



Université Mustapha Stambouli de Mascara
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

« Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique
(LRSBG) »

THESE de DOCTORAT de 3^{ème} cycle

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Pathologies

**Etude phytochimique et évaluation du potentiel thérapeutique des extraits
de *Ceratonia siliqua* L (Caroubier) et d'*Arbutus unedo* L (Arboussier)**

Présentée par : **Mme Lehfa Fatiha**

Soutenu le :

Devant le jury :

Présidente	FERGOUG Teffaha	Professeur	Université Mustapha Stambouli de Mascara
Examineur	HADJARI Mohammed	MCA	Université Mustapha Stambouli de Mascara
Examinatrice	BELMIMOUN Asma	MCA	Université Mustapha Stambouli de Mascara
Examineur	KAHLOULA Khaled	Professeur	Université de Saida Dr Moulay Tahar
Examineur	ADLI Djallal Eddine	Professeur	Université de Saida Dr Moulay Tahar
Directrice de thèse	SAHNOUNI Fatma	Professeur	Université Mustapha Stambouli de Mascara
Invité	BENARBA Bachir	Professeur	Université Mustapha Stambouli de Mascara

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer cette thèse de doctorat

Tout d'abord, je tiens à remercier le professeur Sahnouni Fatima pour avoir dirigé ce travail de recherche, elle m'a donné beaucoup de son temps pour approfondir mon travail. Merci pour vos conseils, pour la grande compétence et l'humanisme qui vous caractérisent. Merci pour vos encouragements et votre soutien moral. Vous avez tout mon respect.

Je remercie tous les membres jury, c'est un honneur et un immense plaisir de présenter ce travail devant vous et de prendre de votre temps pour siéger dans mon jury.

Mes sincères remerciements s'adressent à *Pr Ramazen. E*, de m'avoir accueillies au sein de son laboratoire à l'université d'Igdir, Turquie.

Mes remerciements sont adressés également à *Dr Kahia Tani* directrice de laboratoire d'anapath à Oran et *Dr Djelid Hadia* directrice de laboratoire d'analyses médicales qui nous a fait le très grand plaisir d'être avec nous. Pour sa grande disponibilité, son soutien et sa patience et surtout pour son écoute et son aimable conseil très formateur.

Sans oublier le personnel de la ferme expérimentale et des laboratoires SNV de l'université de Mascara, pour leur gentillesse et leur disponibilité.

Mes salutations et mon plus profond respect à mes enseignants qui m'ont aidé de près ou de loin surtout Mr Belkhouja. H et Mme Madani. Z

Et en fin Mes remerciements les plus sincères sont adressés également à tous les membres de ma famille, qui m'ont soutenu dans les moments les plus difficiles durant la préparation de cette thèse.

A mon fiancé, pour ton affection et ton support continuel, merci...

A tous ceux qui ne se sentent pas nommément citer la liste est longue, je dis merci....

Je dédie cette thèse

À mes chers parents

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect, mon grand amour et toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consenti. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer. Merci pour vos instructions, votre soutien, aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

A mon frère, mon fiancé, ma sœur et son mari, Faiçal, Chems Eddin, Nadia et Mohammed Ali pour leurs présences et leur amour.

A mes amis

Pour leurs amitiés, leurs aides, leurs sympathies et pour les bons moments passés ensemble.

Tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont soutenus sans relâche pendant la réalisation de nos études, qu'ils reçoivent ici nos sincères remerciements.

Fatiha

Tables des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	01

Partie I **Rappel bibliographique**

Chapitre I **Radicaux libres, Stress oxydant et L'inflammation.**

I.1. Les radicaux libres	03
I.1.1. Les formes des radicaux libres	03
I.1.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO/ ROS)	03
I.1.1.2. Espèces réactives de l'azote (ERN/ RNS)	04
I.1.2. Les principales sources des radicaux libres	04
I.1.2.1. Source endogène	04
I.1.2.2. Source exogène	06
I.1.3. Le stress oxydant et les conséquences des radicaux libres.	07
I.1.3.1 Rôle physiologiques (bénéfiques)	08
I.1.3.2. Cibles biologiques et conséquences pathologiques	09
I.2. Les Antioxydants	12
I.2.1. Types des antioxydants	12
I.2.1.1. Systèmes d'antioxydants enzymatiques	12
I.2.1.2. Systèmes d'antioxydants non enzymatiques	13
I.3. Inflammation	15
I.3.1. Les types de l'inflammation	15
I.3.1.1. L'inflammation aiguë	15
I.3.1.2. L'inflammation chronique	18
I.3.2. Causes d'inflammation	18
I.4. Les anti-inflammatoires	19
I.4.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens	19
I.4.2. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens	19
I.4.3. Les anti-inflammatoires naturels	20

Chapitre II. **L'estomac et la physiopathologie de l'ulcère gastrique**

II.1. Généralités sur l'estomac	21
II.1.1. Données anatomo-histologiques.	21

Tables des matières

II.1.1.1.	Conformation extérieure de l'estomac	21
II.1.1.2.	Conformation intérieure	21
II.1.1.3.	Histologie de l'estomac	22
II.2.	Rôle physiologique de l'estomac	24
II.2.1.	Fonction mécanique.	24
II.2.2.	Fonction sécrétoire	24
II.2.3.	Rôle de la muqueuse gastrique.	25
II.3.	L'ulcère gastrique (UG)	26
II.3.1.	Définition	26
II.3.2.	Classification et localisation de UG	27
II.3.3.	Épidémiologie de UG	28
II.3.4.	Physiopathologie de UG	28
II.3.5.	L'étiologie	29
II.3.6.	Les complications de UG	31
II.3.6.	Traitement de UG	33
II.3.6.1.	Traitement médical.	33
II.3.6.2.	Traitement naturel.	33

Chapitre III.

Monographie des deux plantes étudiées

III.1.	Phytothérapie	34
III.2.	Plantes médicinales	34
III.2.1.	Éléments actifs des plantes médicinales	34
III.2.2.	Généralité sur les deux plantes étudié	35
III.3.	Les polyphénols	36
III.3.1.	Principales classes de polyphénols et leurs structures	36
III.3.2.	Propriétés fondamentales des polyphénols	38

Partie Expérimentale

Chapitre I.

Matériels et méthodes

I.	Objectifs du travail	42
I.1.	Matériel biologique	42
I.1.1.	Plantes	42
I.1.1.2.	Présentation et situation de la zone de récolte	43
I.1.2.	Animaux d'expérimentation	44
I.2.	Méthodes de travail	44
I.2.1.	Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées	44
I.2.1.1.	Détermination de la teneur en eau	44
I.2.1.2.	Détermination de taux de cendres	44

Tables des matières

I.2.2.	Extraction des composés phénoliques	45
I.2.2.1.	Extraction avec l'eau (macération)	45
I.2.2.2.	Extraction par macération à Méthanol (80%)	45
I.2.2.3.	Extraction par montage de Soxhlet à Méthanol (100%)	45
I.2.3.	Calcul des rendements d'extraction	46
I.2.4.	Etude quantitative et qualitative de différents extraits obtenus	46
I.2.4.1.	Les analyses qualitatives des extraits polyphénoliques	46
I.2.4.2.	Les Analyses quantitatives des extraits polyphénoliques	47
I.2.4.3.	Analyse chromatographique des extraits polyphénoliques (LC-MS/MS)	48
I.2.5.	Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits polyphénoliques <i>in vitro</i>	49
I.2.5.1.	Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)	49
I.2.5.2.	Le pouvoir réducteur (PR)	50
I.2.5.3.	Activité antioxydante totale (TAC)	50
I.2.6.	Evaluation de l'activité anti inflammatoire <i>In vitro</i>	51
I.2.6.1	Inhibition de dénaturation des protéines	51
I.2.6.2.	Stabilité membranaire des érythrocytes humains	51
I.2.7.	Test de toxicité aigüe	52
I.2.7.1.	Suivi des animaux	52
I.2.8.	Evaluation de l'activité antiulcéreuse des extraits polyphénoliques	53
I.2.8.1.	Poids corporel	55
I.2.8.2.	Sacrifice, prélèvement de sang et des organes	55
I.2.8.3.	Indice d'ulcère et Pourcentage d'inhibition	56
I.2.8.4.	Etude histopathologique	56
I.2.8.5.	Analyses statistiques	58

Chapitre II.

Résultats et discussions

II.1.	Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées	59
II.1.1.	Teneur en eau et taux de cendres	59
II.2.	Les rendements d'extraction	60
II.3.	Résultats des analyses qualitatives et quantitatives	61
II.3.1.	Analyse qualitative des extraits polyphénoliques	61
II.3.2.	Analyse quantitative des extraits polyphénoliques	63
II.4.	Analyses chromatographiques des extraits polyphénoliques	65
II.4.1.	Analyse chromatographique des extraits polyphénoliques par LC-MS/MS	65
II.5.	Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i>	69
II.5.1.	Résultats de l'activité antioxydante de DPPH	69
II.5.2.	Résultats de pouvoir réducteur	70
II.5.3.	Activité antioxydante totale	71
II.6.	Résultats de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	72
II.6.1.	Résultats de l'inhibition de dénaturation des protéines	72
II.6.2.	Résultats de Stabilité membranaire des érythrocytes humains	73

Tables des matières

II.7.	Toxicité aiguë	75
II.7.1.	Observations cliniques et évolution du poids des rats	75
II.7.2.	Poids des organes	77
II.8.	Résultats de l'activité antiulcéreuse <i>in vivo</i>	78
II.8.1.	Évolution du poids corporel des rats	78
II.8.2.	Evaluation des paramètres biochimiques	79
II.8.3.	Poids relatif des organes	84
II.8.4.	Evaluation macroscopique	85
II.9	Résultat de l'étude histopathologique (Evaluation microscopique)	88
	Conclusion générale et perspectives	92
	Références bibliographiques	94
	Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés	07
02	Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant (Stress Oxydant)	08
03	Actions des radicaux libres sur l'ADN	10
04	Conséquences du stress oxydatif	11
05	Les grandes étapes de la réaction inflammatoire aiguë	16
06	Anatomie interne et externe de l'estomac	22
07	Histologie de l'estomac, coupe longitudinale de la tunique de la paroi de l'estomac	23
08	Histologie de l'estomac, schéma agrandi des types de cellules qui la compose.	25
09	Représentation schématique de l'épithélium superficiel de la muqueuse gastrique et les cellules de mucus, (b) Schéma simplifié d'une cellule pariétale avec ses principales caractéristiques	26
10	Représentation de l'ulcère gastroduodéal	27
11	Classification anatomo-pathologique des pertes de substance gastrique.	28
12	Mécanismes et facteurs de la pathogenèse de l'ulcère gastroduodéal perforé.	32
13	Classification des polyphénols (en haut) et structures des composés phénoliques non flavonoïques (en bas)	41
14	Les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> (A) et les fruits d' <i>Arbutus unedo</i> (B).	42
15	Carte géographique représentant les sites de récolte.	43
16	Montage de soxhlet.	46
17	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.	49
18	Administration des extraits par gavage	53
19	Sacrifice des rats	55
20	Préparation des échantillons du sang	55
21	Dissection des rats et prélèvement des organes	56

22	Des lames préparées pour l'analyses histologique.	58
23	Résultats des rendements obtenus	60
24	Chromatogramme des extraits méthanoliques de caroubier (<i>Ceratonia siliqua</i>)	68
25	Chromatogramme des extraits méthanoliques d'arbousier (<i>Arbutus unedo</i>).	68
26	Activité de piégeage des radicaux des extraits de <i>C. siliqua</i> et d' <i>A. unedo</i>	69
27	Pouvoir réducteur des extraits de <i>C. siliqua</i> et d' <i>A. unedo</i> .	70
28	Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines albumine d'œuf.	72
29	Activité de stabilisation de la membrane HRBC des extraits de <i>C. siliqua</i> et d' <i>A. unedo</i> .	73
30	Evolution du poids des rats durant les 15 jours d'observation.	76
31	Le poids des organes des rats témoins et traités pour les deux sexes, (A) males et (B) femelles	77
32	Evolution du poids corporel chez les rats durant la période d'expérimentation.	78
33	Variations de la protéine C-Réactive chez les rats témoins et traités.	80
34	Variations de la phosphatase alcaline chez les rats témoins et traités.	82
35	Variations de la créatinine chez les rats témoins et traités.	82
36	Variations des transaminases chez les rats témoins et traités.	84
37	Poids relatif des différents organes chez les différents groupes de rats.	85
38	Pourcentage d'inhibition d'ulcère chez les rats témoins et traités.	86
39	Des images représentatives montrent les changements macroscopiques dans l'estomac du rat.	87
40	Effet du extraits polyphénolique et le médicament standard sur l'évaluation histologique de la muqueuse gastrique dans les lésions de la muqueuse gastrique induites par l'aspirine chez le rat	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
01	Différents types des espèces réactives	04
02	Principaux rôles physiologiques des radicaux libres et ces dérivés	08
03	Différents systèmes enzymatiques d'antioxydants et leurs principales propriétés	12
04	Systèmes antioxydants endogènes et leurs fonctions.	13
05	Les classes d'antiulcéreux, leurs différentes spécialités et quelques exemples de principes actifs.	33
06	Lieu de récolte des plantes et caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude.	43
07	Les différents traitements appliqués	54
08	Teneurs en eau et taux de cendre des deux plantes étudiées	59
09	Résultats du screening Phytochimique des différents extraits de plantes	61
10	Dosage des polyphénols totaux, des flavonoides et des tannins dans les extraits phénoliques de <i>Ceratonia siliqua</i> et <i>Arbutus unedo</i> .	63
11	Les résultats de l'analyse LC-MS/MS de l'extrait de méthanol de <i>Ceratonia siliqua</i> et d' <i>Arbutus unedo</i> (mg/g d'extrait).	67
12	Valeurs IC50 et EC50 des extraits de <i>C. siliqua</i> et d' <i>A. unedo</i>	70
13	L'effet toxique des extraits polyphénoliques sur des rats traités oralement.	75
14	Effet des extraits polyphénoliques sur l'indice d'ulcère gastrique.	86

LISTE DES ABREVIATIONS

4-hydroxynonéal (4-HNE)

AChE : l'acétylcholinestérase

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens

ARN : Acide ribonucléique

ATP : Adénosine triphosphate Acide ascorbique

AVC : Accidents vasculaires cérébraux

C : Concentration

CAT : Catalase

CHCl₃ : Chloroforme

Cl⁻ : Ion chlore

CoQ10 : CoenzymeQ10

COX : Cyclooxygénase

Cu⁺ : cuivre

Da : Dalton

DO : Densité optique

DPPH : 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl

DT2 : Diabète type 2

EAA : Équivalent d'acide ascorbique

EAG : Équivalent d'acide gallique

EC : Équivalent catéchines

EQ : Équivalent Quercétine

ERN : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe²⁺ : Fer ferreux

Fe³⁺ : Fer ferrique

FeCl₃ : Chlorure de fer

Fe SO₄ : Sulfate ferreux

(K₃Fe(CN)₆) : ferricyanure de potassium

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur du fer

g: Gramme

GPX : La glutathion peroxydase

GR : La glutathion réductase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HBRS : La stabilisation de la membrane des globules rouges

HCl : Chlorure d'hydrogène

HDL : lipoprotéines de haute densité

LC-MS/MS: Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry"

LDL : Lipoprotéines de faible densité

LPO : lipooxygénase

MDA : malondialdéhyde

Mg : Magnésium

MTR : Médecine traditionnelle

NaCl : chlorure de sodium

NO₂ : Dioxyde d'azote

N₂O₃ : Anhydride nitreux

NOS : NO synthase

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADPH : Coenzyme d'oxydo-réduction dérivé de la vitamine PP

NOX : NAD(P)H oxydase

O₂⁻ : Radical superoxyde (anion superoxyde)

OH : Radical hydroxyde

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ONOO⁻ : Le peroxydinitrite

ONOOH : Nitroperoxyde

NO synthase : Oxyde nitrique synthase

pH : Potentiel hydrogène

PPM : Phosphomolybdate

PBS : Solution de Phosphate buffer

PR : Le pouvoir réducteur

RL : Radical libre

ROO : Radical peroxyde

ROOH : L'hydro peroxyde

ROS : Reactive oxygen species

RNS: Reactive nitrogen species

SOD : Le superoxyde dismutase

SNC : Système nerveux central

SNP : Système nerveux périphérique

SNE : Le système neuroendocrinien

TAC : Capacité antioxydante totales

TCs : Les tanins condensés

XO : Xanthine oxydase

NP-SH : Les composants Sulf-Hydriles Non Protéiques

Résumé

Les travaux présentés dans cette thèse contribuent à la valorisation des deux plantes médicinales méditerranéennes *Ceratonia siliqua* (Caroubier) et *Arbutus unedo* (Arbousier). Dans le premier axe, regroupe l'extraction des composés polyphénoliques et l'étude qualitative et quantitative de ces derniers, puis une identification de certains composés phénoliques par chromatographie (LC-MS/MS). Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*, ainsi que l'activité antioxydante de certains extraits polyphénoliques de *C. siliqua* et *A. unedo*.

L'évaluation préliminaire de la composition chimique a permis de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques et de sélectionner un extrait phénolique parmi les trois pour chaque plante. La détermination quantitative des polyphénols totaux et des tannins révèle que l'extrait méthanolique de *C. siliqua* est le plus riche avec des teneurs respectives de 102.83 ± 2.07 mg EAG/g et 23.14 ± 1.01 mgEC/g.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des différents extraits végétaux a été réalisée par trois méthodes : DPPH, la capacité antioxydante totale (CAT), et le pouvoir réducteur FRAP. Néanmoins, la meilleure activité est observée dans les extraits méthanoliques de *C. siliqua* et *A. unedo* avec $IC_{50} = 1,98 \pm 0,137$; $1,85 \pm 0,009$ mg/ml, par rapport à l'antioxydant synthétique (acide ascorbique) avec $IC_{50} = 0,16 \pm 0,015$ mg/ml, $CAT = 64,25 \pm 6,54$; $70,37 \pm 6,78$ μ g/ml AAE et FRAP, $EC_{50} = 0,85 \pm 0,04$; $0,82 \pm 0,042$ mg/ml, respectivement. Ainsi, ils présentent des activités antiradicalaires intéressantes dépendantes du contenu en polyphénols totaux, en flavonoïdes et tannins présents dans l'extrait polyphénolique.

