



DEPARTEMENT DE PHARMACIE  
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION DU  
DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Etude botanique et physico-chimique de  
l'écorce et de la feuille du Caroubier**

Présenté par :

GUENDOOUZ Rachid

MANSOURI Khaled

Soutenu le : 06/06/2022

Les membres de jury :

**Président :**

- Pr. SELKA Adil Maître de conférences classe A en Pharmacognosie

**Membres :**

- Dr. HELALI Amel Maître assistante en Pharmacognosie
- Dr. NOREDDINE Zaki Maître-assistant en Chimie analytique
- Dr. TABTI Mohammed Assistant en Botanique médicale et Cryptogamie

**Encadrant :**

- Dr. BABA AHMED Sihem Maître assistante en Pharmacognosie

Année Universitaire : 2021/2022

# Remerciement

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nos vifs remerciements à notre encadrante **Docteur BABA AHMED Sihem** maitre assistante en pharmacognosie à l'Université de Tlemcen, faculté médecine, département de pharmacie, pour avoir accepté de nous encadrer, nous adressons notre plus profonde reconnaissance pour votre bon encadrement et pour les conseils fructueux que vous n'avez cessé de nous prodiguer.

Nous tenons à remercier vivement les membres de ce jury :

Monsieur **le professeur SELKA Adil**, maître de conférences A en pharmacognosie à l'Université de Tlemcen, faculté de médecine, département de pharmacie, nous sommes très honorés que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assuré de notre profonde gratitude.

**Docteur HELLALI Amel**, maitre-assistante en pharmacognosie à l'Université de Tlemcen, faculté médecine, département de pharmacie, pour avoir accepté de juger ce travail, Nous avons bénéficié de vos enseignements au cours de notre cursus universitaire.

**Docteur NOREDDINE Zaki** maître-assistant en Chimie analytique à l'Université de Tlemcen, faculté médecine, département de pharmacie, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire

**Docteur TABTI Mohamed** assistant en Botanique médicale à l'Université de Tlemcen, faculté médecine, département de pharmacie, pour avoir accepté de juger ce travail

Nous devons chaque bribe de notre connaissance à nos enseignants qui ont si bien mené leur noble quête d'enseigner les bases de la pharmacie. Nous les remercions non seulement pour le savoir qu'ils nous ont transmis, mais aussi pour la fierté et l'ambition que leurs personnes nous aspirent.

Nos vifs remerciements à **Mr. Bellifa** ingénieur du laboratoire de la pharmacognosie du département de la pharmacie – Tlemcen qui nous a accueillis dans son labo pour les conditions techniques mise a notre disposition pour réaliser la partie pratique

Et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail, qu'elles voient en ces mots l'expression de notre gratitude pour leur présence, pour leur dévouement et pour l'aide inestimable qu'elles nous ont apportée tout au long de ce parcours.

# Dédicaces

*Je dédie ce mémoire :*

*A Les deux personnes les plus chères à mon cœur, mon Père et ma  
Mère, qui m'ont soutenue dans mes études, et pour leurs  
encouragements et leur amour*

*A mes sœurs Nabila et Hidayet A mon frère Othmane et sa  
femme Zineb, Toutes mes expressions de mes sentiments, de  
respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de  
me porter.*

*A mes neveux Aymen et Khalil et mes nièces Firdaws et Ines*

*A toute ma famille GUENDOUZ*

*A mon cher binôme Khaled, Nous avons eu beaucoup d'échanges  
riches et intéressants qui nous ont amenés à mieux nous  
connaître .Tu es gentil, sensible et pleine de vie .J'avoue que  
j'apprécie énormément cet adorable personnage que tu es. Je vous  
dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé*

*A toutes mes camarades de la promotion de pharmacie et surtout  
notre groupe El-Mamlaka*

*A tous mes amis*

**Rachid**

*Je dédie ce mémoire :*

*A mon père, pour m'avoir soutenu moralement jusqu'à ce jour.*

*A ma mère, voici l'aboutissement de tes nombreuses nuits de prières, de ta sagesse et ta générosité*

*A mes frères Djamel et Walid et sa femme Wahiba et ma chère sœur Nadia qui ont été un soutien morale généreux et précieux pendant toutes années d'études.*

*A mon neveu Wassim et ma nièce Dina*

*A mon binôme Rachid, Merci d'être mon ami, mon frère, mon binôme, merci pour tous ces agréables et inoubliables moments passés ensemble, je te souhaite plein succès dans ta vie professionnelle.*

*A tous mes amis*

*A notre groupe El-Mamlaka*

***Khaled***

# Table des matières

<b>Remerciement</b> .....	<b>I</b>
<b>Dédicaces</b> .....	<b>II</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>IV</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>VIII</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>X</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>XI</b>
<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>2</b>
<b>Chapitre 1 : ETUDE DU CAROUBIER (<i>CERATONIA SILIQUA</i>, <i>FABACEAE</i>)</b> .....	<b>3</b>
1 Description botanique du caroubier .....	4
1.1 Classification Systématique .....	4
1.2 Nomenclature .....	4
1.3 Historique .....	4
1.4 Description morphologique .....	5
1.4.1 L'Arbre .....	5
1.4.2 L'écorce .....	5
1.4.3 Le bois .....	5
1.4.4 Les feuilles .....	5
1.4.5 Les fleurs .....	6
1.4.6 Les fruits .....	6
1.4.7 Les graines .....	7
2 Composition chimique .....	8
3 Activité physiologique- Etude toxicologique .....	8
3.1 Feuilles .....	8
3.2 La gousse .....	11
3.3 Les graines .....	12
3.4 L'écorce .....	12
3.5 Etude toxicologique .....	12
4 Emplois .....	13
4.1 Usage traditionnelle .....	13
4.2 Usage agro-alimentaire .....	14
4.3 Autres usages .....	15

<b>Chapitre 2 : LES METABOLITES SECONDAIRES .....</b>	<b>16</b>
1 Généralité .....	17
2 Classification.....	17
2.1 La classe des polyphénols.....	17
2.1.1 Les acides phénoliques .....	17
2.1.2 Les flavonoïdes .....	18
2.1.3 Les tanins.....	20
2.2 Les alcaloïdes .....	21
2.3 Les terpènes .....	22
2.3.1 Les saponosides.....	22
2.3.2 Les stérols.....	22
2.3.3 Les huiles essentielles : .....	23
2.3.4 Activités biologiques des terpènes .....	23
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>24</b>
<b>MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>25</b>
1 Matériel .....	26
1.1 Appareillage et réactif .....	26
1.2 Matériel végétal : .....	27
2 Méthode.....	27
2.1 Matière végétale .....	27
2.2 Récolte et conservation des échantillons .....	27
2.3 Etude botanique .....	29
2.3.1 Etude macroscopique .....	29
2.3.2 Examen microscopique des coupes transversales .....	29
2.3.2.1 Préparation des coupes transversales de la feuille et de l'écorce de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	29
2.3.2.2 Technique de la double coloration.....	30
2.3.2.3 Montage de la lame.....	31
2.3.2.4 Observation de la lame .....	31
2.3.2.5 Examen microscopique de la poudre .....	31
2.4 Screening tri-phytochimique .....	31
2.4.1 Opération d'extraction.....	31
2.4.2 Caractérisation des polyphénols.....	32
2.4.3 Caractérisation des flavonoïdes.....	33
2.4.4 Caractérisation des tanins catéchiques et galliques.....	33
2.4.5 Caractérisation des alcaloïdes .....	33

2.4.6	Caractérisation des Saponosides .....	33
2.4.7	Caractérisation des substances quinoniques.....	33
2.4.8	Caractérisation des stérols et les polyterpènes .....	34
2.5	Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes .....	34
2.5.1	Préparation de l'extrait .....	34
2.5.2	Dosage des composés phénoliques .....	34
2.5.3	Dosage des flavonoïdes .....	35
<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>		<b>37</b>
1	Etude botanique.....	38
1.1	Examen macroscopique .....	38
1.1.1	Ecorce.....	38
1.1.2	Feuille.....	38
1.2	Examen microscopique.....	38
1.2.1	La coupe transversale de l'écorce .....	38
1.2.2	La poudre de l'écorce .....	41
1.2.3	La coupe transversale de la feuille .....	42
1.2.4	La poudre de la feuille.....	46
2	Screening tri-phytochimique .....	47
2.1	L'écorce .....	47
2.1.1	Caractérisation des polyphénols.....	47
2.1.2	Caractérisation des flavonoïdes :.....	47
2.1.3	Caractérisation des Saponosides .....	48
2.1.4	Caractérisation des tanins catéchiques : .....	48
2.1.5	Caractérisation des tanins galliques : .....	49
2.1.6	Caractérisation des alcaloïdes .....	50
2.1.7	Caractérisation des substances quinoniques.....	51
2.1.8	Caractérisation des stérols .....	52
2.2	La feuille :.....	53
2.2.1	Caractérisation des polyphénols :.....	53
2.2.2	Caractérisation des flavonoïdes :.....	54
2.2.3	Caractérisation des Saponosides : .....	55
2.2.4	Caractérisation des tanins catéchiques : .....	56
2.2.5	Caractérisation des tanins galliques .....	56
2.2.6	Caractérisation des alcaloïdes .....	57
2.2.7	Caractérisation des substances quinoniques.....	59

2.2.8	Caractérisation des stérols et des polyterpènes .....	59
3	Dosage quantitatif des composés : .....	60
3.1	Les polyphénols : .....	60
3.2	Dosage des flavonoïdes .....	62
3.3	Histogramme récapitulatif des résultats .....	63
4	Discussion .....	64
4.1	Etude botanique .....	64
4.1.1	Analyse microscopique des coupes transversales .....	64
4.1.2	Analyse microscopique des poudres .....	65
4.2	Etude chimique .....	66
	<b>Conclusion.....</b>	<b>69</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>70</b>
	<b>Annexe .....</b>	<b>80</b>

# Liste des figures

Figure 1 : Image montrant l'arbre du caroubier .....	5
Figure 2 : Inflorescence male du Caroubier .....	6
Figure 3 : Inflorescence hermaphrodite du Caroubier.....	6
Figure 4 : Inflorescence male du Caroubier .....	6
Figure 5 : Gousse mature du caroubier .....	7
Figure 6 : Gousse verte du caroubier .....	7
Figure 7 : Les graines du caroubier .....	7
Figure 8 : Certains composés isolés à partir de l'extrait de <i>C. siliqua</i> .....	9
Figure 9 : L'épigallocatechine-3-gallate isolé par HPLC .....	9
Figure 10 : Structure générale de l'acide hydroxybenzoïque .....	18
Figure 11 : Structure générale de l'acide hydroxycinnamique .....	18
Figure 12 : Les différentes classes des flavonoïdes .....	19
Figure 13 : Structure chimique de l'acide gallique.....	20
Figure 14 : Structure chimique de l'acide ellagique .....	20
Figure 15 : Structure chimique des tanins condensés .....	21
Figure 16 : Structure chimique de la strychnine .....	21
Figure 17 : Structure chimique de la colchicine.....	21
Figure 18 : Structure chimique de la caféine.....	21
Figure 19 : Localisation de la zone de récolte (Ouled Benziane) .....	27
Figure 20 : Feuille de <i>Ceratonia siliqua</i> lavées .....	28
Figure 21 : Branches de <i>Ceratonia siliqua</i> lavées.....	28
Figure 22 : Ecorce de <i>Ceratonia siliqua</i> conservés .....	28
Figure 23 : Feuille de <i>Ceratonia siliqua</i> conservés .....	28
Figure 24 : Ecorces de <i>Ceratonia siliqua</i> séchés .....	29
Figure 25 : Feuilles de <i>Ceratonia siliqua</i> séchées .....	29
Figure 26 : Poudre de l'écorce de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	29
Figure 27 : Poudre de la feuille de <i>Ceratonia siliqua</i> .....	29
Figure 28 : La technique de découpage de l'écorce du caroubier à l'aide d'une lame rasoir ....	30
Figure 29 : Des coupes transversales de l'écorce du caroubier .....	30
Figure 30 : Technique de la double coloration.....	30
Figure 31 : Extrait aqueux, éthérique et méthanolique de la feuille du caroubier .....	32
Figure 32 : Extrait aqueux, éthérique et méthanolique de l'écorce du caroubier.....	32
Figure 33 : Extraction du triturât par le chloroforme .....	34

Figure 34 : Vue générale de la coupe transversale de l'écorce de Caroubier, <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabaceae), observée au grossissement 10x10 .....	39
Figure 35 : Un Parenchyme avec des cellules scléreuses et fibres sclérifiés de l'écorce du Caroubier , observée au grossissement 10x40 . .....	39
Figure 36 : Prismes d'oxalate de calcium observés au grossissement 10x40.....	40
Figure 37 : Grains d'amidon observés au grossissement 10x40.....	40
Figure 38 : Cellules parenchymateuses observés au grossissement 10x40.....	40
Figure 39 : Une partie de l'écorce du Caroubier observée au grossissement 10x10 .....	41
Figure 40 : Lenticelle observée au grossissement 10x40.....	41
Figure 41 : Poils tecteurs de l'écorce du caroubier observés par loupe binoculaire.....	41
Figure 42 : Eléments de la poudre de l'écorce de Caroubier <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabaceae) observés au grossissement 10x40.....	42
Figure 43 : Vue générale de la coupe transversale de la feuille de Caroubier, <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabaceae), observée au grossissement 10x10 .....	43
Figure 44 : La nervure médiane de la feuille du Caroubier observée au grossissement 10x40	44
Figure 45: Poil tecteur de la feuille du Caroubier observé au grossissement 10x40 .....	44
Figure 46 : Un fragment de limbe de la feuille du caroubier observé au grossissement 10x40 .....	45
Figure 47 : Eléments de la poudre de la feuille de Caroubier <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabaceae) observés au grossissement 10x40.....	46
Figure 48 : La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux .....	61
Figure 49 : Teneurs des polyphénols trouvée dans la feuille et l'écorce du <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabacée).....	61
Figure 50 : La courbe d'étalonnage des flavonoïdes .....	62
Figure 51 : Teneurs des Flavonoïdes trouvée dans la feuille et l'écorce du <i>Ceratonia siliqua</i> (Fabacée).....	63
Figure 52 : Histogramme récapitulatif des dosages quantitatifs des polyphénols et des flavonoïdes au niveau d'écorce de la feuille.....	63

# Liste des tableaux

Tableau I : Composés phytochimiques et activité pharmacologique de chaque partie de la plante Ceratonia siliqua .....	8
Tableau II : Appareillage et réactif utilisés .....	26
Tableau III : Caractérisation des polyphénols totaux dans l'écorce du caroubier .....	47
Tableau IV : Caractérisation des flavonoïdes dans l'écorce du Caroubier .....	48
Tableau V : Caractérisation des saponosides dans l'écorce du caroubier .....	48
Tableau VI : Caractérisation des tanins catéchiques dans l'écorce du Caroubier.....	49
Tableau VII : Caractérisation des tanins galliques dans l'écorce du Caroubier .....	50
Tableau VIII : Caractérisation des alcaloïdes dans l'écorce du Caroubier .....	51
Tableau IX : Caractérisation des substances quinoniques dans l'écorce du Caroubier .....	52
Tableau X : Caractérisation des stérols dans l'écorce du Caroubier .....	53
Tableau XI : Caractérisation des polyphénols dans la feuille du Caroubier .....	54
Tableau XII : Caractérisation des flavonoïdes dans la feuille du Caroubier.....	55
Tableau XIII : Caractérisation des saponosides dans la feuille du caroubier.....	55
Tableau XIV : Caractérisation des tanins catéchiques de la feuille du Caroubier .....	56
Tableau XV : Caractérisation des tanins galliques dans la feuille du Caroubier .....	57
Tableau XVI : Caractérisation des alcaloïdes dans la feuille du Caroubier.....	58
Tableau XVII : Caractérisation des substances quinoniques dans la feuille du Caroubier .....	59
Tableau XVIII : Caractérisation des stérols et des polyterpènes dans la feuille du Caroubier	60
Tableau XIX : Les densités optiques trouvées en fonction de la concentration de l'acide gallique .....	60
Tableau XX : Les densités optiques trouvées en fonction de la concentration de la quercétine .....	62

# Liste des abréviations

**CS** : *Ceratonia siliqua*.

**DL50** : Dose létale médiane.

**Dpph** : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.

**FAO** : L'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture.

**Faostat** : Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

**IC50** : La concentration inhibitrice médiane.

**LDL** : Lipoprotéine de basse densité.

**P.o.** : Poids oral.

**ROS** : Reactive oxygen species.

# **Introduction générale**

# Introduction générale

La plupart des substances actives couramment utilisées comme médicament proviennent de produits naturels (1). La médecine traditionnelle a permis aux chimistes d'isoler plusieurs principes actifs, d'un autre côté, elle a un intérêt public qui est justifié par le coût élevé des nouveaux médicaments, la survenue des effets secondaires, la résistance microbienne et l'absence de traitement curatif pour plusieurs maladies chroniques (2). *Ceratonia siliqua* est un arbre typiquement méditerranéen qui présente un intérêt très important et qui a connu un essor incroyable dans ces régions en raison du développement de l'industrie alimentaire et l'accroissement de la demande concernant ces produits à base de caroube (3). Le caroubier offre de nombreux avantages et intérêts socio-économiques et écologiques. Il est cultivé depuis longtemps, pour ses fruits riches en calcium, phosphore, potassium, magnésium et pectine, surtout comestibles et sucrés (4). Selon les statistiques fournies par l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale annuelle essentiellement méditerranéenne est estimée à 310000 tonnes, dont une bonne partie est fournie par l'Espagne suivie de l'Italie, du Portugal, du Maroc et de l'Algérie (5,6), et selon le Faostat (2019), la production de caroube en Algérie est passée de 3 952 tonnes en 2000 à 4043 en 2017.

En Algérie, la caroube présente aussi beaucoup d'intérêt en thérapie et en médecine traditionnelle, pour ses effets anti-diarrhéiques, anti-inflammatoires (7), antimicrobien, antidiurétique, hypocholestérolémiant et hypoglycémiant (8). Cependant, peu d'études ont été faites sur les feuilles et les écorces. Cette présente étude a pour objectifs d'identifier *Ceratonia siliqua* et mettre en évidence les éléments histologiques caractéristiques des différents organes (feuille, écorce), ainsi que la caractérisation des différentes classes phytochimiques présents et le dosage quantitatif des composés phénoliques totaux et flavonoïdes de ces sous-produits du caroubier.

Ce travail est divisé en deux grandes parties : La première concerne la recherche bibliographique traitant les généralités sur la plante *Ceratonia siliqua* L, les métabolites secondaires et les activités pharmacologiques de la plante. La deuxième partie concerne la partie expérimentale qui comporte le matériel et les méthodes utilisés lors de ce travail et un autre chapitre qui présente les différents résultats obtenus avec discussion et finalement une conclusion générale qui résume l'ensemble du travail réalisé.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

**Chapitre 1 : ETUDE DU CAROUBIER**  
**(*Ceratonia siliqua*, FABACEAE)**

## 1 Description botanique du caroubier

### 1.1 Classification Systématique (9)

**Règne :** Végétal.

**Sous-règne :** Viridiplantae.

**Embranchement :** Embryophytes.

**Sous-embranchement :** Tracheophyta.

**Classe :** Magnoliopsida.

**Sous-classe :** Rosidae.

**Ordre :** Fabales.

**Famille :** Fabaceae.

**Genre :** *Ceratonia* L.

**Espèce :** *Ceratonia siliqua* L

### 1.2 Nomenclature

Le nom scientifique du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) dérive du grec *keras* = corne et du latin *siliqua*, faisant allusion à la dureté et à la forme de la gousse. Il est également connu sous le nom de pain de Saint-Jean en référence à son utilisation présumée par Saint-Jean-Baptiste. Divers noms sont utilisés dans différentes régions du monde : En Italie « Carrubo », en France « Caroubier », en Allemagne « Karubenbaum », en Grèce « Charaoupi », en Turquie « Charnup » et en Espagne "Garrofero" ou "Algarrobo". Le nom commun arabe « kharrub » vient de l'hébreu kharuv (10).

### 1.3 Historique

L'utilisation de la caroube remonte à l'Égypte Antique, les gousses nourrissaient les bétails et la gomme était utilisée comme adhésif dans la reliure de momie. Les Arabes utilisaient la graine de caroube comme unité de poids. Ils ont appelé la graine *quirat* ou *carats* et le poids standard de la graine de caroube est devenu l'unité de poids pour les pierres d'or et précieuses (11). Les grecs ont introduit la caroube dans certains pays européens, comme la Grèce et l'Italie, et les Arabes l'ont répandue le long de la côte nord-africaine et au nord en Espagne et au Portugal (10).

### 1.4 Description morphologique

#### 1.4.1 L'Arbre

*Ceratonia siliqua* est un arbre typiquement méditerranéen qui croît sous les climats chauds et peut atteindre une quinzaine de mètres de hauteur. Il possède une cime très étalée et arrondie. Le tronc est épais, très crevassé, tortueux comme l'olivier, car le caroubier pousse aussi lentement et vit longtemps, jusqu'à 500 ans avec un tronc dont la base peut atteindre 2 à 3 mètres de circonférence (**Figure 1**) (12,13).



**Figure 1 : Image montrant l'arbre du caroubier**

#### 1.4.2 L'écorce

Cette espèce ligneuse a une écorce lisse et grise lorsque l'arbre est jeune, brune et rugueuse à l'âge adulte (14).

#### 1.4.3 Le bois

Son bois est blanc-jaunâtre lorsqu'il est jeune et devient rose veiné puis rouge foncé et dur en vieillissant. Il est très apprécié en ébénisterie, marqueterie, armurerie, charronnage et aussi pour la fabrication du charbon (12).

#### 1.4.4 Les feuilles

Les feuilles persistantes, de longueur de 10 à 20 cm, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant de 8 à 15 folioles, opposés, de 3 à 7 cm. Elles

## Chapitre 1 : Etude du Caroubier (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*)

sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées au sommet avec une couleur vert noir brillante à la face supérieure et vert pâle à la face inférieure. Le caroubier ne perd pas ses feuilles en automne sauf en juillet chaque deux ans, et ils renouvellent les feuilles au printemps (15).

### 1.4.5 Les fleurs

Le caroubier est une espèce dioïque avec quelques formes hermaphrodites. Les fleurs sont initialement bisexuées et deviennent fonctionnellement unisexuées en suppression d'organes subséquent (16). Elles sont regroupées en grappes latérales, habituellement dressées ou ascendantes, brièvement pédonculées (15). La morphologie florale chez cette espèce est très complexe dont on peut distinguer :

- Des inflorescences males avec des étamines courtes ou bien longues (Figure 2).
- Des inflorescences femelles avec des étamines rudimentaires (Figure 3).
- Des inflorescences hermaphrodites (16) (Figure 4).



Figure 2 : Inflorescence male du Caroubier



Figure 3 : Inflorescence hermaphrodite du Caroubier



Figure 4 : Inflorescence male du Caroubier

### 1.4.6 Les fruits

Le fruit est une gousse indéhiscente, allongée, comprimée, droite ou courbée, épaisse et mesure 10 à 30 cm de longueur sur 1,5 à 3,5 cm de largeur et environ 1 cm d'épaisseur avec un sommet arrondi ou subaigu (16). Elle se compose principalement de deux éléments : la pulpe qui comprend le péricarpe enveloppant le mésocarpe et les graines.

