

EFFET HEPATOPROTECTIVE DE LA CAROUBE (*Ceratonia siliqua* L.) CONTRE LE STRESS OXYDATIF INDUIT PAR L'ALLOXANE CHEZ LE RAT BLANC

YAHIAOUI Karima¹, BOUCHENAK Ouahiba², LAOUFI Razika³, LEFKIR Samia¹, BENHABYLES Narimen⁴, AIDOUZ Aziouz², YOUYOU Soraya¹, NOUANI Abdelouahab¹ et ARAB Karim³

1. Laboratoire Technologie Alimentaire, Faculté de Technologie, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.
2. Laboratoire Bio-informatique, Microbiologie Appliquée et Biomolécules, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.
3. Laboratoire Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Algérie.

Résumé : La présente étude porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante in vivo des flavonoïdes des extraits aqueux obtenus de différents stades de maturation (deuxième et troisième stade) de la gousse de caroube (*Ceratonia siliqua* L.) récoltée dans la région de Boumerdes. Le dosage des flavonoïdes enregistre des concentrations de 7.5 mg EQ /g de matière végétale pour le 2^{ème} stade et 0.72mgEQ/gde matière végétale pour le 3^{ème} stade. L'activité antioxydante in vivo est confirmée par l'ensemble des résultats. En effet, le traitement quotidien par l'extrait aqueux des flavonoïdes par voie orale entraîné un rétablissement significative des paramètres du stress oxydatif par la réduction de la peroxydation lipidique et stimulation des activités de la SOD, la CAT et la glutathion peroxydase accompagnée d'une nette amélioration de la capacité antioxydante totale du sang indiqué par la baisse de la glycémie, essentiellement avec les extraits de flavonoïdes provenant du troisième stade de maturation de la gousse de la caroube.

Mots clés : Caroube, flavonoides, activité antioxydante, in vivo

HEPATO-PROTECTIVE EFFECT OF CAROB (*Ceratonia siliqua* L.) AGAINST ALLOXANE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN WHITE RAT

Abstract: This study focuses on the evaluation of the in vivo antioxidant activity of flavonoids of aqueous extracts obtained from different maturation stages (second and third stage), carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) harvested in the Boumerdes region. The determination of flavonoids recorded concentrations of 7.5 mg EQ/g plant for the 2nd stage and 0.72mgEQ/gde plant for the 3rd stage. In vivo antioxidant activity is confirmed by all results. The daily oral treatment of flavonoids with aqueous extract resulted in a significant recovery of oxidative stress parameters by reducing lipid peroxidation and stimulating the activities of SOD, CAT and glutathione peroxidase, followed by a marked improvement in the total antioxidant capacity of the blood indicated by decreased blood sugar, mainly with flavonoid extracts from the third stage of maturation of the carob bean.

Keywords: Carob, flavonoids, antioxidant activity, in vivo

1.- Introduction

Le caroubier est une espèce agro-sylvo-pastorale ayant d'énormes intérêts socio-économiques et écologiques [1 et 2]. Il est utilisé en industrie alimentaire et pharmacologique [3 et 4].

Étant riche en antioxydants, en sucres, protéines, fibres, potassium et calcium, cette plante est connue en thérapeutique pour son

effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, antidiarrhéique et troubles digestifs [5].

Sa richesse en composés phénoliques est à l'origine de ses remarquables propriétés antioxydants [6]. Le fruit de la caroube est utilisé pour le traitement de certaines maladies comme la gastrite, l'entérite, les angines, les rhumes, le cancer, etc [7]. Les extraits des feuilles contenant les tannins sont utilisés dans la médecine traditionnelle pour traiter la diarrhée. Ils ont été également

désignés comme étant porteurs d'activités cytotoxiques et antimicrobiennes [8]. L'écorce du caroubier a été toujours utilisée en tannerie, particulièrement dans l'achèvement et l'émaillage des peaux [9]. Également, la pulpe a été recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les affections des bronches.

Les flavonoïdes représentent l'un des groupes les plus répandus des composés phénoliques. Certains d'entre eux, et en raison

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal

Deux stades de maturation des gousses de *Ceratonia siliqua* L. sont choisis: des



a. - 2^{ème} stade



b. - 3^{ème} stade

Figure 1.- Gousses à deux stades (a et b) de maturation de *Ceratonia siliqua*.L.

Après la récolte, les gousses sont séchées à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Une fois séchées, les gousses sont broyées en poudre très fine à l'aide d'un broyeur électrique de type WARNING. La poudre obtenue est conservée dans un flacon en verre hermétiquement fermé, à l'abri de l'humidité et la lumière.

1.2. Extraction des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon la méthode de Markham [11],

de leur structure phénolique, sont connus pour être impliqués dans le processus de capture des radicaux libres formés au cours d'un stress oxydatif [10].

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail vise à tester l'effet antioxydant et hépato-protecteur des flavonoïdes de la gousse de caroube *Ceratonia siliqua* L. extraites pendant le deuxième et le troisième stade de maturation.

gousses au stade 2 (vertes), récoltées au mois de février 2018 dans la région de Zemouri-Boumerdes et au stade 3, récoltées en été 2017 provenant de la même région (Figure 1).

avec modification inspirée selon la méthode de Bruneton [12]. Elle est basée sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques. Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première phase d'extraction se fait avec le méthanol pour solubiliser les flavonoïdes et la deuxième est réalisée avec l'étherdiéthylique (extraction des génines libres), l'acétate d'éthyle (extraction des monoglycosides) et le n-butanol (pour solubiliser les di et les triglycosides).