Les extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo* a révélé une très forte activité anti-inflammatoire. Ces résultats *in vitro* a été conformément prouvé *in vivo*. L'absence de signes cliniques de toxicité graves et de rats morts durant la période d'observation indique que l'extrait de *C. siliqua* et même d'*A.s unedo* administrée par voie orale sont dépourvues de toxicité chez les rats. En revanche, *C. siliqua* et *A. unedo* ont montré une réduction efficace de la sévérité des lésions gastriques avec un pourcentage d'inhibition ($51,775 \% \pm 5,33$; $45,92 \% \pm 8,37$), respectivement. Il est intéressant de noter que la protection offerte par les gousses de caroube et les fruits d'arbousier était comparable à celle de la ranitidine ($77.82 \% \pm 2.06$), un médicament antiulcéreux standard.

L'identification chromatographique menée sur les deux espèces a permis de caractériser leurs extraits polyphénoliques. Les principes actifs majeurs détectés possèdent diverses activités biologiques qui pourraient jouer un rôle reconnu dans le maintien d'un bon état de santé.

Mots-clés : *Ceratonia siliqua*, *Arbutus unedo*, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antiulcéreuse, LC-MS/MS.

Abstract

The work presented in this thesis contributes to the valorization of the two Mediterranean medicinal plants *Ceratonia siliqua* (Carob tree) and *Arbutus unedo* (Arbutus tree). In the first part, the extraction of polyphenolic compounds and their qualitative and quantitative study, followed by the identification of certain phenolic compounds by chromatography (LC-MS/MS). In the second part of the project, we evaluated the *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory and antioxidant activity of selected polyphenolic extracts of *C. siliqua* and *A. unedo*.

Preliminary assessment of the chemical composition revealed the presence of a number of chemical groups, enabling us to select one of three phenolic extracts for each plant. Quantitative determination of total polyphenols and tannins revealed that the *C. siliqua* methanolic extract was the richest, with contents of 102.83 ± 2.07 mg EAG/g and 23.14 ± 1.01 mgEC/g respectively.

The *in vitro* antioxidant activity of the various plant extracts was assessed by three methods: DPPH, total antioxidant capacity (CAT) and FRAP reducing power. Nevertheless, the best activity was observed in the methanolic extracts of *C. siliqua* and *A. unedo* with $IC_{50} = 1.98 \pm 0.137$; 1.85 ± 0.009 mg/ml, compared to the synthetic antioxidant (ascorbic acid) with $IC_{50}=0.16 \pm 0.015$ mg/ml, $CAT= 64.25 \pm 6.54$ 70.37 ± 6.78 μ g/ml AAE and FRAP, $EC_{50}=0.85 \pm 0.04$ 0.82 ± 0.042 mg/ml, respectively. Thus, they exhibit interesting free radical scavenging activities that depend on the content of total polyphenols, flavonoids and tannins present in the polyphenolic extract.

Extracts of *C. siliqua* and *A. unedo* showed very strong anti-inflammatory activity. These *in vitro* results were confirmed *in vivo*. The absence of clinical signs of severe toxicity and of dead rats during the observation period indicates that *C. siliqua* extract and even *A.s unedo* administered orally are devoid of toxicity in rats. In contrast, *C. siliqua* and *A. unedo* showed an effective reduction in the severity of gastric lesions with a percentage inhibition ($51.775\% \pm 5.33$; $45.92\% \pm 8.37$), respectively. Interestingly, the protection offered by carob pods and arbutus fruit was comparable to that of ranitidine ($77.82\% \pm 2.06$), a standard anti-ulcer drug.

Chromatographic identification of the two species enabled us to characterize their polyphenolic extracts. The major active principles detected possess diverse biological activities that could play a recognized role in maintaining good health.

Key words: *Ceratonia siliqua*, *Arbutus unedo*, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anti-ulcer activity, LC-MS/MS.

الملخص

يساهم العمل المقدم في هذه الأطروحة في تطوير البحث على نبتتين طبيتين من نباتات البحر الأبيض المتوسط الطبية (شجرة الخروب) و (شجرة ساسنو). في الجزء الأول، تم استخلاص مركبات البوليفينول ودراستها نوعياً وكمياً، ثم تحديد بعض المركبات الفينولية عن طريق الكروماتوغرافيا (LC-MS/MS) في الجزء الثاني من المشروع، قمنا بتقييم النشاط المضاد للالتهابات ومضادات الأكسدة في المختبر وفي الجسم الحي لمستخلصات بوليفينول.

كشف التقييم الأولي للتركيب الكيميائي عن وجود عدد من المجموعات الكيميائية ومكنا من اختيار واحد من ثلاثة مستخلصات فينولية لكل نبات. كشف التحديد الكمي لمجموع البوليفينول والعفص عن أن المستخلص الميثانولي لنبات الخروب كان الأغنى، حيث بلغت محتوياته 2.07 ± 102.83 ملغم من EAG/غرام و 1.01 ± 23.14 ملغم من EAG/غرام على التوالي .

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمختلف المستخلصات النباتية بثلاث طرق DPPH، والقدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) وقوة الاختزال FRAP. ومع ذلك، لوحظ أفضل نشاط في المستخلصات الميثانولية لكل من *C. siliqua* و *A. unedo* مع $IC_{50} = 1.98 \pm 0.137$ ؛ 0.009 ± 1.85 ملغم/مل، مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية (حمض الأسكوربيك) مع $IC_{50} = 0.16 \pm 0.015$ ملغم/مل، $CAT = 64.25$ ، 6.78 ± 6.78 ، 70.37 ± 6.54 ميكروغرام/مل و AAE و FRAP ، 0.82 ± 0.04 ، 0.85 ± 0.04 EC₅₀ ملغم/مل على التوالي. وهكذا، فإنها تُظهر أنشطة مثيرة للاهتمام في مسح الجذور الحرة التي تعتمد على محتوى البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص الموجودة في مستخلص البوليفينول.

أظهرت مستخلصات *C. siliqua* و *A. unedo* نشاطاً قوياً جداً مضاداً للالتهابات. تم تأكيد هذه النتائج المخبرية في الجسم الحي. يشير عدم وجود علامات للسمية الخطيرة ونفوق الفئران خلال فترة الملاحظة إلى أن مستخلص الخروب و ساسنو الذي يُعطى عن طريق الفم خالٍ من السمية في الفئران. من ناحية أخرى، أظهر كل من *C. siliqua* و *A. unedo* انخفاضاً فعالاً في شدة الأفات المعدية مع نسبة تثبيط (51.775 ± 5.33) ؛ 45.92 ± 8.37 على التوالي. ومن المثير للاهتمام، أن الحماية التي قدمتها قرون الخروب وثمار ساسنو كانت مماثلة لتلك التي يقدمها الرانبيدين (77.82 ± 2.06) ، وهو دواء قياسي مضاد للقرحة.

وقد مكنا التحديد الكروماتوغرافي للنوعين من توصيف مستخلصاتهما المتعددة الفينول. المكونات النشطة الرئيسية المكتشفة لها أنشطة بيولوجية متنوعة يمكن أن تلعب دوراً معترفاً به في الحفاظ على الصحة.

الكلمات الرئيسية: *Ceratonia siliqua*، *Arbutus unedo*، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، القوة المضادة للقرحة، LC-MS/MS.

Introduction générale

Introduction Générale

Depuis l'antiquité, les plantes sont utilisées comme une ressource médicinale renouvelable, plus abondante et plus rentable. En effet, la popularité de l'utilisation des plantes médicinales et des préparations à base de plantes ne cesse de croître à travers le pays et dans le monde entier en raison de leur accessibilité, de leur coût relativement bas et de la richesse en substances bioactives potentielles. Ainsi, d'après les estimations, 80 % de la population mondiale dépend principalement de remèdes traditionnels tels que les plantes, sous une forme ou une autre, pour leur santé (O.M.S, 2022).

L'intérêt porté au plante médicinale et à ses utilisations traditionnelles est intrinsèquement lié à certains produits chimiques spécifiques qu'elle synthétise, appelés métabolites secondaires. Ces derniers sont souvent liés à la défense de la plante contre les herbivores, les parasites, et les maladies, ainsi qu'à la communication entre plantes (Gervason *et al.*, 2021 ; Manzione *et al.*, 2020). Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques en relation directe avec la santé de l'être humain.

De nos jours, un grand nombre de ces composés sont utilisés en médecine moderne et une majorité de ceux-ci le sont selon leur usage traditionnel. A titre d'exemple, Les polyphénols sont d'excellents antioxydants, luttant contre le vieillissement et protégeant contre diverses maladies chroniques (maladies cardiovasculaires, neurodégénérescence, cancer) (Mena *et al.*, 2014 ; Manach *et al.*, 1996). Certains polyphénols, comme les isoflavones de soja, doivent être utilisés avec précaution contre l'ostéoporose pendant la ménopause (Francine, 2020). Les polyphénols sont connus pour leurs importantes activités antioxydantes, car ils peuvent agir en piégeant directement les ERO (espèces réactives de l'oxygène) (Halliwell, 1994).

Les flavonoïdes sont utilisés dans les traitements pour renforcer les parois des vaisseaux capillaires, protéger le foie, être anti-inflammatoires, antiallergiques et antispasmodiques. Ils réduisent le taux de cholestérol et la détérioration des fibres de collagène (Francine, 2020).

Cette diversité botanique offre de nombreuses potentialités pour l'exploitation des plantes à des fins médicinales, alimentaires, industrielles et environnementales.

La végétation algérienne, riche et diverse, constitue un véritable réservoir phytogénétique avec environ 4000 espèces de plantes vasculaires (Hamel *et al.*, 2018). Cependant, ce potentiel floristique reste très peu exploré d'un point de vue phytochimique et biologique. Sur les 300 000 espèces végétales recensées dans le monde, seules 15 % ont été étudiées pour leur potentiel

Introduction Générale

pharmacologique, ce qui démontre la nécessité de mener des recherches dans le domaine de la médecine végétale (Clement et *al.*,2020).

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certaines espèces végétales Algériennes. Un vaste programme de recherche a été mis en place au sein de notre faculté, dans le but de dresser un inventaire des espèces végétales à potentiel thérapeutique.

Ainsi, notre travail de recherche a pour objectif principal l'étude phytochimique et évaluation du potentiel thérapeutique des extraits de deux plantes, *Ceratonia siliqua* et *Arbutus unedo*.

Ce présent manuscrit est divisé en trois parties :

La première partie est dédiée à une synthèse bibliographique qui comprend des données théoriques sur la problématique du stress oxydatif et de l'inflammation, ses origines et ses graves conséquences sur la santé humaine, ainsi qu'un rappel de la physiopathologie de l'ulcère gastroduodéal ; cette partie s'attachera aussi particulièrement aux données issues des deux plantes *C. siliqua* et *A. unedo*.

La deuxième partie, est consacrée à la partie expérimentale qui se déroule en deux étapes : Dans la première étape, nous avons procédé à une extraction des composés polyphénoliques et l'étude qualitative et quantitative de ces derniers. Dans la deuxième étape, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire des extraits des plantes par différents techniques *in vitro* et *in vivo*.

L'interprétation des résultats au regard de la littérature et la détermination structurale des composés identifiés seront détaillées dans la troisième partie. À la fin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives.

Rappel bibliographique

Chapitre I

*Radicaux libres, Stress
oxydant et L'inflammation*

I. Radicaux libres, stress oxydant et l'inflammation

La recherche de capacités antioxydantes et anti-inflammatoires est un grand enjeu scientifique, notion largement rapportée dans l'étude des propriétés biologiques des plantes. Dans le chapitre suivant, nous présentons les molécules responsables de l'oxydation et de l'inflammation, ainsi que celles qui les combattent.

I.1. Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons célibataires sur sa couche externe (Ortiz et *al.*, 2013). Un RL est capable d'exister indépendamment d'où le terme "libre". Un électron non apparié est un électron qui se trouve seul dans une orbitale moléculaire (Barry et *al.*, 1995). Cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (demi-vie courte) (Ortiz et *al.*, 2013 ; Servais, 2004). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il se réduira donc en oxydant un autre composé (Goudable et Favier, 1997).

I.1.1. Les formes des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires qui peuvent se former dans les cellules, il est important de distinguer un petit groupe de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie, appelés radicaux primaires, qui sont des produits du métabolisme cellulaire normal.

D'autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, sont formés par la réaction de ces radicaux primaires avec des composés biochimiques de la cellule (Alain, 2003). Le type de radical, donne deux groupes principaux : les radicaux libres de l'oxygène ou, plus généralement, les espèces réactives de l'oxygène (ERO/ROS) et les espèces réactives de l'azote (ERN) (Marian et *al.*, 2007 ; Christophe. P et Christophe. S, 2011 ; Yan, 2014).

I.1.1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO/ ROS)

Les ROS sont représentés soit par des radicaux oxygénés tels que le radical hydroxyle (OH^\cdot) et l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot -}$), soit par des dérivés non radicalaires de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'oxygène singulet (1 O_2), qui sont également réactifs et peuvent être des précurseurs de radicaux libres (Tableau 1) (Alain, 2003).

I.1.1.2. Espèces réactives de l'azote (ERN/ RNS)

Les ERN résultant du métabolisme de l'azote (via les NO synthases) sont principalement représentés par le monoxyde d'azote NO[•] et le dioxyde d'azote NO₂[•]. Les radicaux libres de l'azote peuvent facilement être convertis en dérivés réactifs non radicalaires, qui peuvent être des précurseurs : l'anhydride nitreux N₂O₃ et l'ion peroxydinitrite ONOO (Tableau 1) (Alain, 2003).

Tableau 1 : Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk, 2013).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O ₂ ^{•-}	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO [•]	Oxygène singulet	¹ O ₂
Radical alkoxyde	RO [•]	Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Radical hydroxyle	OH [•]	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO [•]	Peroxydinitrite	ONOO

I.1.2. Les principales sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont naturellement présents dans l'organisme et sont principalement produits par des phénomènes physiologiques (enzymatiques et non enzymatiques) et aussi ils sont produits dans des circonstances pathologiques intrinsèques (Kumari et Kakkar, 2008). Il existe deux sources de radicaux libres, le premier est endogène et le deuxième est exogène (Figure 1).

I.1.2.1. Source endogène (intracellulaire)

La production de ERO dans le système intracellulaire est plus importante. Cela est dû à plusieurs sources possibles mais est essentiellement d'origine enzymatique. Les principales sources des radicaux libres endogène sont :

- **Chaîne respiratoire** : Les mitochondries sont un organite intracellulaire responsable de la production d'énergie. Dans les conditions physiologiques normales, la mitochondrie est la source majeure de la production cellulaire de (O₂^{•-}), via une activité NAD(P)H oxydase membranaire (NOX). La NOX est une enzyme qui catalyse la réduction monoélectronique de l'O₂ en utilisant le NADPH ou le NADH

comme donneur d'électrons. (Carrière et *al.*, 2006 ; Roede et Jones, 2010 ; Turrens, 2003).



Les ERO libérés par les mitochondries peuvent être piégés par les systèmes antioxydants cellulaires ou causer des dommages oxydatifs aux acides gras polyinsaturés (Venditti et *al.*, 2013).

- **Peroxisome** : Le peroxysome joue un rôle essentiel dans la production des ERO dans la cellule (Kardeh et *al.*, 2014). Cet organite possède plusieurs enzymes telles que la lipooxygénase (LO) et la cyclooxygénase (Nordgren et Fransen, 2014). La LO et la cyclooxygénase représentent une source importante de production de ERO (Madamanchi, 2005). La LO catalyse l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) pour produire des hydroperoxydes toxiques pour la cellule, et est également impliquée dans la formation de H₂O₂ par les lymphocytes T en réponse à l'interleukine-1β (Muñoz et *al.*, 2015).

Les principaux processus métaboliques responsables de la production de ERO dans les peroxysomes comprennent : le métabolisme des lipides cellulaires via la βoxydation des acides gras et la réaction de la glycolate-oxydase (Fransen et *al.*, 2012 ; Delattre et *al.*, 2005b).

- **Le cytosol** : Il existe deux enzymes présentes dans le cytosol impliquées dans la formation des radicaux libres :
 - **Xanthine oxydase (XO)** : C'est une enzyme soluble, qui est responsable du métabolisme des purines, convertissant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Kundu et *al.*, 2012) avec la réduction de l'oxygène moléculaire, est une source enzymatique de H₂O₂ et d'O₂. La XO catalyse également la réduction des nitrates en nitrites et NO (Terpolilli et *al.*, 2012 ; Kardeh et *al.*, 2014).
 - **Oxyde nitrique synthase (NO synthase)** : Les NO synthases sont d'importants générateurs de NO[•], médiés par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages, peuvent, dans certaines conditions, également produire des anions superoxydes (Valko et *al.*, 2006). Le NO[•] permet la production d'autres ERN tels que le peroxyde d'azote (ONOO⁻) (Rahal et *al.*, 2014 ; Liguori et *al.*, 2018).

- **Réaction immunitaire** : Les cellules phagocytaires activées activent le complexe NADPH oxydase (NOX). Cette enzyme utilise l'oxygène pour produire de grandes quantités de superoxyde au niveau de la membrane cellulaire. Les neutrophiles produisent également le radical NO^\bullet , qui est à l'origine d'une molécule plus réactive, l' ONOO^- , un puissant oxydant qui peut se décomposer en OH^\bullet (Alain, 2003 ; Babior et al., 2002).