## Chapitre 1 : Etude du Caroubier (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*)

---

La gousse possède initialement une couleur verte (**Figure 6**) puis devient brun foncé à noire et parfumées à maturité (**Figure 5**) (17).



**Figure 5 : Gousse mature du caroubier**



**Figure 6 : Gousse verte du caroubier**

### 1.4.7 Les graines

Les graines sont ovoïdes, rigides, d'une couleur qui peut-être marron ou rougeâtre (**Figure 7**) (10). Elles sont constituées de trois éléments : le tégument, la radicule, l'endosperme dont la longueur et la largeur sont respectivement de 8 à 10 mm et de 7 à 8 mm (18).



**Figure 7 : Les graines du caroubier**

## 2 Composition chimique

**Tableau I : Composés phytochimiques et activité pharmacologique de chaque partie de la plante *Ceratonia siliqua* (3)**

---

Partie <i>Ceratonia</i> <i>siliqua</i>	Composés phytochimiques
Feuilles	Acide gallique, kaempférol, acide tannique, hydrate, polydatine, quercétine, rutine, biocanine, myricétine, naringénine, génistéine, catéchine, taxifoline épigallocatechine-3-gallate, épicatechine-3-gallate.
Gousses	Sucres (saccharose, fructose, glucose, xylose), catéchine, épicatechingallate, épigallocatechingallate, épigallocatechine, quercétine, hydroxytyrosol, acide tannique, acide gallique, acide protocatechuique, acide gentisique, acide syringique, acide p-coumarique, m-coumarique Acide, acide synaptique, acide benzoïque, théophylline Lésion gastrique.
Graines	
Endosperme	Galactomannane, rhamnose, arabinose, xylose, mannose, glucose galactose .
Germe	Acide gallique, catéchine, acide gentisique, acide férulique, vanilline, théophylline, acides gras (acide oléique, acide linoléique, acide palmitique, acide stéarique), tous les acides aminés essentiels (acide glutamique).

---

## 3 Activité physiologique- Etude toxicologique

### 3.1 Feuilles

- Anti diarrhéique : les feuilles de *Ceratonia siliqua* possède une activité anti-diarrhéique significative en raison de son effet inhibiteur sur la propulsion gastro-intestinale, la sécrétion de liquide et des électrolytes (19).

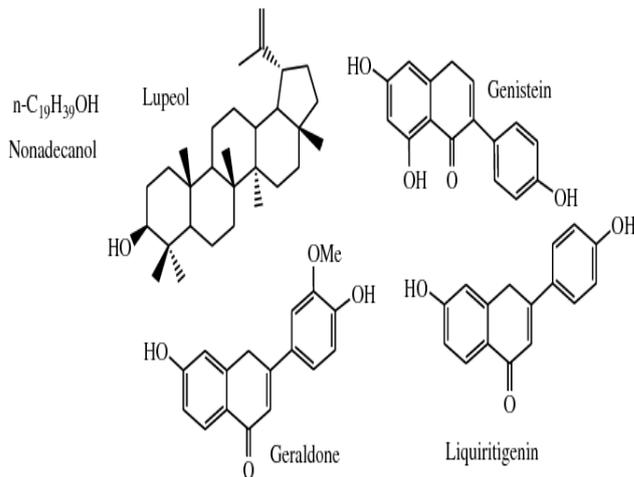


Figure 8 : Certains composés isolés à partir de l'extrait de *C. siliqua*

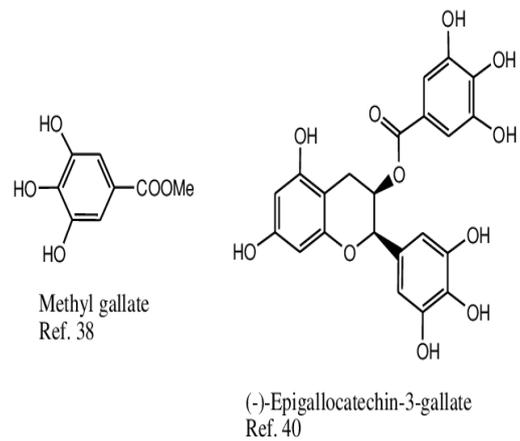


Figure 9 : L'épigallocatechine-3-gallate isolé par HPLC

- Antidiabétique :
  - ✓ Il a été rapporté que les feuilles de *Ceratonia siliqua* inhibent l' $\alpha$ -amylase et le glucoside, suggérant l'utilisation de *Ceratonia siliqua* comme agent antidiabétique (20). L'extrait a montré sa complexation avec le glucose in vitro. Ces résultats suggèrent que les préparations alimentaires obtenues avec des feuilles de *C. siliqua* pourraient contribuer à moduler la digestion des glucides chez l'homme (21).
  - ✓ L'administration d'alloxane aux rats à une dose de 150 mg/kg par voie intra péritonéale a provoqué une augmentation d'environ 1,5 fois des mesures de la glycémie à jeun. Le traitement quotidien avec L'extrait aqueux hydraté chaud et froid des feuilles de *Ceratonia siliqua* qui a duré trois semaines a entraîné une diminution dose-dépendante de 25 à 62 % des taux de glucose sanguin des rats étudiés. L'effet thérapeutique maximum des extraits a été atteint après deux semaines d'utilisation qui ont persisté pendant la 3<sup>ème</sup> semaine de traitement. Les extraits de la plante ont provoqué une diminution significative de la glycémie avec une dose de 250 mg/kg p.o. Les images histologiques correspondant au pancréas de rats anciennement dégénérés par 'alloxane' ont révélé leur restauration après traitement avec des extraits aqueux chauds et froids (22).
- Activité antivirale : L'extrait de feuilles a été mis en suspension en ajoutant 5,0 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO) a été testé contre le virus de la maladie de Newcastle et s'est avéré partiellement actif (23).
- Anxiolytique et sédative : Des extraits méthanoliques de feuilles et de gousses ont été préparés et testés pour la liaison aux récepteurs centraux et périphériques des benzodiazépines. Les

## Chapitre 1 : Etude du Caroubier (*Ceratonia siliqua*, *Fabaceae*)

---

extraits de feuilles, en particulier les jeunes feuilles, se sont avérés plus actifs mais aucun composé actif n'est indiqué (24).

- Antioxydants :

- ✓ Une étude a rapporté que l'activité antioxydant était étroitement liée à la teneur en phénols d'extraits de trois variétés de feuilles de caroubier marocain (25). En effet, les extraits ont montré des activités significatives dans tous les tests antioxydants par rapport aux étalons de référence, à savoir l'acide ascorbique (AA) et l'hydroxytoluènebutylé (BHT) de manière dose-dépendante. Dans le test de récupération DPPH, l'acétate d'éthyle de la femelle greffée était le plus efficace avec une IC50 de 0,41 g/l tandis que l'IC50 du BHT était de 0,21 g/l.
- ✓ Les extraits de feuilles de *C. siliqua* ont également montré une puissante activité de réduction du pouvoir oxydant. La faible activité antioxydant du dichlorométhane et de l'extrait d'éther diéthylique peut s'expliquer par la polarité et l'extraction des composés dans ces deux solvants. Ces résultats ont été confirmés par des études (20,26) qui soutiennent que les extraits organique et aqueux des feuilles de *C. siliqua* sont une source prometteuse d'antioxydants naturels riches en phénols et en flavonoïdes.

- Anticancéreux :

- ✓ Cancer colorectal : Le cancer colorectal (CCR) est le deuxième et le troisième cancer le plus fréquent chez les femmes et les hommes, respectivement. En effet le CCR est le quatrième cancer le plus mortel au monde (après les cancers du poumon, du foie et de l'estomac). Récemment des études ont démontré que l'extrait polyphénolique des feuilles de *C. siliqua* a inhibé la prolifération des lignées cellulaires HCT-116 et CT-26, de manière dose-dépendante (27).
- ✓ Cancer du sein : Des extraits méthanoliques de gousses et de feuilles ont été préparés et testés pour des activités antiprolifératives et apoptotique dans les cellules cancéreuses du sein humain MDA-MB-231, les deux se sont révélés actifs, avec une activité plus élevée des feuilles. Les auteurs associent ces activités à la présence de composés phénoliques (28).
- ✓ Cancer du col de l'utérus : L'extrait de feuille de caroube diminuerait la viabilité cellulaire en fonction de la dose et du temps. L'activité cytotoxique in vitro a été associée à l'apoptose, cependant, une augmentation de la production de ROS n'a pas été observée. En outre, une réduction de la viabilité des cellules HeLa a été détectée avec l'acide gallique, la (+) catéchine et la quercétine avec des niveaux de 8, 11,9 et 27,1% respectivement (29).

### 3.2 La gousse

- Anti-athérosclérose : les fibres insolubles de la gousse de caroube (IFC) a exercé des effets anti-athérosclérotiques chez les lapin par le biais du coactivateur-1 $\alpha$  du récepteur activé par la sirtuine-1 cela permettre de réduire les concentrations sériques de cholestérol , triglycérides et LDL est jouer un rôle chez la population atteinte de dyslipidémie **(30)**.
- Antidépresseur : Une étude a montré l'effet facilitateur de *Ceratonia siliqua* sur la fonction dopaminergique. Cette étude examine l'activité antidépressive de la teneur totale en polyphénols de l'extrait de (CS) chez la souris à l'aide d'un test de suspension de la queue (TST) et d'un test de nage forcée (FST). Le temps d'immobilité dans le TST et le FST ont été significativement réduits par l'extrait ce qui affirme activité antidépressive **(31)**.
- Activité antifibrotique : Des gousses sèches sans graines et sans fibres ont été extraites avec de l'eau et testées contre la fibrose hépatique induite par *Schistosoma mansoni* et pour la réduction du stress oxydatif chez la souris. Une activité importante a été constatée **(32)**.
- Anti-inflammatoire :
  - ✓ Un galactomannane extrait de gousses de caroube, que les auteurs appellent LBG (la gomme de caroube) a été utilisé comme agent de contraste dans l'entéroclyse par résonance magnétique (MRE) pour l'imprégnation de la maladie de Crohn (maladie inflammatoire chronique de l'intestin). Il a donné les meilleurs résultats lorsqu'il est utilisé avec de l'eau et du mannitol **(33)**.
  - ✓ Une autre étude a montré que tous les paramètres indiquant la présence d'une inflammation induite par le dextran sulfate de sodium (5%) tels que l'indicateur principal myeloperoxydase et les cytokines (TNF- $\alpha$  et IL-1b) étaient inhibés par l'extrait aqueux de gousses de caroube, ce qui suggérant que la caroube peut avoir un effet anti-inflammatoire puissant sur le tissu colique enflammé et le plasma chez le rat **(34)**.
- Effets antiprolifératifs sur la lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire : Des extraits de gousses et de feuilles de caroube (*Ceratonia siliqua* L.) ont été testés pour leur capacité à inhiber la prolifération cellulaire de la lignée cellulaire de carcinome hépatocellulaire de souris (T1). Les deux extraits ont montré une altération marquée de la prolifération des cellules T1 d'une manière liée à la dose atteignant l'effet maximal à 1 mg/ml. De plus, Ils ont démontré que des extraits de feuilles et de gousses étaient capables d'induire l'apoptose dans les lignées

cellulaires T1 après un traitement de 24 h médiant une activation directe de la voie caspase-3 (35).

### **3.3 Les graines**

- Spermatogène : Une étude expérimentale a démontré les effets antioxydants de l'extrait de *Ceratonia* sur l'amélioration de la toxicité induite par le cyclophosphamide (CP) sur la spermatogenèse (36,37).
- Antidiabétique et hypolipidémiant : La consommation d'extrait hydroalcoolique de graines de *Ceratonia siliqua* peut entraîner une baisse de la glycémie et des taux de lipides chez les rats mâles diabétiques. La diminution de la glycémie est probablement due à la présence de fibres, de phytostérols et de tocophérol dans l'extrait. De même ces composés pourraient empêcher l'absorption des lipides et augmenter la concentration des acides biliaires, en diminuant ainsi les taux de lipides sanguins (38).

### **3.4 L'écorce**

- Activité anti-inflammatoire : L'extrait méthanolique d'écorce de *Ceratonia siliqua* a été étudié pour ses propriétés anti-inflammatoires en utilisant du carraghénane et un œdème expérimental de la patte postérieure induit par un traumatisme chez des rongeurs à la dose de 50, 100, 200 mg/kg respectivement, L'indométacine à 10 et 20 mg/kg a été utilisée comme standard. D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanolique d'écorces de *Ceratonia siliqua* a montré une réduction significative ( $P \leq 0,001$ ) et une inhibition de l'œdème comparable au médicament de contrôle et de référence utilisé dans les deux modèles et cela a justifié l'usage de *Ceratonia siliqua* dans le traitement des affections inflammatoires (39).

### **3.5 Etude toxicologique**

Les propriétés toxicologiques de *C. siliqua* ont été étudiées sur des lapins blancs mâles de Nouvelle-Zélande. Dans ce contexte, dans le groupe de traitement, les lapins ont reçu 10 cc de cures de caroube en faisant bouillir le fruit de la caroube. Aucun signe toxicologique ou décès lié à l'extrait de caroube n'a été observé tout au long de la période d'expérience de 7 semaines.

En ce qui concerne les paramètres hématologiques et physiologiques et les aspects histologiques des organes tels que le foie, les reins, les poumons, le cerveau et le cœur dans cette étude, l'utilisation de la caroube chez les animaux n'a causé aucun effet toxicologique et peut être utilisée pour la consommation humaine (40).

Un test de toxicité aiguë a été réalisé afin d'évaluer l'innocuité de cette plante, l'extrait méthanolique a été administré par voie orale à différentes doses (2000 et 5000 mg/kg p.o.). Aucune différence significative de poids corporel n'a été notée entre le groupe témoin et aucun des groupes traités à aucun moment. En outre, l'extrait n'a produit ni mort ni symptômes associés à une toxicité tels que convulsions, ataxie, diarrhée ou augmentation de la diurèse et aucun comportement anormal chez les animaux testés aux doses testées pendant la période d'observation de 72h. Par conséquent, nous pouvons conclure que la DL50 orale est supérieure à 5 g/kg chez la souris. Ces résultats indiquent l'efficacité et la sécurité relative de *Ceratonia siliqua*.(39).

## 4 Emplois

### 4.1 Usage traditionnelle

- ✓ Le caroubier pousse naturellement dans la région méditerranéenne. L'utilisation empirique des cures de caroube en faisant bouillir le fruit de la caroube est très courante en Turquie pour ses effets sur l'asthme, la diarrhée et ses propriétés aphrodisiaques (40).
- ✓ La pulpe du fruit triturée dans l'eau donne un jus rafraîchissant, diurétique, béchique et laxatif. il est très bon pour la diarrhée (41).
- ✓ Ces fruits sont traditionnellement utilisés comme antitussifs et contre les verrues (42,43).
- ✓ Les caroubes avec le fenugrec, les raisins secs, le cumin. et de figes sèches faire: une tisane prise lors de l'accouchement quand il est difficile d'arrêter l'hémorragie (41).
- ✓ La caroube et les figes est cuite pour donner une compote brune qui est donnée aux femmes lorsqu'elles se lèvent après l'accouchement (41).
- ✓ La médecine traditionnelle iranienne utilise la caroube dans la prise en charge des ménorragies .La patient doit s'asseoir dans un récipient d'une décoction de plusieurs plantes y compris la caroube (44).

- ✓ La phytothérapie traditionnelle a *Kurdistan Iraq* utilise *Ceratonia siliqua* pour soulager les douleurs abdominales et la diarrhée (45).
- ✓ En Jordanie, la décoction de feuilles de caroube utilise comme traitement antidiabétique (46).
- ✓ Une étude ethnobotanique au Maroc a révèlè utilisation la graine, la feuille, le fruit de caroubier en infusion, poudre, décoction pour .Le soulagement de la peau et le système digestif (47).

### 4.2 Usage agro-alimentaire

Les gousses de caroube ont longtemps été utilisées comme matières premières pour la production d'additifs alimentaires (48) . En raison de sa douceur, de sa saveur au chocolat et de son faible prix, les gousses moulues à la farine sont largement utilisées dans la région méditerranéenne comme alternative au cacao dans la production de confiseries, de biscuits et de boissons transformées (49,50,51,48). Aussi, l'avantage de l'utilisation de la poudre de caroube comme substituant du cacao c'est qu'il ne contient pas de caféine et de théobromine (52), C'est un épaississant, aromatisant naturel et un stabilisant , qui est ajouté à une grande variété de produits, comme les crèmes glacées, les bonbons et les soupes (48,51).

La farine de caroube est traditionnellement utilisée comme additive protéique dans les aliments destinés à la consommation humaine et animale car elle contient une teneur en acides aminés bien équilibrée (53).

La farine du caroubier a été identifiée dans un brevet de 1935 comme possédant de propriétés similaires au gluten. Lorsqu'elle était utilisée dans un système de pain levé à la levure contenant 30 % de farine du caroubier et 70 % de farine sans gluten, le pain se présente avec des qualités similaires à celles d'un pain de seigle européen (54).

Différents aliments peuvent être dérivés de la pulpe de caroube comme les sirops de sucre ou de mélasse, la poudre de caroube non torréfiée et torréfiée peut être utilisée comme substitut de cacao dans les pâtes, les barres de céréales, les confiseries au chocolat, les crèmes glacées et les produits légers (55,56,57).

La caroube aussi est utilisée dans la fabrication d'un produit laitier artisanal connu sous le nom de « mekika ». Ce dernier est préparé par coagulation du lait avec l'extrait de gousses vertes de caroube. Il est très utilisé la région Eklim El Kharoub dans le Chouf (Sud de Beyrouth – Liban ) ou l'on trouve en parallèle avec la culture du caroubier (58).

### **4.3 Autres usages**

Les graines, qui ne représentent qu'environ 10 % du poids de la cabosse, sont utilisées comme additif alimentaire naturel (E-410) dans l'industrie alimentaire pour leur effet épaississant, stabilisant et aromatisant. C'est une poudre blanche à crémeuse, connue sous le nom de gomme de caroube, elle est extraite de l'albumen des graines (59). Cette gomme est également utilisée dans les industries cosmétique, pharmaceutique, textile, de la peinture, du forage pétrolier et de la construction (60).

L'extrait aqueux des écorces est utilisé comme colorant de qualité dans les investigations histopathologiques (61).

# **Chapitre 2 : LES METABOLITES SECONDAIRES**

### 1 Généralité

Les métabolites secondaires sont inégalement répartis dans les plantes, ils appartiennent à différents groupes chimiques et leurs niveaux d'accumulation atteignent parfois des valeurs très élevées. La notion de « métabolites secondaires » est née de trois constats : d'abord la difficulté d'attribuer ces métabolites à des fonctions précises dans la physiologie végétale, puis d'une répartition très inégale selon les plantes, enfin, au sein d'une même espèce, une certaine « inertie biochimique » car ces substances sont rarement réactivées dans les plantes après s'y être accumulés, ils ont tendance à avoir des structures chimiques complexes. Ils représentent une source importante de molécules que l'homme peut utiliser sur le terrain (62) .

### 2 Classification

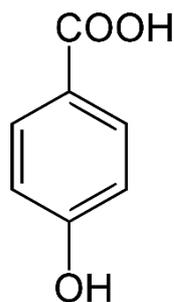
#### 2.1 La classe des polyphénols

Ces composés ont tous en commun un ou plusieurs noyaux benzéniques qui porte une ou plusieurs composés à fonction hydroxyle (63). Les acides phénoliques naturels varient des molécules simples (acides mono phénoliques) aux molécules plus polymérisées (tanins condensés) (62). D'un point de vue appliqué, ces molécules sont à la base des principes actifs présents dans les plantes médicinales, cela est lié à la difficulté de leur production. Chez l'homme, ces molécules jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et des légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effets antioxydants, prévention de l'apparition de certains cancers...) (62).

##### 2.1.1 Les acides phénoliques

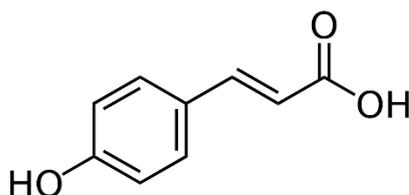
Ce sont des composés phénoliques qui possèdent une fonction acide en plus de la fonction phénol. Ils sont représentés par deux sous-classes :

- Acide hydroxybenzoïque : L'acide hydroxybenzoïque a une structure C6-C1 et est constitué d'un noyau benzénique avec des chaînes aliphatiques attachées aux carbones (**Figure 10**). Ces composés sont omniprésents dans le règne végétal et on retrouve l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique et l'acide syringique (64).



**Figure 10 : Structure générale de l'acide hydroxybenzoïque**

- Acide hydroxycinnamique : Ces composés sont très largement distribués et rarement sous forme libres, ils sont généralement estérifiés et peuvent également être amidé ou combiné avec des sucres ou des polyols, par ex : Acide quinique. Ce sont des composés aromatiques à trois carbones latéraux dans la chaîne C6-C3 (**Figure 11**) , y compris l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide coumarique et l'acide sinapique (**65**).



**Figure 11 : Structure générale de l'acide hydroxycinnamique**

Les acides phénoliques ont des propriétés biologiques intéressantes : Anti-inflammatoires, antiseptiques, immunostimulants (**66**), antioxydants (**67**). La molécule la plus active pharmacologiquement c'est l'acide caféique, qui est très efficace contre les virus, les bactéries et les champignons (**68**). L'acide gallique a la capacité de réduire la viabilité des cellules cancéreuses du poumon chez la souris in vitro, et la combinaison de cet acide avec des médicaments anticancéreux tels que le cisplatine peut traiter efficacement ces cancers (**69**).

### 2.1.2 Les flavonoïdes

C'est parmi les groupes les plus représentatifs des composés phénoliques (**70**). Ces molécules ont des structures chimiques différentes et des propriétés spécifiques. Ils sont omniprésents et responsable de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (**71**).

Dans la nature, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**72**).

La chimie des flavonoïdes dépend de leur classe structurelle, de leur degré d'hydroxylation et de méthylation, de leur degré de polymérisation, de la substitution du cycle

C et de la conjugaison : la présence de la double liaison C2-C3, groupe 3-O et la fonction 4-oxo (73). Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes en fonction de leur squelette : flavones, flavonols, anthocyanidines, flavanones, flavanols, isoflavones (Figure 12) (74).

