphrodites et les gousses sont de couleur brun foncé et droites. Les fruits mûrissent de septembre à mi-octobre (الموصلي والدليمي, 2016).

I.3.2. Tronc

Le tronc peut atteindre 2 à 3 mètres de circonférence (**Figure 03**), le caroubier doit se développer et se maintenir sur un seul tronc. Il faut surtout éviter que des branches démarrent des portes greffes au détriment de la variété (**Ait chitt et al., 2007**), le diamètre moyen est de 50 centimètres en fonction de l'âge de l'arbre (**Albanell, 1990**). Le tronc du caroubier est épais, robuste avec des canaux de circulation de la sève associés aux racines les plus épaisses, ce qui leur donne un aspect tortueux, particulièrement marqué chez certaines variétés. L'écorce est rugueuse à la base de couleur grise à rougeâtre (**Melgarejo et Salazar, 2003**).

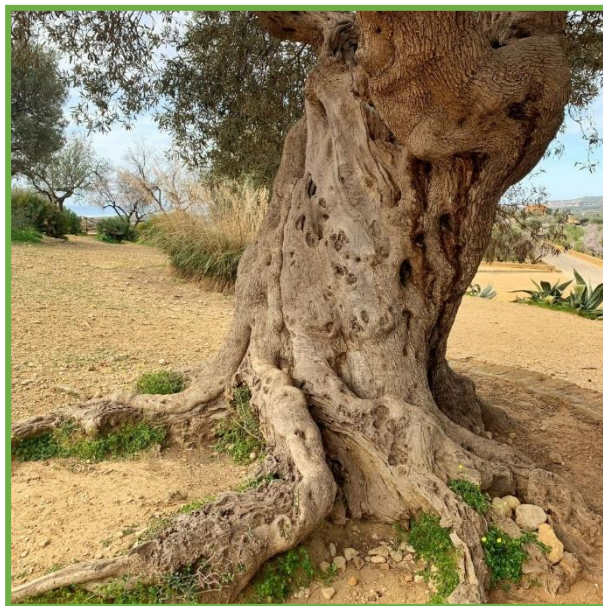


Figure 03: Tronc du caroubier (Source : <https://www.cincopinos.cl/products/algarrobo-europeo-ceratoniasiliqua>)

I.3.3. Feuilles

Les feuilles de *C. siliqua* ont une longueur de 10 à 20 cm, persistantes, coriaces, alternes et caractérisées par un pétiole sillonné. Composées de 4 à 10 folioles, avec ou sans foliole terminale. Les folioles sont de 3 à 7 cm de longueur, de forme ovale ou elliptique, opposées, de couleur verte luisante sur la face dorsale et verte pâle sur la face ventrale. Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet (**Figure 04**). (Ait Chitt et *al.*, 2007).



Figure 04: Feuilles du caroubier (Source : <https://www.cincopinos.cl/products/algarrobo-europeo-ceratoniasiliqua>)

I.3.4. Fleur

Les fleurs, très petites (6 à 16 mm de longueur), constituées d'un calice pourpre sans corolle, sont réunies en grappes axillaires cylindriques. Elles apparaissent d'août à octobre. On distingue trois formes de fleurs (fleurs mâles, fleurs femelles et fleurs hermaphrodites) qui sont portées sur différents pieds. Les fleurs mâles portent 5 étamines (**Figure 05**), libres, opposées aux sépales, étalées, longuement saillantes (**Aafi, 1996**). Les fleurs femelles sont constituées d'un pistil court et recourbé avec un petit ovaire (5 à 7 mm) bicarpelle. Les stigmates sont bilobés et couvertes par des papilles. A la base, le disque nectarifère est entouré de 5 à 6 sépales rudimentaires, par contre, la corolle est absente, en général, les inflorescences males sont plus courtes que celles des femelles et plus compactes et nombreuses (**Salazar, 2003**).



Figure 05: Fleurs du caroubier, **a** : mâles ; **b** : femelles; **d** : hermaphrodites (**Mahdad, 2013**).

I.3.5. Fruit

Les fruits, appelées « caroubes », sont des gousses indéhiscentes à bords irréguliers, de formes allongées, rectilignes ou courbées, pendantes de dix à trente centimètres de longueur sur un et demi à trois centimètres de largeur, d'abord vertes, elles deviennent brun foncé à maturité (**Figure 06**) (**Ait Chitt et al., 2007**). Chaque gousse est remplie de graines brunes très dures, environ 15 à vingt graines par gousse. Les graines sont entourées d'une pulpe jaune, farineuse et au goût sucré (**Rejeb, 1995**).

I.3.6. Graine

Les graines du caroubier sont petites et plates, de forme presque ovale, avec un pôle basal coupé et écrasé dans le sol. Région apicale. Son intégrité est généralement résistante, de couleur grise contenant 00 à 03 % de revêtements et 43 à 48% Endosperme et 80-85% de l'embryon (Avallone *et al.*, 1997) Ses des dimensions de 8 à 10 mm de long sur 6 à 8 mm de largeur avec 3 à 5 mm d'épaisseur (Figure 06) (Mahdad, 2013).



Figure 06: Fruits et graines de dix variétés de caroube d'Algérie (Boublenza *et al.*, 2019).

I.4. Distribution géographique du caroubier

I.4.1. Distribution géographique dans le monde

Le caroubier pousse en Turquie, à Chypre, en Syrie, Liban, Israël, sud de la Jordanie, Égypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'ouest Méditerranéen (Hillocoat *et al.*, 1980) Il a été propagé par les Grecs en Grèce et en Italie, et par les Arabes sur la côte nord Afrique, sud et est de l'Espagne. Depuis, il est diffusé dans le sud du Portugal, dans le sud-est de la France. La caroube est également cultivée dans plusieurs autres pays, zones climatiques Les régions méditerranéennes telles que l'Australie, l'Afrique du Sud, les États-Unis (en particulier l'Arizona et Californie du Sud), les Philippines et l'Iran (Bertrand, 2013) (Figure 07).