I.1.2.2. Source exogène

Les facteurs exogènes sont également responsables de la création et de l'accumulation de radicaux libres dans l'organisme, y compris des substances cancérigènes non génotoxiques qui peuvent être impliquées dans la génération de radicaux libres (Valko et al., 2005 ; Wages et al., 2014). Parmi ces facteurs, on retrouve :

- L'alimentation (alcool, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d'antioxydants) ;
- Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), ils inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre ;
- Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO_2 , NO_2 , O_3 , hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tel le mercure, le fer, le cadmium et le nickel, arsenic, amiante). L'inhalation de poussières minérales (silice, amiante ou charbon) entraîne une très forte sécrétion de ERO (O_2^- , OH^- et H_2O_2), contribuant à la perturbation de la fonction immunitaire cellulaire, à l'inflammation et au cancer du poumon (Aydogan et al., 2013 ; Khlifi et Hamza-Chaffai, 2010) ;
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes), ils peuvent endommager les molécules intracellulaires par l'ionisation induite par les produits de la radiolyse de l'eau cellulaire. La radiolyse de l'eau conduit à la formation d'une variété de radicaux libres. L'eau, par exemple, est ionisée pour former un radical eau et un électron libre. Le premier peut se décomposer ou interagir avec une molécule d'eau pour former des radicaux hydroxyles et l'électron libre peut interagir soit avec une autre molécule d'eau pour former un $\text{O}_2^{\bullet -}$ (Holley et al., 2014) ;
- La température : Une augmentation de la température conduit à l'accumulation de ERO dans la cellule. L'augmentation de la température à 42°C a conduit à une diminution significative du potentiel des membranes mitochondriales et cytoplasmiques, ainsi qu'à une augmentation de la formation intracellulaire de ERO

(Zhang et al., 2015). La température et les niveaux de peroxydation lipidique et de H_2O_2 ont été positivement corrélés (Paital et Chainy, 2014).

- Les médicaments, plusieurs études indiquent que la toxicité de divers médicaments chimio thérapeutiques implique une augmentation de la production de ERO et du stress oxydatif (Aiassa et al., 2015). La dexaméthasone par exemple augmente la capacité de production de ERO des cellules myéloïdes ainsi que des monocytes et des macrophages (Kraaij et al., 2011) ;

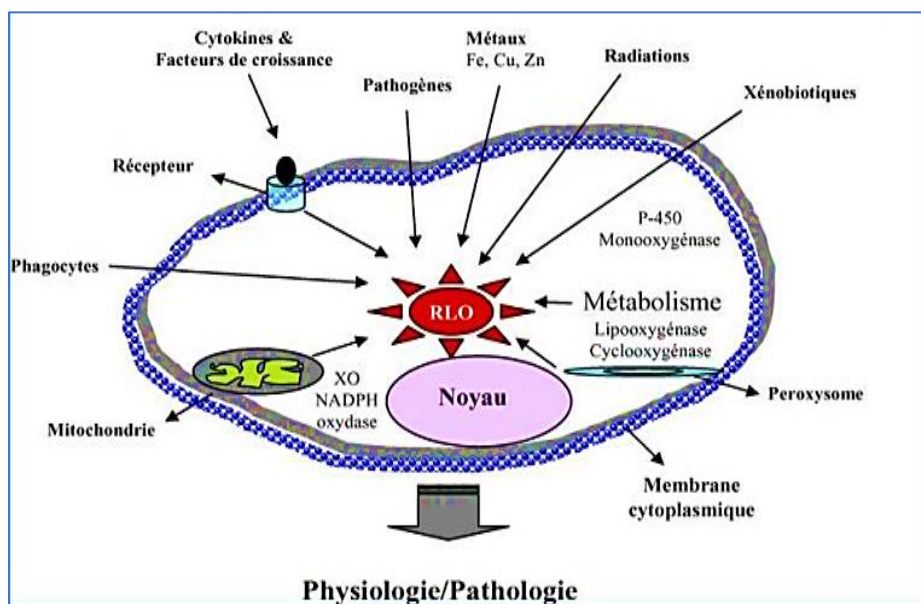


Figure 1. Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres oxygénés (Machlin et al., 1987 ; Afonso et al., 2007).

I.1.3. Le stress oxydant et les conséquences des radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ERO, ERN) ont un double rôle dans les systèmes biologiques : du côté bénéfique, elles préviennent les maladies en aidant le système immunitaire, en jouant un rôle de médiateur dans la signalisation cellulaire et en jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. D'autre part, ils peuvent endommager des macromolécules importantes dans les cellules. Lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et des ERN et les systèmes de défense, de nombreuses maladies graves apparaissent (cancer, artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives) : c'est le "stress oxydatif" (Seifried et al., 2007 ; Rezaire, 2012 ; Hadj, 2009 ; Evans et Halliwell, 1999).

Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / pro-oxydants est en équilibre. Le stress oxydatif apparait dans une cellule quand l'équilibre est rompu que ce soit

par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux (Figure 2) (Gutteridge, 1993 ; Favier, 2006).

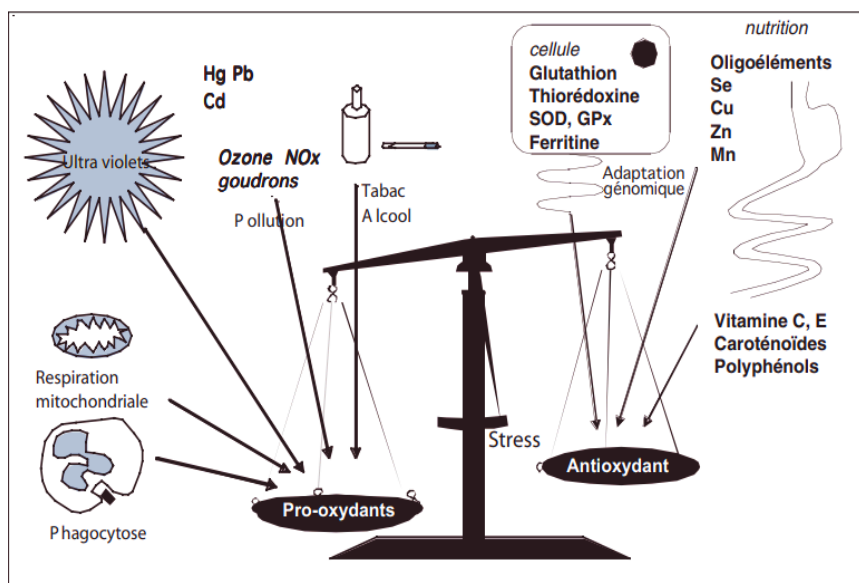


Figure 2. Déséquilibre de la balance entre oxydant et antioxydant (Stress Oxydant) (Favier, 2006).

I.1.3.1 Rôle physiologiques (bénéfiques)

Dans des conditions physiologiques, l'oxygène, élément essentiel à la vie, produit des ROS dans les mitochondries. Ces ROS sont produits en permanence par divers mécanismes physiologiques, car ils jouent des rôles vitaux à de faibles concentrations (Tableau 2).

Tableau 2 : Principaux rôles physiologiques des radicaux libres et ces dérivés (Droge, 2002).

Espèce	Rôle physiologique
$O_2^{\cdot-}$ et dérivés	<ul style="list-style-type: none"> • Activation du facteur nucléaire (NF-κB) responsable de l'expression du gène de l'interleukine 2 (IL-2). • Amélioration des fonctions immunologiques par amplification du signal intracellulaire dans les lymphocytes T. • Induction de l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales.
NO^{\cdot}	<ul style="list-style-type: none"> • Relaxation des muscles lisses. • Modulation des fonctions des protéines kinases, phosphodiésterases, et des canaux ioniques. • Activation des cellules endothéliales et monocytes.

I.1.3.2. Cibles biologiques et conséquences pathologiques

A. Cibles biologiques

Lors d'un stress oxydatif, les RLs non détoxifiés par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Menon, 2014).

➤ Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés et les phospholipides membranaires sont des cibles privilégiées de l'attaque oxydative. Les radicaux libres sont capables d'interagir chimiquement avec les doubles liaisons des chaînes d'acides gras polyinsaturés composant les membranes (Bonfont, 2004). Ces attaques peuvent conduire à une chaîne de dégradation appelée peroxydation lipidique (Alain, 2003).

La peroxydation lipidique entraîne une désorganisation structurelle, une diminution de la fluidité et une altération des fonctions. Elle peut également contribuer au dépôt de lipides oxydés dans les vaisseaux et les tissus vieillissants, et à la genèse de dérivés cancérogènes (Techer, 2013).

Elle aboutit à la formation de nombreux dérivés toxiques. Parmi ces dérivés, le malondialdéhyde (MDA) et 4-hydroxynonéal (4-HNE) qui peuvent réagir de manière covalente avec les protéines et les inactiver et qui ont une demi-vie plus longue que celle des RLs. Il peut former des liaisons avec les bases de l'ADN, et il provoque aussi une augmentation croissante de la perméabilité des membranes cellulaires induisant une altération irréversible des propriétés fonctionnelles de la cellule, pouvant aller jusqu'à la lyse complète (Miwa et al., 2008 ; Cotticelli et al., 2013). Ces produits sont hautement toxiques, car ils peuvent également modifier l'ADN et sont impliqués dans les mécanismes apoptotiques (Ramakrishnan et al., 1993).

➤ Dommages des protéines

Les protéines sont aussi sensibles à l'attaque des radicaux libres. Une modification structurelle mineure d'une protéine peut induire une variabilité considérable de sa fonction. Les radicaux libres peuvent provoquer différents types de dégradation sur une protéine, conduisant à la perte de son activité : fragmentation des liaisons peptidiques, oxydation des chaînes latérales, formation de liaisons intra- ou inter-protéines. Les acides aminés soufrés (cystéine et

méthionine) et les acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane) sont les plus sensibles, de même que de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport (Levine, 2002). Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzyme, récepteur...), et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Důračková, 2008 ; Rahal *et al.*, 2014 ; Levine, 2002).

De plus, les protéines oxydées deviennent très hydrophobes, soit par l'élimination des groupes amines ionisables, soit par l'extériorisation des zones hydrophobes centrales. Elles forment alors des amas anormaux à l'intérieur ou autour des cellules (Alain, 2003).

➤ Dommages des acides nucléiques

D'une manière générale, il existe deux types d'ADN dans la cellule : l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial. L'ADN mitochondrial est une cible privilégiée pour l'oxydation des ERO, en raison de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe avec l'une des principales sources de ERO cellulaires, la chaîne respiratoire mitochondriale (Stevnsner *et al.*, 2002).

L'attaque radicalaire peut entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées, peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose, créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin (Burton et Jauniaux, 2011 ; Charbon *et al.*, 2014). Ces modifications du matériel génétique, lorsqu'elles ne sont pas réparées, peuvent entraîner la mutagénèse, la cancérogenèse et le vieillissement (Alain, 2003).

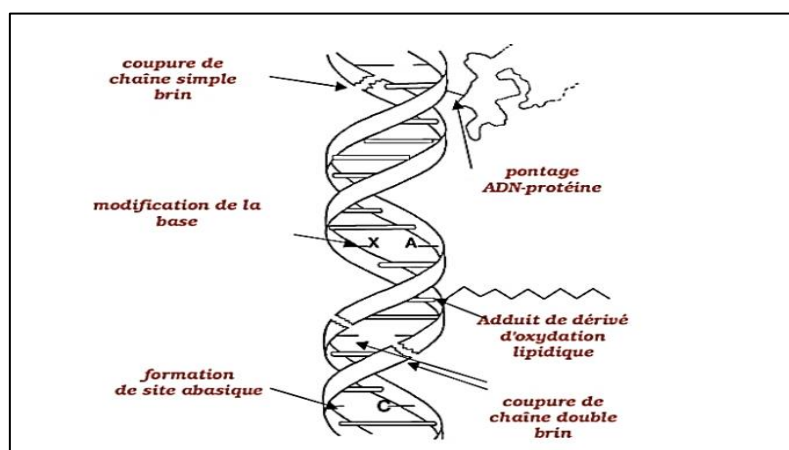


Figure 3. Actions des radicaux libres sur l'ADN (Alain, 2003).

B. Conséquence pathologique

Le stress oxydatif est impliqué dans de nombreuses pathologies, soit comme facteur déclenchant, soit comme facteur aggravant (Figure 4) (Alain, 2003). En effet, plusieurs études épidémiologiques et cliniques confirment que le stress oxydant est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes, allant de l'athérosclérose, en passant par les maladies inflammatoires, le diabète, le vieillissement accéléré, l'asthme, la dermatite, et l'œdème pulmonaire (Cohen *et al.*, 2002 ; Packer et Weber, 2001 ; Atawodi, 2005 ; Valko *et al.*, 2007). Il est un facteur de genèse de maladies plurifactorielles telle la maladie d'Alzheimer, Parkinson, les infections gastro-intestinales, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Roberts et Sindhuk, 2009 ; Alain et Banga, 2011).

Ce déséquilibre peut aussi déclencher des facteurs spécifiques responsables de dommages oxydatifs dans la cellule : surexpression de gènes, génération de composés mutagènes et prolifération cellulaire incontrôlée. Cela conduit à la création et à la progression du cancer (Kardeh *et al.*, 2014 ; Saito *et al.*, 2015). En outre, les ERO peuvent aggraver les lésions cérébrales (Bordt et Polster, 2014), entraînant une neurodégénérescence et des troubles neuropsychiatriques (Smaga *et al.*, 2015 ; Moniczewski *et al.*, 2015). Par ailleurs, des études montrent que les ERO entraînant une réduction de la viabilité et de la mobilité des spermatozoïdes, et donc une augmentation de l'infertilité masculine (Lavranos *et al.*, 2012).

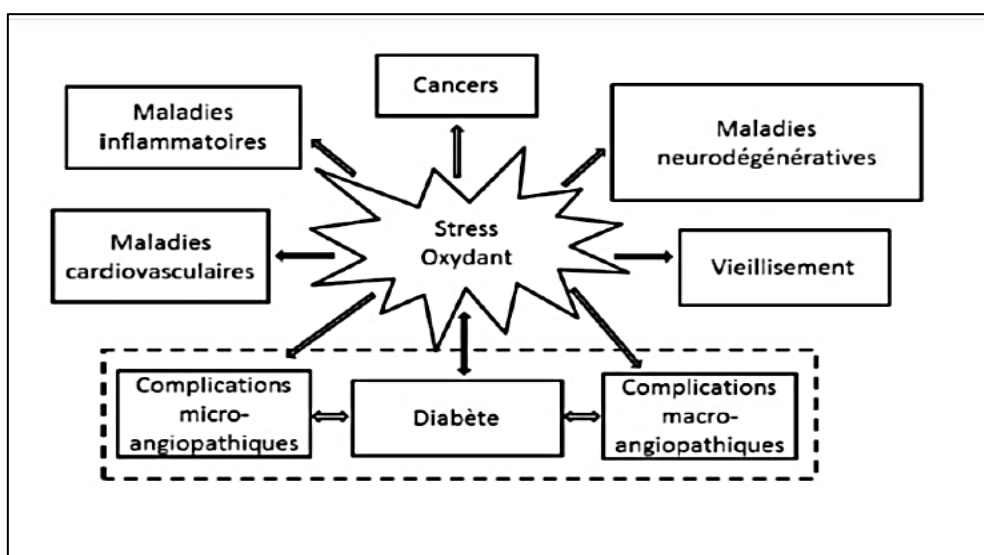


Figure 4. Conséquences du stress oxydatif (Tan *et al.*, 2018).

I.2. Les Antioxydants

Pour protéger les tissus de l'attaque des radicaux libres, le corps humain dispose de systèmes antioxydants. Un antioxydant est défini comme étant toute substance présente en faible concentration par rapport à un substrat oxydant qui peut retarder et ralentir ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Halliwell, 1999 ; Boyd et *al.*, 2003). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Tang et Halliwell, 2010).

I.2.1. Types des antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme et sont appelés antioxydants endogènes, tandis que d'autres proviennent de l'alimentation ou de médicaments et sont donc exogènes.

I.2.1.1 Systèmes d'antioxydants enzymatiques

Ces enzymes contribuent à maintenir la concentration des espèces radicalaires à un niveau basal (homéostasie physiologique) ; elles ont une grande affinité pour les ERO, avec lesquels elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (Tableau 3).

Tableau 3 : Différents systèmes enzymatiques d'antioxydants et leurs principales propriétés (Poljsak et *al.*, 2013 ; Haleng et *al.*, 2007).

Système enzymatique d'antioxydants	Propriétés
Superoxyde dismutase (SOD)	Une enzyme qui catalyse la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ et dioxygène (Mn SOD dans la mitochondrie, Cu Zn SOD dans le cytosol et les érythrocytes).
La catalase (CAT)	Une enzyme qui réduit le peroxyde d'hydrogène H ₂ O ₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes.
Glutathion peroxydase (GPx)	Détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur.

I.2.1.2 Systèmes d'antioxydants non-enzymatiques

Cette catégorie d'antioxydants est constituée de plusieurs composés capables de réagir directement ou indirectement avec les ERO ; il en existe deux types : les composés endogènes (molécules issues de la biosynthèse) et les composés exogènes (vitamines C et E, polyphénols, etc.), principalement apportés à l'organisme par l'alimentation (Techer, 2013).

- **Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes** : Les systèmes antioxydants endogènes non enzymatiques comprennent de nombreuses molécules endogènes telles que le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, la ferritine et la transferrine, qui peuvent chélater les métaux de transition (Tableau 4) (Pincemail et *al.*, 2002 ; Koechlin et *al.*, 2006).

Tableau 4 : Systèmes antioxydants endogènes et leurs fonctions.