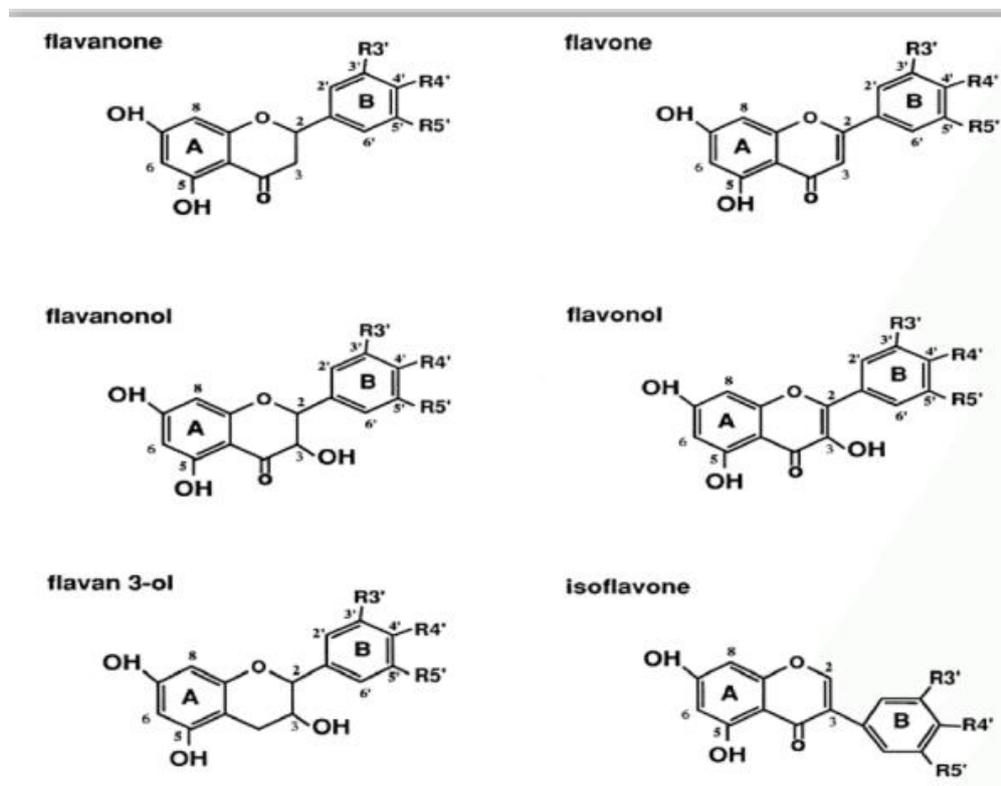


Figure 12 : Les différentes classes des flavonoïdes (74)

Les flavonoïdes peuvent prévenir les dommages oxydatifs grâce à plusieurs mécanismes d'action. En éliminant les radicaux hydroxyle, superoxyde, alcoxyle et peroxyde (75). Soit par chélation des métaux (fer et cuivre), qui sont importants pour l'initiation des réactions radicalaires, soit ils inhibent les enzymes impliquées dans la production de radicaux libres (76).

Ils sont très importants dans le traitement du diabète (inhibition de l'aldose réductase), de la goutte (inhibition de la xanthine oxydase), de l'inflammation (inhibition de la lipoxigénase, de la phospholipase et de la cyclo-oxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), de la thrombose (Flavonols), maladies allergiques bactériennes et virales (anti-VIH) (68,73,77). Cependant, les flavonoïdes ont également des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques et anti-oestrogéniques (isoflavones). Ils luttent aussi contre le vieillissement cérébral et ses conséquences telles que la perte de mémoire et la confusion.

### 2.1.3 Les tanins

Substances phénoliques de haut poids moléculaire de 500-3000, elles ont la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (68,78). Les tanins sont caractérisés par un goût astringent et peuvent être trouvés dans toutes les parties de la plante, y compris l'écorce, les feuilles, les fruits et les racines (79). Deux groupes de tanins se distinguent par leur structure chimique et leur origine biogénétique :

- **Les tanins hydrolysables**

Sont des polyesters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols considérés comme des non flavonoïdes (éllagitanine, gallotanins) (80). Ces tanins subissent une hydrolyse acide et basique facilement. Ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (81).

Selon la nature des tanins hydrolysables on distingue :

- ✓ Tanins galliques : donnent des oses et de l'acide gallique (Figure 13) par hydrolyse.
- ✓ Tanins ellagiques : donnent des oses et acides ellagiques (Figure 14) à travers des enzymes (82).

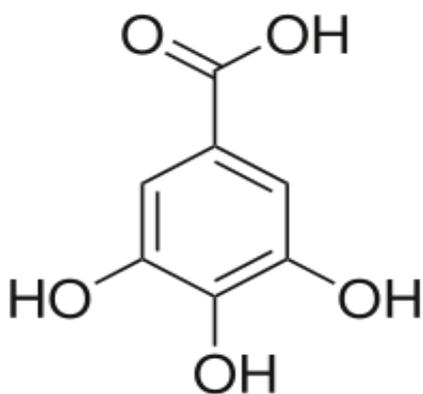


Figure 13 : Structure chimique de l'acide gallique

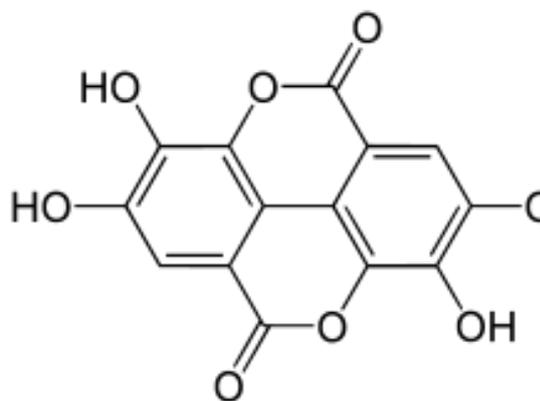


Figure 14 : Structure chimique de l'acide ellagique

- **Les tanins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidols, ce sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes, ce sont des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes, les plus importantes sont les flavanediols 3,4 et le flavon-3-ol (catéchine) qui est l'unité de base des tanins condensés (Figure 15) (83). A la différence des tanins galliques et ellagiques ces tanins ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et sont non hydrolysable (82).

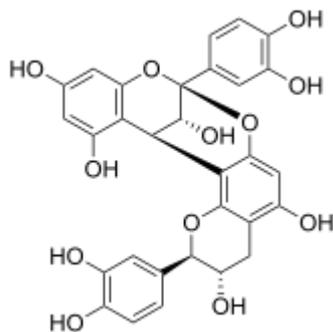


Figure 15 : Structure chimique des tanins condensés

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour les rhumes, les maux de gorge, les problèmes de sécrétion excessive, les infections internes et externes, les plaies, les coupures et les brûlures (83). De plus, les tanins ont des effets antibactériens (84), antioxydants (85), anti-diarrhéiques (86) et anti-inflammatoires très élevés (84).

## 2.2 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances basiques contenant de l'azote qui est contenu dans un système hétérocyclique (83). Cet atome d'azote est généralement dérivé d'acides aminés et sa structure carbonée reste souvent intacte dans la structure finale des alcaloïdes.

Il existe généralement :

- **Les alcaloïdes vrais** : Sont dérivés d'acides aminés, et présentent au moins un hétérocycle, (ex : la strychnine dérivée du tryptophane) (Figure 16).
- **Les proto-alcaloïdes** : Dérivent d'acides aminés dont l'azote est en dehors des structures cycliques (ex : la colchicine) (Figure 17).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : Ne dérivent pas d'acides aminés (ex : la caféine) (Figure 18) (87).

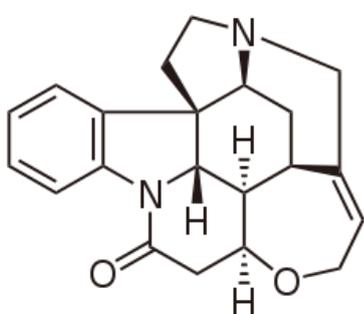


Figure 16 : Structure chimique de la strychnine

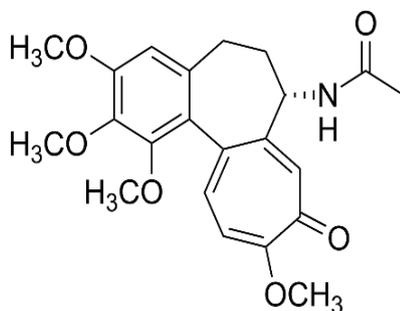


Figure 17 : Structure chimique de la colchicine

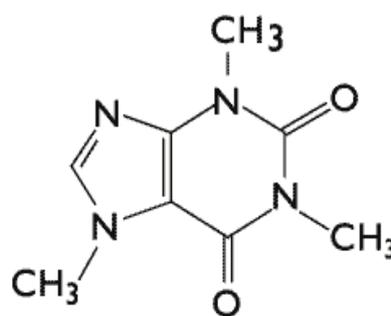


Figure 18 : Structure chimique de la caféine

## Chapitre 2 : LES METABOLITES SECONDAIRES

---

Les alcaloïdes sont rarement présents à l'état libre dans la plante, le plus souvent ils sont en combinaison avec des acides organiques ou des tanins (88).

À ce jour, certains médicaments utilisés sont des alcaloïdes naturels, qui affectent le système nerveux, ils exercent une certaine activité pharmacologique : Analgésique (cocaïne), activité anticholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine), antipaludique (quinine), antihypertenseur (résérpine), antitussif (codéine), antagoniste cardiaque et stimulants centraux (caféine), diurétiques, anesthésiques locaux (cocaïne), (morphine), anti tumoral et sympathomimétique (éphédrine) (89).

### 2.3 Les terpènes

Les terpènes constituent la classe la plus vaste et la plus diversifiée des composés organiques des végétaux, près de 15.000 structures moléculaires sont connues, on distingue ;

- Les monoterpènes avec 10 atomes de carbone.
- Les sesquiterpènes avec 15 atomes de carbone.
- Les diterpènes avec 20 atomes de carbone.
- Les triterpènes avec 30 atomes de carbone.
- Les tétraterpènes avec 40 atomes de carbone (90).

#### 2.3.1 Les saponosides

Sont abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal (91). Leur nom provient du latin (sapo) signifiant "savon" car ils peuvent former des solutions moussantes en présence d'eau (92). Ce sont des hétérosides à haut poids moléculaire, qui se composent d'une partie lipophile l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique.

Les saponosides sont classées en deux groupes en fonction de la nature de leur partie génine : Les saponosides stéroïdique et les saponosides triterpénique (83).

#### 2.3.2 Les stérols

Les stérols végétaux, appelés aussi phytostérols, sont des alcools stéroïdiens qui font partie de la famille des terpènes. Les phytostérols sont composés d'agrégats tétracycliques de

cyclopentaphénanthrène contenant un groupe hydroxyle et une chaîne latérale en position 3 du premier cycle. Les stérols végétaux ont une structure chimique similaire au cholestérol (93).

### 2.3.3 Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des produits odorants, de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau ou par distillation sèche ou par un procédé mécanique sans chauffage (83).

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y a environ 17 500 espèces aromatiques (83).

Ils peuvent être stockés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, dans les écorces, les bois, les racines et les rhizomes, les fruits et même les graines. Si tous les organes d'une même espèce contiennent des huiles essentielles, la composition des huiles essentielles variera d'un organe à l'autre (83).

### 2.3.4 Activités biologiques des terpènes

Les triterpènes ont une diversité structurelle remarquable. Cette diversité chimique se traduit par des propriétés biologiques et pharmacologiques variées : Cytostatiques, antiviraux, anti-inflammatoire, cytoprotectives, immunomodulatrices, analgésiques et antifongiques (83).

Les saponosides sont réputées de leur capacité à former des pores dans les membranes des hématies et donc entraîner l'hémolyse de cette dernière (94,95), aussi les saponines triterpénoides à squelette hédéragénine isolées de *Sapindus mukorossi* Gaertn ont des effets molluscicides contre l'escargot du pommier qui est devenu l'un des principaux parasites du riz et d'autres récoltes aquatiques (96).

Aussi, il y a plusieurs études qui ont trouvés qu'il y a des saponosides qui ont des propriétés anti-inflammatoires et antalgiques (97), antiparasitaires (98), cytotoxiques et antitumorales (99) et antioxydantes (100).

Les huiles essentiels sont généralement considérés comme des protecteurs contre les prédateurs (insectes..) aussi comme des agents allélopathiques c'est-à-dire des inhibiteur de germination (83).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

# **MATERIEL ET METHODES**

## 1 Matériel

### 1.1 Appareillage et réactif

**Tableau II : Appareillage et réactif utilisés**

<b>Réactifs</b>	<b>Appareillage</b>
Carmin aluné	Bain-Marie
Chlorure ferrique à 10%	Bain de sable
Glycérine	Balance analytique Scout Pro SPU 202
Réactif de Bornstraëgen	(China)
Réactif de Burchard	Balance électrique PA64 (Union
Réactif de Dragendorff	européen)
Réactif de Folin Ciocalteu	Loupe binoculaire
Réactif de Gazet du Chatelier	Microscope optique Opitka B-183
Réactif de Liebermann	(Italy)
Rognure de magnésium	Spectrophotomètre Biotech engineering
Réactif de Stiasny	(United Kingdom)
Trichlorure d'aluminium	Vortex VM-10 Dithan scientific (South
Vert d'iode	Korea)
<b>Verrerie</b>	<b>Produits chimiques</b>
Béchers	Acétate de sodium
Capsules en porcelaine	Acide chlorhydrique
Eprouvettes	Acide gallique
Lamelles	Acide sulfurique
Mortier	Alcool chlorhydrique
Pissette	Alcool isoamylique
Tamis	Ammoniaque
Tubes à essai	Anhydride acétique
Verres de montres	Chloroforme
	Eau distillée
	Ethanol
	Ether de pétrole
	Hypochlorite de sodium
	Méthanol

### 1.2 Matériel végétal :

- *Ceratonia siliqua* :
  - ✓ La feuille de *Ceratonia siliqua*.
  - ✓ L'écorce de *Ceratonia siliqua*.

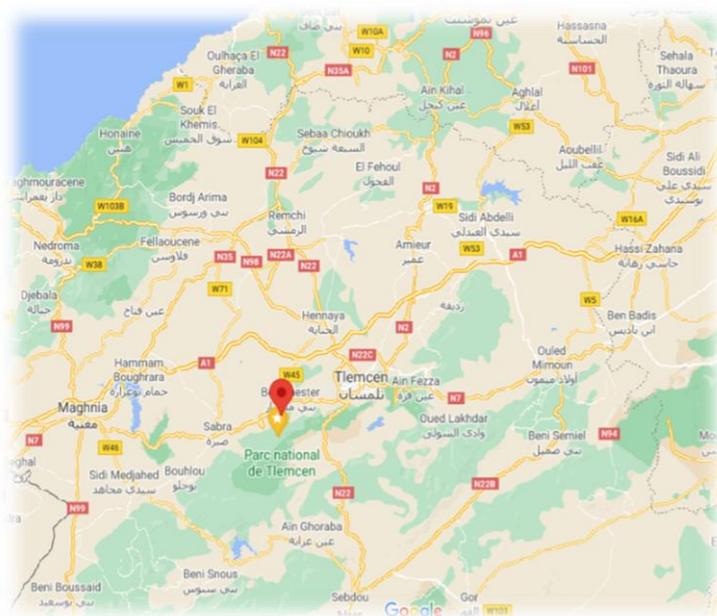
## 2 Méthode

### 2.1 Matière végétale

Le matériel végétal utilisé pour l'étude a été collecté dans deux régions de Tlemcen.

Pour l'écorce une sortie a été faite vers Ouled Benziane dans les hauteurs de Zelboun à la wilaya de Tlemcen : cordonnée géographique 34°49'29.3"N 1°26'20.2"W le 15 octobre 2021.

Les feuilles sont récoltées dans la région de Remchi cordonnée géographique 35°04'06.6"N 1°25'48.6"W le 23 octobre 2021 (**Figure 19**).



**Figure 19 : Localisation de la zone de récolte (Ouled Benziane)**

### 2.2 Récolte et conservation des échantillons

Les branches entières récoltées sont bien lavées puis acheminées au laboratoire pour écorçage et fragmentation (**Figure 20 et 21**).



**Figure 20 : Feuille de *Ceratonia siliqua* lavées**



**Figure 21 : Branches de *Ceratonia siliqua* lavées**

Une partie est conservée directement dans un mélange de glycérine – eau – alcool V (1/3–1/3–1/3) pour l'analyse microscopique des coupes transversales. Ce traitement permet un ramollissement des tissus pour pouvoir pratiquer les coupes transversales de façon aisée. Il permet aussi une bonne conservation (**Figure 22 et 23**).



**Figure 22 : Ecorce de *Ceratonia siliqua* conservés**



**Figure 23 : Feuille de *Ceratonia siliqua* conservés**

Une autre partie a subi un séchage à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante (**Figure 24 et 25**). Une fois séchés, les fragments de chaque drogue sont finement broyés l'aide d'un mortier et/ou un broyeur automatique pour l'observation microscopique de la poudre, pour le screening tri-phytochimique et pour le dosage (**Figure 26 et 27**).

## MATERIEL ET METHODES



Figure 24 : Ecorces de *Ceratonia siliqua* séchés



Figure 25 : Feuilles de *Ceratonia siliqua* séchées



Figure 26 : Poudre de l'écorce de *Ceratonia siliqua*



Figure 27 : Poudre de la feuille de *Ceratonia siliqua*

### 2.3 Etude botanique

#### 2.3.1 Etude macroscopique

Une étude morphologique est réalisée à l'œil nu et/ou à la loupe binoculaire suivie d'une analyse des caractères organoleptiques des deux drogues.

#### 2.3.2 Examen microscopique des coupes transversales

##### 2.3.2.1 Préparation des coupes transversales de la feuille et de l'écorce de *Ceratonia siliqua*

À l'aide d'une lame rasoir, des fines coupes transversales de la drogue en question ont été réalisées (**Figure 28**) puis, elles ont été plongées dans un verre à montre contenant de l'eau de Javel, une coloration ultérieure est réalisée (**Figure 29**).

## MATERIEL ET METHODES



**Figure 28 : La technique de découpage de l'écorce du caroubier à l'aide d'une lame rasoir**



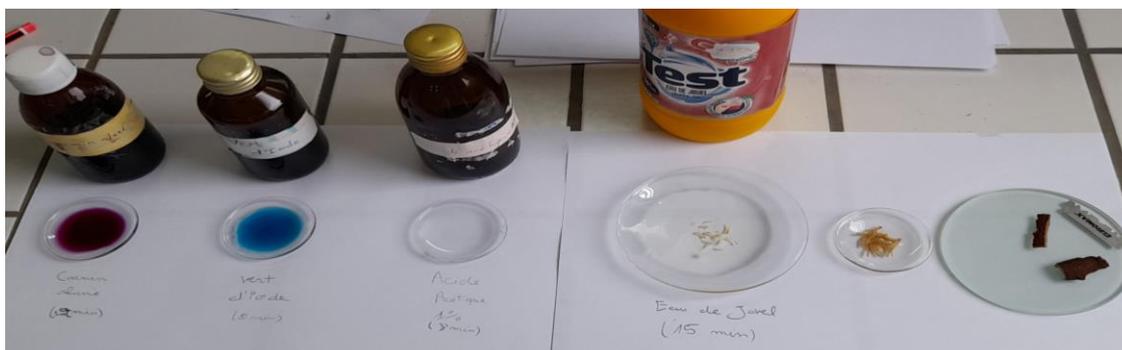
**Figure 29 : Des coupes transversales de l'écorce du caroubier**

### 2.3.2.2 Technique de la double coloration (101)

Les coupes sont placées dans une solution d'hypochlorite de sodium pendant 15 à 20 minutes, jusqu'à élimination du contenu cellulaire. Un premier lavage abondant à l'eau distillée est effectué pour éliminer l'excès d'eau de javel, par la suite, les coupes sont déposées dans un tamis qu'on fera passer dans 3 verres de montre chacun contenant une solution différente. Le premier verre de montre contient de l'acide acétique dilué à 1%, on y laisse les coupes pendant 3 à 5 min. Un deuxième lavage à l'eau distillée est nécessaire pour éliminer l'excès d'acide.

Le deuxième verre de montre referme une solution de vert d'iode, on y laisse les coupes pendant 30 secondes à 1 minute, ce réactif colore les tissus sclérifiés et subérisés en vert, jaune verdâtre ou parfois en brun, un lavage abondant des coupes est effectué pour éliminer l'excès de colorant.

Le troisième verre de montre contient le carmin aluné, dans lequel on laisse les coupes pendant 5 minutes, ce colorant, colore les tissus celluloses en rose. Un dernier lavage à l'eau distillée est nécessaire, pour éliminer l'excès de colorant. (Figure 30).



**Figure 30 : Technique de la double coloration**

### 2.3.2.3 Montage de la lame

Les coupes sont montées entre lame et lamelle, dans un liquide qui est soit de l'eau distillée soit la glycérine, la lamelle doit être inclinée d'un angle de 45° avant d'être rabattu sur la lame, pour éviter la formation de bulles d'air (102).

### 2.3.2.4 Observation de la lame

L'observation microscopique des coupes se fait à 2 grossissements : Un faible grossissement 10×10 permet d'avoir une vue générale de la coupe, puis, un plus fort grossissement 10×40 permet d'étudier chaque tissu et les détails de chaque cellule.

### 2.3.2.5 Examen microscopique de la poudre

C'est un examen qui peut être pratiqué sur une faible quantité de drogue pulvérisée, c'est un moyen de diagnose général : sur une lame portée objet une goutte d'eau est déposée et à l'aide d'un cure-dent une petite quantité de poudre est prélevée et délayée dans l'eau, sur la lame, jusqu'à ce que la poudre soit mouillée. Recouvrir d'une lamelle en appuyant légèrement avec le doigt.

Une deuxième lame a été montée dans le réactif de Gazet du Chatelier. L'examen s'est fait comme pour la coupe mais en parcourant toute la lamelle.

## 2.4 Screening tri-phytochimique

Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques en nous référant au protocole décrit dans les travaux de **Ronchetti et Russo (103)**, **Hegnauer (3)**, **Wagner (104)**, **Békro et al(105)**.

### 2.4.1 Opération d'extraction

Pour mener l'étude tri-phytochimique nous avons réalisé, sur la poudre des deux organes (feuilles et écorce), 3 extractions selon protocole mis au point par Nemlin et Brunel (106). Les extraits bruts ont été obtenus par extractions successives (**Figure 31 et 32**), avec des solvants de polarités croissantes. Dans cet ordre, nous avons utilisé l'éther de pétrole, le méthanol et l'eau.

## MATERIEL ET METHODES

Pour l'extraction à l'éther de pétrole, nous avons dissous 20 g de poudre de chaque drogue dans 60 ml d'éther de pétrole. L'ensemble a été homogénéisé par agitation manuelle pendant 10 min. La mixture a été ensuite filtrée. Le filtrat obtenu a été nommé filtrat étheré 1. Sur le marc, nous avons ajouté 60 ml d'éther de pétrole, après 10 min d'agitation puis filtration, nous avons obtenu le filtrat étheré 2. La même opération a permis d'obtenir le filtrat étheré 3. Ces 3 filtrats ont été regroupés et concentrés à 25 ml sur un bain de sable. Cette série d'opérations a conduit à une solution concentrée que nous avons appelée extrait étherique.

Après épuisement à l'éther de pétrole, le marc résiduel a été séché. La poudre obtenue a été récupérée dans 60 ml de méthanol. Dix (10) min d'homogénéisation par agitation manuelle ont permis d'obtenir le filtrat méthanolique 1. La même opération a été reprise et elle a donné le filtrat méthanolique 2. Les 2 filtrats méthanoliques réunis ont été filtrés et concentrés à 25 ml, au bain de sable, pour donner l'extrait méthanolique.

Pour préparer l'extrait aqueux, nous avons infusé 5g de la poudre sèche de chaque drogue dans 50 ml d'eau distillée, pendant 15 min. L'infusé a été filtré pour produire l'extrait aqueux.



**Figure 31 : Extrait aqueux, étherique et méthanolique de la feuille du caroubier**

**Figure 32 : Extrait aqueux, étherique et méthanolique de l'écorce du caroubier**

### 2.4.2 Caractérisation des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a permis de caractériser les polyphénols. Sur 2 ml de chaque extrait (étherique, méthanolique et aqueux), nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleue-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols.