En général, les espèces d'arbres telles que les siliques ont une distribution limitée Stress dû au froid (**Diamantoglou et al., 1981**). En fait, les espèces Le C. oreothauma plus sensible au froid semble avoir une distribution limitée Uniquement à Oman et en Somalie (**Hillcoat et al., 1980**) dans les zones basses méditerranéen (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles.(**Zohary et al., 1959**).

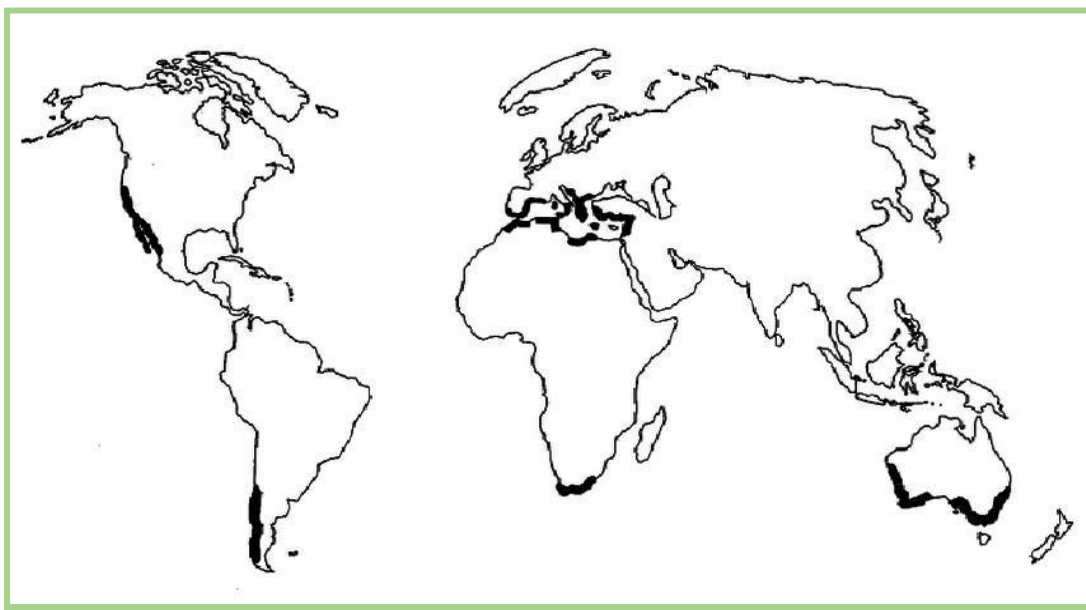


Figure 07 : L'aire de répartition du caroubier dans le monde (**Batlle et Tous, 1997**).

I.4.2. Distribution géographique en Algérie

En Algérie, la caroube est souvent cultivée dans l'Atlas saharien, où Tell. On le retrouve à l'état naturel associé à l'amandier, *Olea Europea* et *Pistacia Atlantica* dans les régions semiarides chaudes, subhumides et humides, Il est protégé du gel dans les vallées fraîches à des altitudes comprises entre 100 et 1300 mètres ; Les températures varient de 5°C à 20°C et

les précipitations varient de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**). Sur la base de ces critères climatiques, l'aire de répartition du caroubier a été déterminée en Algérie (**Figure 08**).

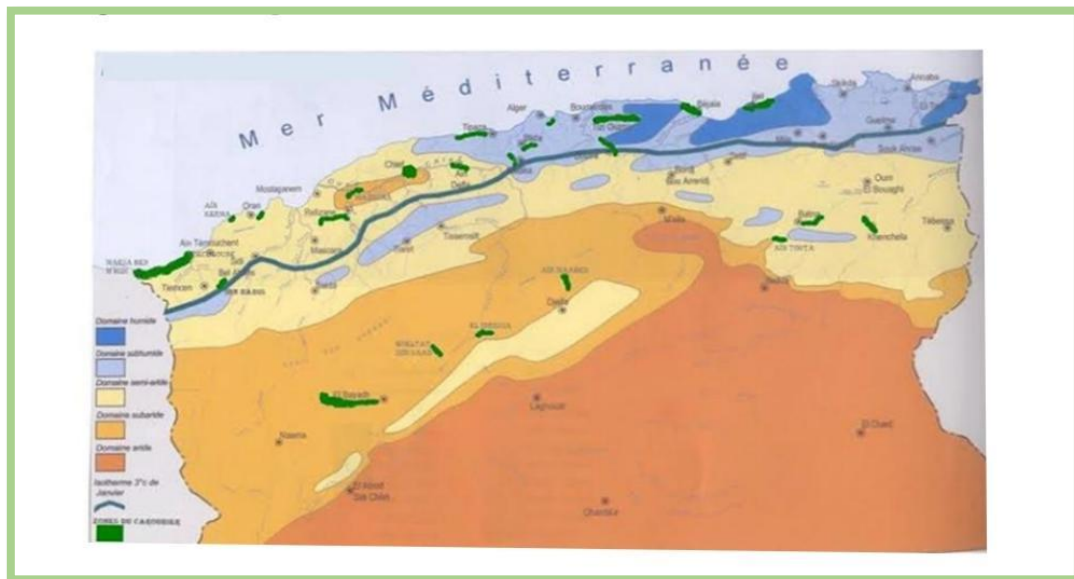


Figure 08 : Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques
(A.N.R.H, 2004)

I.5. Utilisation de la poudre de caroube

I.5.1. Utilisation agroalimentaire

Les gousses de caroube sont utilisées depuis longtemps comme matières premières fabrication d'additifs alimentaires (**Biner et al., 2007**). Connue sous le nom de gomme de caroube le code E-410 est utilisé dans l'industrie alimentaire comme épaississant, stabilisant, comme liant et gélifiant, ou comme dispersant. Également utilisé dans le domaine de l'impression, photographie, textile, pharmaceutique, cosmétique (**Battle et al., 1997**). En raison de sa douceur et sa saveur semblable au chocolat et de son petit prix, les gousses broyées en farine, sont couramment utilisées comme substitut du cacao dans la région méditerranéenne dans la fabrication de confiseries, les biscuits, les produits transformés, et production de boissons (**Ayaz et al., 2009**).