Antioxydant	Fonction
Glutathion	C'est le plus majoritaire ; il est capable de réagir, avec les radicaux HO [•] , RO ₂ [•] , RO [•] , 1O ₂ , ONOO ⁻ , des radicaux centrés sur le carbone, et l'acide hypochloreux HOCl. Détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes.
La ferritine et la transferrine	Il piège les HO [•] , RO ₂ [•] , HOCl et 1O ₂ en se liant à des métaux comme le fer et le cuivre
Acide urique, bilirubine	Ils possèdent des propriétés antioxydantes contre les HO [•] et RO ₂ [•]

- **Systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes** : Les antioxydants les plus connus sont le β-carotène, l'acide ascorbique, le tocophérol (incluant la vitamine E) ainsi que les oligo-éléments (Cu, Zn, Mn...) et les composés phénoliques, fournis par une alimentation riche en fruits et légumes, agissent en piégeant les radicaux et en capturant les électrons simples, les transformant en molécules ou en ions stables (Pincemail et *al.*, 2002 ; Koechlin et *al.*, 2006).

a) Vitamine E (α-tocophérol)

Vitamine E, antioxydant liposoluble, la structure de la vitamine E lui permet de capturer les radicaux libres non seulement dans les zones lipophiles des membranes cellulaires, mais aussi dans les régions hydrophiles à la surface des membranes plasmiques grâce à

l'hydroxyle phénolique. L' α -tocophérol interagit également avec les radicaux oxygénés lipidiques, empêchant ainsi leur propagation (Liebler et *al.*, 1986).

b) Vitamine C

La vitamine C ou l'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, considéré comme le plus important antioxydant dans le compartiment extracellulaire et a de nombreuses activités cellulaires à caractère antioxydant étant efficace dans le piégeage des anions superoxydes, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène, les espèces réactives de l'azote et l'oxygène singulet (Du et *al.*, 2012 ; Oroian et Escriche, 2015). Elle protège également les phospholipides membranaires des dommages peroxydant (Pisoschi et Pop, 2015).

c) Les caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes présents dans le régime alimentaire quotidien sont : les carotènes (α -carotène, β -carotène, lycopène) et les hydroxy-caroténoïdes. Les caroténoïdes sont importants non seulement pour leur activité de provitamine A, mais également pour d'autres actions dans les systèmes biologiques y compris leur propriété antioxydante (Nowicka et Kruk, 2012). Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement vis-à-vis de la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures (Parck et *al.*, 1982).

d) Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont capables d'agir comme des antioxydants, qui peuvent neutraliser les radicaux libres qui donnent un électron ou un atome d'hydrogène. Les groupements hydroxyles des polyphénols sont déjà des donneurs d'atomes d'hydrogène ; qu'il peut réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouvelles racines est interrompu (Laughton et *al.*, 1989 ; Apak et *al.*, 2007). Après réaction avec l'espèce réactive primaire, la forme radicalaire de l'antioxydant il est produit, avec une plus grande stabilité chimique que la racine initiale. Le pouvoir antioxydant des composés phénoliques sont également attribués à leur capacité à chélater les métaux ioniques impliqué dans la production de radicaux libres. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir comme pro-oxydant (Tsao, 2010 ; Pereira et *al.*, 2009).

I.3. Inflammation

L'inflammation est un processus physiologique par lequel l'organisme se défend contre toute attaque entraînant des lésions tissulaires causées par une infection pathogène ou un traumatisme. La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agresseur et de permettre la réparation des tissus (Rankin, 2004 ; Weill et Batteux, 2003).

Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, qui conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé. Cependant, elle peut avoir des effets néfastes si elle n'est pas régulée. Elle est accompagnée par la production de divers médiateurs inflammatoires tels que les cytokines, les leucotriènes et les prostaglandines (Noack et Kolopp, 2018 ; Ashley *et al.*, 2012). En outre, des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote peuvent être produites par les cellules inflammatoires, ce qui peut déclencher des réactions d'oxydation toxiques, entraînant des lésions tissulaires (Majdalawieh et Fayyad, 2015).

I.3.1. Les types de l'inflammation

L'inflammation peut être aiguë ou chronique. La première est une réaction immédiate et de courte durée, qui disparaît généralement spontanément ou avec un traitement, qui lui permet de le faire restaurer leur intégrité physiologique. Cependant, elle peut évoluer vers une inflammation chronique, à laquelle plusieurs maladies peuvent être liées (Noack et Kolopp, 2018 ; Roifman *et al.*, 2011).

I.3.1.1. L'inflammation aiguë

C'est une réponse immédiate à un agent agressif, définie comme une série de réactions tissulaires pouvant survenir dans les premières heures suivant la blessure. Elle a une durée relativement courte de quelques jours ou semaines, est souvent d'apparition brutale et se caractérise par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses (Serhan *et al.*, 2010 ; Charles *et al.*, 2010). Elle se traduit par quatre symptômes cardinaux : œdème, rougeur, douleur et chaleur. Cependant, un échec dans la résolution provoque une infiltration incontrôlée et persistante des cellules inflammatoires, conduisant ainsi à la progression en inflammation chronique (Khanna *et al.*, 2010 ; Lee et Surh, 2012 ; Rathinam et Fitzgerald, 2016).

Les étapes de la réponse inflammatoire aiguë sont toujours les mêmes quelque soient le stimulus inflammatoire et le tissu enflammé, elle se déroule en trois phases : la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de résolution (Figure 5).

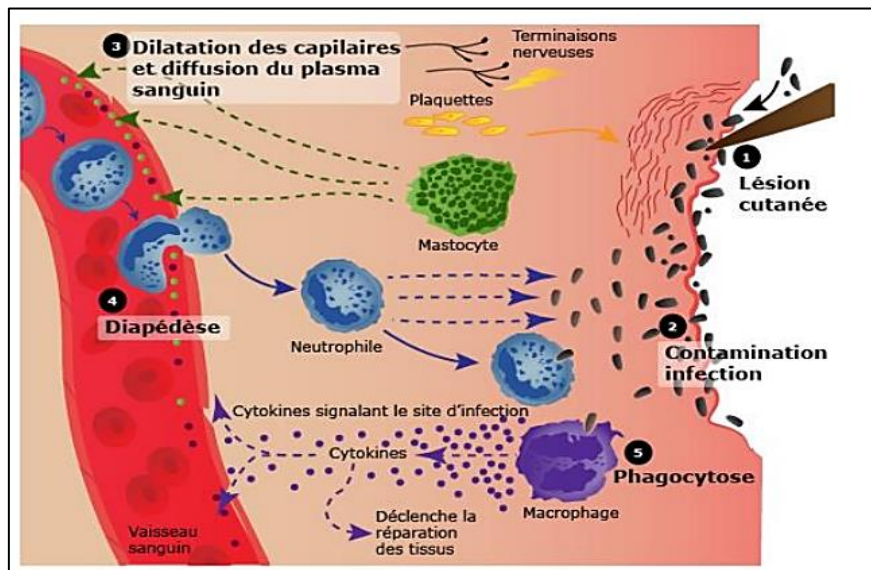


Figure 5. Les principales étapes de la réaction inflammatoire aiguë (Patrice, 2014).

a) Phase vasculaire

Il s'agit de mécanismes immédiats, mis en œuvre en réponse à une agression, dans le but d'alerter et de recruter les cellules de l'immunité naturelle (Weill et Batteux, 2003). Cette phase est caractérisée par la tétrade classique des modifications vasculaires : douleur, rougeur, chaleur et gonflement, ainsi qu'une perméabilité accrue de la paroi vasculaire apparaissent dans le tissu enflammé. Ces modifications vasculaires permettent aux leucocytes de migrer hors de la microcirculation et de s'accumuler sur le site de la lésion, ce qui déclenche la phase cellulaire (Stevens, 2010).

b) Phase cellulaire

Cette phase fait suite à la réponse vasculaire, les polynucléaires étant les premiers à migrer vers le site enflammé, suivis un peu plus tard par les monocytes et les lymphocytes. Elles se dirigent ensuite directement vers l'agent causal de l'inflammation, en fonction d'un gradient de concentration de substances dites chimio-attractantes (Wagner et Roth, 2000 ; Diegelman et Evans, 2004). Une fois sur le lieu de l'inflammation, la phagocytose et la libération de diverses enzymes hydrolytiques (protéase, élastase, collagénase, etc.) par les polynucléaires détruisent l'agent pathogène. Cependant, les macrophages participent au nettoyage du foyer inflammatoire et à l'élimination des débris cellulaires et tissulaires (Male, 2005 ; Iwalewa et *al.*, 2007 ; Prin et *al.*, 2009).

c) Phase de réparation et résolution

L'intensité de la phase de réparation dépend du degré de destruction cellulaire. Les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes participent à la réparation tissulaire (Eming et *al.*, 2007). Les macrophages complètent non seulement l'action des neutrophiles, mais agissent également comme présentateurs d'antigènes et réparateurs. Dans le premier cas, les cellules endothéliales réparent l'endothélium. Ceci grâce à diverses molécules telles que la collagénase I ou III. Si la destruction est plus importante, ce ne sont pas seulement les macrophages qui interviennent, mais aussi les fibrocytes puis les fibroblastes qui permettent la reconstruction du tissu en produisant des protéines de la matrice intercellulaire comme le collagène, la fibronectine et la laminine. Le système d'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire s'éteint (Gilroy et Lawrence, 2008 ; Weill et Batteux, 2003).

Certains lipides jouent un rôle majeur durant cette phase (Serhan, 2007). Les lipoxines, par exemple, sécrétées par les macrophages, bloquent l'afflux de neutrophiles, facilitent la phagocytose des neutrophiles apoptotiques par les macrophages et favorisent le contact avec les monocytes qui éliminent les cellules apoptotiques et les débris cellulaires (Serhan et Savill, 2005). Les macrophages, les neutrophiles et les cellules épithéliales libèrent des inhibiteurs de protéase qui inactivent les protéases sécrétées par les neutrophiles pendant la phase aiguë de la réponse inflammatoire (Ashcroft et *al.*, 2000).

En outre, le système nerveux parasympathique joue un rôle important dans l'arrêt de l'inflammation, en induisant l'activation des macrophages par la libération d'acétylcholine (Tracey, 2002). Cette action peut être liée à une baisse de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-1 et IL-8) et à la stimulation de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire (Borovikova et *al.*, 2000).

La cicatrisation s'effectue en trois phases principales (Stevens et Lowe, 2009) :

- La phase inflammatoire, s'accompagne d'une vasoconstriction qui favorise la libération des médiateurs inflammatoires.
- La phase proliférative, caractérisée par la formation du tissu de granulation principalement par les fibroblastes et l'angiogenèse.
- La phase de remodelage, caractérisée par la reformulation et l'amélioration des composants de la fibre de collagène qui augmente la résistance à la traction.

I.3.1.2. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique se caractérise par un développement à long terme qui peut durer des mois voire des années. Elle est définie comme durant plus de six semaines (Weill et Batteux, 2003). La cause de la chronicité n'est pas toujours évidente. Dans beaucoup de cas, elle est liée à l'incapacité de l'organisme à éliminer la substance déclenchant (Peltier, 2012).

L'inflammation chronique se caractérise par l'existence de certains phénomènes spécifiques (Peltier, 2012 ; Weill et Batteux, 2003) :

- Coopération entre les réponses vasculaires et cellulaires, de sorte que l'on ne parle plus d'étapes mais de composants.
- La cytométrie en flux au foyer de l'inflammation s'organise progressivement en un infiltrat dense, comprenant des cellules multinucléées, des macrophages, des cellules dendritiques, des lymphocytes et des plasmocytes.
- Des modifications permanentes de la structure des vaisseaux : hyperplasie des cellules endothéliales et des fibres musculaires lisses, infiltration de leucocytes.
- Le phénomène de remodelage des tissus est toujours important, car il implique la destruction, l'angiogenèse, la réparation, la cicatrisation et le remplacement de ce qui a été précédemment détruit. Mais le tissu cicatriciel fibreux ne peut pas remplacer les tissus destructeurs, car il manque de caractéristiques anatomiques et fonctionnelles.

I.3.2. Causes d'inflammation

Ces causes déterminent les dommages cellulaires et tissulaires, permettant à l'inflammation de se produire (Derbal et Fedali, 2017) :

- Infection contamination par des micro-organismes (bactérie, virus, parasites Champignons).
- Agents physiques : traumatisme, chaleur, froid, radiations.
- Agents chimiques : caustiques, toxines.
- Corps étrangers : exogènes ou endogènes.
- Agression dys-immunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité ...).

I.4. Les anti-inflammatoires.

Les anti-inflammatoires sont connus pour soulager la douleur et le gonflement apparaît après une attaque par un agent pathogène. Pour prévenir sécrétion ou action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (par exemple prostaglandines) et ainsi, il réduit la sensation de douleur et réduit également l'inflammation (Hajjaj, 2017 ; Orliaguet et *al.*, 2013). Ils sont utilisés lorsque la réaction inflammatoire se prolonge de façon anormale (inflammation chronique) et entraîne des lésions tissulaires. Ces molécules sont classées comme anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) (cortisone et ses dérivés), Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et anti-inflammatoires naturels.

I.4.1. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ou les glucocorticoïdes constituent une vaste quantité la famille des médicaments dérivés du cortisol. Représentent plus efficace dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme, et l'arthrite, maladie rhumatoïde, maladie intestinale inflammatoire et maladie auto-immune (Payne et Adcock, 2001).

Leur mécanisme d'action est le même que celui des glucocorticoïdes endogènes. Il se lie aux récepteurs des glucocorticoïdes dans le cytoplasme et les stimule ainsi dimérisation et sa translocation vers le noyau où il se lie à son élément de réponse sur gènes appropriés. Comme pour les AINS, l'utilisation de glucocorticoïdes est associée à de nombreux effets indésirables. Le risque de ces effets indésirables augmente avec des périodes prolongées durée du traitement et augmentation de la dose. Les troubles peuvent être observés. Ces troubles peuvent être aigue tell que l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse naturelle de glucocorticoïdes en fin de traitement, euphorie avec insomnie entrer dans une psychose aiguë et l'apparition d'ulcères gastroduodénaux. Des troubles chroniques tels que l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids peuvent également apparaître (Henzen, 2003).

I.4.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont l'une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques. Il existe actuellement plus de 50 types différents d'AINS sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS a été élucidé par l'action de Vane 1971. Elle est largement dépendante de l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, une enzyme

qui permet la production de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. Cette propriété commune à tous les AINS entraîne une diminution de la production de prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), médiateurs importants de l'inflammation. Même en présence d'autres modes d'action, cette activité explique en grande partie les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires dus aux fonctions physiologiques des prostaglandines (Nicolas et *al.*, 2001).

Ainsi, la surproduction de prostaglandines dans un état pathologique contribue à l'inflammation et à la douleur, tandis que sa production primaire permet l'homéostasie tissulaire. Par conséquent, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS doit s'accompagner à la fois d'effets positifs et d'effets indésirables (Blain et *al.*, 2002).

I.4.3. Anti-inflammatoires d'origine naturelle

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée. Cependant ces plantes ont toutes en commun la présence de composés phénoliques, qui sont des molécules à plusieurs activités biologiques connues et reconnues. Les polyphénols présentent une capacité très importante à prévenir et traiter les maladies inflammatoires, et encore à éliminer les causes de l'inflammation comme par exemple élimination des aliments pro-inflammatoires (graisses saturés, excès de sucre...etc) (Dhingra et *al.*, 2018).

De plus, ces dernières années, de nombreux composés pharmacologiquement, des composants actifs à activité anti-inflammatoire ont également été isolés d'organismes marins (éponges, mollusques, algues, échinodermes et bactéries) (Hajjaj, 2017 ; Mebirouk, 2017).

Chapitre II
L'estomac et la
physiopathologie de l'ulcère
gastrique

II.1. Généralités sur l'estomac.

II.1.1. Données anatomo-histologiques.

II.1.1.1. Conformation extérieure de l'estomac

L'estomac est un segment dilaté du tube digestif, de 25 cm de long (en haut) sur 12 cm de large, c'est une poche d'un volume d'environ 1 500 cm³ qui a la forme de la lettre J, avec une grande courbure à gauche et une petite courbure à droite, du côté du foie (Lacour et Belon, 2015). Il est situé entre l'œsophage abdominal et l'intestin grêle (Drake et *al.*, 2006).

Les aliments pénètrent dans l'estomac par un orifice toujours ouvert (le cardia), et passent dans l'intestin par un autre orifice (le pylore, fermé par un sphincter), qui ne s'ouvre qu'à cette occasion (Drake et *al.*, 2006). Les parois de l'estomac sont constituées de muscles, afin de faciliter les mouvements qui décomposent peu à peu les aliments. Dans une couche interne de ces parois, on rencontre les glandes gastriques, qui sécrètent les sucs gastriques destinés à la transformation chimique des aliments en substances que l'organisme peut assimiler.

La forme de l'estomac varie selon l'espèce animale et selon qu'il est vide ou plein. D'une manière générale, l'organe forme une poche allongée, légèrement aplatie d'avant en arrière et orientée transversalement de manière à ce que le côté gauche, plus large, soit plus haut que le côté droit, plus étroit. Sa convexité est nettement caudale dans la position debout de l'Homme, ventrale dans la position habituelle des Quadrupèdes ; elle est donc toujours dirigée vers le bas. Cette disposition permet de reconnaître l'estomac (Barone, 1976) (Figure 6) :

- Deux faces, antérieure ou pariétale et postérieure ou viscérale ;
- Deux bords ou courbures, la petite courbure qui est concave est placée ventralement alors que la grande courbure qui est convexe est placée dorsalement ;
- Deux parties, Il comprend schématiquement 2 parties, une partie verticale (fundus) qui s'élève au-dessus du cardia, et une partie horizontale (L'antre) terminée par le sphincter pylorique.

II.1.1.2. Conformation intérieure

L'estomac occupe la plus grande partie de la loge phrénique gauche de la cavité abdominale. La cavité de l'estomac est subdivisée de la même manière que l'extérieur de l'organe et reprend exactement sa forme. Elle est tapissée de muqueuse gastrique. La muqueuse gastrique est molle,

rougeâtre ou rosâtre, et forme des plis réguliers et nombreux qui peuvent être effacés par la distension (Barone, 1976). L'estomac est divisé en quatre zones internes (figure 6) :

- Le cardia (muqueuse cardiaque), entourant la sortie de l'œsophage dans l'estomac (Delmas et *al.*, 2008) ;
- Le fundus gastrique (muqueuse fundique), la région située au-dessus de l'orifice du cardia (Lacour et Belon, 2015) ;
- Le corps de l'estomac, la plus grande région, qui recouvre le reste de l'estomac (Lacour et Belon, 2015) ;
- La partie pylorique (muqueuse pylorique), qui constitue la partie distale de l'estomac et se divise en antrum et canal pylorique (Marieb et Hoehn, 2010). Le pylore correspond à la région du sphincter, distale par rapport à la partie pylorique (Moore et *al.*, 2011).