### 2.4.3 Caractérisation des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) ml de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique à intensifier cette coloration pour confirmer la présence de flavonoïdes.

### 2.4.4 Caractérisation des tanins catéchiques et galliques

La recherche des tanins catéchiques est réalisée par le réactif de Stiasny. Cinq (5) ml de chaque extrait ont été évaporés à sec. Le résidu est repris par 15 ml de réactif de Stiasny, le mélange a été chauffé au bain-marie à 80°C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons caractérise les tanins catéchiques.

Pour les tanins galliques, la solution précédente est filtrée et le filtrat est récupéré et saturé d'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  provoquerait l'apparition d'une coloration bleu-noir intense, signe de la présence de tanins galliques.

### 2.4.5 Caractérisation des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été caractérisés par les réactifs de Burchard (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). Six (6) ml de chaque solution ont été évaporés à sec. Le résidu est repris par 6 ml d'alcool à 60°. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff sur la solution alcoolique formerait un précipité de coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Bouchardon sur la solution alcoolique formerait un précipité de coloration brun rougeâtre et indiquait une réaction positive.

### 2.4.6 Caractérisation des Saponosides

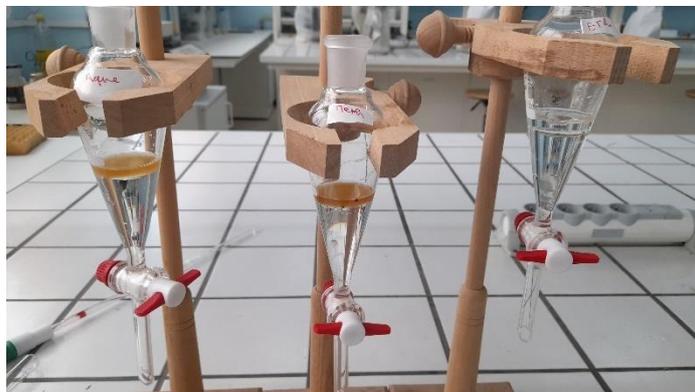
Pour rechercher les saponosides, nous avons versé, dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait total aqueux. Le tube était agité pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indiquerait la présence de saponosides.

### 2.4.7 Caractérisation des substances quinoniques

Les substances quinoniques ont été recherchées par le réactif de Bornstraëgen. Deux (2) ml de chacun des 3 extraits ont été évaporés à sec. Le résidu est trituré dans 5 ml d'acide

## MATERIEL ET METHODES

chlorhydrique au 1/5. Le triturât est versé dans un tube à essai puis porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il est extrait par 20 ml de chloroforme (**Figure 33**). L'ammoniaque diluée 2 fois (0,5 ml) a été ajoutée à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette indiquerait la présence de quinones.



**Figure 33 : Extraction du triturât par le chloroforme**

### 2.4.8 Caractérisation des stérols et les polyterpènes

Les stérols et les polyterpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Cinq (5) ml de chacun des trois extraits ont été évaporés sur un bain de sable. Le résidu est dissous à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique, nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive.

## 2.5 Dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes

### 2.5.1 Préparation de l'extrait

Une quantité de 1g de poudre des feuilles et d'écorce a été macérée dans 20 ml de méthanol pendant 48h. Après filtration, le solvant est évaporé à sec à 45°C. Le résidu est repris par 3 ml du méthanol et conservé à 4 °C jusqu'à utilisation (107).

### 2.5.2 Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acide tungstique et d'acide molybdique). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de

## MATERIEL ET METHODES

groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Singleton et Ross) (108) en y apportant quelques modifications.

- **Mode opératoire**

Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à **765 nm**.

- **Expression des résultats**

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a \times x + b$ ) réalisée par un standard étalon "acide gallique" à différentes concentrations (0,025 0,05 0,075 0,1 0,15 0,175 0,2 mg/ml) traitées dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La formule suivante a été utilisée pour le calcul de la teneur en polyphénols exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EQ/mg).

$$T = \frac{C \times V \times D}{P_s}$$

- **T** : Teneur en polyphénols.
- **C** : Concentration de l'extrait obtenue à partir de l'équation de la courbe.
- **V** : Volume d'extrait total.
- **D** : Facteur de dilution.
- **P<sub>s</sub>** : Poids de la matière sèche.

### 2.5.3 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée par dosage colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  et le nitrite de sodium ( $NaNO_2$ ). Ce réactif forme des complexes acides stables soit avec le carbonyle ( $C=O$ ) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, le trichlorure d'aluminium peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes. Ces complexes formés de coloration jaunâtres absorbent à 510 nm et la teneur des

## MATERIEL ET METHODES

---

flavonoïdes totaux est obtenue par comparaison des absorbances par rapport à une solution d'un flavonoïde de concentration connue prit comme référence.

- **Mode opératoire**

2 ml d'extrait méthanolique dilué a été mélangé avec 6 ml d'eau distillée, suivis de 600 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 7 %. Après cinq minutes d'incubation, 600 µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10 % ont été ajoutés au mélange, le tout a été laissé reposer pendant six minutes. Ensuite, 2 ml d'hydroxyde de sodium (1M) a été ajouté aux tubes. Après 5 minutes de repos, l'ensemble a été agité à l'aide d'un Vortex et la lecture a été faite à 510 nm contre un blanc de méthanol à l'aide d'un spectrophotomètre.

- **Expression des résultats**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisée par un standard étalon "la Quercétine" à différentes concentrations (0,0025 0,005 0,01 0,02 mg/ml) traitées dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La formule suivante a été utilisée pour le calcul de la teneur en flavonoïdes exprimée en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg).

$$T = \frac{C \times V \times D}{P_s}$$

- **T** : Teneur en flavonoïdes.
- **C** : Concentration de l'extrait obtenue à partir de l'équation de la courbe
- **V** : Volume d'extrait total.
- **D** : Facteur de dilution
- **P<sub>s</sub>** : Poids de la matière sèche.

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

### 1 Etude botanique

#### 1.1 Examen macroscopique

##### 1.1.1 Ecorce

Elle est brune, rugueuse et sillonnée longitudinalement sur la face externe, jaunâtre et lisse dans la face interne. L'écorce jeune est lisse et brun-verdâtre sur la face externe.

La cassure est fibreuse, l'odeur est faiblement aromatique, la saveur est amère.

La poudre est de couleur brunâtre.

##### 1.1.2 Feuille

La feuille est coriace légèrement échancrée au sommet, avec un pétiole sillonné, composée de 4 à 10 folioles de couleur verte luisante sur la face dorsale et verte pâle sur la face ventrale.

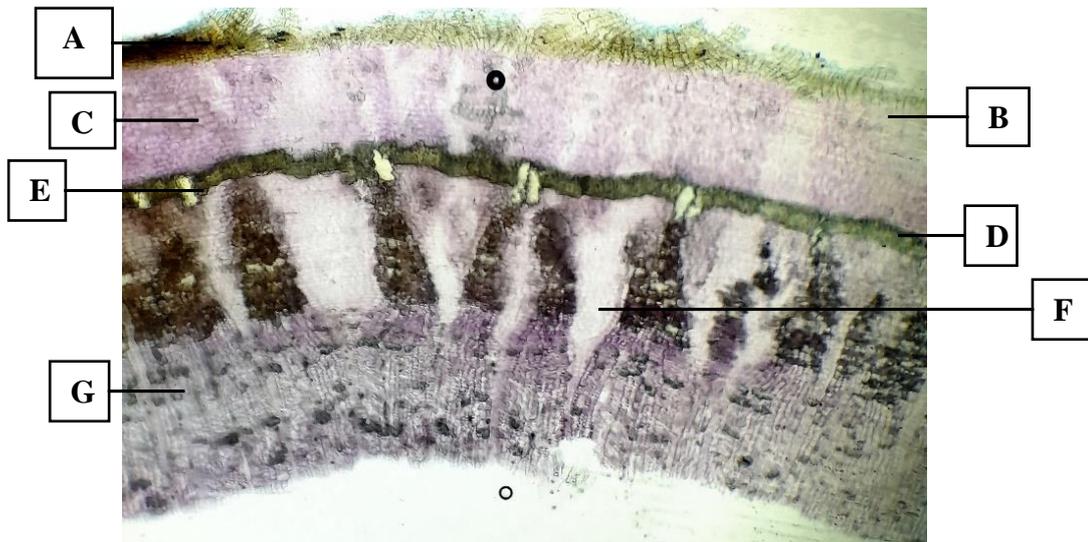
#### 1.2 Examen microscopique

(Tous les résultats sont résumés dans l'annexe)

##### 1.2.1 La coupe transversale de l'écorce

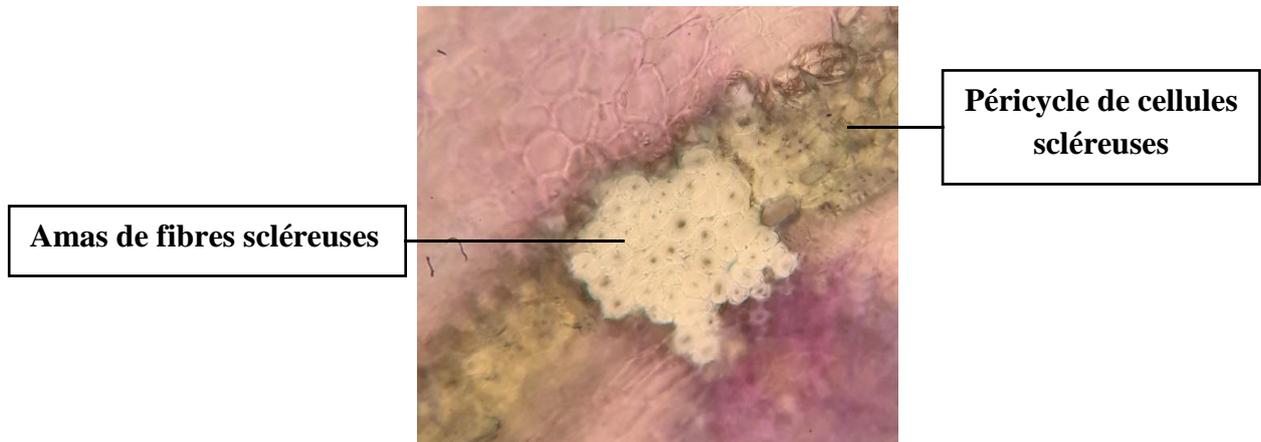
La coupe transversale de l'écorce de la plante récoltée observée sous le microscope optique aux grossissements 10 x 10 et 10 x 40, a présenté les différents éléments suivants :

- Comme vue générale on a observé un suber avec un phelloderme et un parenchyme cortical après des péricycles des cellules scléreuses avec des fibres scléreuses péricycliques après un rayon médullaire et enfin un liber secondaire (**Figure 34**)



**Figure 34 : Vue générale de la coupe transversale de l'écorce de Caroubier, *Ceratonia siliqua* (Fabaceae), observée au grossissement 10x10, A : Suber, B : Phelloderme, C : Parenchyme cortical, D : Péricycle des cellules scléreuses, E : Fibres scléreuses péricycliques, F : Rayon médullaire, G : Liber secondaire**

- Un Parenchyme avec des cellules scléreuses et fibres sclérifiés (**Figure 35**).



**Figure 35 :Un Parenchyme avec des cellules scléreuses et fibres sclérifiés de l'écorce du Caroubier , observée au grossissement 10x40 .**

- Des prismes d'oxalate de calcium (**Figure 36**) et des grains d'amidon (**Figure 37**).

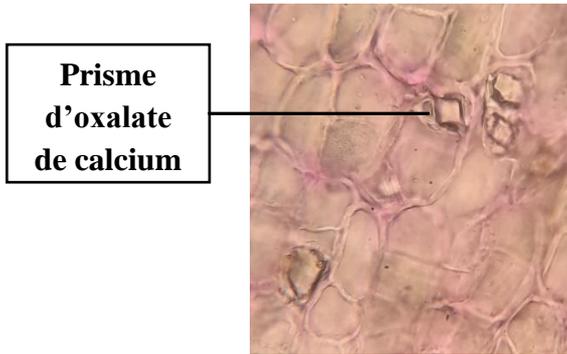


Figure 36 : Prismes d'oxalate de calcium observés au grossissement 10x40

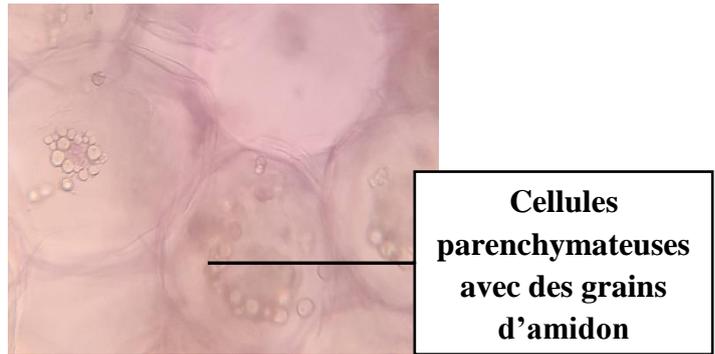


Figure 37 : Grains d'amidon observés au grossissement 10x40

- Des cellules parenchymateuses (Figure 38).

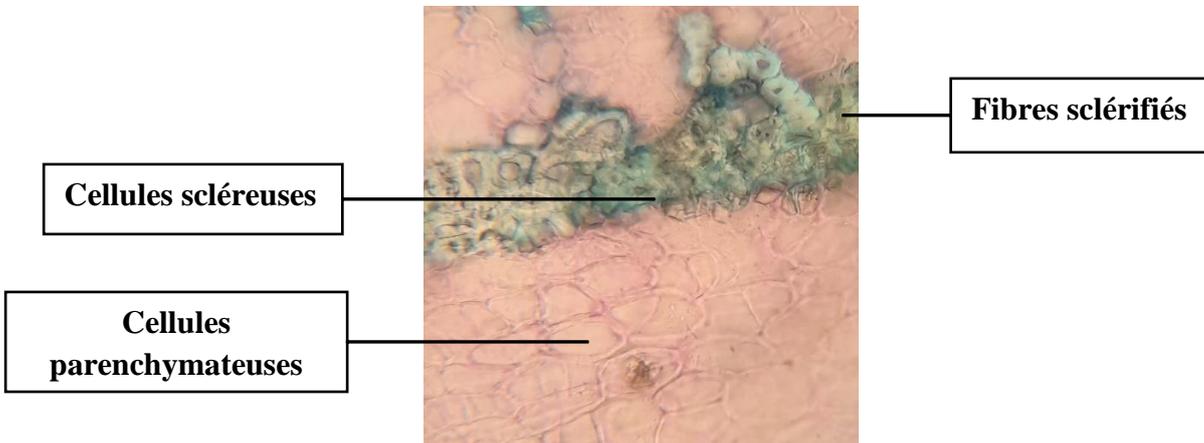
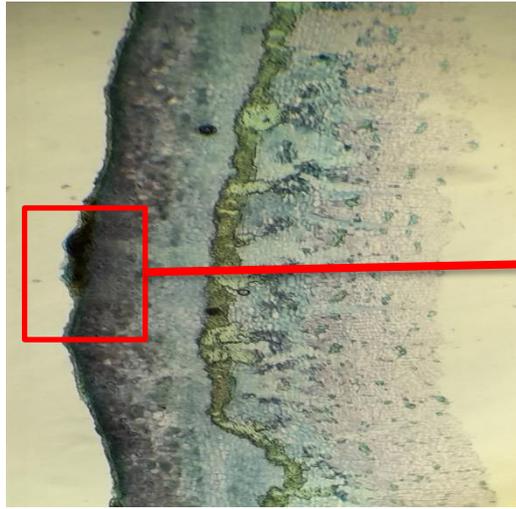
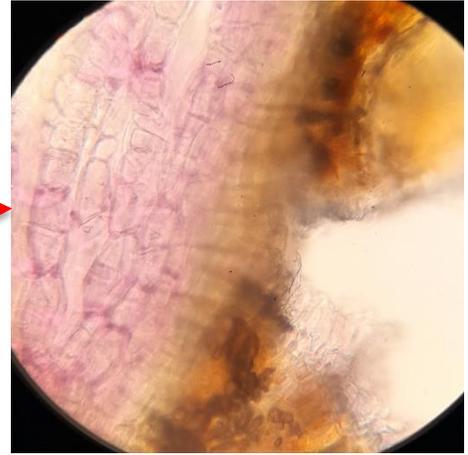


Figure 38 : Cellules parenchymateuses observés au grossissement 10x40

- Une lenticelle (Figure 39 et 40).



**Figure 39 : Une partie de l'écorce du Caroubier observée au grossissement 10x10**



**Figure 40 : Lenticelle observée au grossissement (10 × 40)**

- Des poils tecteurs blanchâtres recouvrant l'écorce (observés par loupe binoculaire) (**Figure 41**).

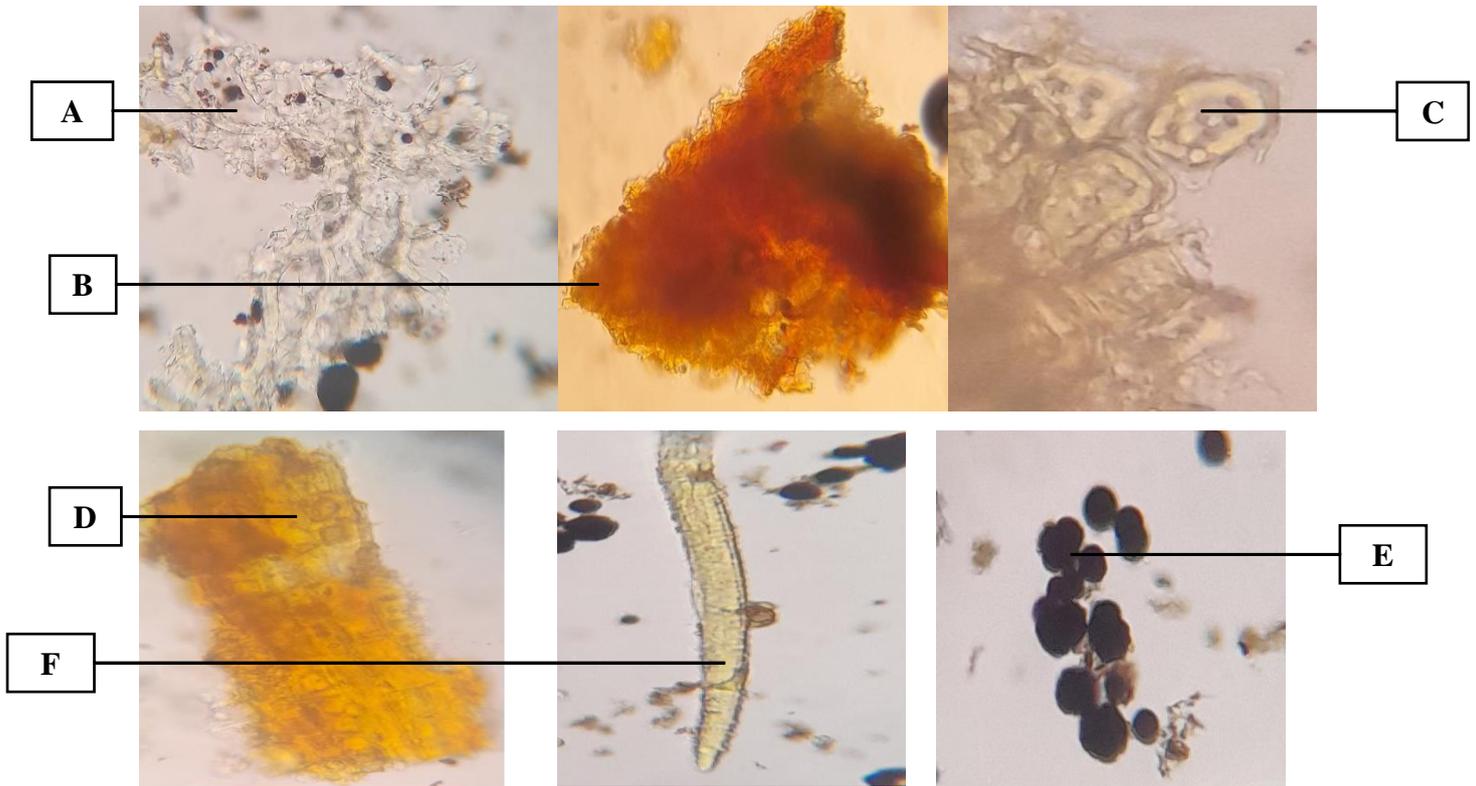


**Figure 41 : Poils tecteurs de l'écorce du caroubier observés par loupe binoculaire**

### 1.2.2 La poudre de l'écorce

La poudre de l'écorce de la plante récoltée observée au microscope optique au grossissement (10 × 40), renferme des éléments suivants : (**Figure 42**)

- ✓ Des cellules parenchymateuses avec grains d'amidon.
- ✓ Un fragment de suber.
- ✓ Amas de cellules scléreuses.
- ✓ Fibres cristallines et des poils tecteurs finement ponctués.

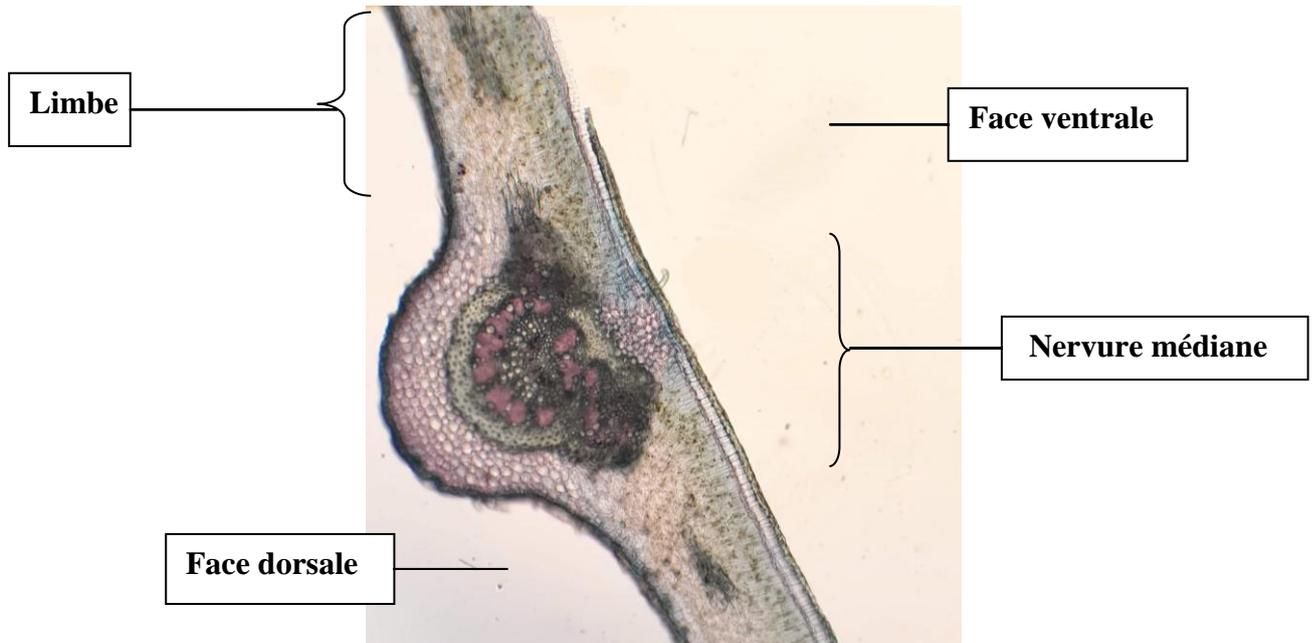


**Figure 42 : Eléments de la poudre de l'écorce de Caroubier *Ceratonia siliqua* (Fabaceae) observés au grossissement 10x40. A : Cellules parenchymateuses, B : Fragment de suber, C : Amas de cellules scléreuses, D : Fibres cristalligènes, E : Grains d'amidon, F : Poil tecteur**

### 1.2.3 La coupe transversale de la feuille

La coupe transversale de la feuille de la plante récoltée observée sous le microscope optique aux grossissements 10 x 10 et 10 x 40, les différents éléments suivants :

- En vue générale la coupe transversale montre que la feuille du Caroubier contient deux faces, une ventrale et l'autre dorsale et renferme une nervure médiane centrale avec un limbe dans les deux côtés (**Figure 43**).