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la

poudre végétale utilisée dans l'extraction (30 g) suivant la formule :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{m - m_0}{M_t} 100$$

Avec :

m : Masse du ballon après évaporation.

m_0 : Masse du ballon vide.

$m - m_0$: Masse de l'extrait brut.

M_t : Masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction.

1.2.1. Dosage des flavonoïdes

La détermination de la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanoliques de *Ceratonia siliqua* L. est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par Ayoola et al. [13]. Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

1.3. - Evaluation des paramètres du stress oxydatif

Les rats de laboratoire utilisés dans cette étude pèsent entre 120g à 180g. Ils sont logés dans des cages standards en plastique à couvercle métallique grillagé, dans des conditions d'éclairage et de température contrôlées.

L'activité antioxydante des flavonoïdes est étudiée in vivo, 5 jours après l'injection de l'alloxane (inducteur de stress oxydatif). Les rats sont répartis en cinq lots de quatre individus [14]:

- un lot contrôle négatif : reçoit seulement l'eau physiologique à 0,9 %.
- un lot contrôle positif : reçoit l'eau physiologique à 0,9 % en plus de l'injection de l'alloxane.

- un lot de référence : reçoit, par voie *per os*, la quercétine pure en raison de deux prises à 200 mg/kg avant et après deux heures de l'injection de l'alloxane.
- un lot prétraité par l'extrait aqueux de caroube au 2^{ème} stade : recevant par voie *per os*, deux fois la dose de 200 mg/kg de l'extrait aqueux des flavonoïdes avant et après 2 heures de l'injection de l'alloxane.
- un lot prétraité par l'extrait aqueux de caroube au 3^{ème} stade : recevant par voie *per os*, deux fois la dose de 200 mg/kg de l'extrait aqueux des flavonoïdes avant et après 2 heures de l'injection de l'alloxane.

1.3.1. Dosage du glutathion hépatique (GSH)

Le dosage du GSH est réalisé par la méthode colorimétrique d'Ellman [15]. Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) qui absorbe à une longueur d'onde de 412 nm.

Pour ce dosage, un gramme de pancréas (frais ou congelé) est homogénéisé dans trois volumes de TCA 5 % à l'aide d'un broyeur de Dounce puis centrifugé à 2000 rpm. 50 µl de surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon

phosphate (0,1 M, pH 8). À 3 ml du mélange de dilution, 20 µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés.

L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %. Les concentrations sont exprimées en nmol/gramme de foie. Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le glutathion.

1.3.2. - Dosage de la malonyldialdéhyde (MDA) dans une fraction cytosolique à 10 % de foie

Le taux du (MDA) est dosé selon la méthode d'Ohkawa *et al.* [16]. Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose (lecture à 530 nm).

Pour le dosage du MDA, 1 g de foie est additionné à 3 ml de solution de KCl (1,15 M) puis broyé par un homogénéiseur de Dounce (Kontes, *Glass company ISO-9001 steered firm, New Jersey USA*). À 0,5 ml de l'homogénat, 0,5 ml d'acide trichloracétique à 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre (LKB II) à 532 nm.

La concentration de MDA est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec 1, 1, 3,3 tétraétoxypropane qui donne le MDA après son hydrolyse en solution. Les résultats du dosage sont exprimés en nmol/gramme de foie.

1.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

L'activité enzymatique de la CAT est déterminée par la méthode de Clairborne [17]. Une fraction enzymatique est préparée selon la méthode d'Iqbal *et al.* [18]: 2 g de foie sont coupés et homogénéisés dans 3 volumes de tampon phosphate (0.1M, pH 7.4) contenant du KCl (1.17%) par un homogénéisateur de type Dounce. L'homogénat est centrifugé à 2000 rpm durant 15 min à 4 °C. Le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 rpm durant 30 minutes à 4 °C (Centrifugeuse SIGMA 6k15) et le surnageant final représente la source utilisée pour l'évaluation de l'activité des enzymes (catalase et superoxyde dismutase). Pour cela, un mélange est constitué de 1 ml de tampon phosphate (KH₂PO₄, 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H₂O₂ fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (le cytosol). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI / min/g de protéine), selon la formule :

$$UI/g = (2.3033 / T) \times (\log A1/A2) / g \text{ de protéine}$$

Avec :

A1: Absorbance à la première minute.

A2: Absorbance à la deuxième minute.

T: Intervalle de temps en minute.

1.3.4. Evaluation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

L'évaluation de la SOD est réalisée sur le cytosol par la méthode de Beauchamp et Fridovich [19]. Un mélange est constitué de 2 ml du milieu réactif (Cyanide de Sodium 10-2M, solution de NBT (nitrobleu de tetrazolium) à 1.76×10^{-4} M, EDTA 66 mmol, Methionine 10-2 M, Riboflavine 2 μ mol, pH 7.8) et 5 μ L de cytosol. Ce mélange est exposé à la lumière d'une lampe de 15 Watt pendant 10 min pour induire la photoréaction de la riboflavine et de l'O₂. La réduction de NBT par les anions superoxydes en formazan est suivie par la lecture au spectrophotomètre à 560 nm. L'activité enzymatique est calculée en termes d'UI/mg de protéines.