I.5.2. Utilisation cosmétique

Parmi ses utilisations industrielles, la gomme de caroube est utilisée en cosmétique, en raison de sa capacité à former des solutions très visqueuses (savons, crèmes, dentifrices, etc.) pour sa capacité à former une solution très visqueuse, à une faible concentration grâce à ses propriétés épaississantes, émulsifiantes et stabilisantes (**Roukas, 1998**).

I.5.3. Utilisation chimique

L'utilisation de la gomme de caroube (gousses broyées) a déjà été démontrée dans certains travaux pour l'extraction du sucre, la fermentation de l'éthanol formation d'acide citrique (**Roukas, 1998**). La situation est similaire avec les caroubiers l'écorce et les racines sont très appréciées pour la menuiserie et la production de charbon et l'écorce et les racines utilisé pour le tannage.



CHAPITRE II. Généralités sur les composés biologiquement actif

II.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par l'ensemble des végétaux. Ils sont présents dans les vacuoles des tissus. Ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (pathogènes, rayonnements UV) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume). Leur répartition tant qualitative que quantitative dans la plante varie selon les espèces, les organes, les tissus ou encore les différents stades de développement. Ils se caractérisent par la présence de groupements phénoliques (présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles sur un cycle benzénique) dans leur structure (**Kühnau, 1976**). Les plantes consommées par l'homme fournissent plus de 8000 composés phénoliques classés en différentes familles selon la nature de leur squelette carboné (**Bruneton, 2009**). On distingue :

- Acides phénoliques (C6-C1 et C6-C3)
- Flavonoides (C6-C3-C6)
- Lignanes (C6-C3-C3-C6)
- Stilbènes (C6-C2-C6)

II.1.2. Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

- ❖ Celle de l'acide shikimique, qui conduit après trans-amination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- ❖ Celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly B-coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les 1,8-dihydroxyanthraquinones ou les naphthoquinones (**Bruneton, 1999 ; Kan et al., 2007**).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, tels que les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

II.1.3. Flavonoïde

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Bruneton , 1999**).

Ces molécules sont les polyphénols les plus abondants de notre alimentation et plus de 4000 composés ont pu être identifiés (**Archivio et al., 2007**). Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (**Machrix et al., 2006**). Les flavonoïdes sont subdivisés en sous-classes selon la structure de l'hétérocycle C. On distingue alors les 4-oxoflavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols et flavanones, les flavanols) et les proanthocyanidines (tanins condensés), les anthocyanes ainsi que des composés plus minoritaires, les chalcones et dihydrochalcones (**Crozier et al., 2009**).

Il existe dans chaque sous-classe de nombreux composés selon les substitutions des cycles aromatiques. La plupart des flavonoïdes sont glycosylés, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (**Crozier et al., 2009**).

➤ Biosynthèse

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phenylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA. Le p-coumaroyl CoA et les 3 malonyl CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4, 2',4', 6'-tétrahydroxychalcone. Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à une seule 2(S)-flavanone la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Thuillier, 2007**).

II.1.4. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (**Peronny, 2005**). On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (**Fiorucci, 2006**).

II.1.4.1. Tanins hydrolysables

Ils sont constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ces dérivés (acide éllagique, acide m-digallique) d'où le nom de pyrogalliques

et d'ellagitanins qu'on leur donne quelquefois. Ils sont facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique. Les tanins galliques et ellagiques sont caractéristiques des angiospermes dicotylédones (**Bruneton , 2009**).

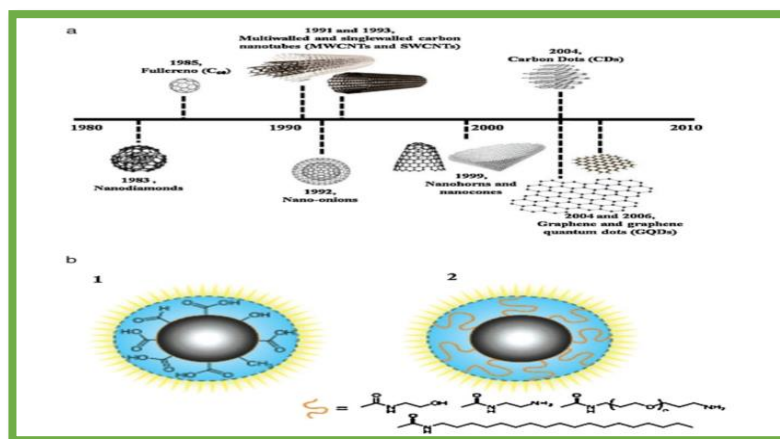
II.1.4.2. Tanins condensés (proanthocyanidines)

Les tanins condensés ou proanthocyanidols résultent de la polymérisation de molécules élémentaires de flavanes (flavanes ol-3, flavane ol-4, flavane diol -3,4). Ils sont désignés aussi sous le nom de tanins « catéchiques ». Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes de végétaux, gymnospermes et fougères compris (**Bruneton , 2009**).