**Figure 43 : Vue générale de la coupe transversale de la feuille de Caroubier, *Ceratonia siliqua* (Fabaceae), observée au grossissement 10x10**

• Une vue sur microscope optique avec un grossissement de  $10 \times 40$  montre que la nervure médiane de la feuille du Caroubier contient de l'extérieur vers l'intérieur les éléments suivants (**Figure 44**) :

- ✓ Des poils tecteurs (**Figure 45**)
- ✓ Un épiderme inférieur cuticularisé.
- ✓ Un collenchyme rond.
- ✓ Un parenchyme cortical (à méat).
- ✓ Des fibres scléreuses péricycliques.
- ✓ Un liber secondaire et bois secondaire.

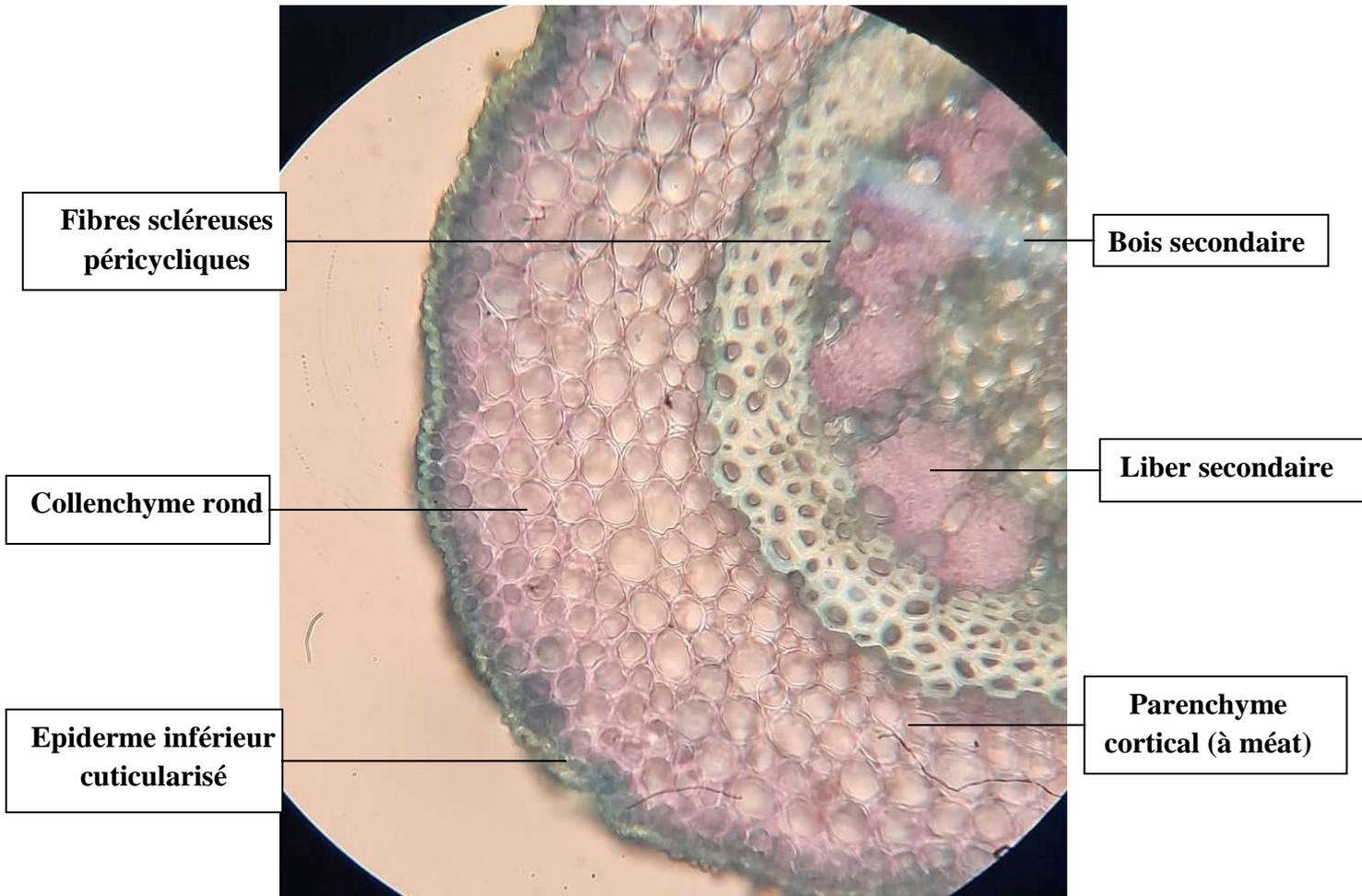


Figure 44 : La nervure médiane de la feuille du Caroubier observée au grossissement 10x40

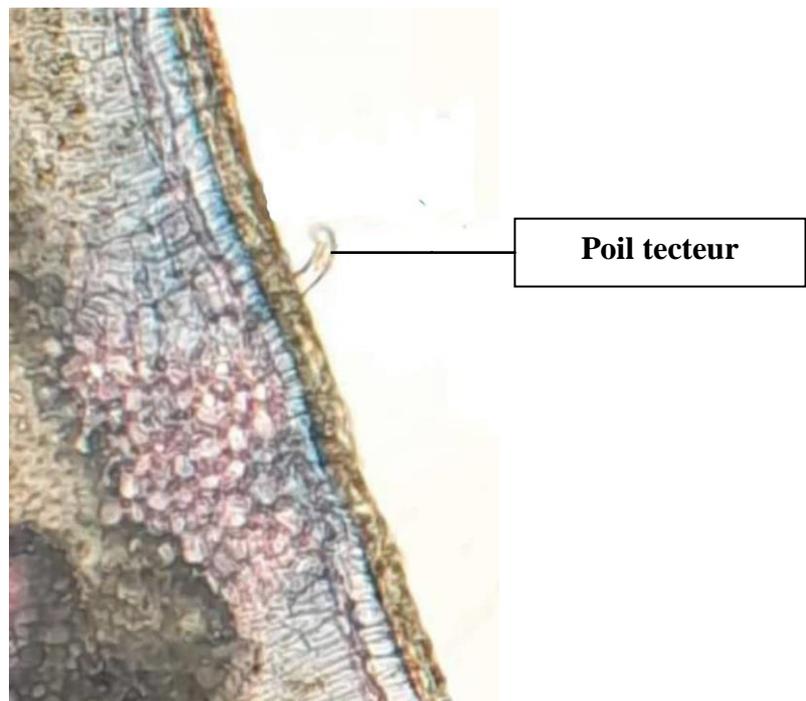
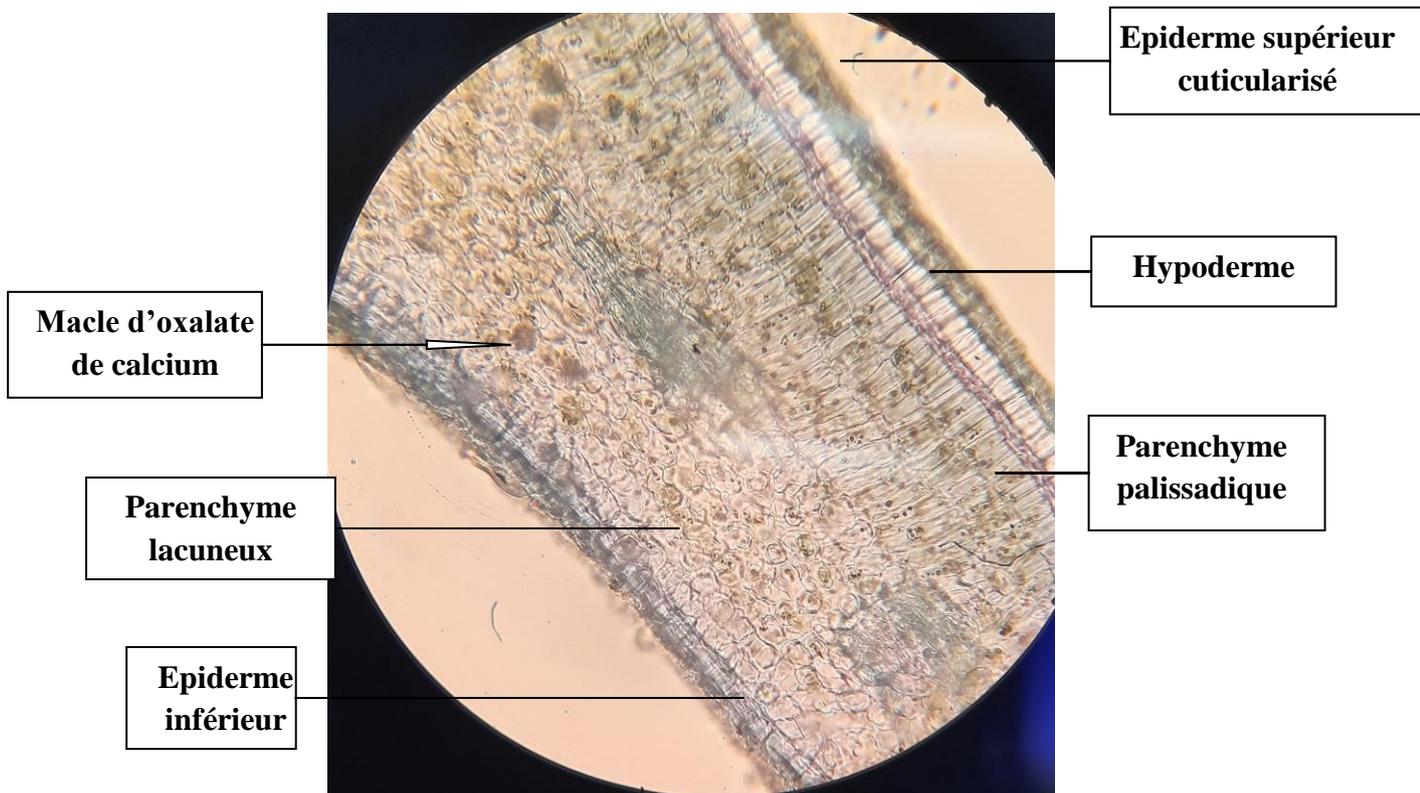


Figure 45: Poil tecteur de la feuille du Caroubier observé au grossissement 10x40

## RESULTATS ET DISCUSSION

• Une vue sur microscope optique avec un grossissement de  $10 \times 40$  montre que le limbe de la feuille du Caroubier contient de l'extérieur vers l'intérieur les éléments suivants (**Figure 46**) :

- ✓ Epiderme supérieur cuticularisé (dans la partie ventrale).
- ✓ Epiderme inférieur (dans la partie dorsale) .
- ✓ Un hypoderme.
- ✓ Un parenchyme palissadique.
- ✓ Un parenchyme lacuneux.
- ✓ Des macles d'oxalate de calcium.

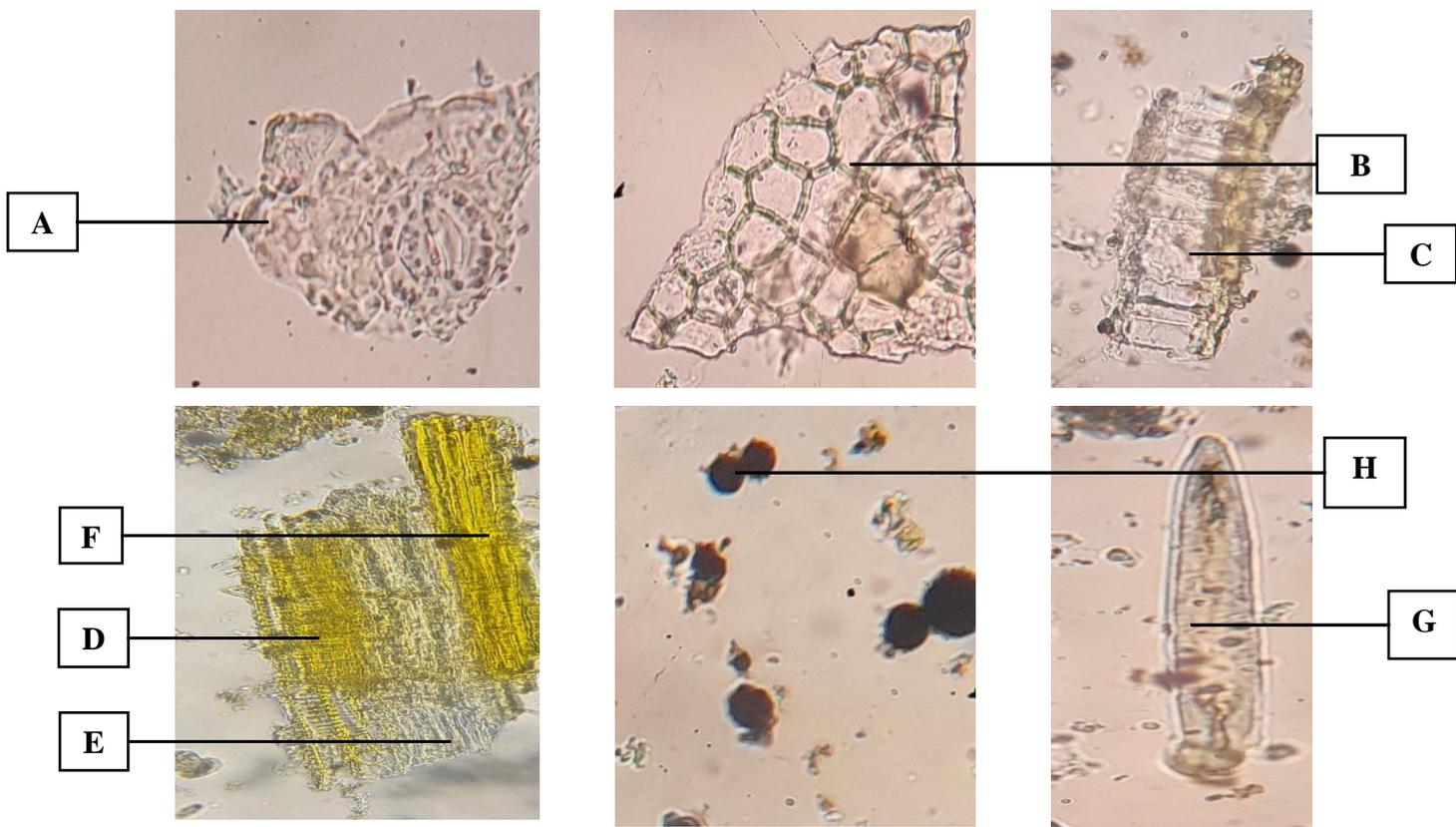


**Figure 46 : Un fragment de limbe de la feuille du caroubier observé au grossissement 10x40**

### 1.2.4 La poudre de la feuille

La poudre de la feuille de la plante récoltée observée au microscope optique au grossissement (10 × 40), renferme des éléments suivants (**Figure 47**) :

- ✓ Un fragment d'épiderme inférieur avec stomate.
- ✓ Un fragment d'épiderme supérieur.
- ✓ Hypoderme.
- ✓ Un vaisseau de bois.
- ✓ Un liber.
- ✓ Des fibres scléreuses.
- ✓ Des grains d'amidon.
- ✓ Poil tecteur.



**Figure 47 : Eléments de la poudre de la feuille de Caroubier *Ceratonia siliqua* (Fabaceae) observés au grossissement 10x40.** A : Un fragment d'épiderme inférieure avec stomate, B : un fragment d'épiderme supérieure, C : hypoderme, D : Vaisseaux de bois, E : Liber, F : Fibres scléreuses, G : poils tecteur, H : Grains d'amidon

## 2 Screening tri-phytochimique

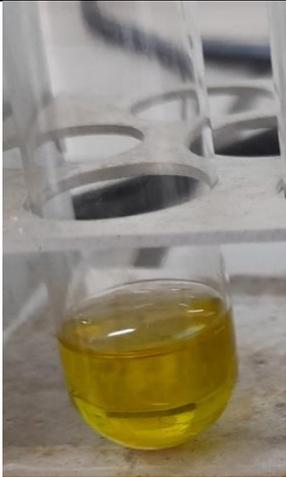
(Tous les résultats sont résumés dans l'annexe)

### 2.1 L'écorce

#### 2.1.1 Caractérisation des polyphénols

Il y a apparition d'un précipité bleu noirâtre dans l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux (réaction positive), par contre la couleur ne change pas dans l'extrait éthérique (réaction négative) (Tableau III).

**Tableau III : Caractérisation des polyphénols totaux dans l'écorce du caroubier**

Extrait	Ethérique	Méthanolique	Aqueux
<b>Avant</b>			
<b>Après</b>			

#### 2.1.2 Caractérisation des flavonoïdes :

Il n'y a pas un dégagement de chaleur ni de changement de couleur dans les trois extraits (réaction négative) (Tableau IV).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau IV : Caractérisation des flavonoïdes dans l'écorce du Caroubier**

Extrait	Méthanolique	Ethérique	Aqueux
Résultats			

### 2.1.3 Caractérisation des Saponosides

Il y'a la formation d'une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm pour les deux extraits aqueux (réaction positive) (**Tableau V**).

**Tableau V : Caractérisation des saponosides dans l'écorce du caroubier**

Extrait	Aqueux (décocté)	Aqueux (infusé)
Résultats		

### 2.1.4 Caractérisation des tanins catéchiqes :

Il y' a la formation d'un précipité en gros flocons pour les extraits aqueux et méthanolique (réaction positive) et pas ou peu de précipité pour l'extrait éthérique (réaction négative ou faiblement positive) (**Tableau VI**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau VI : Caractérisation des tanins catéchiques dans l'écorce du Caroubier

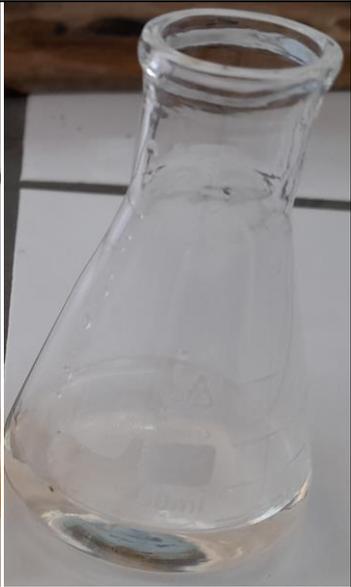
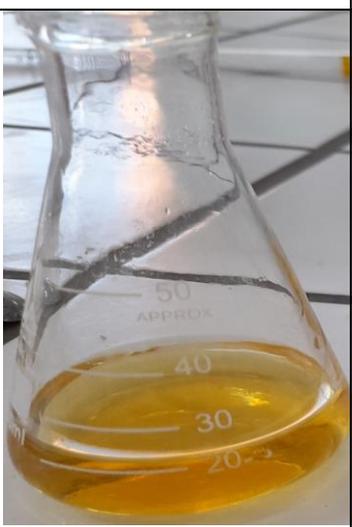
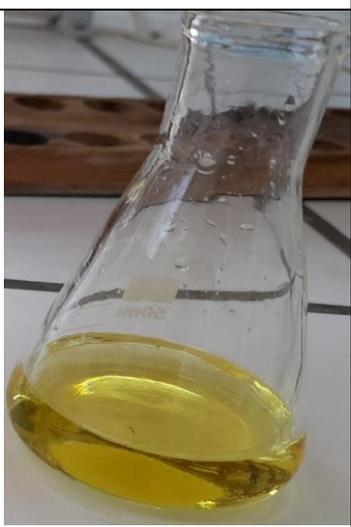
Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.1.5 Caractérisation des tanins galliques :

Il n'y a pas un changement de couleur dans les trois extraits (réaction négative) (**Tableau VII**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau VII : Caractérisation des tanins galliques dans l'écorce du Caroubier

Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.1.6 Caractérisation des alcaloïdes

Il n'y a pas une formation d'un précipité brun-rougeâtre dans les trois extraits (réaction négative) (Tableau VIII).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau VIII : Caractérisation des alcaloïdes dans l'écorce du Caroubier

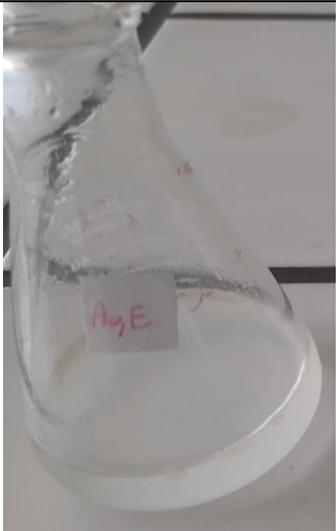
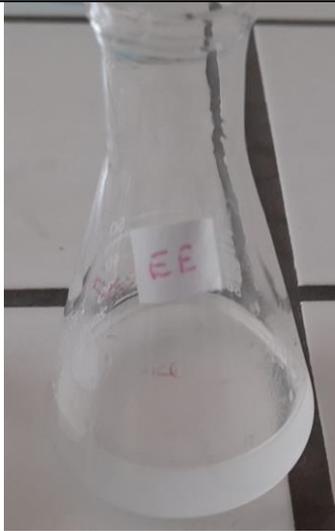
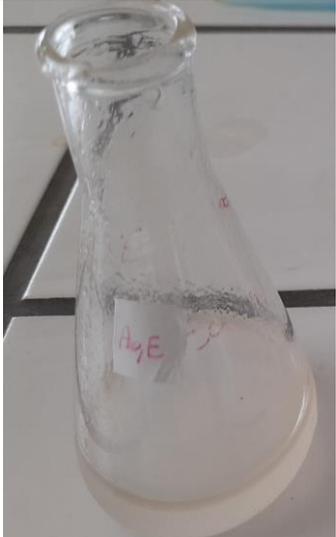
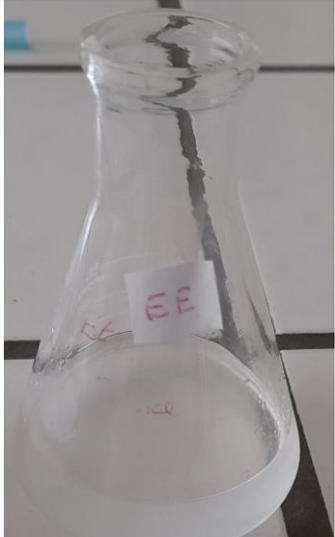
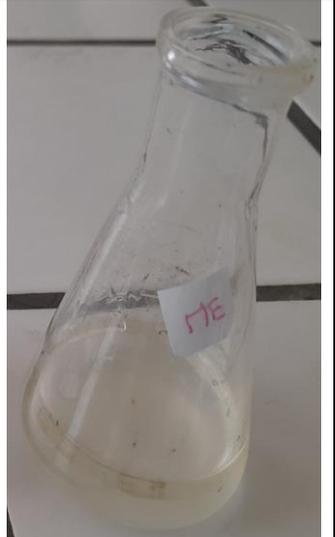
Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après l'ajout du réactif de Bouchardon			
Après l'ajout du réactif de Dragendorff			

### 2.1.7 Caractérisation des substances quinoniques

Il n'y a pas un changement de couleurs dans les trois extraits (réaction négative) (**Tableau IX**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau IX : Caractérisation des substances quinoniques dans l'écorce du Caroubier

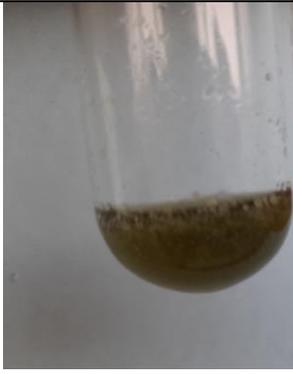
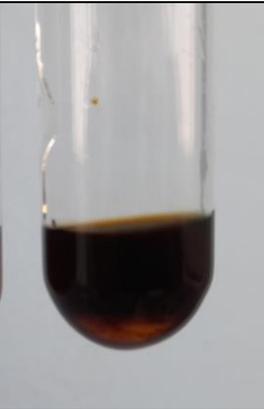
Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.1.8 Caractérisation des stérols

Il y'a une apparition d'un anneau violet à pourpre dans les trois extraits (réaction positive) (Tableau X).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau X : Caractérisation des stérols dans l'écorce du Caroubier

Extrait	Ethérique	aqueux	Méthanolique
Avant			
Après			

## 2.2 La feuille :

### 2.2.1 Caractérisation des polyphénols :

Il y'a l'apparition d'une coloration bleu noirâtre dans l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux (réaction positive), par contre la couleur ne change pas dans l'extrait éthérique (réaction négative) (**Tableau XI**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XI : Caractérisation des polyphénols dans la feuille du Caroubier

Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.2.2 Caractérisation des flavonoïdes :

Il y' a l'apparition de couleur rose orangé et un dégagement de chaleur dans les trois extraits (réaction positive) (Tableau XII).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau XII : Caractérisation des flavonoïdes dans la feuille du Caroubier**

Extrait	Ethérique	Méthanolique	Aqueux
Résultat			

### 2.2.3 Caractérisation des Saponosides :

Il y'a formation d'une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm pour les deux extraits aqueux (réaction positive) (Tableau XIII).