1.3.5. Etude de l'activité hypoglycémiant

Le pouvoir ou l'activité hypoglycémiant est la capacité de certaines substances ou molécule à diminuer la

glycémie après leurs administrations. L'insuline sécrétée par la cellule bêta des ilots de Langerhans du pancréas est la seule hormone hypoglycémiant naturelle.

Afin de déterminer le pouvoir hypoglycémiant des fruits du caroubier, 14 rats sont répartis en quatre groupes. On doit d'abord procéder à l'administration par voie orale (gavage) des solutions de glucose, deglucofage et de l'extrait à raison respectivement de 4g/kg, 2.5mg/kg et 2.5mg/kg. Les animaux témoins reçoivent le même volume en eau physiologique une heure avant le gavage d'une solution du glucose. L'évolution de la glycémie est contrôlée avant et à 30 minutes sur une période de 2 heures [20].

1.4. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes et d'erreur standard à la moyenne (moyenne \pm ESM). L'évaluation statistique est effectuée après utilisation du test T de Student à l'aide du logiciel Statistica 6.

2. RESULTATS

Le meilleur rendement d'extraction des flavonoïdes est enregistré pour les gousses du 2^{ème} stade, soit une moyenne de 11.82% versus 7.73% pour les gousses du 3^{ème} stade.

En se référant à la courbe d'étalonnage, les concentrations des différents échantillons sont respectivement de 7.5 mg EQ /g de matière végétale pour le 2^{ème} stade et 0.72mgEQ/gde matière végétale pour le 3^{ème} stade.

2.1. Evaluation de l'activité antioxydante in vivo

2.1.1. Variation des concentrations en GSH

Les résultats de l'étude de l'impact du traitement par l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* sur le taux hépatique du GSH sont représentés sur la figure 2.

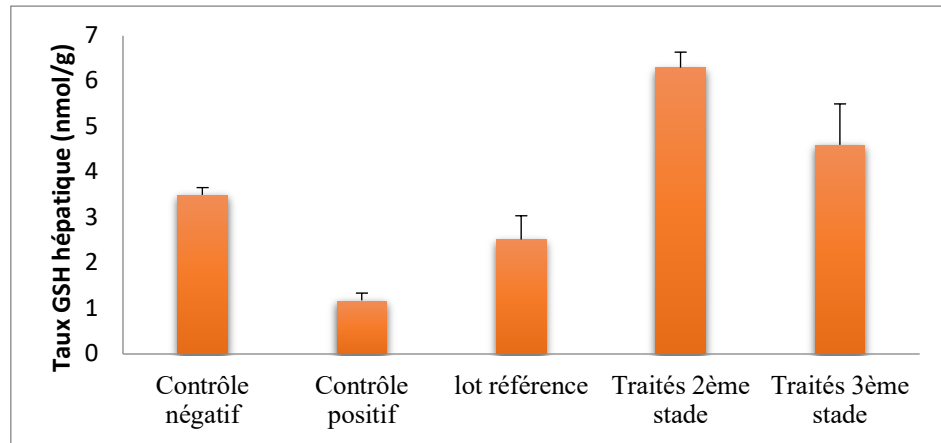


Figure 2. - Influence de l'administration de l'extrait aqueux de *Ceratonia Siliqua* sur le taux hépatique en GSH

Une diminution significative du taux du GSH hépatique est observée chez les rats contrôle positif ($1,18 \pm 0,16$ nmol/g) par rapport au témoin négatif ($3,52 \pm 0,16$ nmol/g). En revanche, nos résultats ont enregistré une augmentation très significative ($p < 0.001$) du taux du GSH hépatique chez les animaux traités par l'extrait aqueux de *Ceratonia*

siliqua au 2^{ème} et au 3^{ème} stade de maturation ainsi que par la quercétine.

2.1.2. Variation des concentrations en malonyldialdéhyde (MDA)

Les concentrations en MDA ont été déterminées sur des fractions cytosoliques du foie. Les résultats sont représentés sur la figure 3.

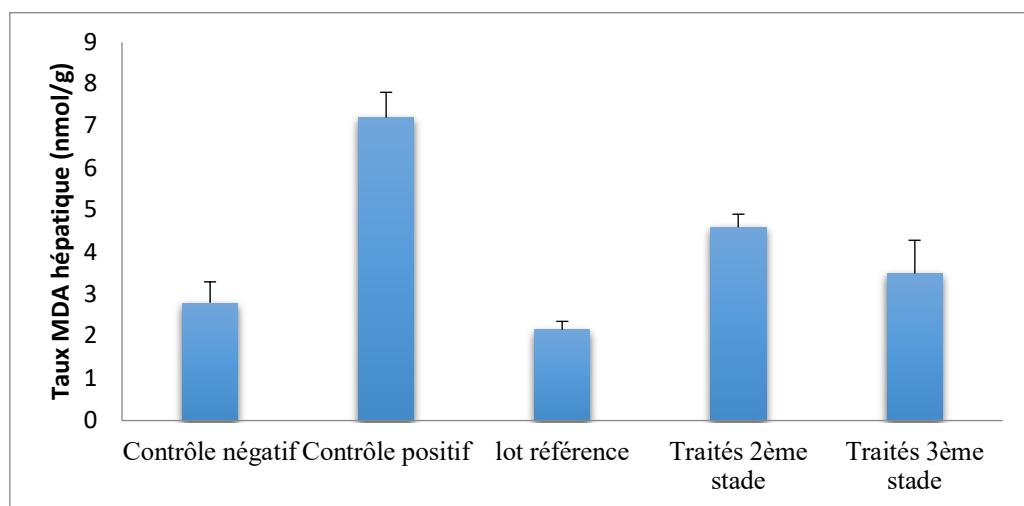


Figure 3. - Influence de l'administration de l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* sur le taux hépatique en MDA.