Il est à noter que la surface occupée par ces types de muqueuses varie selon les espèces animales.

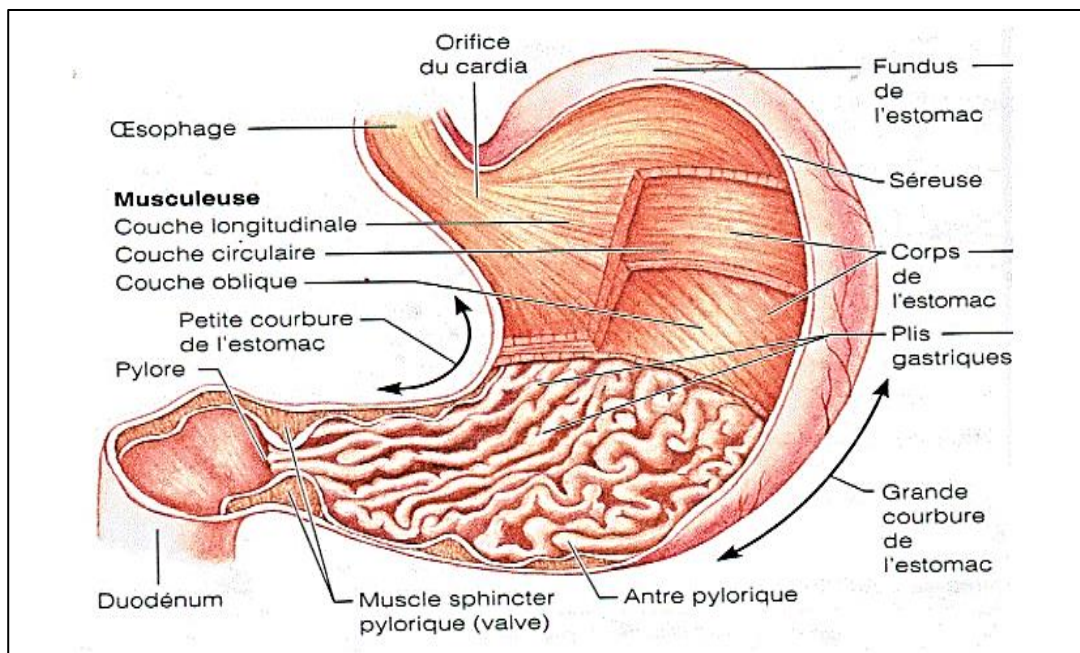


Figure 6. L'anatomie interne et externe de l'estomac (Frank et Netter, 2007).

II.1.1.3. Histologie de l'estomac

La paroi de l'estomac est constituée de quatre tuniques, de l'extérieur vers l'intérieur. Ce sont la séreuse, la musculeuse, la sous-muqueuse et la muqueuse (Figure 7).

- La séreuse est le mésothéliome du péritoine viscéral, reposant sur une fine couche de tissu adventiciel conjonctivo-vasculaire.
- La musculuse : la musculuse de l'estomac est particulièrement puissante pour remuer le bol alimentaire. Contrairement aux autres parties du tube digestif, la musculuse est constituée de 3 couches : une couche plexiforme profonde s'ajoute à la couche longitudinale externe et à la couche circulaire interne, qu'elle double vers la face luminale.
- La sous-muqueuse : il s'agit d'une couche épaisse de tissu conjonctif fibrocellulaire contenant quelques fibres élastiques, mais surtout un vaste réseau artérioveineux plexiforme profond connecté au réseau vasculaire muqueux,
- La muqueuse : séparée de la sous-muqueuse par la couche de fibres musculaires lisses de la musculaires mucosae, elle est remarquable par ses nombreuses glandes. Certaines sont des glandes en grappe : ce sont les glandes pyloriques, formées de cellules principales, de cellules sécrétrices de gastrine et de cellules intermédiaires (Figure 8). D'autres sont des glandes tubulaires : ce sont les glandes fundiques, formées de cellules sécrétant du mucus, de cellules sécrétant du pepsinogène et de cellules bordantes ou pariétales (Bouvenot, 1995).

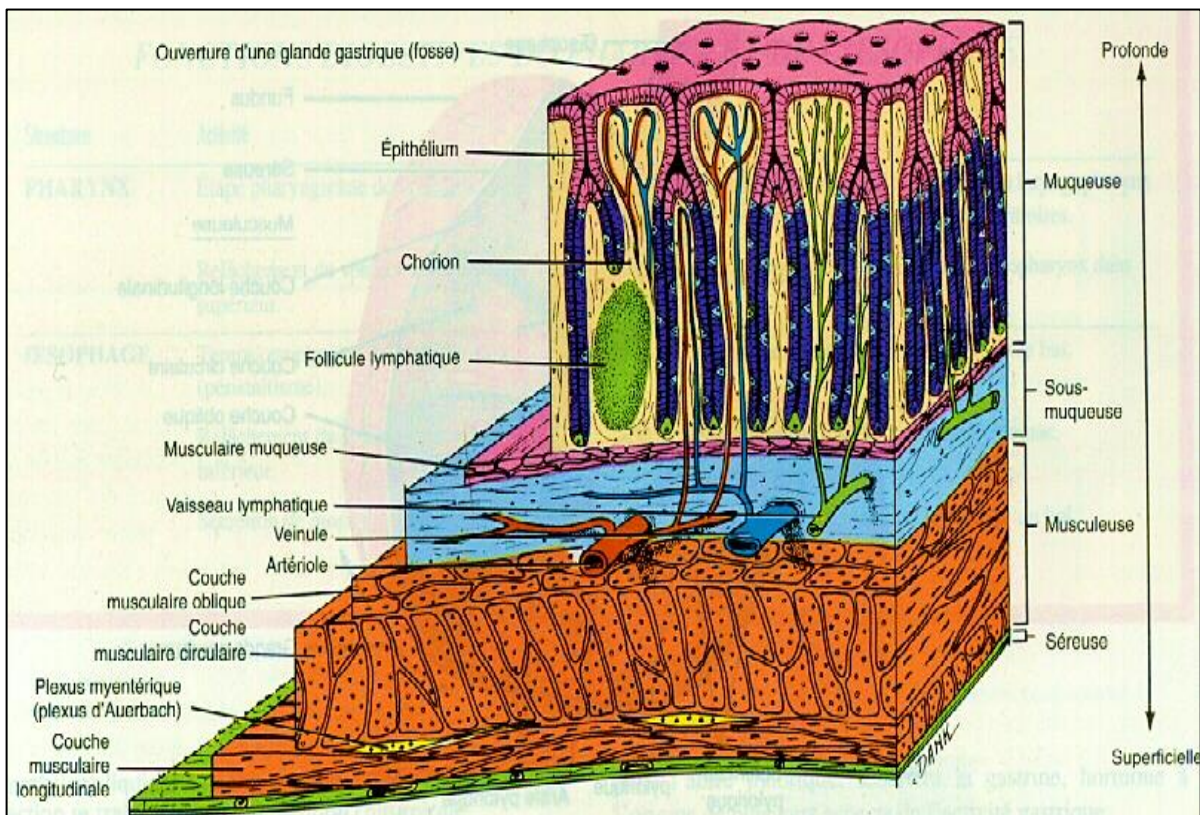


Figure 7. Histologie de l'estomac, coupe longitudinale de la tunique de la paroi de l'estomac (Lacour et Belon, 2015).

II.2. Rôle physiologique de l'estomac

II.2.1. Fonction mécanique.

Les contractions péristaltiques de la musculature permettent aux aliments de se mélanger au suc gastrique, au bol alimentaire de traverser le pylore et de s'évacuer progressivement dans le duodénum. Ces contractions sont activées par le parasympathique, la gastrine, et inhibées par le sympathique, la sécrétine et la pancréozymine (Quinton, 1994).

II.2.2. Fonction sécrétoire (Physiologie de la sécrétion gastrique).

La muqueuse, physiologiquement importante, dont le rôle est de sécréter le suc gastrique. C'est un liquide clair, visqueux, pH acide, composé d'eau, d'acide chlorhydrique, de pepsine et de mucus. Ce mélange assure la digestion enzymatique des aliments, en particulier la protéolyse. Les glandes du fundus et du corps gastrique produisent ensemble une moyenne de 2 litres de suc gastrique par jour, en fonction de la prise alimentaire

- **L'acide chlorhydrique** : C'est un composant essentiel sécrété par **les cellules bordantes** (figure 8) (Lacour et Belon, 2015), l'acide chlorhydrique agit également comme un désinfectant contre les bactéries et les virus. Après avoir traversé l'estomac, le bol alimentaire est généralement purifié de tous les micro-organismes capables de se multiplier (Menche, 2006). Il transforme le pepsinogène inactif en pepsine active, prépare la digestion protéique en provoquant des modifications physiques des aliments.
- **La pepsine**, sécrétée sous forme de pepsinogène inactif par **les cellules principales** (figure 8) (Stevens et Lowe, 2006), est une endopeptidase dont le pH optimal d'action est de 1,5 à 3. Elle n'acquiert la capacité de décomposer les molécules de protéines que dans le suc gastrique (Menche, 2006).
- **Le mucus**, élaboré par **les cellules à mucus** (figure 8), constitue un film continu à la surface de l'épithélium qu'il protège ainsi de l'attaque chlorhydro-peptique.
- **Cellules endocrines** (figure 8), libèrent vers la lamina propria la gastrine, les endorphines, la sérotonine, la cholécystokinine (pancréozymine) et la somatostatine (Quinton, 1994).
- **Facteur intrinsèque** : glycoprotéine sécrétée par les cellules de soutien productrices d'acide gastrique, indispensable à l'absorption de la vitamine B12 dans l'intestin grêle (Lacour et Belon, 2015).

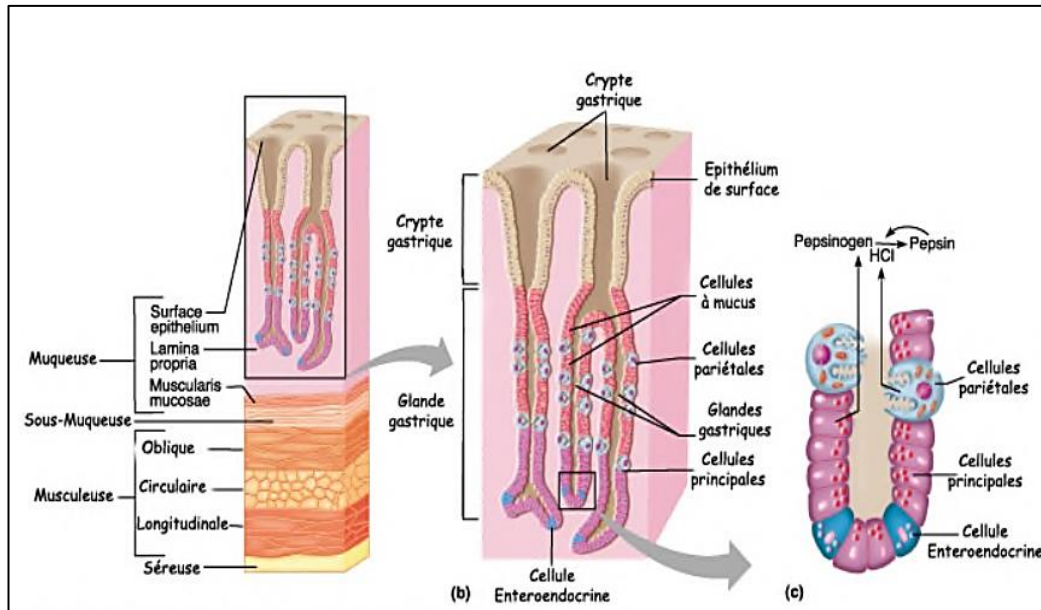


Figure 8. Histologie de l'estomac, schéma agrandi des types de cellules qui la compose, (Lacour et Belon, 2015).

II.2.3. Rôle de la muqueuse gastrique.

La muqueuse gastrique crée une barrière qui la protège de l'érosion du suc gastrique, car elle est soumise à des conditions chimiques difficiles (Pocock et Richards, 2004), et ce grâce à plusieurs mécanismes ; les principales protections locales sont assurées par le tapis de mucus, le bicarbonate, la prostaglandine et le renouvellement constant des cellules (Lullman-Rauche, 2008).

1. **Le mucus** est un film continu qui assure une protection physique et chimique ; la sécrétion de mucus est stimulée par les prostaglandines (Lacour et Belon, 2015). Rôle du mucus (Quinton, 1994) (figure 9) :
 - Son effet lubrifiant protège des agressions mécaniques.
 - Il joue un rôle protecteur contre l'autodigestion de l'estomac par la pepsine, en inactivant la pepsine au contact de la couche qu'il forme à la surface de la muqueuse (mais n'a pas d'effet sur la pepsine dans la lumière mélangée à l'aliment).
 - Comme il est alcalin, il protège contre les attaques acides en neutralisant le HCl de manière à ce que le pH soit neutre au contact de la muqueuse (mais n'a pas d'effet sur le HCl libre dans la lumière).
2. **Les prostaglandines** maintiennent l'intégrité de la barrière de la muqueuse gastrique en stimulant la sécrétion de mucus gastrique et de bicarbonates, en ralentissant la sécrétion

de HCl, en dilatant les vaisseaux de la muqueuse et en améliorant l'apport d'oxygène aux cellules.

3. **Le bicarbonate** est sécrété par les cellules à mucus, contribuant à la protection de la muqueuse gastrique contre l'acidité gastrique. La sécrétion de bicarbonate est fortement stimulée par les prostaglandines, qui ont un rôle cytoprotecteur (Bado et Sobhani, 2011).
4. **Renouvellement cellulaire**, les cellules épithéliales superficielles doivent se renouveler continuellement pour maintenir l'intégrité de la muqueuse ; l'épithélium empêche l'entrée des ions H^+ et les repousse hors de la muqueuse (Vander, 2001).

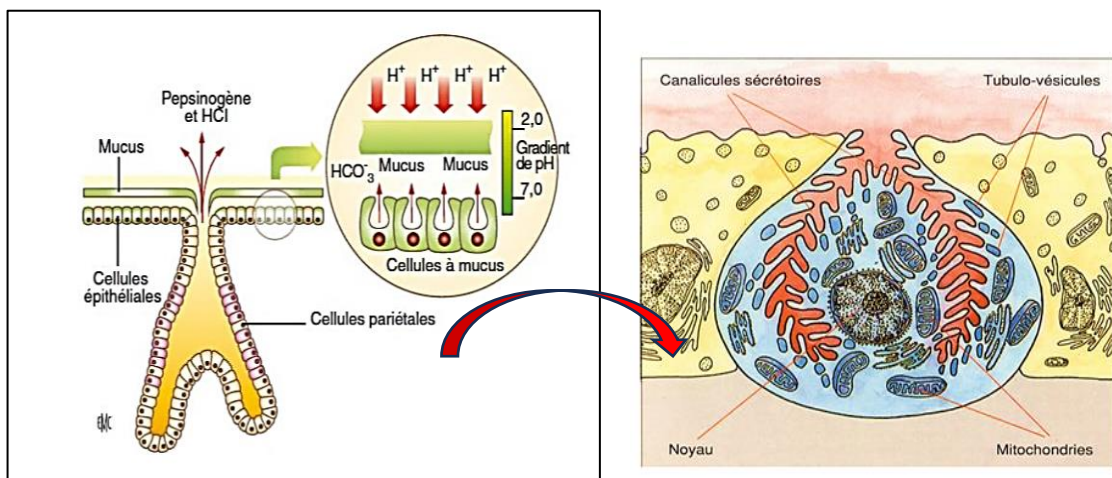


Figure 9. Schématisation de l'épithélium superficiel de la muqueuse gastrique et des cellules à mucus, (b) Schéma simplifié d'une cellule pariétale (Bado et Sobhani, 2011).

II.3. L'ulcère gastrique (UG)

Cependant, malgré ce système de défense, il arrive dans certaines circonstances que la muqueuse gastrique soit lésée, conduisant à la formation d'ulcères.

II.3.1. Définition

L'ulcère gastroduodéal (UGD) est une perte de substance de la paroi digestive. Il se définit par des lésions de la muqueuse qui s'étendent à la couche musculaire, formant une cavité entourée d'une inflammation aiguë ou chronique, associée à des lésions vasculaires et à une hypertrophie nerveuse (figure 10) (Beiranvand, 2022).

Les ulcères de l'estomac, également connus sous le nom d'ulcères gastriques UG, sont des plaies ouvertes caractérisées par une perte macroscopique de substance de l'épithélium cutané ou de la muqueuse, atteignant en profondeur la musculature. Cliniquement, il se traduit par des

douleurs abdominales associées ou non à des vomissements et des hématomèses (Pellequer, 1971).

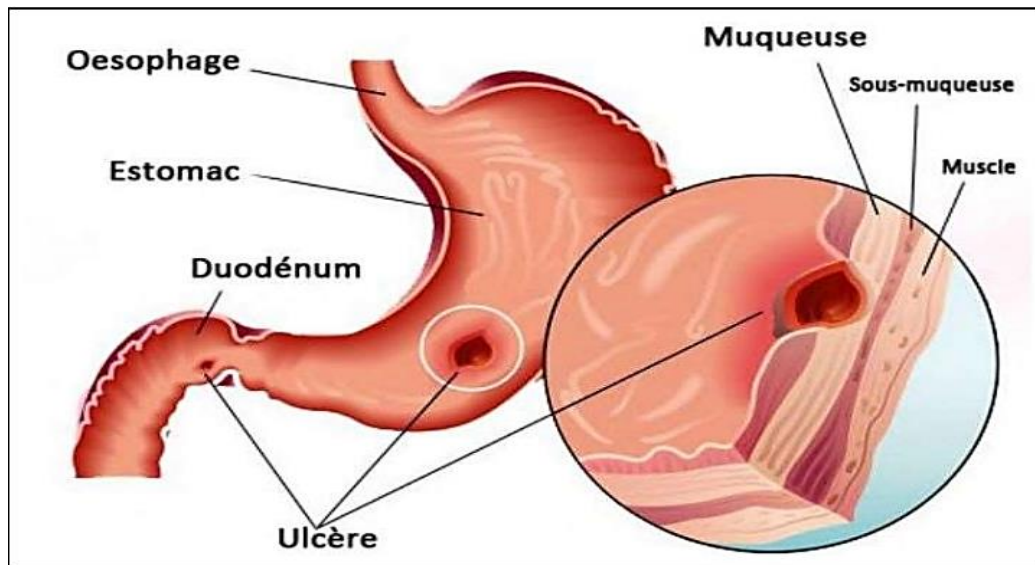


Figure 10. Représentation de l'ulcère gastroduodénal (Lacour et Belon, 2015).