**Tableau XIII : Caractérisation des saponosides dans la feuille du caroubier**

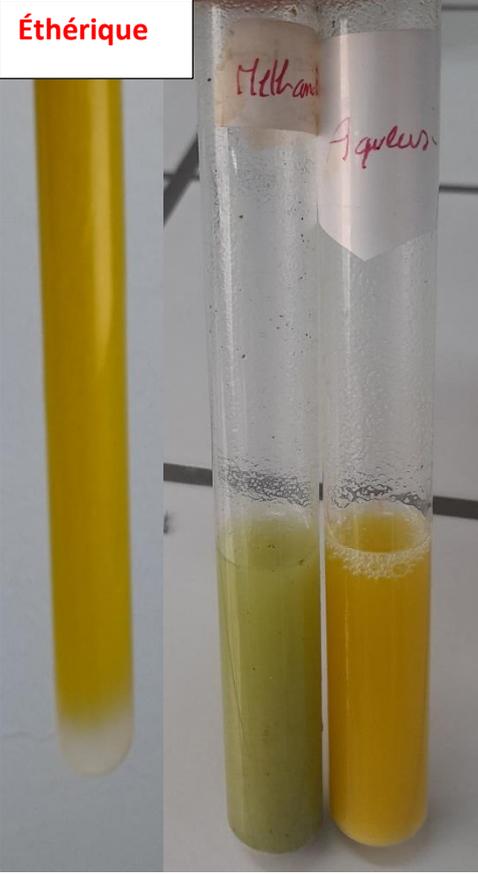
Extrait	Aqueux (décocté)	Aqueux (infusé)
Résultats		

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.2.4 Caractérisation des tanins catéchiques :

Il y'a la formation d'un précipité en gros flocons pour les extraits aqueux et méthanolique (réaction positive) et pas ou peu de précipité pour l'extrait étherique (réaction négative ou faiblement positive) (Tableau XIV).

Tableau XIV : Caractérisation des tanins catéchiques de la feuille du Caroubier

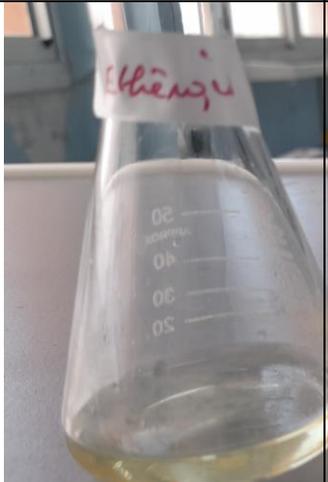
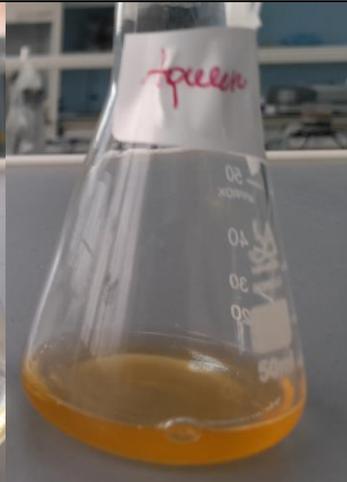
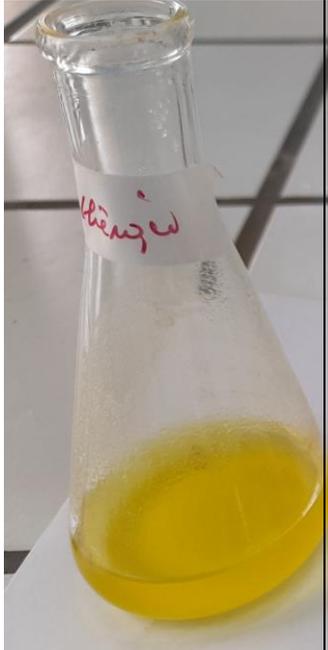
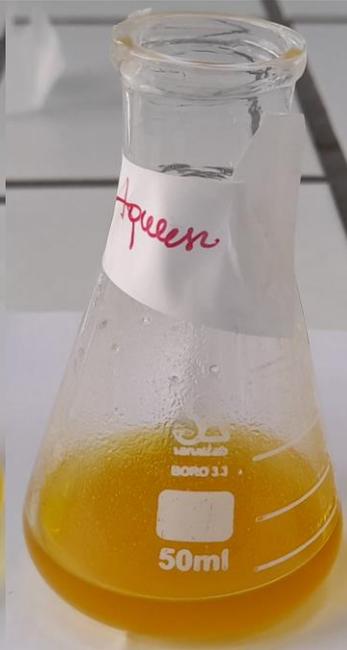
Avant	Après
 <p>Étherique</p> <p>Méthanol</p> <p>Aqueux</p>	 <p>Étherique</p> <p>Méthanol</p> <p>Aqueux</p>

### 2.2.5 Caractérisation des tanins galliques

Il n'y a pas un changement de couleur dans les trois extraits (réaction négative) (Tableau XV).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XV : Caractérisation des tanins galliques dans la feuille du Caroubier

Extrait	Ethérique	Aqueux	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.2.6 Caractérisation des alcaloïdes

Il n'y a pas une formation d'un précipité brun-rougeâtre dans les trois extraits (réaction négative) (Tableau XVI).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau XVI : Caractérisation des alcaloïdes dans la feuille du Caroubier

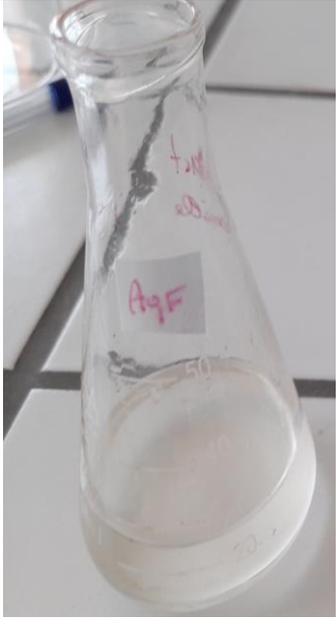
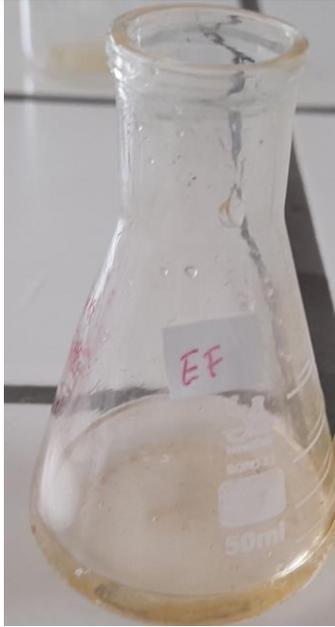
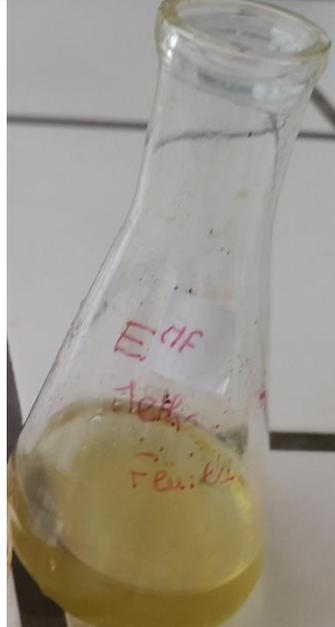
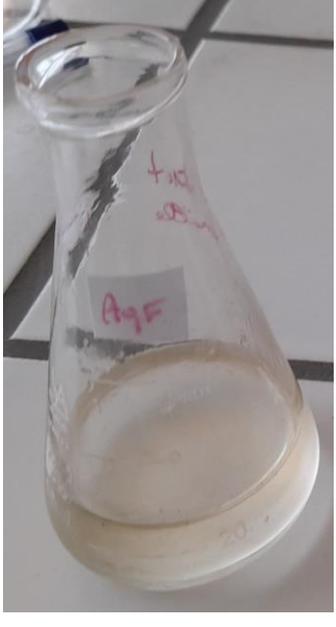
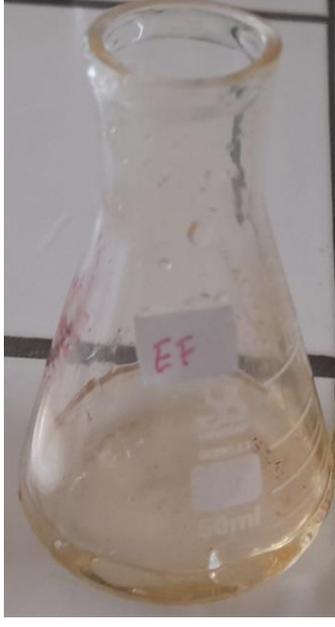
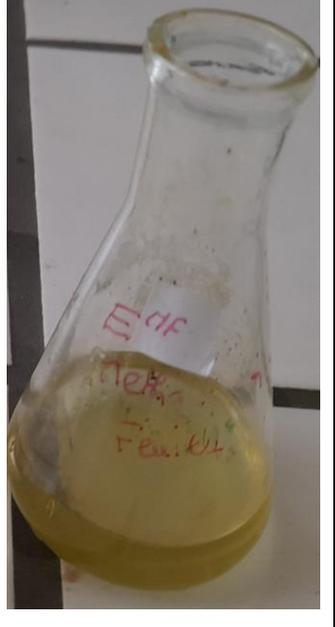
Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après l'ajout du réactif de Bouchardon			
Après l'ajout du réactif de Draendorff			

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.2.7 Caractérisation des substances quinoniques

Il n'y a pas changement de couleurs dans les trois extraits (réaction négative) (Tableau XVII).

Tableau XVII : Caractérisation des substances quinoniques dans la feuille du Caroubier

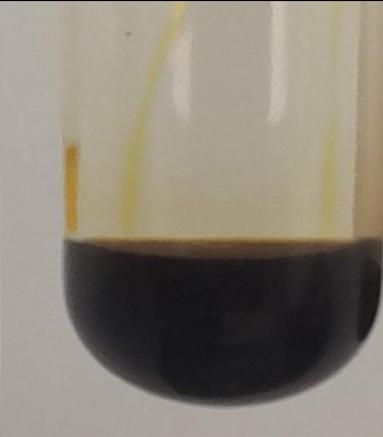
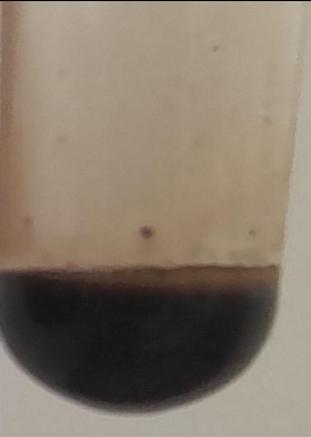
Extrait	Aqueux	Ethérique	Méthanolique
Avant			
Après			

### 2.2.8 Caractérisation des stérols et des polyterpènes

Il y' a l'apparition d'un anneau violet à pourpre dans les extraits méthanolique et éthérique (réaction positive) par contre il n'y a aucun changement dans l'extrait aqueux (réaction négative) (Tableau XVIII).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau XVIII : Caractérisation des stérols et des polyterpènes dans la feuille du Caroubier**

Extrait	Aqueux	Méthanolique	Ethérique
Résultats			

### 3 Dosage quantitatif des composés :

(Tous les résultats sont résumés dans l'annexe)

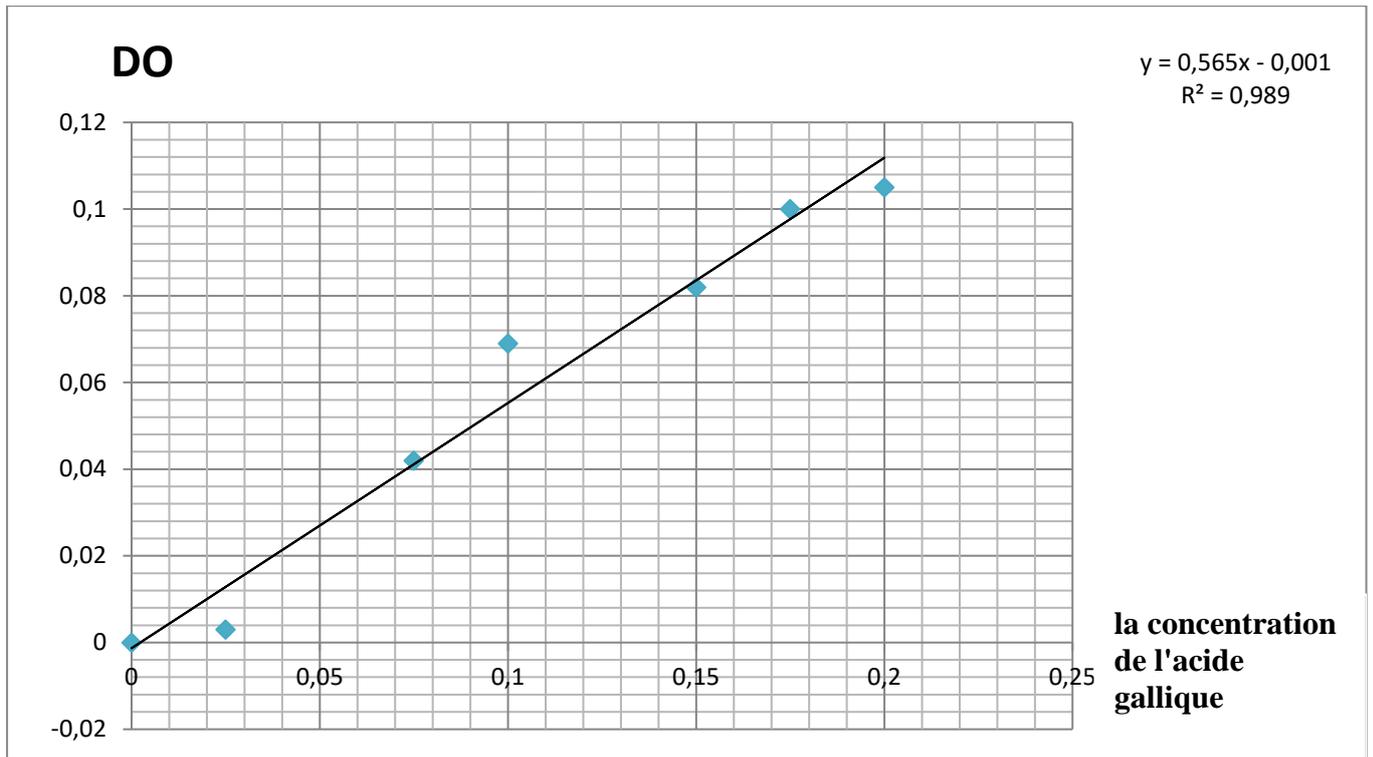
#### 3.1 Les polyphénols :

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (**Figure 48**).

D'abord une solution mère de l'acide gallique de concentration de 5g/L (2,50g d'acide gallique dans 50ml de méthanol) a été préparée, ensuite une série de dilution a été réalisé comme mentionné dans le tableau (**Tableau XIX**).

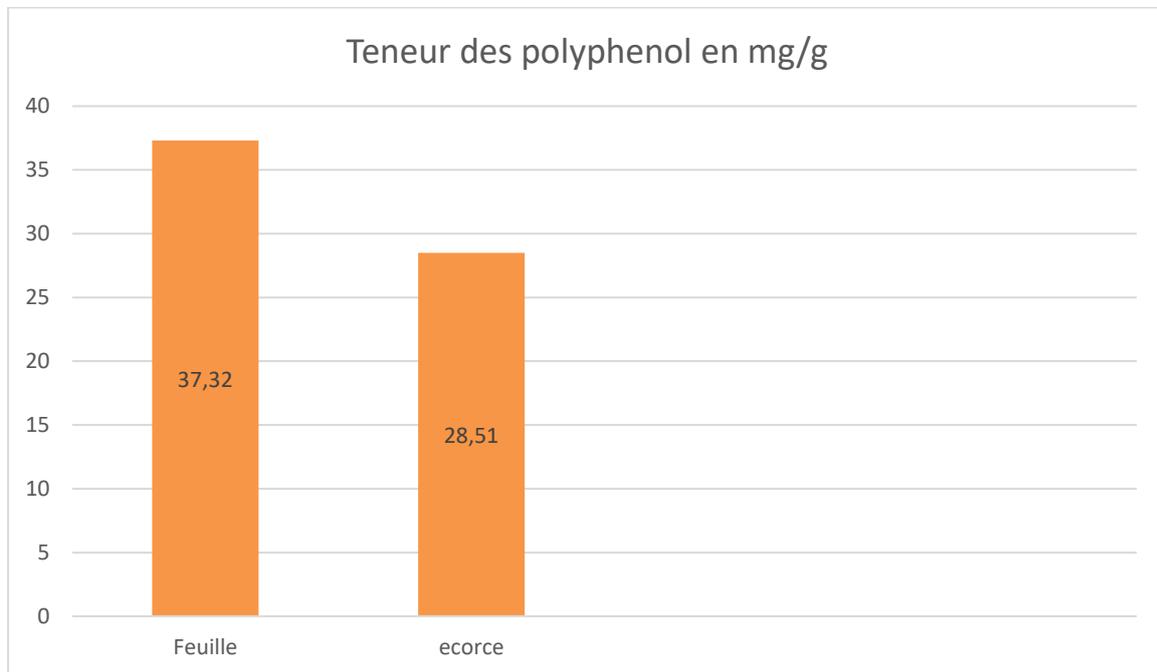
**Tableau XIX : Les densités optiques trouvées en fonction de la concentration de l'acide gallique**

<b>C mg/ml</b>	0	0,025	0,05	0,075	0,1	0,15	0,175	0,2	0,3	0,4	0,5
<b>DO</b>	0	0,003	0,042	0,066	0,069	0,082	0,10	0,105	0,13	0,159	0,162



**Figure 48 : La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux**

A partir de la courbe d'étalonnage la teneur en polyphénols est de 37,32 mg/g dans les feuilles. Et de 28,54mg/g dans l'écorce (**Figure 49**).



**Figure 49 : Teneurs des polyphénols trouvée dans la feuille et l'écorce du *Ceratonia siliqua* (Fabacée)**

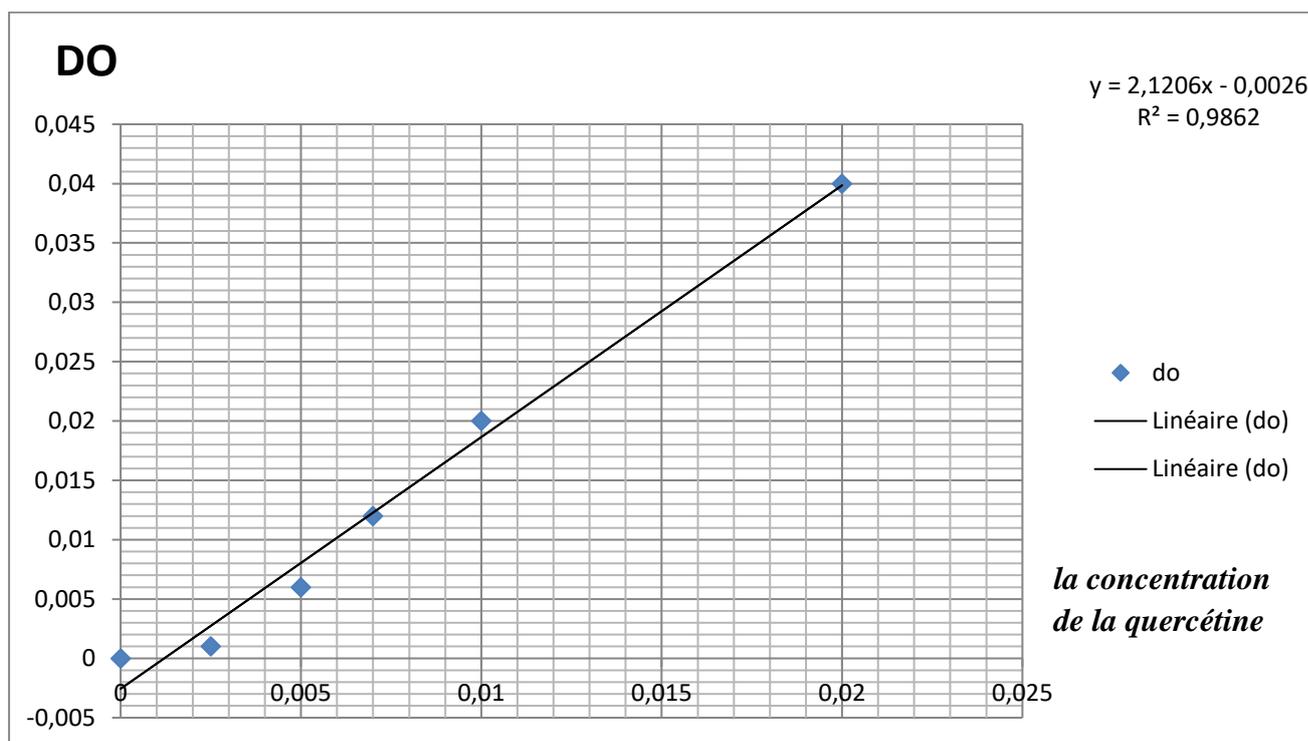
### 3.2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique. La quercétine prise comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage (**Figure 50**), d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes pour les différents extraits qui sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche.