II.2. Points quantiques de carbone (CQD)

Les points quantiques de carbone (CQD) sont définis comme de petites particules de carbone (**Figure 09a**) présentant des caractéristiques exceptionnelles telles qu'une bonne conductivité, une stabilité chimique élevée, un respect de l'environnement, une absorption optique à large bande, une faible toxicité, une forte émission de photoluminescence (PL) et des propriétés optiques, et sont plus faciles à synthétiser à grande échelle et de manière rentable, par rapport aux points quantiques. Les composants et la structure des points quantiques de carbone déterminent leurs diverses propriétés. La plupart des fragments carboxyles présents à la surface des CQD confèrent une grande solubilité dans l'eau et une grande biocompatibilité (**Lim et al., 2015**). Les QD conviennent également à la passivation de surface et à la modification chimique de nombreux matériaux polymères, inorganiques, organiques ou biologiques. Les propriétés physiques et fluorescentes sont améliorées par passivation de surface. (**Figure 09b**) (**Li et al., 2010**) découvert pour la première fois par **Xu et al., (2014)**

Figure 09: Représentation structurelle des CQD (Baker et Baker, 2010).



II.2.1. Bio-applications du CQDs

Les points quantiques de carbone ont de nombreuses applications biologiques, parmi lesquelles :

➤ **Bio-imaging**

Les points de carbone sont utilisés dans l'imagerie biologique des cellules et des tissus de différents systèmes vivants. *in vivo* et *in vitro* pour des applications biomédicales en raison de son excellente biocompatibilité, de sa taille De petites nanoparticules et les propriétés de fluorescence multicolores de ces particules peuvent être préparées. De diverses sources et de plusieurs manières (Figure 10) (Sagbas et Sahine, 2019)

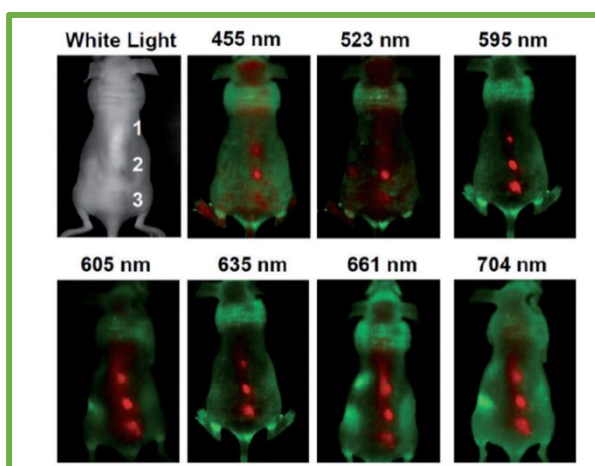


Figure 10: Image numérique d'une image de fluorescence *in vivo* d'une rats ayant reçu une injection de CQDs, prise à différentes longueurs d'onde d'excitation. (Sun et al., 2006)

➤ **Administration de médicaments / gènes**

Les points de carbone ont montré un grand potentiel en tant que vecteurs de gènes et applications d'administration de médicaments (Figure 11) .

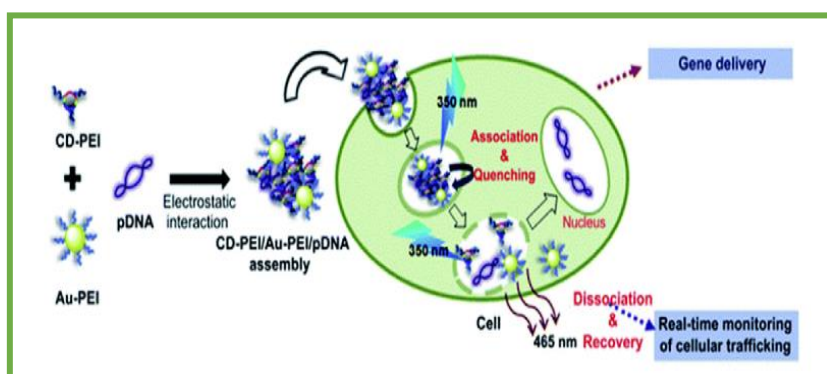


Figure 11: Schéma de l'administration de gènes à l'aide de CQDs (Namdari et al., 2017).

II.2.2. Méthodes de synthèse de points quantiques de carbone :

II.2.2.1. Méthode hydrothermale

La méthode hydrothermale de production de points quantiques de carbone présente les avantages d'un faible coût et d'une faible toxicité et constitue une méthode simple par rapport à d'autres méthodes. En général, une solution aqueuse des mélanges est placée dans un four et mise à réagir hydrothermiquement à haute pression et haute température (**Kasibabu et al., 2015**).

II.2.2.2. Méthode solvothermique

Cette méthode est basée sur la préparation de points quantiques de carbone, où la solution aqueuse est remplacée par un ou plusieurs solvants en les plaçant dans du téflon équipé d'un autoclave en acier. Cette méthode se caractérise par un faible coût et un équipement simple. De sorte que le solvant interagit avec la source de carbone brut à haute pression et très haute température (**Deng et al., 2020**).

II.2.3. Techniques de caractérisation des points de carbone quantiques :

II.2.3.1. Spectroscopie FTIR

FTIR a été utilisé pour analyser certains nanomatériaux tels que les points quantiques de carbone en raison de leur teneur en de nombreux groupes hydroxyle, carbonyle, éther et acide carboxylique (**Bano et al., 2018**) points de miel en utilisant la méthode hydrothermale, il a été observé la présence de liaisons H, N-H, CH, CN, CO, C-C et C par spectroscopie FTIR (**Yang et al., 2014**).

II.2.3.2. Diffraction des rayons X (DRX) :

L'analyse XRD évalue l'espacement cristallin au sein des noyaux de carbone cristallins des points quantiques de carbone et leurs dimensions de cellules unitaires correspondantes (**Al-Huda et Ghaith, 2016**). Les rayons X monochromatiques interagissent avec des échantillons de points de carbone pour exciter les électrons, entraînant une diffraction. Ces rayons X diffractés sont ensuite détectés, traités et calculés, révélant la structure moyenne des nanomatériaux carbonés (**Bunaciu et al., 2015**).