Une augmentation significative du taux du MDA hépatique ($p < 0.05$) est

notée chez le contrôle positif ($7.21 \text{ nmol/g} \pm 0.5$) comparé au contrôle négatif ($2.8 \text{ nmol/g} \pm 0.5$). Par contre une diminution du

taux du MDA hépatique est observé chez les lots traités, soit respectivement, 4.6 nmol/g±0.31 pour l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* au 2^{ème} stade, 3.5 nmol/g±0.79 pour le 3^{ème} stade et 2.16 nmol/g±0.2 pour la quercétine ($p < 0.05$).

2.1.3. Activité de la superoxyde dismutase (SOD) hépatique

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de l'activité de la SOD au niveau du foie chez les rats contrôle positif ($0.95 \pm 0,3$ nmol/g) comparés au contrôle négatif ($0,67 \pm 0,2$ nmol/g). Par contre, il a été enregistré une diminution significative ($p < 0.05$) de l'activité de la SOD après traitement par la quercétine ($0,51 \pm 0,3$ nmol/g), l'extrait aqueux du 2^{ème} stade ($0.34 \pm 0,2$ nmol/g) et l'extrait aqueux du 3^{ème} stade (0.42 ± 0.15 nmol/g) (Figure 4).

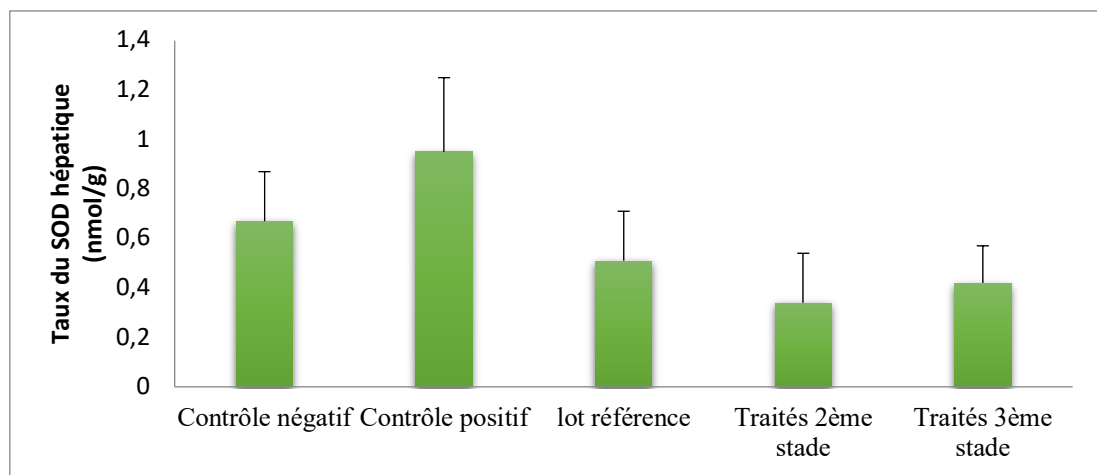


Figure 4 . - Influence de l'administration de l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* sur le taux hépatique de la SOD.

2.1.4. Activité de la catalase (CAT) hépatique

Les résultats obtenus montrent une diminution de l'activité de la CAT au niveau du foie chez le contrôle positif ($0,25 \pm 0,02$ nmol/g) comparée au contrôle négatif ($0,3 \pm 0,1$ nmol/g).

Cependant, on note une augmentation significative de l'activité de la CAT par l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* du 2^{ème} stade ($0.43 \pm 0,16$ nmol/g), la quercétine ($0.6 \pm 0,12$ nmol/g) et l'extrait aqueux de la caroube du 3^{ème} stade ($0.81 \pm 0,3$ nmol/g) (Figure 5).

2.1.3. Activité hypoglycémiant des extraits de la caroube

L'administration des deux extraits aqueux de caroube (stade 2 et stade 3) par voie orale, à raison de 2,5g/kg aux rats, une heure avant le gavage par une solution de glucose à 4g/kg, ont permis de noter une diminution significative de la glycémie chez les rats traités par les deux extraits de caroube stade 2 et stade 3, les valeurs sont de 69,81% et 79,54% respectivement par rapport à celles observées avec le glucophage (67,9 %) (Figure 6 et 7).