Nous avons établi avant de déterminer la teneur en flavonoïdes une courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme référence.

**Tableau XX : Les densités optiques trouvées en fonction de la concentration de la quercétine**

<b>C mg/L</b>	0	0,0025	0,005	0,007	0,01	0,02
<b>DO</b>	0	0,001	0,006	0,012	0,02	0,04



**Figure 50 : La courbe d'étalonnage des flavonoïdes**

A partir de la courbe d'étalonnage la teneur en flavonoïde est 24,20mg équivalent de quercétine/g de matière sèche dans les feuilles. Et de 5,76mg/g dans l'écorce (**Figure 51**).

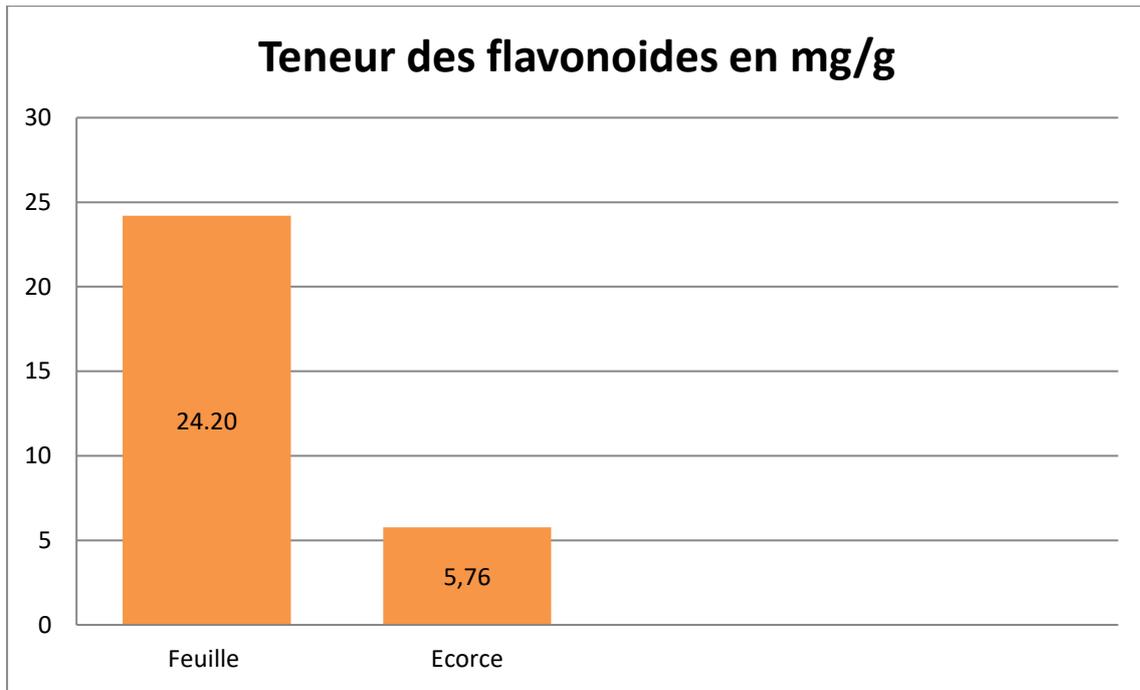


Figure 51 : Teneurs des Flavonoïdes trouvée dans la feuille et l'écorce du *Ceratonia siliqua* (Fabacée)

### 3.3 Histogramme récapitulatif des résultats

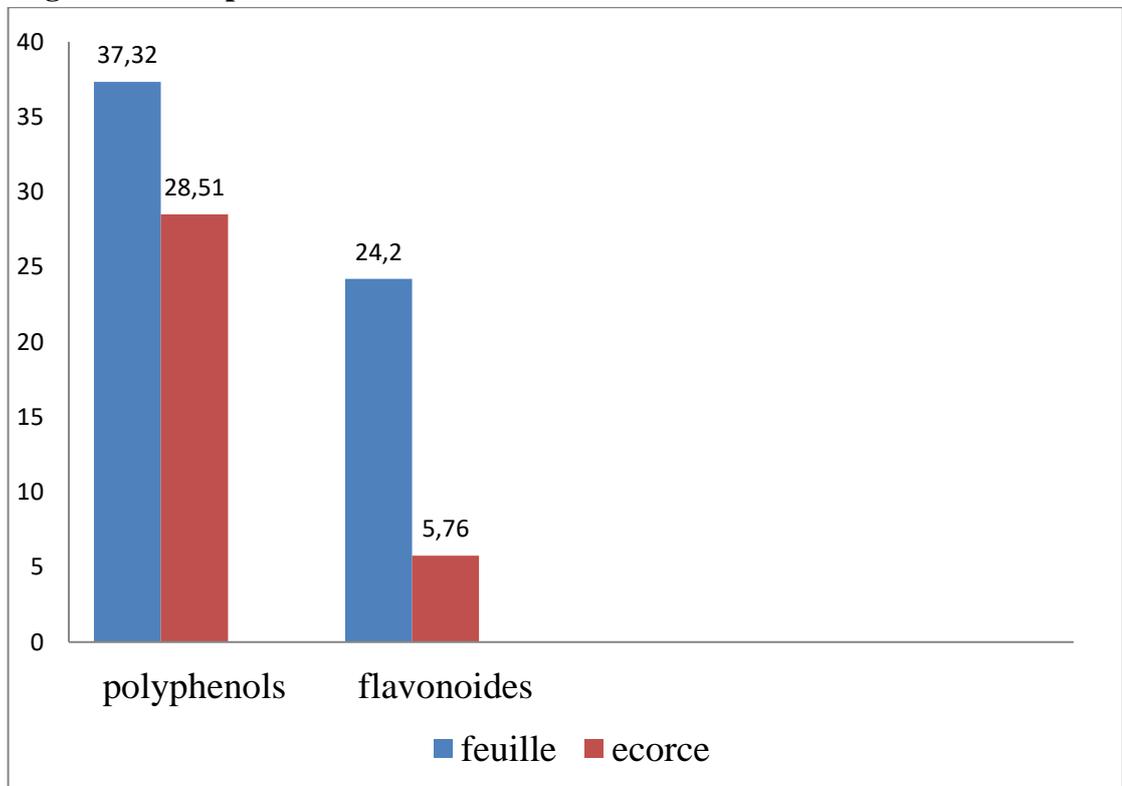


Figure 52 : Histogramme récapitulatif des dosages quantitatifs des polyphénols et des flavonoïdes au niveau d'écorce de la feuille

### 4 Discussion

Cette étude a été effectuée dans le but de valoriser les sous-produits de *Ceratonia siliqua* à savoir les feuilles et l'écorce, sous leurs aspects botanique et chimique.

Elle a été réalisée principalement au niveau du laboratoire de pharmacognosie–Département de pharmacie –Université de Tlemcen

#### 4.1 Etude botanique

##### 4.1.1 Analyse microscopique des coupes transversales

L'observation des coupes transversales d'écorce et des feuilles de *Ceratonia siliqua* au microscope optique nous a permis la mise en évidence différents d'éléments

Dans l'écorce, les différents tissus observés au niveau des coupes transversales des écorces concordent avec ceux observés dans l'étude de **(Houari el Hadj, 2017)** à savoir :

- Suber.
- Phelloderme.
- Parenchyme corticale.
- Péricycle de cellules scléreuses.
- Fibres scléreuses péricycliques.
- Rayon médullaire.
- Liber secondaire.

Dans les feuilles, les différents tissus observés au niveau des coupes transversales des feuilles concordent avec ceux observés dans l'étude de quelque espèce de la sous-famille Caesalpinioideae **(Khattab AM, 2007)** et la famille des Fabacées **(Meyer RE, 1978)** à savoir :

- Présences des stomates **(Rtibi K, 2017)**.
- Epiderme cuticularisé.
- Parenchyme palissadique.
- Parenchyme lacuneuse.
- Parenchyme cortical à méat.
- Macle d'oxalate de calcium.
- Fibres scléreuses péricycliques.
- Collenchyme rond.
- Bois secondaire.
- Liber secondaire.

### 4.1.2 Analyse microscopique des poudres

L'observation microscopique des poudres végétales est une pratique indispensable dans le contrôle des drogues en pharmacognosie. Alors que le problème qui nous a rencontrés dans cette partie est le manque de données bibliographiques pour identifier les différents éléments retrouvés dans les poudres.

Les résultats de l'étude microscopique de la poudre d'écorce ont révélé la présence des :

- Cellules parenchymateuses avec grains d'amidon.
- Fragments de suber.
- Amas des cellules scléreuses.
- Fibres cristalligènes.
- Poils tecteurs finement ponctués.
- Grains d'amidons en amas.

Les résultats de l'étude microscopique de la poudre des feuilles ont révélé la présence de :

- Fragment d'épiderme avec stomates.
  - Hypoderme.
  - Fibres scléreuses.
  - Vaisseau du bois.
  - Liber.
  - Graines d'amidons.
  - Poil tecteur.
- ✓ L'oxalate de calcium est présent dans les deux parties étudiées de *C. Siliqua* mais dans l'écorce, il est sous-forme de prismes contenus dans des cellules cristalligènes alors que dans la feuille il est sous-forme de macles situées au niveau du parenchyme cortical et lacuneux.
- ✓ Les poils tecteurs, les grains d'amidons (éléments de réserve) et des fibres scléreuses péricycliques sont retrouvés dans les deux organes, seulement, ces fibres sont cristalligènes et interrompant une zone péricyclique de cellules scléreuses dans l'écorce, d'où la dureté de cet organe.

### 4.2 Etude chimique

Le caroubier *Ceratonia siliqua* est l'un des arbres les plus importants du Moyen-Orient et du bassin méditerranéen. Un criblage phytochimique qualitatif par réaction a été élaboré sur les parties feuille et écorce qui a pour objectif de caractériser des substances chimiques susceptibles d'être utilisées dans plusieurs domaines. Ces tests sont réalisés sur les différents extraits (l'éther de pétrole, le méthanol et l'eau).

L'étude phytochimique des différents extraits d'écorce de *Ceratonia siliqua* montre une richesse relative en métabolites secondaires. Ces résultats qui sont confirmés avec d'autres travaux (**El-Hajaji H, 2011**) (**Lachkar N, 2012**), comme la présence des polyphénols, tanins catéchiques, les stérols, saponosides et polyterpènes et absence des alcaloïdes.

L'analyse a aussi révélé une discordance en ce qui concerne l'absence des flavonoïdes et la présence des saponosides, cela peut s'expliquer par la différence de plusieurs paramètres l'environnement de la plante, la lumière, la saison de la récolte, phytochimique (les produits et les techniques utilisés) ou biologique (le patrimoine génétique).

L'analyse tri-phytochimique montre que la feuille de *Ceratonia siliqua* contient des polyphénols y compris les flavonoïdes et les tanins catéchiques, les saponosides et les stérols et l'absence des tanins galliques, les alcaloïdes et les substances quinoniques. Ces résultats sont en accord avec l'étude réalisée par HPLC de (**Rtibi K, 2017**) et le criblage phytochimique réalisé par (**Sassi A, Bouhleb I, 2016**).

Les polyphénols, les saponosides, les tanins catéchiques ainsi que les stérols et les polyterpènes sont présents dans les deux organes. Par contre, les alcaloïdes, les substances quinoniques et les tanins galliques y sont absents. Les deux organes ont donc une composition chimique qui est qualitativement semblable.

Il existe de nombreuses études sur l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes. Cette étude a été faite d'une part pour déterminer la teneur en polyphénols et flavonoïdes de la variété de caroube de la région Tlemcen et d'autre part pour chercher un éventuel usage thérapeutique.

Plusieurs études ont rapporté que les polyphénols sont les principaux composés intéressants des sous-produits de caroubier.

Les extraits de trois variétés de feuilles et écorce de *Ceratonia siliqua* L. (femelles greffées, femelles spontanées, males spontanés) cultivées au Maroc ont été étudiés pour leur

## RESULTATS ET DISCUSSION

---

teneur en phénols totaux. Le contenu total en phénols a été mesuré par le réactif Folin-Ciocalteu en termes d'équivalent acide gallique. Les résultats obtenus ont montré que le contenu phénolique total provenant des différents extraits des trois catégories de *Ceratonia siliqua L.* se situe entre 1,35 et 7,92 (mg/L GAE) pour les feuilles (**El-Hajaji et Al, 2010**). Est 1,38 et 2,28 (mg/L GAE) pour l'écorce (**El-Hajaji H et Al, 2011**). Ces résultats sont supérieurs à la teneur en polyphénols que nous avons obtenue (37,32mgGAE/g),(28,51mgGAE/g) pour les feuilles et écorce respectivement.

Les études sur les teneurs en polyphénols totaux et en acide gallique des feuilles de caroube sont peu nombreuses. Certaines études ont quantifié 6,28 mg de polyphénols totaux par g de feuilles de caroube et 4,30 mg/g d'acide gallique (**Corsi L, Avallone R, 2002**) et 261,1 mg/g de polyphénols totaux et 26,9 mg d'acide gallique/g de MS, déterminés par HPLC (**Custódio L, Escapa AL, 2010**). Récemment, une étude a enregistré des teneurs en polyphénols d'extraits successifs de feuilles de *Ceratonia siliqua L.*, variant entre 91,2 et 680 mg GAE/g MS dans l'ordre suivant : fraction acétate d'éthyle > fraction dichlorométhane > fraction hexane (**Anis B, Trigui M, 2015**). De plus, dans une autre étude, une extraction avec du méthanol – acétone – eau (7:7:6, v/v/v) a permis d'obtenir 9,215 mg GAE/g MS (**Fatima Zohra G, Fluckiger A, 2017**).

Enfin, il a été mentionné dans la littérature qu'il n'existe pas de méthodes d'extraction et d'analyse normalisées, ce qui fournit parfois des résultats trompeurs et non comparables. En particulier, le profil polyphénolique d'un extrait peut varier, non seulement en raison du sexe, du cultivar et des facteurs géographiques, mais aussi du processus suivi lors de l'extraction (**Stavrou IJ, Christou A, 2018**).

Dans la présente étude, l'extrait de méthanol de *Ceratonia siliqua* des feuilles et écorces présentait des quantités considérables en flavonoïdes totaux (24mg QE/g) pour feuilles et (5,75mg d'équivalence en quercétine /g) pour l'écorce.

Une étude a quantifié la teneur en flavonoïdes des feuilles de *Ceratonia siliqua*, en utilisant une méthode spectrophotométrique basé sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium, la quantité varie entre 21,71 et 193mg d'équivalents quercétine/g d'extrait séché ce qui concorde avec notre étude (**Anis B, Trigui M, 2015**). Ainsi, dans l'étude de (**Abidar S, Boiangiu RS, 2020**), la valeur de la teneur en flavonoïdes d'extrait aqueux de feuilles de *C. siliqua* était de  $25,35 \pm 0,124$  mg QE/g. (**Ben Othmen K, Elfalleh, 2020**) ont rapporté une valeur pour l'extrait aqueux de feuilles de *C. siliqua* de 1,43 g d'équivalents rutine (RE)/100 g

## RESULTATS ET DISCUSSION

---

Dans une étude qui a été faite par (**Hsouna AB, Alayed AS, 2012**) qui ont rapporté que les gousses de caroube de la région tunisienne renfermaient environ  $24,6 \pm 2,4$  mg d'QE/gce qui correspond à la même quantité trouvée dans cette présente étude dans les feuilles

Les valeurs trouvées dans ce travail sont cohérentes avec certaines études mais non cohérentes avec d'autre, il est nécessaire de se rappeler que la différence dans le contenu phénolique (y compris les flavonoïdes) décrit dans la littérature peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction et la méthode de quantification. Par ailleurs, les facteurs climatiques et environnementaux (la zone géographique et la sécheresse), la période de la récolte et le stade de développement de la plante peuvent également influencer l'estimation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (**Locatelli M, Travaglia F, 2010**).

Les teneurs moyennes en polyphénols et en flavonoïdes totaux sont différentes selon la partie de la plante ; L'extrait méthanolique des feuilles en est le plus riche. Par ailleurs, l'écorce ne renferme que 5,76 mg/g raison pour laquelle la réaction de caractérisation dans le screening a donné un résultat négatif.

# Conclusion

Le caroubier *Ceratonia siliqua L* est une espèce typiquement méditerranéenne, largement répartie en Algérie. Les différentes parties du caroubier sont largement utilisées, à savoir : les gousses, traditionnellement utilisées à des fins alimentaires animales et humaines, les graines, principalement utilisées pour l'extraction de la gomme.

Plusieurs études ont été menées sur différentes parties du caroubier vu leur teneur en composés bioactifs. Cependant, peu d'entre elles, ont porté sur la botanique. Le présent travail a porté sur une étude botanique et chimique des feuilles et d'écorces de *Ceratonia siliqua*, il a permis de mettre en évidence les principaux caractères d'identification macroscopiques et microscopiques par l'analyse des coupes transversales et l'observation de la poudre

De point de vue phytochimique, nous avons réalisé trois type d'extraction (éthérique, méthanolique et aqueuse). Le screening réalisé a montré la richesse de cette plante en métabolites secondaires (présence de polyphénols, des stéroïdes, des flavonoïdes, des tanins, saponosides)

L'analyse quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux dans les deux extraits méthanoliques de cette plante a révélé des teneurs considérables en métabolites dosés.

A la lumière de ces résultats, on peut s'avancer à conclure que l'extrait des feuilles et des écorces de *Ceratonia siliqua L*, est douer de plusieurs actions thérapeutiques et justifie l'usage traditionnel de cette plante dans le traitement de diverses maladies

Toutefois, comme perspective d'autres études restent nécessaires afin de compléter ce travail. Il est hautement souhaitable d'élargir la recherche sur l'activité anti-inflammatoire du caroube, car elle n'a presque pas été étudiée jusqu'à présent. Il serait également très intéressant de compléter nos résultats par le dosage des autres paramètres de notre espèce, et évaluer leur mode d'action. Des études biologiques et cliniques devraient ainsi être effectuées afin de confirmer et d'optimiser l'usage thérapeutique de *Ceratonia siliqua L*.

# Références bibliographiques

1. **Dar R, Shahnawaz M, Rasool S, Qazi P.** Natural product medicines: A literature update. *J Phytopharm.* 28 déc 2019;6:340-2.
2. **Chakraborty P.** Herbal genomics as tools for dissecting new metabolic pathways of unexplored medicinal plants and drug discovery. *Biochim Open.* 10 janv 2018;6.
3. **Biner B, Gubbuk H, Karhan M, Aksu M, Pekmezci M.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chem.* 2007;100(4):1453-5.
4. **Benmahioul B., Kaid Harche M., Daguin F.** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples - Notre bibliothèque - Forêt Méditerranéenne. T. XXXII, n°1, 2011, p. 51-58. 2011
5. **Naghmouchi S, Khouja ML, Romero A, Tous J, Boussaid M.** Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations: Morphological variability of pods and kernel. *Sci Hortic.* 17 juin 2009;121(2):125-30.
6. **Fao, Faostat.** Food and agriculture organisation of the United Nations. *Retrieved on,* 2008, vol. 15.
7. **Azab A.** CAROB (*Ceratonia siliqua*): HEALTH, MEDICINE AND CHEMISTRY. *Eur Chem Bull.* 5 déc 2017;2017:456-69.
8. **Manel E.** Activité antioxydante des extraits phénoliques de caroube [Internet] [Thesis]. 2014 [cité 12 mai 2022].
9. **Ghédira K, Goetz P.** Caroubier : *Ceratonia siliqua* (L.) (Fabaceae). *Phytothérapie.* 1 oct 2019;17(5):286-90.
10. **Battle I.** Carob tree: *Ceratonia siliqua* L. - Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. *Bioversity International;* 1997. 92 p.
11. **Dionisio M, Grenha A.** Locust bean gum: Exploring its potential for biopharmaceutical applications. *J Pharm Bioallied Sci.* 1 juill 2012;4:175-85.
12. **Benmahioul B., Kaid Harche M., Daguin F.** Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples - Notre bibliothèque - Forêt Méditerranéenne. [cité 26 déc 2021].
13. **Turnbull LA, Santamaria L, Martorell T, Rallo J, Hector A.** Seed size variability: from carob to carats. *Biol Lett.* 22 sept 2006;2(3):397-400.
14. **Rima K.** Ziane achour university of Djelfa faculty of science of nature and life department of agronomic and veterinary sciences

15. **Chitt B.** Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier 2007
16. **Tous J, Romero A, Batlle I.** The Carob Tree: Botany, Horticulture, and Genetic Resources. In: Horticultural Reviews Volume 41. John Wiley & Sons, Ltd; 2013 [cité 27 déc 2021]. p. 385-456.
17. **Haddarah A.** L'influence des cultivars sur les propriétés fonctionnelles de la caroube Libanaise . Université de Lorraine; 2013 [cité 27 déc 2021]
18. **Saadouni Marwa.** Etude invitrode l'activité antalgique de l'extrait méthanolique de caroube « *Ceratonia siliqua L.* ». [Université des Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire]; 2021.
19. **Rtibi K, Jabri MA, Selmi S, Souli A, Sebai H, El-Benna J, et al.** Carob pods (*Ceratonia siliqua L.*) inhibit human neutrophils myeloperoxidase and in vitro ROS-scavenging activity. RSC Adv. 1 oct 2015;5(102):84207-15.
20. **Custódio L, Patarra J, Alberício F, Neng NR, Nogueira JMF, Romano A.** In vitro antioxidant and inhibitory activity of water decoctions of carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) on cholinesterases,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Nat Prod Res. 2015;29(22):2155-9.
21. **Rtibi K.** In vitro  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities and in vivo improving glucose tolerance and hypoglycemic effect of *Ceratonia siliqua* leaves aqueous extract. 13 mars 2018;
22. **Al-khazraji S.** Hypoglycaemic Activity of *Ceratonia siliqua* Leaves Extracts in Alloxan Induced Diabetic Rats. 1 juin 2018;
23. **Al-Hadid KJ.** Evaluation of Antiviral Activity of Different Medicinal Plants against Newcastle Disease Virus. Am J Agric Biol Sci. 1 nov 2016;11(4):157-63.
24. **Avallone R, Cosenza F, Farina F, Baraldi C, Baraldi M.** Extraction and purification from *Ceratonia siliqua* of compounds acting on central and peripheral benzodiazepine receptors. Fitoterapia. 1 août 2002;73(5):390-6.
25. **El-Hajaji H, Lachkar N, Alaoui K, Yahya C, Farah A, Ennabili A, et al.** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. Arab J Chem. 1 janv 2011;4:321-4.
26. **Zahra GF, Larbi B, Meriem B, Houria M, Chaima M, Badiaa B.** Phytochemical constituents and biological activities of *Ceratonia siliqua L.* leaves grown in western Algeria. Int J Res Biosci IJRBS. 1 févr 2021;10(1):9-16.
27. **Ghanemi FZ, Belarbi M.** Phytochemistry and Pharmacology of *Ceratonia siliqua L.* leaves. J Nat Prod Res Appl. 17 sept 2021;1(01):69-82.
28. **Gregoriou G, Neophytou CM, Vasincu A, Gregoriou Y, Hadjipakkou H, Pinakoulaki E, et al.** Anti-Cancer Activity and Phenolic Content of Extracts Derived from Cypriot

Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Pods Using Different Solvents. *Molecules*. 19 août 2021;26(16):5017.