II.3. Gomme des graines de caroube (Galactomannanes)

La graine est composée essentiellement d'antioxydants et de polysaccharides. Elle est utilisée depuis l'antiquité comme mesure des pierres précieuses et semble également, avoir été utilisée par les pharmaciens pour peser leurs ingrédients (**Battle, 1997**). Les graines de caroube sont constituées de trois différentes parties. Il s'agit de l'extérieur vers l'intérieur, une

enveloppe (cuticule marronne, 30-33%), un endosperme (blanc et translucide, 42-46%) un embryon ou un germe (23-25%) (**Figure 12**) (**Neukom,1988**)

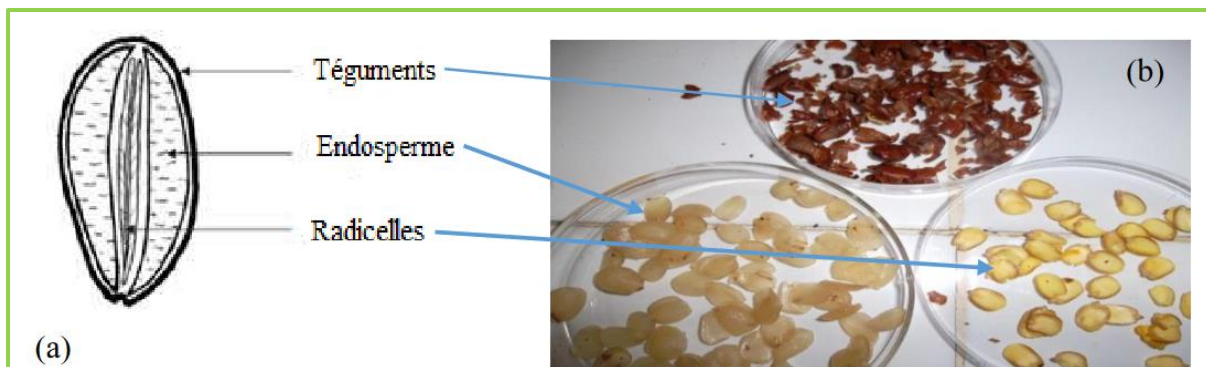


Figure 12: (a) Coupe transversale d'une graine de caroube, (b) Photographie des composants constitutifs de la graine.

<https://dspace.univbba.dz/bitstream/handle/123456789/1299/M680.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

La gomme de caroube est extraite à partir de l'albumen des graines de *C. siliqua* du fait de sa richesse en galactomannanes (unités de β -D-mannose et de α -D- galactose) (**Avallone et al., 1997 ; Biner et al., 2007**), issue de l'endosperme elle constitue le 1/3 du poids total de la graine ; 100kg de graines produisent en moyenne 20kg de gomme pure et sèche (**Figure 13**).



Figure 13: Gomme et la germe de caroube (**Kicher et Ladjouzi, 2016**).

II.3.1. Structure

Les galactomannanes ont une structure générale semblable, constituée d'une chaîne de monomères dont chacune possède une chaîne principale de mannane sur laquelle il existe des ramifications d'une unité galactose (**Figure 14**) (**McCleary et al., 1988 ; Richardson et al., 1998**). Ils se distinguent par leur teneur en unité galactose exprimée par le rapport mannose sur galactose (M/G), par la répartition des unités galactose le long de la chaîne de mannane et aussi

par leur masse molaire (Fox, 1992 ; Azero et al., 2002). Cette différence dans la «microstructure » influencent fortement les interactions moléculaires (da Silva et al., 1990; Mao et al., 2006) et les propriétés rhéologiques des solutions de galactomannanes. En outre, les galactomannanes sont des polysaccharides hydrosolubles et neutres (Dea et al., 1975).

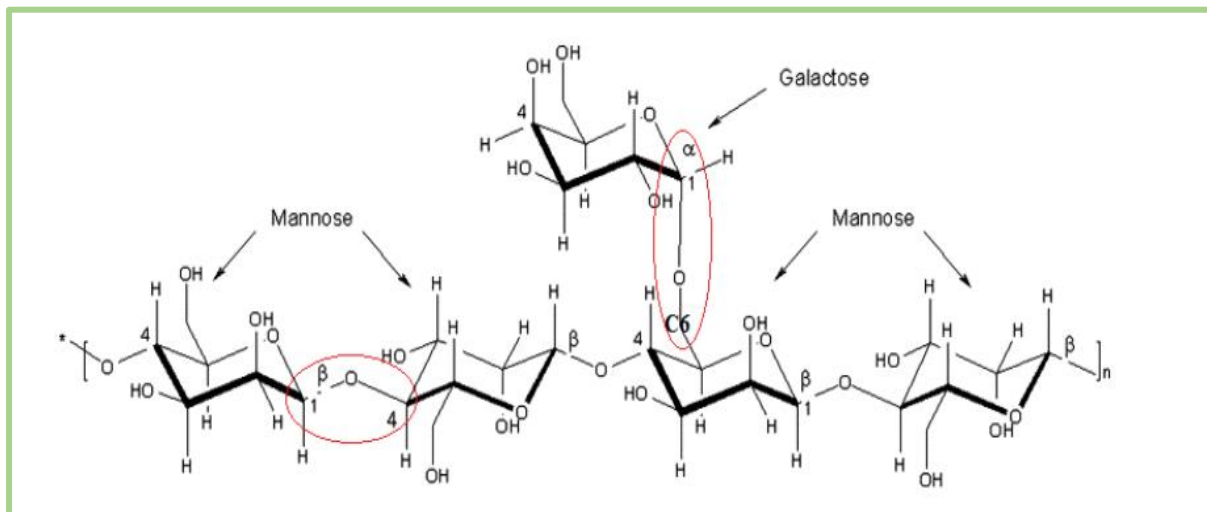


Figure 14: Structure de la gomme de caroube; rapport mannose (α 1,4) galactose (β 1,6) (McClearly et al., 1988 ; Richardson et al., 1998).