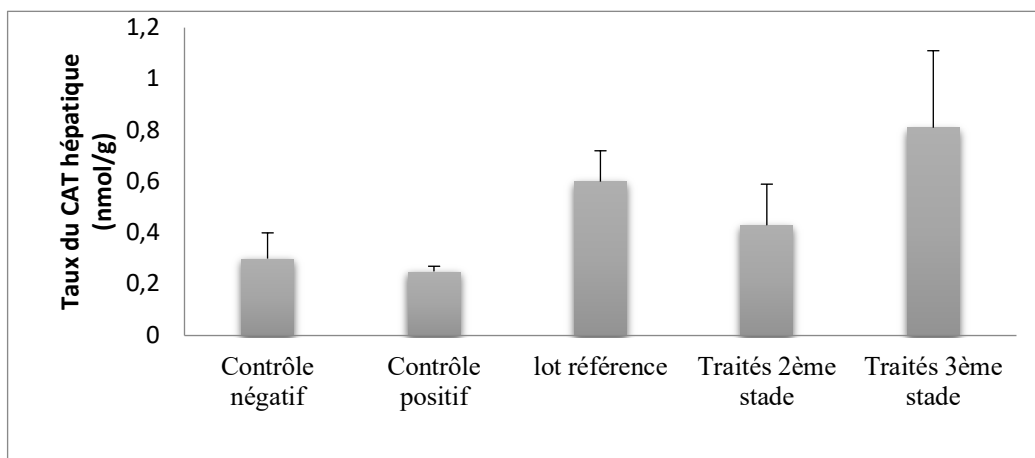


Figure 5. - Effet de l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* sur l'activité de lacatalase (CAT).

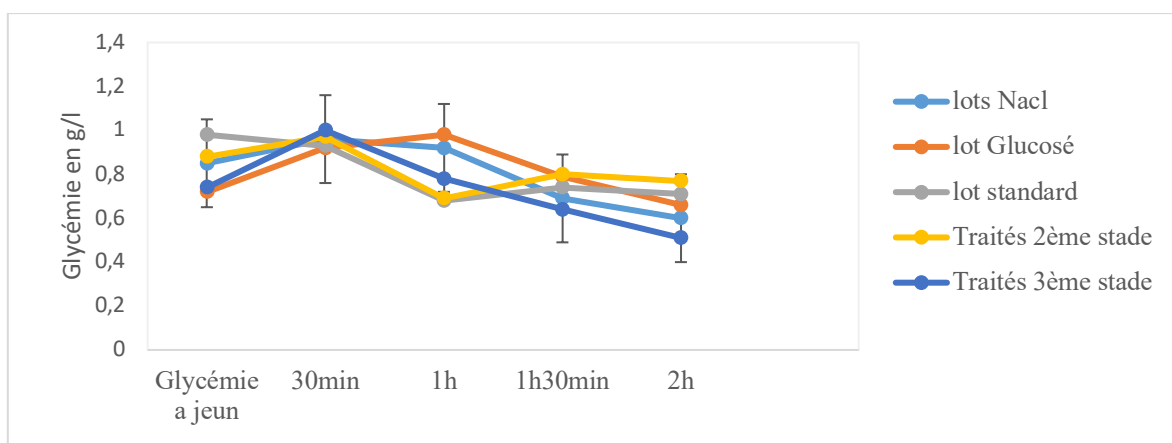


Figure 6. - Evolution de la glycémie en deux heures chez les rats traités par le glucophage et les extraits de caroube.

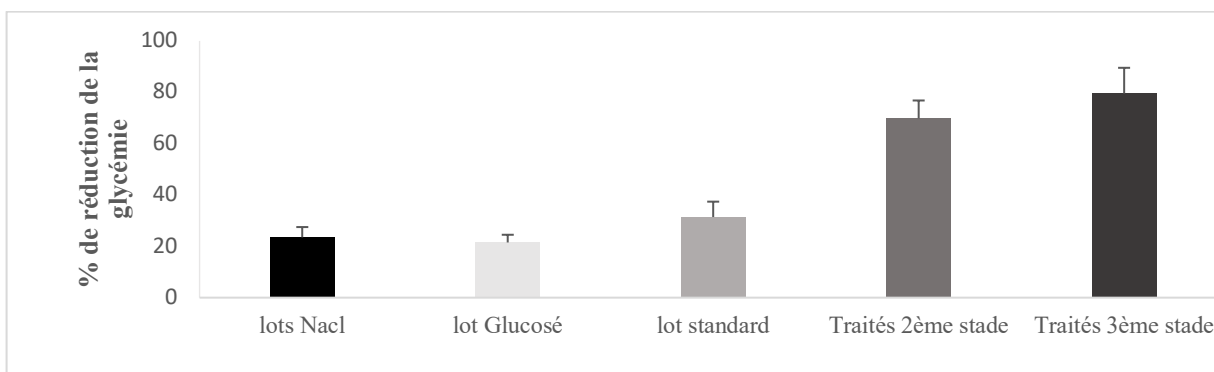


Figure 7.- Pourcentage de réduction de la glycémie chez les rats traités par le glucophage et les extraits de caroube.

Discussion

Bien que le stress oxydant soit un phénomène non spécifique d'altération cellulaire. Il induit une forte production des ERO qui sont très toxiques pour les cellules, particulièrement pour les membranes cellulaires. Ces ERO vont interagir avec la bicouche lipidique et provoquent la production des lipoperoxydes [21]. Toutefois, des antioxydants endogènes enzymatiques tels que la SOD, CAT, GPx et non enzymatique comme le GSH sont responsables de la détoxification de l'organisme de ces radicaux libres délétères [22].