II.3.2. Classification et localisation

Selon Chaïbou, Il y a deux types d'ulcères gastriques : les ulcères aigus et les ulcères chroniques (Figure 11) :

- **Les ulcères aigus primitifs** sont des pertes de substance protégeant la muqueuse et la musculature, survenant chez des sujets jeunes sans pathologie digestive antérieure.
- **Les ulcères aigus secondaires** sont de trois types selon la cause : des ulcérations dues à une anomalie de vascularisation, des ulcérations médicamenteuses ou iatrogènes, des ulcérations neurogéniques (ulcère de Cushing).
- **Les ulcères chroniques** sont des ulcères ayant évolué pendant plusieurs années par étapes successives de nécrose et de sclérose interstitielles (Chaïbou, 1965).

En fonction de la région gastrique touchée, les ulcères gastriques sont préférentiellement localisés dans la petite courbure gastrique, plus précisément dans la zone de transition entre l'antra et la muqueuse du fundus. Clappaz en 1955, distingue deux grands types d'ulcères (Clappaz, 1955) :

- Les ulcères peptiques ou glandulaires : qualifiés selon la région atteinte de fundiques ou pyloriques ou cardiales.

- Les ulcères gastro-oesophagiens dans la région du cardia et dans la portion oesophagienne de l'estomac.

II.3.3. Épidémiologie

Les ulcères gastriques étaient rares avant le 20^e siècle. Les ulcères gastriques et, plus tard, les ulcères duodénaux ont été de plus en plus décrits à la fin du 19^e siècle (Debabrata et James, 2019). Par conséquent, selon de nombreux chercheurs, les ulcères gastroduodénaux font partie des principales pathologies humaines et touchent près de 10 % de la population mondiale (Amtul et *al.*, 2019).

En outre, il s'agit de la maladie la plus répandue dans le monde, avec une prévalence d'environ 40 % dans les pays développés et de 80 % dans les pays en développement. On estime que 15 000 personnes meurent chaque année d'un ulcère gastroduodéal (Ahmed et *al.*, 2022).

II.3.4. Physiopathologie d'ulcère

Sur le plan physiologique, les ulcères résultent d'un déséquilibre entre les facteurs d'agression (*Helicobacter-pylori*, AINS...) et les mécanismes de défenses (mucus, épithélium, sécrétion de bicarbonates et de prostaglandine). Ce déséquilibre, soit une augmentation de l'agressivité, soit une diminution de la résistance de la muqueuse gastrique, pourrait être responsable de l'apparition d'ulcères (Calop et *al.*, 2008 ; Gimenez et *al.*, 2000).

L'ulcère gastrique est très souvent associé à une gastrite chronique type B (non autoimmune) diffuse sévère avec métaplasie intestinale. Aussi, le développement de l'infection par l'*Helicobacter pylori* sur plusieurs décennies (acquisition précoce) favorisant la gastrite chronique.

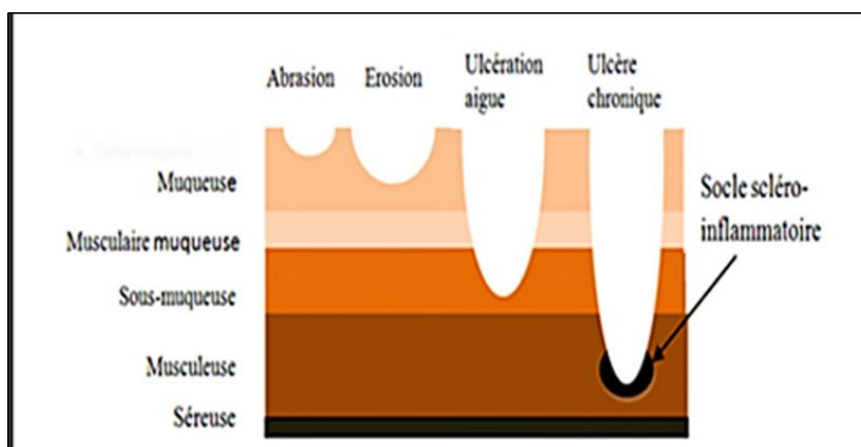


Figure 11. Classification pathologique de la perte de tissu gastrique (Aziz et *al.*, 2012).

Les ulcères se présentent sous la forme d'érosions qui détruisent la partie superficielle des cryptes et d'abrasions qui endommagent les cryptes et les glandes, de lésions limitées à la muqueuse, d'ulcérations aiguës qui atteignent la sous-muqueuse et d'ulcérations chroniques qui atteignent la musculature (figure 11) (Lacour et Belon, 2015 ; Zeitoun et *al.*, 2014).

II.3.5. Étiologie (Facteurs d'agression de la muqueuse gastrique)

De multiples facteurs endogènes et exogènes modulent l'équilibre agression/défense et ont également été impliqués dans l'étiologie de la maladie ulcéreuse (Figure 12) (Laloo et *al.*, 2013). La muqueuse gastrique maintient son intégrité grâce à un processus dynamique de prolifération et de mort cellulaire. Elle est continuellement exposée à des facteurs agressifs (Rostami et *al.*, 2015) :

- **La sécrétion d'acide gastrique (HCl) :** le principal facteur de stress dans 70 % des cas. Chez les patients souffrant d'ulcère gastroduodénal, une hypersécrétion d'acide basale et post-prandiale a été observée. Le HCl dénature les protéines de la membrane plasmique et catalyse les groupes polysaccharides des protéoglycane de la couche muqueuse protectrice recouvrant la surface luminale de l'estomac, induisant une fragilité de la muqueuse. (Havsteen, 2002).
- **La Pepsines :** Dans la lumière gastrique, la pepsine digère la couche de mucus adhérent à la paroi gastrique grâce à son activité estérase pour produire des mucines dégradées. Elle n'érode que la couche superficielle, contribuant à son amincissement par mucolyse superficielle. Cette action mucolytique et cytolytique n'a lieu qu'après acidification de la barrière muqueuse, suite à une rétrodiffusion préalable des ions H^+ (Benia et Amroune, 2005).
- **L'alcool :** L'alcool est un puissant agent ulcérogène et sa consommation excessive provoque des lésions hémorragiques aiguës et des érosions gastriques (Chen et *al.*, 2015). Il se caractérise par une pénétration rapide dans la muqueuse gastrique, provoquant l'inhibition des enzymes antioxydantes (CAT et SOD) ainsi que la réduction des niveaux de glutathion (Boligon et *al.*, 2014). En outre, l'éthanol provoque des ulcères gastriques en diminuant les facteurs de protection de la muqueuse gastrique (Choi et *al.*, 2009).
- **Tabac :** le tabagisme est un facteur étiologique dans le développement de l'UG, et des données ont suggéré que le tabagisme a un impact direct sur la formation et la gravité de l'ulcère, car les cigarettes contiennent de la nicotine, qui peut augmenter la sécrétion d'acide en augmentant la masse des cellules pariétales gastriques, diminuer le bicarbonate et la

sécrétion de prostaglandines endogènes, retarder la cicatrisation et favoriser la récurrence (Goodwin *et al.*, 2009).

- **Le stress** : les personnes souffrant d'ulcères gastriques ressentent souvent une douleur accrue pendant les périodes particulièrement stressantes (Lou *et al.*, 2006). La réponse de l'organisme au stress implique le système nerveux central (SNC), le système nerveux périphérique (SNP) et le système neuroendocrinien (SNE) (Dube *et al.*, 2015). Plus généralement, le nerf vague est une voie importante dans la viscéro-motricité de système digestif, et dans la régulation des sécrétions des glandes surrénales, du pancréas, de la thyroïde, des glandes endocrines et du système digestif (Caso *et al.*, 2008). En outre, le stress entraîne une diminution du flux sanguin vers la muqueuse gastrique et une augmentation du pepsinogène et de la sécrétion d'acide (Martins *et al.*, 2014).
- **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens** : Ils sont subdivisés en deux groupes, le premier comprenant les acides carbonyles, l'ibuprofène et l'indométhacine ; ces agents ont un caractère acide et sont des inhibiteurs non sélectifs de la COX. L'autre groupe comprend les acides énoliques tels que l'azapropazone et la phénylbutazone (Sinha *et al.*, 2013). La physiopathologie des lésions gastroduodénales induites par les anti-inflammatoires non stéroïdiens implique principalement une réduction du flux sanguin muqueux, conséquence de l'inhibition de la cyclooxygénase, qui produit des prostaglandines vasodilatatrices. Les lésions endothéliales aggravent la diminution du flux sanguin muqueux et favorisent le processus inflammatoire de la muqueuse digestive (Lamarque, 2004).
- **Helicobacter pylori** : *H. pylori* est un bacille à Gram négatif, spiralé, mobile et flagellé (Philip et Aaron, 2011). Le réservoir de *H. pylori* est l'estomac humain et sa transmission est interhumaine oro-orale (salive et vomissements) et oro-fécale. L'acquisition de l'infection se fait essentiellement dans l'enfance. Cette bactérie est la principale cause de la maladie ulcéreuse car elle s'adapte au milieu acide gastrique par la synthèse d'une uréase qui transforme l'urée en ammoniaque, permettant l'alcalinisation du microenvironnement, condition indispensable à la survie de la bactérie dans un milieu acide (Bigard, 1999). Ce pathogène induit une inflammation qui aboutit à la synthèse des chimiokines pro-inflammatoires. Cette réaction inflammatoire va se traduire sur le plan anatomopathologique par la survenue d'une gastrite chronique active définie par la présence de polynucléaires et de monocytes. *H. pylori* va par ailleurs induire une augmentation de la gastrinémie basale (Beaugerie *et al.*, 2014).

II.3.6. Les complications de l'ulcère

Bien que l'ulcère ne soit pas une maladie mortelle, il peut mener à des complications plus sérieuses comme saignement gastrointestinale, perforations, sténose du pylore, hémorragie ulcéreuse, douleurs abdominales aiguë, inhibition de la respiration, conduisant à l'ulcère chronique. Qui est induit par l'exposition de la muqueuse altérée à l'acide chlorhydrique et de la pepsine et/ou par la prédominance des anomalies de défense et de réparation de la muqueuse (Louvet, 2010).

Les ulcères causés par *H. pylori* guérissent généralement et rechutent spontanément, mais les ulcères, quelle qu'en soit la cause, et les ulcères provoqués par les AINS en particulier, peuvent entraîner de graves complications (Debabrata et James, 2019).

Toutefois, si elle n'est pas diagnostiquée et traitée rapidement, la maladie ulcéreuse peut entraîner des complications telles que (Talia et *al.*, 2023 ; Balian, 2011) :

- Hémorragie digestive : qui est favorisée par la prise d'AINS et d'alcool,
- Perforation : Un ulcère gastroduodéal peut traverser la paroi de l'estomac ou du duodénum. Si les adhérences empêchent l'épanchement dans la cavité péritonéale, la perforation dans le péritoine libre est évitée et une perforation bouchée se produit. La douleur peut être intense, persistante, se projeter au-delà de l'abdomen (généralement dans le dos, en cas de perforation d'un ulcère duodéal postérieur dans le pancréas) et modifiée par la position du patient. De plus, la perforation diminue la capacité et la vitesse de cicatrisation,
- Sténose : qui se traduit par un étranglement anormal de la muqueuse,
- Dégénérescence néoplasique : qui se présente par une association de la structure ulcéreuse avec une prolifération cancéreuse. Le patient qui présente des ulcères associés à *H. pylori* a un risque 3 à 6 fois plus élevé d'avoir un cancer gastrique par la suite. Il n'y a pas d'augmentation du risque de tumeur maligne dans le cas des ulcères d'autres étiologies.

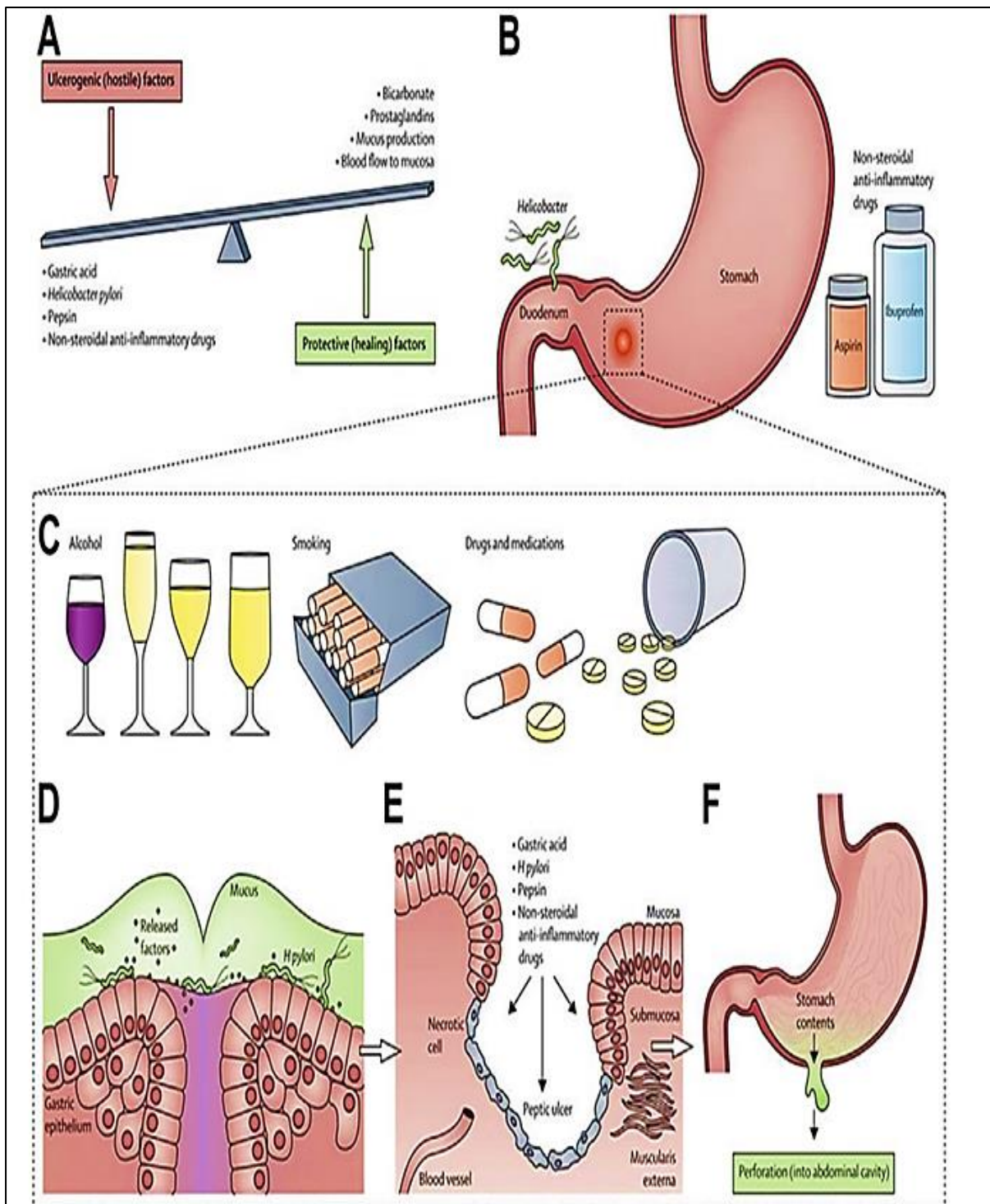


Figure 12. Mécanismes et facteurs de la pathogenèse de l'ulcère. (A) Un déséquilibre entre les facteurs de protection et d'agression, (B) les facteurs connus, l'infection par *Helicobacter* et l'utilisation d'AINS. (C) Autres facteurs peuvent renforcer le processus ulcérogène qui conduit à l'érosion (D), La paroi séreuse est rompue (E) Perforation (F), le contenu de l'estomac, y compris le liquide acide, pénètre dans la cavité abdominale, provoquant une douleur intense (Jason et *al.*, 2018).

II.3.6. Traitements de l'ulcère gastrique

II.3.6.1. Traitement médical.

Les bases physiopathologiques indiquent que l'on peut agir soit sur la sécrétion acide, pour l'inhiber, soit sur la protection de la muqueuse gastrique, pour l'augmenter. La première étape du traitement consiste à éviter les irritants tels que le tabac, l'alcool, l'ibuprofène et l'aspirine, ainsi que tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Quinton, 1994).

Une large gamme de médicaments est disponible pour le traitement de l'ulcère gastrique qui comprend les antagonistes des prostaglandines, inhibiteurs de la pompe à protons, antagonistes des récepteurs H₂ à l'histamine, antiacides, pansement gastrique et l'éradication d'*H pylori* qui repose actuellement sur une thérapie associant un anti sécrétoire et des antibiotiques (Ignatius *et al.*, 2012) (Tableau 5).

II.3.6.2. Traitement naturel.

Malgré l'efficacité des traitements médicamenteux, ces derniers présentent toujours un certain nombre d'effets indésirables, et dans ce contexte, les extraits de plantes sont parmi les sources les plus prometteuses de nouveaux traitements pour cette maladie. Une grande partie de la recherche actuelle se focalise sur les molécules antioxydantes et antimicrobiennes telles que les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols, en raison de leur large éventail d'effets thérapeutiques (Dashputre et Naikwade, 2011).