II.3.2. Propriétés des galactomannanes

Les propriétés de la gomme de caroube pour une application donnée dépend essentiellement de son action sur l'eau, de ses pouvoirs épaississant, gélifiant, stabilisant, émulsifiant et texturant, de sa résistance aux traitements thermiques (congélation, chauffage), de sa non-digestibilité, du pH et de la température (Dakia et al., 2010).

II.3.3. Application

La gomme de caroube est le hydrocolloïde préféré pour les desserts glacés, le fromage fondu et les produits laitiers fermentés. Il existe aussi des cultivars dont la différence est liée à la qualité de la gomme, en particulier concernant la viscosité, la résistance au gel et au contenu des galactomannanes. Cette gomme est employée dans une large gamme de produits de l'industrie alimentaire, dont les plus importantes sont la crème glacée, les aliments pour bébés et les aliments pour animaux de compagnie (Correia et Martins-Loucao, 2005) (Tableau 02):

Tableau 02: Produits dérivés de la graine de caroube et leurs applications (Tous et *al.*, 1996)

Applications	Dérivés	Produits	Références
Agroalimentaire	Endosperme		
	Gomme de graines de caroube purifiée (GGC)(ou poudre d'endosperme purifié)	E410: Additif alimentaire en industrie agro-alimentaire(agent gélifiant,Liant,agent d'adhésion...)	Battle et Tous ,1997; Gonçalves et <i>al.</i> , 2005
Industrielle	GGC de moindre pureté	• Pharmaceutiques (pommade, anticoagulant...) • Cosmétiques Mousses ,gels...) • Textiles (Epaississant de couleurs • Papier (produits flottaison, épaississant) • Chimiques (couleurs,pesticides) • Des explosifs (agent absorbant de l'humidité	Calixto et Canellas, 1982 ;Sandolo et <i>al.</i> , 2007
Alimentaire	Germe		
	Farine de germe	l'alimentation diététique humaine (couper la sensation de faim lors des régimes pour mincir en bonne santé)	Dakia et <i>al.</i> , 2007
	Farine de germe	Ingrédient potentiel dans les aliments dérivés des céréales pour les personnes cœliaques	Feillet et Roulland, 1998



CHAPITRE III. Généralités sur les activités biologiques

III.1. Activité antioxydant

Un antioxydant est « n'importe quelle substance qui, lorsqu'il est présent à de faibles concentrations par rapport à celle d'un oxydable substrat, retarde considérablement ou inhibe l'oxydation de ce substrat » (Sies, 1997).

III.1.1. Antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense contre les ROS (Garait, 2006). La figure (15) suivante résume les rôles importants des enzymes antioxydants :

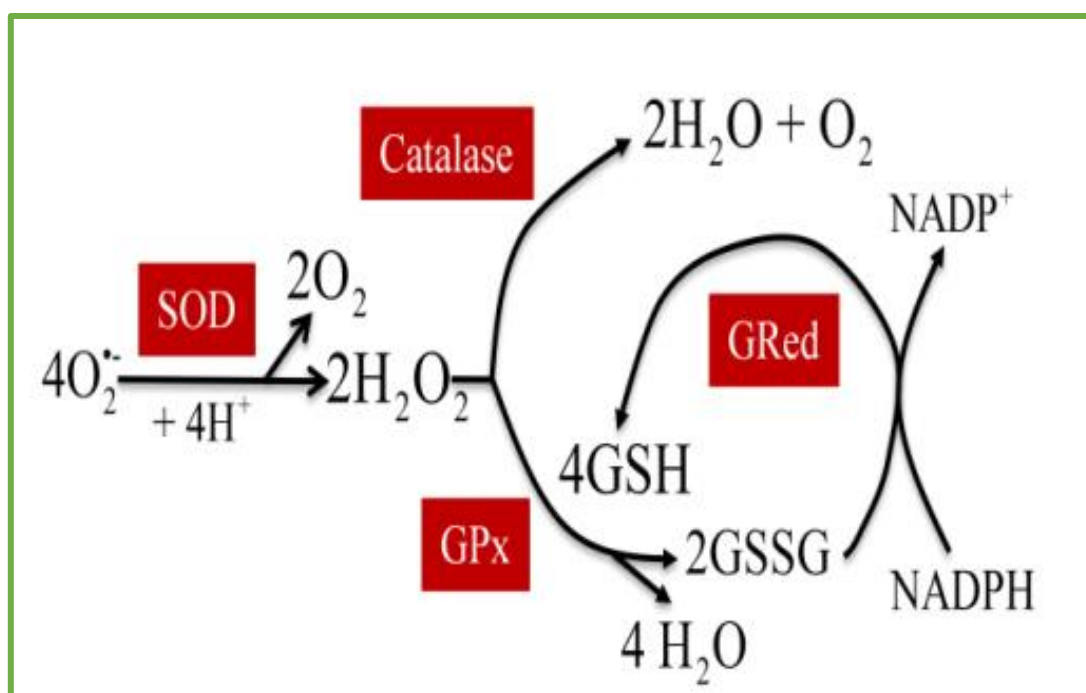
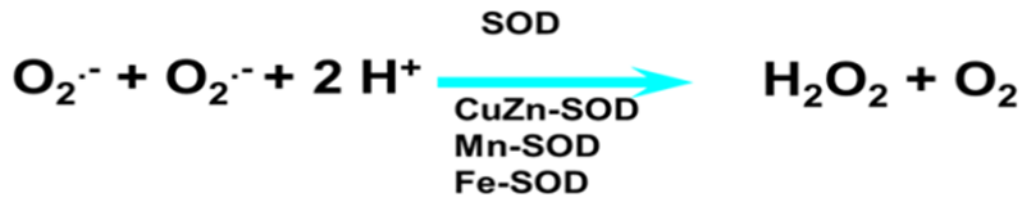


Figure 15 : Enlèvement de différentes espèces réactives d'oxygène par enzymes antioxydants (Kunwar et Priyadarsini, 2011).