Il est connu que le stress oxydant peut être partiellement réduit par les antioxydants. Une supplémentation par des antioxydants, tel que la vitamine C et E, a été proposée comme un traitement complémentaire [23]. Ainsi, plusieurs métabolites secondaires isolés de plantes ont montré une activité antioxydante et une capacité de prévenir les effets toxiques du stress oxydant.

Les études menées sur *Ceratonia siliqua* ont révélé la présence de plusieurs molécules connues par leurs capacités antioxydantes tels que les tanins, les triterpènes, les coumarines et les flavonoïdes dont principalement : l'apigénine, la quercétine, l'acacétine, l'hispiduline ainsi que plusieurs autres composés phénoliques [24]. La teneur en flavonoïdes obtenue dans ce travail est supérieure à celles rencontrées dans les gousses tunisiennes [25] et turques [26]. Cependant, d'autres études ont démontré que le taux de flavonoïdes pouvait être plus important avec 1.02mg/g et 3.33mg/g [27 et 28]. Les variations dans ces résultats peuvent s'expliquer par la provenance géographique, le cultivar, la variété et surtout le degré de maturité [29]. En effet, il semble que le rendement en flavonoïdes dépend de la région de récolte, de l'espèce, de la méthode d'extraction et du type de solvant utilisé [30].

Diverses études ont mis en évidence une élévation des marqueurs du stress oxydant en mesurant notamment les marqueurs de la peroxydation lipidique et une diminution du système de défense antioxydant enzymatique et non enzymatique. Un tel environnement pro-oxydant a été également enregistré dans notre étude chez les rats contrôle positif où on a constaté une augmentation significative des produits de la peroxydation lipidique (MDA), une diminution du GSH et une inhibition de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et CAT). Nos résultats sont en accord avec les résultats de plusieurs chercheurs qui ont rapporté que la surproduction des ERO peut conduire à une diminution dans la cellule /organisme du système de défense antioxydant [30, 31, 32].

Dans le même contexte, le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant [33]. C'est un piègeur direct des radicaux libres, un cosubstrat nécessaire pour l'activité GPx et la GST [34] et participe dans la régénération de la vitamine E oxydée [35]. Par conséquent, les changements dans l'état redox du GSH peuvent être considérés comme un indicateur particulièrement sensible du stress oxydant [36].

Dans la présente étude, nous avons constaté une baisse significative du taux hépatique en GSH chez le contrôle positif. Il a été suggéré que la diminution de la concentration du GSH dans le foie est probablement due d'une part à un accroissement de son utilisation par les cellules hépatiques et d'autre part à une diminution de la synthèse du GSH ou une augmentation de sa dégradation au cours du stress oxydant causé par le diabète [37]. L'augmentation de la concentration de MDA suggère une augmentation des espèces

réactives de l'oxygène [38]. Ces derniers attaquent les acides gras polyinsaturés de la membrane cellulaire et provoquent la peroxydation lipidique [39]. L'augmentation des ERO pourrait être due, soit à l'augmentation de leur production, soit à la réduction de leur élimination suite à l'épuisement des systèmes antioxydants piègeurs [22]. L'augmentation de la peroxydation lipidique affaiblit le fonctionnement des membranes par la baisse de la fluidité membranaire et par la diminution de l'activité des enzymes et des récepteurs liés aux membranes. Ces produits de la peroxydation lipidique sont nocifs pour les cellules de l'organisme et sont associés à l'athérosclérose, les dommages des reins ainsi que plusieurs autres dommages tissulaires [38].

La baisse de l'activité de la SOD observée dans le foie et les reins chez le contrôle positif pourrait être due à la glycation de l'enzyme. La glycation de la SOD provoque son inactivation ce qui contribue à l'aggravation des dommages oxydatifs causés par la surproduction de l'anion superoxyde (O_2^-) et des radicaux hydroxyles ($OH\cdot$) [40]. La baisse de l'activité de la SOD peut aussi être due à l'accumulation H_2O_2 dans les tissus des rats diabétiques, car plusieurs études ont montré que l' H_2O_2 inhibe l'activité de la SOD [33].

Il est amplement connu que l'anion superoxyde inactive la catalase, enzyme qui participe à la détoxification du peroxyde d'hydrogène. La diminution de l'activité de la CAT observée chez le contrôle positif pourrait être le résultat de l'inactivation de l'enzyme par l'anion superoxyde, par sa glycation ou par les deux mécanismes en même temps. Cela explique aussi l'incapacité de la SOD de protéger la CAT [38 et 33]. Les

résultats obtenus dans notre étude ont révélé que l'administration quotidienne d'un extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* pendant 5 jours a permis d'augmenter le taux du GSH et de réduire d'une manière significative le taux de MDA dans le foie. Aussi, l'augmentation de l'activité de la SOD et la CAT chez les rats traités par les extraits aqueux de la caroube laisse penser que cette défense oxydante pourrait être réactivée par des principes actifs présents dans l'extrait, qui ont pu provoquer une augmentation de la capacité de détoxification par l'amélioration de la capture des radicaux libres.

Dans l'ensemble, l'effet protecteur du foie est observé par le traitement aux gousses de la caroube mature du 3^{ème} stade.