Tableau 5 : Les classes d'antiulcéreux, leurs différentes spécialités et quelques exemples de principes actifs.

Classes d'antiulcéreux	Spécialités	Exemples de principes actifs
Antiulcéreux antisécrétoires (Scoazec, 2011 ; Bicoti, 1988).	Antihistaminiques	Cimétidine
		Famotidine
		Ranitidine
	Inhibiteurs de la pompe H ⁺ / K ⁺	Oméprazole Lanzoprazole
Antiulcéreux topiques (Keita, 2004).	Polymères	Sucralfate
Anti-acides et pansements gastriques (Gimenez <i>et al.</i> , 2000 ; Lechat <i>et al.</i> , 1982).	Neutralisants	Hydroxyde d'Al et de Mg silicone

Chapitre III
Monographie des deux
plantes étudiées

III. Phytothérapie

III.1. Définition

Le mot « phytothérapie » se compose étymologiquement de deux racines grecques : « Phuton » et « Therapeia », qui signifient respectivement « Plante » et « Traitement ». Elle peut donc être définie comme une discipline allopathique visant à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou états pathologiques.

La phytothérapie est une médecine basée sur les extraits de plantes médicinales, qui contiennent de nombreux principes actifs. Elle repose principalement sur des pratiques traditionnelles fondées sur l'usage ancestral et local des plantes médicinales pour la prévention et le traitement de certains troubles fonctionnels et états pathologiques. Depuis 1987, la phytothérapie est pleinement reconnue par l'Académie de médecine française (Wichtl et Anton, 2003).

Depuis 150 ans, les plantes médicinales fournissent à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreuses études menées dans le domaine de l'ethnopharmacologie nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent, d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et, d'autre part, seraient pratiquement dépourvues de toxicité (Gurib, 2006).

III.2. Plantes médicinales

Une plante médicinale est une plante ou une espèce végétale contenant une ou plusieurs substances actives utilisées à des fins thérapeutiques. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit les plantes médicinales comme "toute plante, sauvage ou cultivée, utilisée à des fins médicinales" (Abdelnour et Arnold, 2004). Les plantes médicinales sont faciles à utiliser, seraient potentiellement efficaces et peu coûteuses. Le mode de préparation et d'administration sont des facteurs déterminants dans un traitement. Environ 35 000 espèces de plantes sont utilisées dans le monde à des buts médicaux, ce qui en fait le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Elqaj et *al.*, 2007).

III.2.1. Eléments actifs des plantes médicinales

Un principe actif est une molécule contenue dans une plante médicinale ou dans une préparation à base de plantes médicinales utilisée pour fabriquer des médicaments. Une plante médicinale ne devient utile qu'après avoir subi un certain nombre de transformations qui visent à libérer ses principes actifs et à les rendre assimilables par l'organisme (Hrabielles, 1981). De ce fait,

pour retirer ces principes actifs d'une drogue végétale, on utilise le plus souvent un liquide qui pourra les dissoudre (Perrotis et *al.*, 1999).

Les plantes médicinales sont la source de nombreuses substances actives, réparties en trois groupes : Les polyphénols ou composés phénoliques, les terpénoïdes et stéroïdes, les alcaloïdes.

- a. Polyphénols** : Ils sont caractérisés par la présence d'au moins deux groupes phénoliques. Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les plantes au cours du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions de l'environnement, comme la défense contre les pathogènes (principalement les champignons et les bactéries phytopathogènes), et l'attraction des pollinisateurs : les couleurs et les odeurs attirent les insectes... On les trouve dans différentes parties des plantes, en fonction de l'espèce végétale et du groupe polyphénolique considéré (Sarni et Cheynier, 2006 ; Sasaki et Takahashi, 2002).
- b. Les terpénoïdes et les stéroïdes** : Ils constituent le plus grand groupe de métabolites secondaires du règne végétal : monoterpènes, sesquiterpènes (lactones sesquiterpéniques), diterpènes, triterpènes et stéroïdes (saponosides, hétérosides cardiotoniques, phytostérols). Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les principaux constituants des huiles essentielles, comme l'huile essentielle de lavande (Woronuk et *al.*, 2010).
- c. Les alcaloïdes** : Ce sont des composés organiques hétérocycliques azotés dérivés du métabolisme, souvent basiques et instables, mais également capables de former des sels et d'être conservés et commercialisés. Ils sont considérés comme les substances les plus efficaces et les plus importantes sur le plan thérapeutique, avec des propriétés pharmacologiques marquées (antispasmodiques, bactéricides) (Lamnaouer, 2008).

II.2.2. Généralité sur les plantes étudiées

Parmi ce large éventail de plantes médicinales, nous en avons choisi deux : Le caroubier (*Ceratonia siliqua*) et L'arbousier (*Arbutus unedo*). Elles sont principalement cultivées dans la flore méditerranéenne. Ces deux plantes sont une source de composés bioactifs qui ont été associés à un certain nombre de bienfaits pour la santé. Leur profil de métabolites secondaires comprend une matrice riche en polyphénols qui est responsable d'un certain nombre d'effets biologiques et d'attributs de santé, notamment anticancéreux et anti-inflammatoires. Ils ont des propriétés anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-ulcéreuses, et anti-hyperlipidémiques. L'étude bibliographique que nous avons menée sur les deux plantes médicinales étudiées est résumée dans les deux articles suivants.

Phytochemical Study and Biological Activities of *Ceratonia siliqua* L.

Étude phytochimique et activités biologiques de *Ceratonia siliqua* L.

F. Sahnouni · F. Lehfa

© Lavoisier SAS 2022

Abstract The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) belongs to the legume family and is mainly cultivated in the Mediterranean. *Ceratonia siliqua* L. is a medicinal plant used in traditional Algerian medicine. Therefore, this study aims to analyze the phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activities of *Ceratonia siliqua*. Indeed, certain studies and research on pods and leaves of carob have revealed the presence of a number of compounds, including large amounts of carbohydrates, dietary fiber, minerals, polyphenols, flavonoids, and low amounts of protein and lipids. The secondary metabolite profile of carob extracts includes a matrix rich in polyphenols which is responsible for several biological effects and health attributes, namely, anticancer, antidiabetic, anti-inflammatory, antioxidant, antiulcer, anticonstipation, and antihyperlipidemic activities. So we finally concluded that carob had beneficial preventive and therapeutic properties.

Keywords Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) · Secondary metabolite · Biological activities

Résumé Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) appartient à la famille des légumineuses. Principalement cultivé en Méditerranée, *Ceratonia siliqua* L. est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle algérienne. Par conséquent, cette étude vise à analyser les constituants phytochimiques, les utilisations traditionnelles et les activités pharmacologiques de *Ceratonia siliqua*. En effet, certaines études et recherches sur les gousses et les feuilles de caroube ont révélé la présence d'un certain nombre de composés dont de grandes quantités de glucides, de fibres alimentaires, de minéraux, de polyphénols, de flavonoïdes et de faibles quantités de protéines et de lipides. Le profil de métabolite secondaire des extraits de caroube comprend une matrice riche en polyphénols qui est

responsable de plusieurs effets biologiques et attributs de santé, à savoir anticancéreux, antidiabétique, anti-inflammatoire, antioxydant, antiulcéreux, anticonstipation et antihyperlipidémique. Finalement, le caroubier avait des propriétés préventives et thérapeutiques bénéfiques.

Mots clés Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) · Métabolites secondaires · Activités biologiques

Introduction

Plants have been used as a more abundant and profitable renewable resource of medicines since ancient times. Until now, the World Health Organization (WHO) estimates that up to 80% of the world's population still depends primarily on traditional remedies such as plants in one form or another for their medicine [1]. So we can explain this by the beneficial effects of many plants on several pathologies and also the prevention of diseases thanks to their antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties [2]. The scientific basis for the emergence of pharmacology in the 18th and 19th centuries was largely based on substances of plant origin. With the introduction of new botanical therapeutic agents, plants are also poised to continue to play a key role in the era of modern medicine. Globally, the beneficial impact of plant biotechnology has been almost exclusively on medicinal plants [1].

Definition

Carob is the fruit obtained from *Ceratonia siliqua* L. and it is a source of bioactive compounds that have been linked to several beneficial health effects [3] (Fig. 1). This tree has been cultivated in most countries of the Mediterranean basin since antiquity, mainly in Spain, Italy, Portugal, Greece, Morocco, Turkey, Algeria, and Tunisia [4,5]. It is an evergreen leguminous tree and is considered an important part of vegetation for economic and environmental reasons.

F. Sahnouni · F. Lehfa (✉)
Faculty of Natural Sciences and Life,
University Mustapha-Stambouli of Mascara, Algeria
e-mail : fatilahfa@yahoo.com

F. Sahnouni
Environmental Monitoring Network, Faculty of Science,
University of Oran 1, Ahmed-Ben-Bella, Algeria



Fig. 1 Center of origin and distribution of the carob tree in the world [4]

Global production is estimated at around 310,000 tons per year, and produced on around 200,000 hectares with widely varying yields depending on cultivar, region, and farming practices [4]. The tree attains a developed stature and spread of about 6 to 15 m high, with branches spreading out to the ground [6]. The fruit is a dark brown pod, with a straight, curved, or twisted shape, and it might be elongated or compressed in structure. The pod mass ranges between 5 and 30 g. The pods can be up to 25 cm long, up to 1.3 cm thick, and up to 4 cm [4]. The pulp comprises an outer leathery layer (pericarp) and softer inner region (mesocarp). Seeds occur in the pod transversally, separated by mesocarp [7] (Fig. 2).

Identity

The scientific name carob (*Ceratonia siliqua* L.) derives from the Greek keras, horn, and the Latin siliqua, referring to the hardness and shape of the pod [4]. The common name originates from the Hebrew kharuv, from which are derived the Arabic kharrub and later algarrobo or garrofero in Spanish, carrubo in Italian, carob tree in French are derived [4] (Table 1). *Ceratonia siliqua* is an evergreen flowering tree or shrub in the Caesalpinioideae subfamily of the legume family, Fabaceae (Table 2).

Functional chemical components of locust bean fruit

The carob bean consists of two main parts: around 90% pulp and 10% seeds [3]. The carob fruit is a mixture between

primary and secondary metabolites, the presence of sugars and fiber being characteristic of these fruits, followed by a great diversity of many minerals, and amino acids are also present in the carob fruits [7].

Sugar

The carob fruit is known for its high sugar. It contains approximately 40% to 60% sugars (sucrose, glucose, and fructose) [8]. The major carbohydrate in carob bean is the sucrose. Carob sugars are usually used for the production of natural carob syrup [7,9].

Fibers

Hipsley in 1953 was the first to use “dietary fiber” as a shorthand term for the nondigestible constituents that make up the plant cell wall. These constituents were known to include cellulose, hemicellulose, and lignin [10]. Dietary fibers are divided into two types — soluble and insoluble — and are generally heterogeneous substances [11]. Carob pulp contains about 18% cellulose and hemicellulose [12].

Cyclitols = polyols (sugar alcohols)

Cyclic polyols (cyclitols) are secondary metabolites that are produced in plant and have an essential contribution in plant self-defense against hostile environmental conditions like

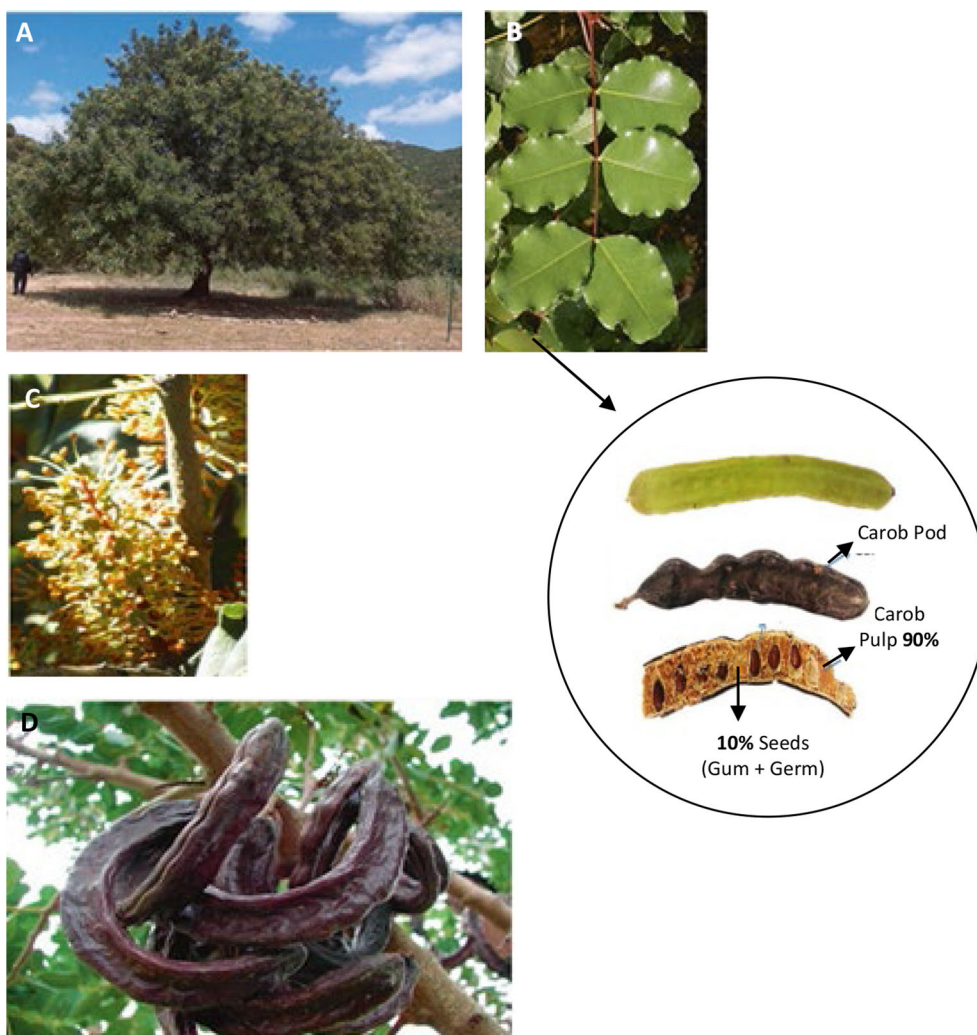


Fig. 2 *Ceratonia siliqua* A. Mature tree. B. Compound leaf. C. Inlorescence. D. Ripe pods. (Source: <https://www.wikimedia.org/>) (Sources of all photographs: Wikimedia website)

Table 1 Represented identity of carob tree [4]	
Preferred scientific name	<i>Ceratonia siliqua</i> Linnaeus
Preferred common name	Locust bean
International common names	English: carob, carob tree, locust tree, St. John's bread Spanish: algarrobera, algarrobo, European algarrobo, garrofero French: caroube, caroubier, caroubier commun Arabic: al-kharoubah

Table 2 Represented taxonomic tree [4]	
Domain	Eukaryota
Kingdom	Plantae
Phylum	Spermatophyta
Subphylum	Angiospermae
Class	Dicotyledonae
Order	Fabales
Family	Fabaceae
Subfamily	Caesalpinioideae
Genus	<i>Ceratonia</i>
Species	<i>Ceratonia siliqua</i>

water and salt stress. Among the main sugars, carob fruit contains the cyclitol D-pinitol (3-O-methyl-D-chiroinositol). Syrup and carob flesh are rich sources of D-pinitol, which is considered a bioactive and effective natural health food sup-

plement [8]. The biological activity of D-pinitol has been shown to be effective in modulating inflammatory cytokines, hormones, tumor markers, lipid profile, and also various biochemical alterations, which lead to retardation of the growth

of tumor cells. Also, the ability of D-pinitol to inhibit diverse events involved in tumor progression and clearly proves its usefulness in the treatment of cancer and inflammatory diseases [13].

Proteins and amino acids

Among the different substances that constitute fruits and vegetables, amino acids are becoming increasingly important and, for various reasons, their analytical determination is becoming by the day, more and more necessary. The protein content of carob germ flour seeds is higher than those observed for other beans such as faba bean, pea, and soy beans [12]. Except for tryptophan, an essential amino acid found at trace levels in carob, it contains all the seven essential amino acids with acceptable levels that meet WHO standards. Several studies are detected that the locust bean germ contains 18 amino acids, namely, aspartic acid, glutamic acid, arginine, asparagine, alanine, leucine, and valine, which are the predominant amino acids representing about 57% of total amino acids [6].

Vitamins and minerals

Carob pod is rich in potassium (75.5 mg/pod) and poor in sodium (1.2 mg/pod). El Bouzdoudi B. et al. said that the seed shows high potassium content (0.305 mg/seed) and a very low level of sodium (0.01 mg/seed). The presence of mineral elements in the pulp and seeds of carob reflects the importance attached for a long time to this food for animal and human consumption [14]. The carob powder is a good source of vitamins E, D, C, niacin, B6, and folic acid. Meanwhile, carob powder contained lower levels of vitamins A, B2, and B12 [12].

Polyphenols

The majority of plants produce thousands of phenolic and polyphenolic compounds as secondary metabolites. They are essential to the physiology of plant, being involved in diverse function such as lignifications and structure, pigmentation, pollination, allelopathy, pathogen and predator resistance, and growth [15,16]. They are characterized structurally by two or more hydroxyl groups attached to one or more benzene rings, and can be classified into four main families: lignans, phenolic acids, stilbenes, and flavonoids.

The use of carob tree parts (carob pulp, seeds germ, gum, leaves, and tree barks) as supplements in food or pharmaceutical products is of great importance due to the beneficial antioxidant properties of polyphenolic compounds [17].

The phenolic compounds found in the carob fruit are mainly phenolic acids, gallotannins, and flavonoids [18]. Goulas V. et al. show that the concentration of polyphenols in carob fruits depends strongly on genetic, environmental and extraction methods. In effect, the concentration of polyphenols in locust bean fruits can so various between 45 and 5376 mg of gallic acid equivalents per 100 g [19]. Thus, the contents of total polyphenols (TP), total flavonoids (TF), and condensed tannins (CT) exhibited the highest levels in the unripe fruits. So, the green carob pods were considered as an interesting source of natural antioxidant for pharmaceutical uses [20] (Fig. 3).