III.1.1.1. Superoxyde dismutases (SOD)

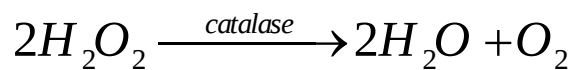
Métalloenzyme ubiquitaire (Jacquin-Porretlz, 1996), agissent comme la première ligne de défense contre ROS (Gratão et al., 2006). Il existe trois types de SOD chez les plantes: (FeSOD), (MnSOD) et (CuZnSOD). Toutes catalysent la dismutation de deux anions superoxydes en dioxygène et peroxyde d'hydrogène, comme le montre la réaction suivante (Arora et al., 2002) :



Au niveau cellulaire, les SOD se retrouvent à proximité des sites de production d' $\text{O}_2^{\cdot-}$. Les MnSOD mitochondriale, les FeSOD se situent essentiellement dans le stroma des chloroplastes. Les CuZnSOD se retrouvent sous forme libre dans le cytosol. Il existe, toutefois, une CuZnSOD liée à la membrane du thylakoïde au niveau du PSI, directement au contact des anions superoxydes produits par la CTE chloroplastique (Pourrut, 2008).

III.1.1.2. Catalases (CAT)

Une catalase (E.C. 1.11.1.6) est l'une des enzymes antioxydants les plus importantes (Nandi et al., 2019), qui est localisé dans les peroxysomes (Mishra et al., 1993). Elle agit en synergie avec les SODs puisque leur rôle est de catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, selon la réaction suivante (Mesnoua, 2017).

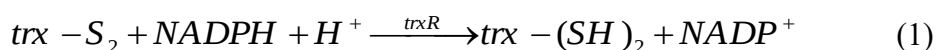


III.1.1.3. Peroxydases (GPx)

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme à sélénium permettant également la décomposition du H_2O_2 (Benhama et Herroudj, 2016). Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (Desmier, 2016). Son activité principale est de permettre l'oxydation du glutathion par réaction de dimérisation avec la formation d'un pont disulfure. Cette réaction conduit à la génération de H_2 pouvant réduire les espèces environnantes (Desmier, 2016).

III.1.1.4. Le système thiorédoxine

Selon Beillerot, (2011), le système trx/trxR est un système antioxydant majeur qui permet de maintenir un redox intracellulaire équilibré. Il comprend les thiorédoxines réductases (trxR), les thiorédoxines (trx) et le $\text{NADPH} + \text{H}^+$, comme le montre les réactions suivants (1) et (2):



III.1.2. Antioxydants non enzymatiques

Les principaux antioxydants non enzymatiques sont l'ascorbate, les α -tocopherols, le glutathion et les flavonoïdes.

III. 1.2.1. Ascorbate et α -tocopherol

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est un antioxydant omniprésent dans les plantes. Il piège le radical ($O_2^{\cdot-}$) par formation du radical semi dehydroascorbate qui est réduit par le glutathion (Ratnam et al., 2006).

L' α -tocopherol ou vitamine E est une vitamine localisée au niveau de la membrane des thylakoïdes des chloroplasts. Elle réduit la formation des radicaux libres tels que les lipoperoxydes et les radicaux d'oxygène (Desel et al., 2007).

III.1.2.2. Glutathion

Glutathion Reductase (GR) existe principalement dans le chloroplaste et réduit le disulfure de glutathion (GSSG) au glutathion (GSH). Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par le glutathion peroxydase (GPx) (Sahoo et al., 2017).

III.1.2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes se trouvent généralement dans les feuilles, les parties florales et les pollens (Olsen et al., 2010). Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($OH^{\cdot}$), anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et radicaux peroxylipidiques grâce à leur groupement hydroxyle ($C3-OH$) fortement réactif (Ghedira, 2005).

III.2. Méthodes d'evaluation des activités antioxydantes

III.2.1. Test de réduction du radical DPPH

La méthode de mesure du pouvoir antioxydant par le DPPH (2,2-Diphényl-picrylhydrazine) repose sur la capacité d'un composé à réduire le radical $DPPH^{\cdot}$. La réduction se traduit par un changement de couleur de la solution qui vire du violet au jaune en présence d'un composé antiradicalaire. La réaction est alors quantifiée en mesurant l'absorbance de la solution par spectrophotométrie à 490 nm. Le changement de la coloration du violet au jaune est proportionnel au pouvoir antioxydant (Habibou et al., 2019).

III.2.2. Test du pouvoir de réduction du fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Le fer ferrique initialement jaune, se réduit et devient bleu ou vert en présence d'un atome d'électron. Le changement de la coloration de jaune à bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydante (**Habibou et al., 2019**).