L'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* peut être assimilé à la fois aux constituants organiques qu'aux constituants inorganiques. Entre autre, il est important de noter que les constituants inorganiques que les plantes médicinales contiennent jouent parfois un rôle primordial dans l'amélioration de leurs propriétés médicinales y compris l'activité hypoglycémiant [41].

Selon certaines études, certains flavonoïdes, qui ont été isolés des plantes, inhibent les transporteurs du glucose dans les intestins, diminuent l'expression des gènes qui contrôlent la néoglucogenèse, augmentent le stockage du glucose dans le foie et réduisent la dégradation du glycogène [42, 43 et 44]. Un grand nombre de travaux de recherche ont montré l'effet hypoglycémique de plusieurs biomolécules d'origine végétale [45]. Selon plusieurs mécanismes, la quercétine augmente la synthèse de l'insuline [47 et 48]

Conclusion

Tout composé, naturel ou synthétique, possédant des propriétés antioxydantes, pourraient contribuer à l'atténuation partielle ou totale des dommages qui peuvent être provoqués par les ROS. Les résultats de l'activité SOD et CAT et de la concentration du GSH et de MDA montrent clairement que l'extrait aqueux de *Ceratonia siliqua* possède une activité de capture des radicaux libres très efficace, cela pourrait exercer une action bénéfique contre les altérations pathologiques causées par la présence de $O_2^{\bullet-}$ et $\bullet OH$. Cette action, principalement due à l'extrait, pourrait

impliquer des mécanismes liés à l'activité de capture de radicaux libres.

Par ailleurs, la présente étude suggère que *Ceratonia siliqua* à un effet bénéfique dans le contrôle de diabète par diminution de la glycémie, du profil lipidique et du stress oxydant au niveau hépatique. Ces résultats soutiennent plus ou moins son utilisation, en Afrique du nord en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète.

Toutefois, de nouvelles études sont nécessaires pour identifier les molécules biologiquement actives afin de donner avec précision le/les mécanisme(s) moléculaire(s) responsable(s) de cet effet antioxydant.

Références bibliographiques

- [1] Batlle I., Tous J. : Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetic and Crops. Plant Research. Gatersleben ; 1997 ; International Plant Resources Institute. Rome. Italy.
- [2] Ghamit N., El Mtili N., Toubi Ennabili A., Ennabili A., : Social characterisation and exploitation of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from Mokrisset and Bab Taza (NW of Morocco). *Science Letters* ; 2001 ; 3 (2): 10 p.
- [3] NAS : Tropical Legumes: Resources for the Future. National Academy of Sciences. Washington DC, USA ; 1979 ; pp. 109-116.
- [4] Makris D.P., Kefalas P. : Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidant. *Food Technol. Biotechnol* ; 2004 ; 42: 105-108.
- [5] Berrougui H. : Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express* ; 2007 ; Vol. 5, N° 9.
- [6] Hariri A, N. Ouis, Sahnouni F., D. Bouhadi D. : mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn* ; 2009 ; pp. 37-55.
- [7] Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A. : Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. *Transfert de technologie en Agriculture* ; 2007 ; N°153, IAV Rabat, pp.1-4.
- [8] Kivçak B. and Mert T. : Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L. extracts. *Turk J.Biol* ; 2002 ; N°26, pp.197-200.
- [9] Batlle I. : Current situation and possibilities of development of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in the Mediterranean region. Unpublished FAO Report ; 1997 ; Rome. Italy.
- [10] Yuting C, Rongliand z., Zhongjian J, Yong J. : Flavonoïdes as superoxidescavengers and antioxidants free radical. *Biology and Medicine* ; 1990 ; Vol. 9: 19-22, n°1.

- [11] Markham, KR. : Techniques of flavonoids identification. Ed. Academic Press, London ; 1982 ; 1-113.
- [12] Bruneton J. : Pharmacognosie: phytochimie-plantes médicinales, 2^o.éd. tec. et doc. lavoisier, Paris ; 1993 ; 915 p.
- [13] Ayoola G.A., Coker H.B., Adesegun S.A., Adepoju-Bello A.A., Obaweya, K. Ezennia E.C., Atangbayila T. : Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. *Trop. J. Pharm. Res.* ; 2008 ; 7 : 1019-1024.
- [14] Kebièche M. : Acticité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plantes *Ranunculus repens* L. : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'épiubicine. Thèse de doctorat. Université Mentouri (Constantine). 2009. 122p.
- [15] Ellman G.L. : Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics* ; 1959 ; 82:70-77.
- [16] Ohkawa, H., Ohishi N., Yagi K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979. 95: 351-358
- [17] Claiborne, A., : Catalase activity. In *CRC, Handbook of Methods for. Oxygen Radical Research* (Ed. RA Greenwald) CRC Press, Boca Raton, FL ; 1985.
- [18] Iqbal M., Som D.S., Yasumasa O., Masayoshi F., Shigero O. : Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolising enzymes in male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology and toxicology* ; 2003 ; 92: 33-38.
- [19] Beauchamp, C., Fridovich, I. : Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* ; 1971 ; 44(1):276-287.
- [20] Wright, N. and Robson, J.S.: Renal diseases; in Avery (Ed) *Drug Treatment*, 2nd ed, pp.800–806, 826-838 (ADIS Press, Sydney and New York; Churchill Livingstone, Edinburgh 1980.
- [21] Sivajothi V, Dey A, Jayakar B, Rajkapoor B. : Antihyperglycemic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effect of *Phyllanthus rheedii* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Iran J Pharm Res*; 2008 ; 7, 53–59.
- [22] Choi C.W., Kim S.C., Hwang S.S., Ahn H.J., Lee M.Y. : Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay guided comparison. *Plant Science* ; 2020; 163, 11612-1168
- [23] Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Beaudeau J.-L., Peynet J., Legrand A., Delattre J. : Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? *Ann. Biol. Clin.* ; 2001 ; 59, 453-459
- [24] Ruiz-Roso B., Quintela JC., de la Fuente E., Haya J., Pérez-Olleros L. : Insoluble carob fiber rich in polyphenols lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic subjects. *Plant Foods Hum Nutr.*; 2010 ; 65(1):50-6.
- [25] Sebai H., Souli. A., Chehimi. L., Rtibi K., Amri K., El-Benna. J., Sakly M.: In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Medicinal Plants Research* ; 2013 ; 7(2), 85-90.