29. **Custódio L, Escapa AL, Fernandes E, Fajardo A, Aligué R, Alberício F, et al.** In vitro cytotoxic effects and apoptosis induction by a methanol leaf extract of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). :10.
30. **Valero-Muñoz M, Martín-Fernández B, Ballesteros S, Lahera V, de las Heras N.** Carob Pod Insoluble Fiber Exerts Anti-Atherosclerotic Effects in Rabbits through Sirtuin-1 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  Coactivator-1 $\alpha$ . *J Nutr*. 1 sept 2014;144(9):1378-84.
31. **Agrawal A, Mohan M, Kasture S, Foddis C, Frau MA, Loi MC, et al.** Antidepressant activity of *Ceratonia siliqua* L. fruit extract, a source of polyphenols. *Nat Prod Res*. févr 2011;25(4):450-6.
32. **Al-Olayan EM, El-Khadragy MF, Alajmi RA, Othman MS, Bauomy AA, Ibrahim SR, et al.** *Ceratonia siliqua* pod extract ameliorates *Schistosoma mansoni*-induced liver fibrosis and oxidative stress. *BMC Complement Altern Med*. 8 nov 2016;16(1):434.
33. **Narin B, Sungurlu F, Balci A, Arman A, Kurdas OO, Simsek M.** Comparison of MR enteroclysis with colonoscopy in Crohn's disease--first locust bean gum study from Turkey. *Saudi J Gastroenterol Off J Saudi Gastroenterol Assoc*. déc 2009;15(4):253-7.
34. **Rtibi K, Jabri M, Selmi S, Sebai H, Marie JC, Mohamed A, et al.** Preventive effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rat. *RSC Adv*. 4 févr 2016;6.
35. **Corsi L, Avallone R, Cosenza F, Farina F, Baraldi C, Baraldi M.** Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *Fitoterapia*. 1 déc 2002;73(7):674-84.
36. **Sadeghzadeh F, Sadeghzadeh A, Changizi-Ashtiyani S, Bakhshi S, Mashayekhi FJ, Mashayekhi M, et al.** The effect of hydro-alcoholic extract of *Ceratonia Siliqua* L. on spermatogenesis index in rats treated with cyclophosphamide: An experimental study. *Int J Reprod Biomed*. 30 avr 2020;18(4):295-306.
37. **Mokhtari M, Sharifi E, Sh A.** The effects of hydro alcoholic extract of *Ceratonia siliqua* L. seeds on pituitary - Testis hormones and spermatogenesis in rat. *Adv Environ Biol*. 1 sept 2012;6:2778-83.
38. **Ahangarpour A, Heidari H, Junghani MS, Absari R, Khoogar M, Ghaedi E.** Effects of hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* seed on glucose and insulin related biomarkers, lipid profile, and hepatic enzymes in nicotinamide-streptozotocin-induced type II diabetic male mice. *Res Pharm Sci*. oct 2017;12(5):416-24.
39. **Lachkar N, Al-Sobarry M, El-Hajaji H, Lamkinsi T, Lachkar M, Cherrah Y, et al.** Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. Methanol barks extract. *J Chem Pharm Res*. 1 janv 2016;2016:202-10.

40. **Gulay MS, Yildiz-Gul O, Ata A, Balic A, Demirtas A.** Toxicological Evaluation of Carob (*Ceratonia siliqua*) Bean Extracts in Male New Zealand White Rabbits. *J Anim Vet Adv.* 1 nov 2012;11(11):1853-7.
41. **M Hammouda, SI Ismail, NS Abdel-Azim, KA Shams.** A guide to medicinal plants in North Africa . IUCN; 2005
42. **Amico F, Sorce EG.** Medicinal plants and phytotherapy in Mussomeli area (Caltanissetta, Sicily, Italy). 1997
43. **Merzouki A, Ed-derfoufi F, Aallali AE, Molero-Mesa J.** Wild medicinal plants used by local Bouhmed population (Morocco) 1997
44. **Tansaz M, Memarzadehzavareh H, Qaraaty M, Eftekhar T, Tabarraï M, Kamalinejad M.** Prise en charge de la ménorragie en médecine traditionnelle iranienne. *J Evid-Based Complement Altern Med.* 1 janv 2016;21(1):71-6.
45. **Ahmed HM.** Ethnopharmacobotanical study on the medicinal plants used by herbalists in Sulaymaniyah Province, Kurdistan, Iraq. *J Ethnobiol Ethnomedicine.* 28 janv 2016;12:8.
46. **Afifi-Yazar FU, Kasabri V, Abu-Dahab R.** Medicinal Plants from Jordan in the Treatment of Diabetes: Traditional Uses vs. In Vitro and In Vivo Evaluations – Part 2. *Planta Med.* juill 2011;77(11):1210-20.
47. **Ouhaddou H, Boubaker H, Msanda F, Mousadik AE.** An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida Ou Tanane province (southwest Morocco). *J Appl Biosci.* 2014;84:7707-22.
48. **Biner B, Gubbuk H, Karhan M, Aksu M, Pekmezci M.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chem.* 31 déc 2007;100:1453-5.
49. **Kumazawa S, Taniguchi M, Suzuki Y, Shimura M, Kwon MS, Nakayama T.** Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J Agric Food Chem.* 16 janv 2002;50(2):373-7.
50. **Ayaz F, Torun H, Glew R, Bak ZD, Chuang L, Presley J, et al.** Nutrient Content of Carob Pod (*Ceratonia siliqua* L.) Flour Prepared Commercially and Domestically. *Plant Foods Hum Nutr.* 2009
51. **Durazzo A, Turfani V, Narducci V, Azzini E, Maiani G, Carcea M.** Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem.* 15 juin 2014;153:109-13.
52. **Bengoechea C, Romero A, Villanueva A, Moreno G, Alaiz M, Millán F, et al.** Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chem.* 15 mars 2008;107(2):675-83.
53. **Feillet P, Roulland TM.** Caroubin: a gluten-like protein isolated from carob bean germ. *Cereal Chem.* 15 août 1998;75(4):488-92.

54. **Moritz B, Ladislaus C, Adalbert S, Eugen S.** Manufacture of mill products for alimentary purposes and of paste goods and baked products from such milled products US2025705A, 1935
55. **Marakis S.** Carob bean in food and feed: current status and future potentials: a critical appraisal. *J Food Sci Technol.* 1996;33(5):365-83.
56. **Loeb H, Vandenplas Y, Würsch P, Guesry P.** Tannin-rich carob pod for the treatment of acute-onset diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* mai 1989;8(4):480-5.
57. **Plowright TR.** The use of carob flour (arobon) in a controlled series of infant diarrhea. *J Pediatr.* juill 1951;39(1):16-21.
58. **Abi Azar R.** Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier : propriétés technologiques des coagulums obtenus These de doctorat. Paris, AgroParisTech; 2007
59. **Bouzouita N, Khaldi A, Zgoulli S, Chebil L, Chekki R, Chaabouni MM, et al.** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chem.* 1 janv 2007;101(4):1508-15.
60. **Barak S, Mudgil D.** Locust bean gum: processing, properties and food applications--a review. *Int J Biol Macromol.* mai 2014;66:74-80.
61. **Onyenekwe ECN.** Histological study on the staining potentials of Aqueous extract of *Ceratonia Siliqua* bark.
62. **Macheix JJ, Fleuriet A, Jay-Allemand C.** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques; 2005. 212 p.
63. **Urquiaga I, Leighton F.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol Res.* 2000
64. **Smith E.** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. *Phytother Res.* sept 2007;21(9):904-904.
65. **Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hraš AR, Simonič M, Knez Ž.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem.* 1 févr 2005;89(2):191-8.
66. **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F.** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie.* 1 janv 2004;2(1):3-6.
67. **Bossokpi P.L.,** 2002- Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, (Bamako): 133.
68. **Cowan MM.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *CLIN MICROBIOL REV.* 1999;12:19.

69. **Rangkadilok N, Sitthimonchai S, Worasuttayangkurn L, Mahidol C, Ruchirawat M, Satayavivad J.** Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. *Food Chem Toxicol.* 1 févr 2007;45(2):328-36.
70. **Seyoum A, Asres K, El-Fiky FK.** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry.* 1 sept 2006;67(18):2058-70.
71. **Guignard J.** Abrégé de biochimie végétale à l’usage des étudiants en pharmacie. Paris: Masson; 1974. 214 p.
72. **Gazengel JM, Orecchioni AM.** Le préparateur en pharmacie. 2e éd. Paris: Éd. Tec & doc-[Lavoisier]; 2013. (Guide théorique et pratique).
73. **Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomás-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, et al.** Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr Dordr Neth.* 2004;59(3):113-22.
74. **SARNI-MANCHADO Pascale, CHEYNIER.** Les polyphénols en agroalimentaire Véronique. Librairie Lavoisier
75. **Hodek P, Trefil P, Stiborová M.** Flavonoids–potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem Biol Interact.* janv 2002;139(1):1-21.
76. **van Acker SABE, van Balen GP, van den Berg D, Bast A, van der Vijgh WJF.** Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem Pharmacol.* oct 1998;56(8):935-43.
77. **Vo I.** Evaluation of the effects of the hydro-ethanolic root extract of *Zanthoxylum Zanthoxyloides* on hematological parametrs and oxidative stress in cyclophosphamide treated rats .2016;7.
78. **Haslam E.** Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. *J Nat Prod.* 1 janv 1996;59(2):205-15.
79. **Scalbert A.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 1 janv 1991;30(12):3875-83.
80. **Deluc L.** Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin [These de doctorat]. Bordeaux 1; 2004
81. **Conrad J, Vogler B, Klaiber I, Roos G, Walter U, Kraus W.** Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry.* 1998
82. **Hurabielle M (19 ) A.** Abrégé de matière médicale, pharmacognosie : plantes à glucides (holosides, hétérosides), à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes (début). Masson; 1981.

83. **Bruneton J, Poupon E.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 5e éd. Paris: Lavoisier Tec & doc; 2016.
84. **Mota ML, Thomas G, Barbosa Filho JM.** Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *J Ethnopharmacol.* juill 1985;13(3):289-300.
85. **Okuda T, Kimura Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H, Arichi S.** Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* mai 1983;31(5):1625-31.
86. **Paolini PV.** sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. 2003;3.
87. **Badiaga M.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali [phdthesis]. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; 2011
88. **ROUX-SITRUK OC Danielle.** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie - Odile Catier - Danielle Roux-Sitruk - 9782915585520 - Livre - Le Moniteur des pharmacies.fr
89. **Zenk MH, Juenger M.** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry.* déc 2007;68(22-24):2757-72.
90. **Fontanay S.** Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines : caractérisations physicochimiques et activités biologiques [phdthesis]. Université de Lorraine; 2012
91. **Sparg SG, Light ME, van Staden J.** Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol.* oct 2004;94(2-3):219-43.
92. **Dewick PM.** The biosynthesis of C5-C25 terpenoid compounds. *Nat Prod Rep.* avr 1997;14(2):111-44.
93. **Zhou W, Song Z, Kanagasabai R, Liu J, Jayasimha P, Sinha A, et al.** Mechanism-based enzyme inactivators of phytosterol biosynthesis. *Mol Basel Switz.* 31 mars 2004;9(4):185-203.
94. **Seeman P, Cheng D, Iles GH.** Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis. *J Cell Biol.* févr 1973;56(2):519-27.
95. **Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H.** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry.* févr 2007;68(3):275-97.
96. **Huang HC, Liao SC, Chang FR, Kuo YH, Wu YC.** Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden apple snails, *Pomacea canaliculata*. *J Agric Food Chem.* 13 août 2003;51(17):4916-9.
97. **Speroni, E., et al.** "Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile." *Journal of Ethnopharmacology* 98.1-2 (2005): 117-125

98. **Delmas F, Giorgio C, Elias R, Gasquet M, Azas N, Mshvildadze V, et al.** Antileishmanial Activity of Three Saponins Isolated from Ivy,  $\alpha$ -Hederin,  $\beta$ -Hederin and Hederacolchiside A1, as Compared to Their Action on Mammalian Cells Cultured in Vitro. *Planta Med.* 1 juin 2000;66:343-7.
99. **Ellington A, Berhow M, Singletary K.** Inhibition of Akt signaling and enhanced ERK1/2 activity are involved in induction of macroautophagy by triterpenoid B-group soyasaponins in colon cancer cells. *Carcinogenesis.* 1 mars 2006;27:298-306.
100. **Gülçin I, Mshvildadze V, Gepdiremen A, Elias R.** Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med.* juin 2004;70(6):561-3.
101. **Locquin MV.** Manuel de microscopie /. Paris : Masson,; 1978.
102. **Roger P, Gilles F, Jean-Pierre R,** Colorations de cellulose et lignine [Internet]. Planet-Vie.
103. **Ronchetti F, Russo G, Bombardelli E, Bonati A.** A new alkaloid from *Rauwolfia vomitoria*. *Phytochemistry.* 1 juin 1971;10(6):1385-8.
104. **Wagner, H. (1983)** Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen. [Drug Analysis, Analysis by Thin Layer Chromatography of Drugs.] Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 522 p. - References - Scientific Research Publishing
105. **Bekro YA, Mamyrbekova J, Boua B, Bi F, Ehile E.** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Bail) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sci Nat.* 25 sept 2008;4.
106. **Nemlin J et Brunel J. F.** Fascicule de Travaux Pratiques de Matière Médicale (3ème année). Université Nationale de Côte-d'Ivoire. Faculté de Pharmacie. Département de Pharmacognosie. Laboratoire de Phytologie. 1995.
107. **Dallali S, Aloui F.** Comparison of the chemical composition and the antioxidant activity of the leaves of Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) collected in three sites of Djebel Zaghouan (Tunisia). 13 avr 2020;
108. **Singleton VL, Rossi JA.** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic.* 1 janv 1965;16(3):144-58.
109. **Houari el hadj el hadj.** Contribution à l'étude du caroubier (*Ceratonia siliqua*, L.) dans la région de Tlemcen (Nord-Ouest Algérien). Aspects phytoécologiques et anatomiques. [Département des Ressources Forestières universite abou bakr belkaid tlemcen]; 2017.
110. **Khattab AM, Youssef FA, El-Kobisy OS, Emara KS.** Botanical studies on some genera of Mimosaceae and Caesalpinioideae II- Seed features *J Plant Prod.* 1 juin 2007;32(6):4411-25.

111. **Meyer RE, Meola SM**, éditeurs. Morphological Characteristics of Leaves and Stems of Selected Texas Woody Plants. 1978. 209 p. (Technical Bulletin).
112. **Kolyva F, Stratakis E, Rhizopoulou S, Chimona C, Fotakis C**. Leaf surface characteristics and wetting in *Ceratonia siliqua* L. *Flora - Morphol Distrib Funct Ecol Plants*. août 2012;207(8):551-6.
113. **El-Hajaji H, Lachkar N, Alaoui K, Yahya C, Farah A, Ennabili A, et al**. Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arab J Chem*. 1 janv 2011;4:321-4.
114. **Rtibi K, Selmi S, Grami D, Amri M, Eto B, El-Benna J, et al**. Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract: A review. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. sept 2017;93:522-8.
115. **Sassi A, Bouhlel I, Mustapha N, Mokdad-Bzeouich I, Chaabane F, Ghedira K, et al**. Assessment in vitro of the genotoxicity, antigenotoxicity and antioxidant of *Ceratonia siliqua* L. extracts in murine leukaemia cells L1210 by comet assay. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1 juin 2016;77:117-24.
116. **Hajaji HE, Lachkar N, Alaoui K, Cherrah Y, Farah A, Ennabili A, et al**. Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Three Varieties of Carob Tree Leaves from Morocco. *Rec Nat Prod*. 2010;12.
117. **Anis B, Trigui M, Jarraya R, Mohamed D, Jaoua S**. Identification of phenolic compounds by high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Ceratonia siliqua* leaves extracts. *J Med Plants Res*. 10 avr 2015;9:479-85.
118. **Fatima Zohra G, Fluckiger A, Nani A, Dumont A, Rosny C, Aboura I, et al**. Carob leaf polyphenols trigger intrinsic apoptotic pathway and induce cell cycle arrest in colon cancer cells. *J Funct Foods*. 1 juin 2017;33:112-21.
119. **Stavrou IJ, Christou A, Kapnissi-Christodoulou CP**. Polyphenols in carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. *Food Chem*. 15 déc 2018;269:355-74.
120. **Abidar S, Boiangiu RS, Dumitru G, Todirascu-Ciornea E, Amakran A, Cioanca O, et al**. The Aqueous Extract from *Ceratonia siliqua* Leaves Protects against 6-Hydroxydopamine in Zebrafish: Understanding the Underlying Mechanism. *Antioxidants*. 8 avr 2020;9(4):304.
121. **Ben Othmen K, Elfalleh W, García Beltrán JM, Esteban MÁ, Haddad M**. An in vitro study of the effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties. *Fish Shellfish Immunol*. avr 2020;99:35-43.

## Références bibliographiques

---

122. **Hsouna AB, Alayed AS, Abdallah EM.** Evaluation of antimicrobial activities of crude methanolic extract of pods of *Ceratonia siliqua* L. against some pathogens and spoilage bacteria. *Afr J Microbiol Res.* 16 avr 2012;6(14):3480-4.
123. **Locatelli M, Travaglia F, Coïsson JD, Martelli A, Stévigny C, Arlorio M.** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food Chem.* 15 avr 2010;119(4):1647-55.

## Annexe

Annexe : Résultat des études botaniques et chimiques de l'écorce et de la feuille du Caroubier, + : Réaction positive, - : Réaction négative, / : Réaction non réalisée

Etude	Elément botanique ou chimique	Ecorce			Feuille			
Etude botanique microscopique	Epiderme inférieur cuticularisé	-			+			
	Epiderme supérieur cuticularisé	-			+			
	Hypoderme	-			+			
	Phelloderme	+			-			
	Stomate	-			+			
	Suber	+			-			
	Poil tecteur	+			+			
	Collenchyme rond	-			+			
	Parenchyme	Cortical	+			+		
		Palissadique	-			+		
		Lacuneux	-			+		
	Cellules scléreuses	+			-			
	Fibres scléreuses péricycliques	+			+			
	Cellules cristalligènes	+			-			
	Vaisseau de bois	-			+			
	Lenticelle	+			-			
	Liber	+			+			
	Rayon médullaire	+			+			
	Oxalate de calcium	Macles	-			+		
		Prismes	+			-		
Grains d'amidons	+			+				
Screening phytochimique	Les extraits	Ethérique	Méthanolique	Aqueux	Ethérique	Méthanolique	Aqueux	
	Les polyphénols	-	+	+	-	+	+	
	Les flavonoïdes	-	-	-	+	+	+	
	Les saponosides	/	/	+	/	/	+	
	Les tanins catéchiques	+/-	+	+	+/-	+	+	
	Les tanins galliques	-	-	-	-	-	-	
	Les alcaloïdes	-	-	-	-	-	-	
	Les substances quinoniques	-	-	-	-	-	-	
	Les stérols et les polyterpènes	+	+	+	+	+	-	
Dosage	Les polyphénols	28,54mg/g			37,32 mg/g			
	Les flavonoïdes	5,76mg/g			24,20mg/g			

## Résumé

Le caroubier est un arbre méditerranéen qui est très utilisé en médecine traditionnelle et en alimentation pour son fruit et ses graines. Les feuilles et les écorces constituent donc des sous-produits mais elles ne sont pas très valorisées. L'objectif principal de cette étude est de distinguer les différents éléments botaniques de la feuille et de l'écorce puis d'étudier qualitativement et quantitativement leurs composants chimiques. Il s'agit donc d'une étude descriptive comparative par une étude macroscopique et microscopique de la coupe transversale et de la poudre suivie d'un screening tri-phytochimique et d'un dosage spectrophotométrique des polyphénols et des flavonoïdes de la feuille et de l'écorce du caroubier. Ces deux parties renferment des poils tecteurs et des fibres scléreuses péricycliques mais seule l'écorce contient des cellules scléreuses, le screening phytochimique a confirmé la présence des stérols des saponosides ainsi que des polyphénols avec 37,32 mg/g dont 24,20 mg/g de flavonoïdes dans les feuilles et de 28,54mg/g dont 5,76mg/g de flavonoïdes dans l'écorce. Ces résultats très encourageants doivent être complétés par des études chimiques, biologiques et cliniques plus approfondies afin de permettre un usage thérapeutique.

**Mots clés :** Caroubier, *Ceratonia siliqua*, botanique, screening phytochimique, polyphénols.

## ملخص

شجرة الخروب هي شجرة متوسطة تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي وفي الطعام والمأكولات عن طريق ثمارها وبذورها. وبالتالي، فإن الأوراق واللحاء منتجات ثانوية، لكنها ليست ذات قيمة عالية. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو التمييز بين العناصر النباتية المختلفة للورقة واللحاء ثم دراسة مكوناتها الكيميائية نوعاً وكماً. لذلك فهي دراسة مقارنة وصفية من خلال دراسة مجهرية وعيانية للمقطع العرضي والمسحوق متنوعة بفحص تحديد المكونات الكيميائية النباتية والقياس الطيفي للبولىفينول والفلافونويد في ورقة ولحاء شجرة الخروب. يحتوي هذان الجزءان على شعر الناقلات وألياف التصلب شبه الحلقي ولكن اللحاء فقط يحتوي على خلايا التصلب، وأكد الفحص الكيميائي النباتي وجود ستيرويدات الصابونوسيدات وكذلك البولىفينول مع 37,32 ملغم/غرام منها 24,20 ملغم/غرام من الفلافونويد في الأوراق و 28,54 ملغم/غرام منها 5,76 ملغم/غرام في اللحاء، يجب استكمال هذه النتائج المشجعة للغاية بمزيد من الدراسات الكيميائية والبيولوجية والسريرية للسماح بالاستخدام العلاجي.

الكلمات الرئيسية: شجرة الخروب، سيراتونيا سيليكوا، علم النبات، الفحص الكيميائي النباتي، البولىفينول.

## Abstract

The carob tree is a Mediterranean tree that is widely used in traditional medicine and as a food for its seeds and fruits. Leaves and bark are therefore by-products, but they are not highly valued. The main objective of this study is to distinguish the different botanical elements of the leaf and bark and then to study qualitatively and quantitatively their chemical components. It is therefore a descriptive, comparative study by a macroscopic and microscopic study of the cross-section and the powder followed by a screening tri-Phytochemical and spectrophotometric determination of polyphenols and flavonoids in the leaf and bark of the carob tree. These two parts contain Tector hairs and pericyclic sclerosis fibers, but only the bark contains sclerotic cells phytochemical screening confirmed the presence of saponosides sterols as well as polyphenols with 37,32 mg/g of which 24.20 mg/g flavonoids in leaves and 28.54mg/g of which 5.76mg/g flavonoids in bark. These very encouraging results need to be complemented by further chemical, biological and clinical studies to allow for therapeutic use.

**Keywords:** Carob tree, *Ceratonia siliqua*, botany, phytochemical screening, polyphenols.