III.3. Activité anti-inflammatoire**III.3.1. Inflammation**

L'inflammation est une réponse biologique complexe des tissus vasculaires aux stimuli nocifs tels que les microorganismes pathogènes, les cellules endommagées ou les irritants (physiques ou chimiques). C'est un mécanisme de défense visant à éliminer les stimuli nocifs et à initier le processus de guérison des tissus (**Arawwawala et al., 2010**). L'inflammation est caractérisée par cinq signes cliniques principaux : rougeur, gonflement, douleur, chaleur et perte de fonction (**Winyard et Willoughby, 2003**). Elle peut être aiguë ou chronique. De nombreuses maladies dégénératives, telles que la polyarthrite rhumatoïde, la tendinite de l'épaule, les maladies cardiaques, l'asthme et les maladies inflammatoires de l'intestin, sont souvent associées à des processus inflammatoires (**Iwalewa et al., 2007**). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments couramment prescrits. Cependant, les effets secondaires des anti-inflammatoires disponibles actuellement posent un problème majeur dans leur utilisation clinique. Par exemple, certains AINS peuvent provoquer des ulcères gastriques et des lésions rénales, avec des effets secondaires au niveau du système gastro-intestinal, allant des symptômes digestifs, de l'érosion gastro-intestinale, des ulcères gastriques à des complications plus graves comme des saignements excessifs ou une perforation (**Corrado et al., 2009**).

III.3.1.1. Types de la réaction inflammatoire:

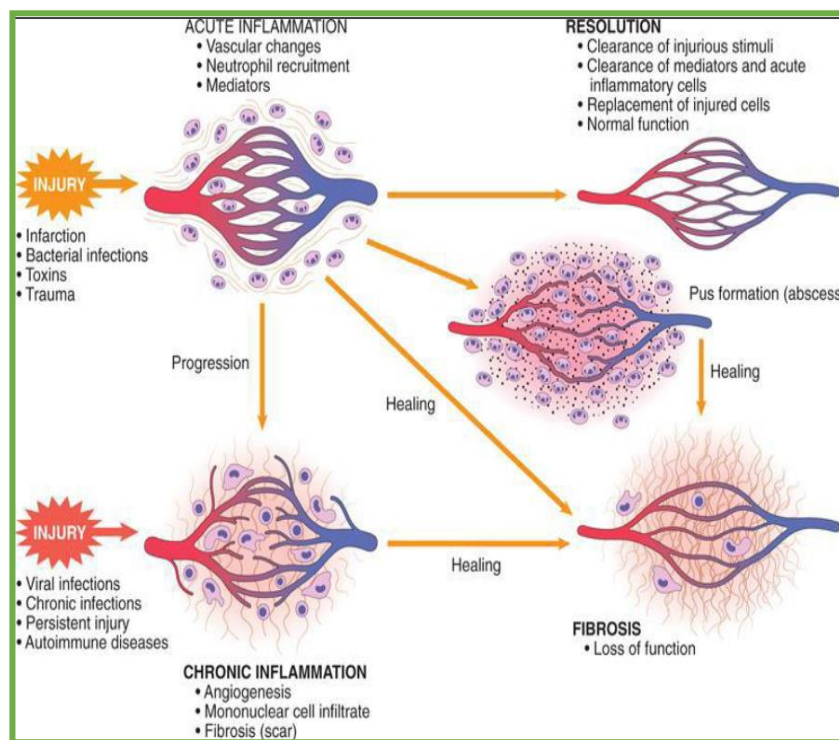


Figure 16: Schéma récapitulatif de l'inflammation aiguë et de l'inflammation chronique (Kumar *et al.*, 2013).

III.3.1.2. Les Biomarqueurs de l'inflammation:

- La Procalcitonine
- Cytokines
- Protéine C réactive (CRP):

La CRP est une protéine de 117,5 kDa qui est composée de 5 monomères (Hachulla, 1989). Elle a la propriété de précipiter avec le polysaccharide C du pneumocoque, chez les espèces humaines. C'est une protéine de la phase aiguë de l'inflammation qui est synthétisée par l'hépatocyte. Sa synthèse est essentiellement stimulée par l'interleukine 6 (IL-6), mais également par l'IL-1 β et le TNF α . Sa concentration plasmatique normale est inférieure à 6 mg. L-1. Son ascension est précoce dès la 10^e heure en cas de réaction inflammatoire, et sa concentration peut atteindre 1 000 fois la valeur basale en 48 heures (Fourcade et Sacrista, 2001).

III.3.2. Anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

Les AINS, à la différence des glucocorticoïdes, regroupent différentes classes chimiques de synthèse de structure non stéroïdienne (Muster, 2005). Ce sont des médicaments symptomatiques capables de s'opposer au processus inflammatoire, quelle qu'en soit la cause.

(Mécanisme, chimique, infectieuse, immunologique) et ils sont très efficaces pour la douleur et l'inflammation. En raison de leurs propriétés, cette classe thérapeutique est l'une des plus utilisées dans le monde (4,5% de la consommation médicamenteuse des pays industrialisés) (Taïba et *al.*, 2017).

- **Mécanisme d'action**

Au cours de l'inflammation, les phospholipase A2 sont alors activées transformant les phospholipides membranaires en acide arachidonique qui sera métabolisé en prostaglandines par la cyclo-oxygénase (COX) (Neant, 2017). Les AINS ont un effet anti-inflammatoire en agissant sur le métabolisme des prostaglandines:

- Ils inhibent les enzymes Cox1 et Cox2, qui transforment l'acide arachidonique en prostaglandines (PG);
- Cox-1 est exprimé en continu et assure un niveau de base des PG;
- A l'opposé, la synthèse de Cox-2 est stimulée par certaines cytokines proinflammatoires (notamment le TNF et l'IL-1), en réponse à une infection ou une inflammation;
- Cox-2 augmente la synthèse des PG pro-inflammatoires (Blain et *al.*, 2000). L'action bénéfique du 5-ASA est liée à ses propriétés anti-inflammatoires agissant sur cette phase de l'inflammation en inhibant la (COX) et par conséquent la synthèse des (PG), des leucotriènes et du facteur de transcription nucléaire NF-kB, jouant un rôle clef dans la production des médiateurs de l'inflammation.

De cette inhibition enzymatique découlent des conséquences bénéfiques ou indésirables qui dépendent en partie de l'état du malade