- [26] Ayaz F.A. ; Torun H. ; Ayaz. S., Correia P.J., Alai. M., Sanz C., Gruz J., Strnad M. : Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia Siliqua L.*): Sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of food quality* ;2007 ; 30 (6), 1040-1055.
- [27] Owen R.W., Haubne R., Hull W.E. , Erben G. , Spiegelhalder B. , Bartsch H., Habe B. (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, *Food and Chemical Toxicology* ; 2003 ; 41 (12), 1727-1738.
- [28] Ortega N., Macià,A., Romero M.P, Reguant J. , M.J. Motilva : Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model, *Food Chemistry* ; 2011 ; 124 (1), 65-71.
- [29] Abi Azar R. : Complexations des protéines lactières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, *Agroparistech Ecole Doctorale Abies, Thèse de doctorat* ;2007.
- [30] NAZCK M., SHAHIDI F. : Extraction and analysis of phenolics in food; *Journal of Chromatography A* ; 2004 ; 1054, 95-111.
- [31] Matkovics B., Varga SI., Szabo L., Witas H. : The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm. Metab. Res.* ; 1982; 14: 77-79
- [32]Wohaieb, S. A. : Alteration. In free radical tissue defence mechanism in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* ;1987 ; 36, 1014 -1018
- [33] Sathishsekar D., Subramanian S. : Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr.* ; 2005 ;14 (2) : 153 - 158.
- [34] Ravi K, Ramachandran B, Subramanan S. : Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences* ; 2004 ;75, 2717 – 2731.
- [35] Dominguez Z., Ruiz E., Gussinye M, Carrascosa A. : Oxidative stress at on set and in early stages of type diabetes in children and adolescents. *Diabetes care* ;1998 ; 21: 1736 - 1742.
- [36] Taleb-Senouci D, Ghomari H, Krouf D, Bouderbala S, Prost J, Lacaille-Dubois M A, Bouchenak M. : Antioxidant effect of *Ajugaiva* aqueous extract in StreptozotocinInduced diabetic rats. *Phytomedicine: International journal of phytotherapy and Phytopharmacology* ; 2009 ; 16 (6-7): 623-31
- [37] Loven D, Schedl H, Wilson H. Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* 1986;35:503–507
- [38] Kakkar R., Kalra J., Mantha SV., Prasad K.: Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* ;1995 ; 151: 113-119.
- [39] Bhattacharya, A., Sood, P., Citovsky, V. : The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Mol Pl Path* ;2010 ; 11(5): 705–719.
- [40] Yan H, Harding JJ. : Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *The Biochemical journal* ; 1997;328(2):599–605.
- [41] Bhaskar N, Modi V K., Govindaraju K., Radha C., Lalitha R G. : Utilization of meat

industry by-products: Protein hydrolysates from sheep visceral mass, *Biores Technol* ;2008 ; 98 : 388-394.

[42] Waltner-Law, M.E., Wang, X.L., Law, B.K., Hall, R.K., Nawano, M., Granner, D.K. : Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *J. Bio. Chem* ; 2002 ; 277(38): 34933-34940.

[43] Shimizu M., Kobayashi Y., Suzuki M., Satsu H., Miyamoto Y. : Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. *J Agric Food Chem*, ;2000 ; 48, 5618-5623

[44] Li Y., Wen S., Kota B. P., Peng G., Li G. Q., Yamahara J., Roufogalis B. D. : Punica granatum flower extract, a potent α -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats.

Journal of Ethnopharmacology ;2005 ; 99(2), 239-244

[45] Sarkhail P., Rahmanipour S., Fadyevatan S., Mohammadirad A, Dehghan G., Amin G., Shafiee A, Abdollahi M. : Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: Effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Pharmacological Research* ; 2007 ; 56 : 261 - 266.

[46] Perez Martin A, Raynaud E, Mercier J. : Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise. *Obesity Rev* ;2001; 2: 47-59.

[47] **Pinent *et al.*, 2004** Pinent M., Blade MC., Salvado MJ., Arola L., Hackl H., Quackenbush J. : Grapeseed derived procyanidins interfere with adipogenesis of 3T3-L1 cells at the onset of differentiation. *Int J Obes (Lond)* ; 2005 ; 29(8):934-41.