Biological activities

Antioxidants and ROS effects

Oxidative stress is today's problem because it is responsible for several diseases. It can be identified as an imbalance between the equilibrium of pro-oxidants and antioxidants [21]. To protect against these harmful species, we use synthetic or natural antioxidant molecules which are able to scavenge reactive oxygen species (ROS) [22] and to upregulate endogenous antioxidant defenses and also are capable to neutralize chemically active products of metabolism, such as free radicals which damage the body [23,24].

In this context, many studies show that carob has an antioxidant effect. Recently, Ben Othmen K. et al. state that the notable biological effects of carob leaf against oxidative stress have been significantly attributed to the presence of phenolic compounds. In addition, antioxidant activity was positively correlated with phenol content, which recorded an abundance of TP, TF, and CT known for their interesting ability to scavenge free radicals. These data are consistent with other studies which have shown a strong association between phenolic content and antioxidant activity [25,26]. Moreover, the determination of the antioxidant power *in vitro* by the 2,2'-azino-bis[3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS) method showed that the carob extracts have a high antioxidant power. Sebai H. et al. showed that *in vivo* treatment with aqueous extract of carob pods (AECF) exhibited antioxidant properties in rats by decreasing lipid peroxidation and hydrogen peroxide content of tissues. From these data they suggest that the fruit of the carob has an antioxidant effect and could be proposed as a food additive to protect against damage caused by oxidative stress [22].

On the contrary, the antioxidant activity of carob powder can be significantly increased by roasting due to the improved solubility of polyphenols and the formation of early stage MRP (Maillard reaction product). For this reason, Cepo D.V. et al. show that roasting the carob powder at 130°C for 30 min gave the highest antioxidant activity and the lowest

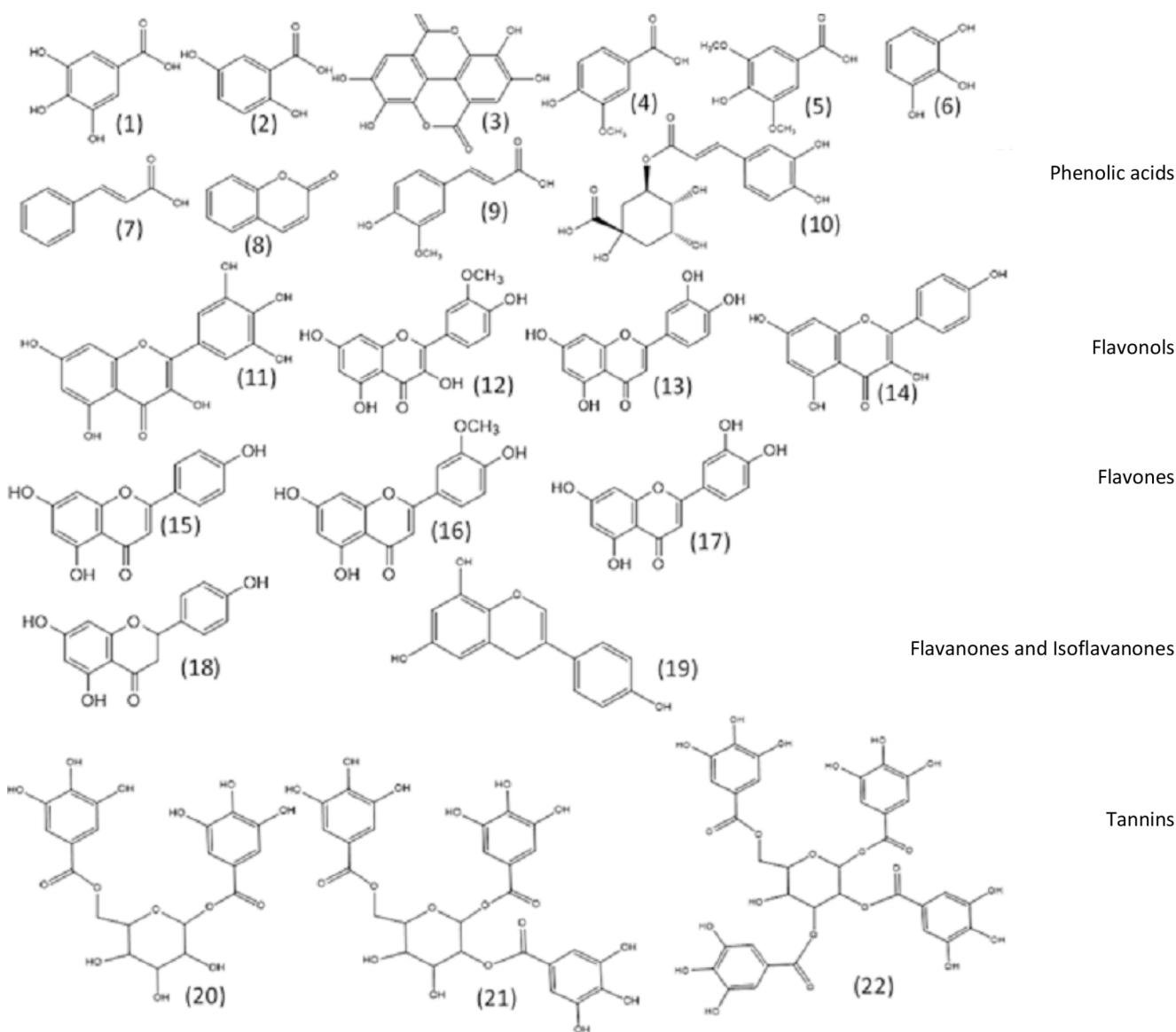


Fig. 3 Identified phenolics from Carob. Phenolic acids: (1) gallic acid, (2) gentisic acid, (3) ellagic acid, (4) vanillic acid, (5) syringic acid, (6) pyrogallol, (7) cinnamic acid, (8) p-coumaric acid, (9) Ferulic acid, (10) chlorogenic acid. Flavonoids: (11) myricetin, (12) isorhamnetin, (13) quercetin, (14) kaempferol, (15) apigenin, (16) chrysoeriol, (17) luteolin, (18) naringenin, (19) genistein. Tannins: (20) 1,6 digalloyl glucose, (21) 1,2,6 trigalloyl glucose, (22) 1,2,3,6 tetragalloyl glucose [6]

toxic MRP formation [27]. In addition, Ydjedd S. et al. suggested *Ceratonia siliqua* L. as a potential natural source of antioxidants with particular emphasis on the polar fraction extracted by effective solvents at the immature stage. The extracts may be suitable for use in the nutritional/pharmaceutical fields [28,29]. Among other things, the antioxidant activity of carob bean bark extracts was evaluated using various *in vitro* tests; the results showed that the carob bean bark showed strong antioxidant activity. Thus, the phenolic compounds and the antioxidant capacity varied significantly with the nature of the extraction solvent [30]. Finally, *Ceratonia siliqua* L. is an excellent source of natural antioxidant that might be

more widely used in cosmetic, pharmaceutical, and food industries [31,32].

Antiulcer and anti-inflammatory effects

The peptic ulceration in both the stomach and duodenum occurred on a background of inflammation [33]. Inflammation is the immune system's response of body tissues to harmful stimuli such as pathogens, damaged cells, toxic compounds, or radiation. These factors can induce acute and/or chronic inflammatory responses, so inflammation is a vital defense mechanism for health [34,35]. Gastric ulcer

disease is the most common gastrointestinal disorder with multiple etiologies causing considerable morbidity and mortality [36]. The pathophysiology of gastric ulcer has generally as a result of an imbalance in the equilibrium that normally exists between the stomach's "protective" barriers and "aggressive" luminal factors such as acid, pepsin, refluxed bile salts and ingested drugs. Endogenous aggressive factors are HCl, pepsinogen, and pepsin. Defensive factors include protection of mucus bicarbonated and prostaglandin. Rtibi K. et al. clearly demonstrate that aqueous carob extract exerts protective effects against acute ethanol-induced ulceration in the gastric mucosa of rats, in part due to its antioxidant properties. Thanks to them for richness in polyphenols and more particularly in tannins and flavonoids [37]. Furthermore, Belhocin et al. study the antioxidant activity of carob which has been tested on DPPH (2,2-diphényl 1-pyrcrilhydrazyle) and its gastroprotective effect. Belhocin et al. found that CPAE (aqueous extract of carob pods) reduced the volume and increased the pH of gastric juice and lowered pepsin activity. Ulcerative lesions and the ulcer index were greatly reduced. Carob therefore has significant antiulcer potential through an antisecretory effect; this antiulcer effect probably linked to its strong antioxidant capacity. Moreover, Bakhtaoui FZ et al. study the protective effects of plants against gastric damage. The results obtained showed that the crude extract of *Ceratonia siliqua* L. possesses important gastroprotective and antisecretory properties which prevent gastric ulceration induced by various agents [36]. On the contrary, to determine the effect of in vitro gastrointestinal digestion of encapsulated and nonencapsulated phenolic carob pulp extracts, Rezgui et al. used a double emulsion/solvent evaporation technique on extracts of carob pulp. They observed that carob has a protective effect against changes in pH and enzymatic activities during digestion. Among other things, in Morocco, a group of researchers has shown the use of *Ceratonia siliqua* in the treatment of inflammatory diseases by determining the anti-inflammatory potential of the extract of the methanolic bark of *Ceratonia siliqua* in rodents. *Ceratonia siliqua* methanolic bark extract has been studied for its anti-inflammatory properties using carrageenan and trauma-induced hind paw edema in rodents [38].

Antidiabetic effects

Diabetes mellitus (DM) is apparently one of the oldest diseases known to man [39], estimated to number 640 million people by 2040 (International Diabetes Federation, 2016) [40]. DM is a metabolic disease typically characterized by an elevation in blood sugar that justifies with frequent monitoring and adequate control [39]. This syndrome is caused either by a lack of insulin secretion or by a decrease in the sensitivity of tissues to insulin [41].

The decrease of postprandial hyperglycemia through the inhibition of two key enzymes coupled with type 2 DM such as α -amylase and α -glucosidase is an important therapeutic strategy used for the regulation or the management of diabetes (type 2) [42]. The D-pinitol present in carob products could be responsible for the antidiabetic effects as it regulates blood sugar level in patients with type 2 DM by increasing insulin sensitivity [7]. In addition, Zheng X. et al. say that the mechanism of blood sugar regulation by locust bean gum may be related to the promotion of glucose uptake by the liver and peripheral tissues, and the inhibition of the hepatic glycogenesis pathway. It can reduce or delay the absorption of glucose from the intestinal tract. It can also increase satiety and reduce hunger [43]. On the contrary, Macho-González A. et al. suggest that the consumption of carob fruit extract restructured meat (CFE-RM) included in the diet as a functional food should be considered an appropriate nutritional strategy to prevent or manage late-stage type 2 DM because CFE-RM has had a positive effect on blood sugar levels, which increase hepatic sensitivity to insulin and improve regeneration of pancreatic β cells [44].

Antihyperlipidemic effects

The diets rich in fiber have shown numerous health benefits against a range of disorders, including obesity, type 2 DM, colon cancer, and cardiovascular disease (CVD) [45]. Atherosclerosis is one of the main CVDs. It is mainly caused by damage to endothelial cells, or excessive serum cholesterol levels, resulting in a large number of low-density lipoprotein-based lipid particles deposited in the endothelial-forming arterial wall [43]. Also, dyslipidemia is one of the major risk factors for the development of atherosclerosis.

Zheng X. et al. showed that carob bean gum had significant activity in counteracting the increment in liver cholesterol and liver total lipids induced by cholesterol feeding in rats [43]. Glucose and lipid metabolism disorders are the primary risk factors for CVD and cerebrovascular disease, the leading causes of deaths worldwide (WHO, 2016). CVDs have emerged as a major cause of mortality and morbidity worldwide [46]. Dyslipidemia is a major modifiable contributor to CVDs; elevated blood cholesterol accounts for nearly one-third of ischemic heart diseases [43].

Sour et al. show that the regular consumption of carob pulp has an effect on the various alterations in the metabolism and the oxidant/antioxidant balance associated with nutritional obesity. However, the consumption of a diet enriched with carob pulp. The carob leads to a reduction in body weight, adipose tissue weight, and blood sugar. In addition, a diet enriched with carob pulp improved lipid profile and oxidant/antioxidant status [47]. Thus, the carob by-products have shown therapeutic potential for the prevention and/or treatment of metabolic syndrome with a decrease in

the capacity of triglycerides and a strong antioxidant activity, which may be linked to a higher content of gallic acid [48]. On the contrary, Sánchez-Muniz et al. show that carob fruit extract (CFE) reduces the presence of VLDL (Very Low Density Lipoprotein), IDL (Intermediary Density Lipoprotein) and LDL (Low Density Lipoprotein) which leads to a reduction in CVD risk [49].

Conclusion

The carob is acclaimed as an ingredient with marked nutritional value due to its levels of dietary and phenolic compounds, such as dietary fibers and polyphenols which have a preventive role against several diseases (heart, digestive, etc.). Besides, polyphenols have antioxidant activity, which mainly improves in the prevention of or delay in oxidative damage.

Conflicts of interests the authors have no conflicts of interests to declare.

References

- Chandra S, Lata H, Varma A (2013) Biotechnology for medicinal plants, micropropagation and improvement. Library of Congress Control Number: 2012942923, Forwood VII
- Ben Ayache S, Behija Saafi E, Emhemmed F, et al (2020) Biological activities of aqueous extracts from carob plant (*Ceratonia siliqua* L.) by antioxidant, analgesic and proapoptotic properties evaluation. *Molecules* 25:3120
- van Rijs P, Fogliano V (2020) Roasting carob flour decreases the capacity to bind glycoconjugates of bile acids. *Food Funct* 11: 5924–32
- Battle I, Tous J (1997) Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant, Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- El Batal H, Hasib A, Dehbi F, et al (2016) Assessment of nutritional composition of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) collected from various locations in Morocco. *J Mater Environ Sci* 7:3278–85
- Mariod AA (ed.) (2019) Wild fruits: composition, nutritional value and products, AG, chap. 36, pp 481–98
- Goulas V, Stylos E, Chatziathanasiadou MV, et al (2016) Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological space. *Int J Mol Sci* 17:1875. doi:10.3390/ijms17111875
- Christou C, Poulli E, Yiannopoulos S, et al (2019) GC–MS analysis of D-pinitol in carob: syrup and fruit (flesh and seed). *J Chromatogr B* 1116:60–4
- Zhu BJ, Zayed MZ, Zhu HX, et al (2019) Functional polysaccharides of carob fruit. *Chin Med* 14:40
- Devries JW, Rosky LP, Li B, et al (1999) A historical perspective on defining dietary fiber. *Cereal Foods World* 44:367–9
- Durazzo A, Turfani V, Narducci V, et al (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem* 153:109–13
- Youssef MKE, El-Manfaloty MM, Ali HM (2013) Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Food Public Health* 3:304–8
- Rengarajan T, Nandakumar N, Rajendran P, et al (2015) D-pinitol mitigates tumor growth by modulating interleukins and hormones and induces apoptosis in rat breast carcinogenesis through inhibition of NF- κ B. *J Physiol Biochem* 71:191–204
- El Bouzdoudi B, Saïdi R, Embarch K, et al (2017) Mineral composition of mature carob (*Ceratonia siliqua* L.) pod: a study. *Int J Food Sci Nutr Eng* 7:91–103
- Duthie GG, Gardner PT, Kyle JAM (2003) Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc Nutr Soc* 62:599–603
- Loullis A, Pinakoulaki E (2018) Carob as cocoa substitute: a review on composition, health benefits and food applications. *Eur Food Res Technol* 244:959–77
- Stavrou IJ, Atalanti C, Kapnissi-Christodoulou CP (2018) Polyphenols in carobs: a review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. *Food Chem* 269:355–74
- Arribas C, Cabellos B, Cuadrado C, et al (2019) The effect of extrusion on the bioactive compounds and antioxidant capacity of novel gluten-free expanded products based on carob fruit, pea and rice blends. *Innov Food Sci Emerg Technol* 52:100–7
- Goulas V, Stylos E, Chatziathanasiadou MV, et al (2016) Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological Space. *Int J Mol Sci* 17:1875. doi:10.3390/ijms17111875
- Ben Othmen K, Elfalleh W, Lachiheb B, et al (2019) Evolution of phytochemical and antioxidant activity of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) pods during maturation. *EuroBiotech J* 3:135–42. doi: 10.2478/ebtj-0016
- Altaany Z, Alkaraki A, Abu-siniyeh A, et al (2019) Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulfurous springs residents. *Heliyon* 5:e02885
- Sebai H, Souli A, Chehimi L, et al (2013) In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J Med Plants Res* 7:85–90
- Costantini D (2019) Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol* 222:jeb194688
- Lachkar N, Al-Sobarry M, El Hajaji H, et al (2016) Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res* 8:202–10
- Ben Othmen K, Elfalleh W, Garcia Beltrán JM, et al (2020) 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 Immun* 99:35–43
- Rtibi K, Selmi S, Grami D, et al (2017) Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract. *Biomed Pharmacother* 93:522–8
- Cepo DV, Mornar A, Nigović B, et al (2014) Optimization of roasting conditions as a useful approach for increasing antioxidant activity of carob powder. *LWT-Food Sci Technol* 58:578–86
- Ydjedd S, Bouriche S, Lopez-Nicolas R, et al (2017) Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and nonencapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. *J Agr Food Chem* 65:827–35
- Dumitru G, Abidar S, Nhiri M, et al (2018) Effect of *Ceratonia siliqua* methanolic extract and 6 hydroxydopamine on memory impairment and oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*) model. *Rev Chim (Bucharest)* 69:3545–8
- Lakkab I, El Hajaji H, Lachkar N, et al (2019) *Ceratonia siliqua* L. seed peels: phytochemical profile, antioxidant activity, and effect on mood disorders. *J Funct Foods* 54:457–65

31. Benchikh Y, Louaileche H, George B, et al (2014) Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. *Ind Crop Prod* 60:298–303
32. Durazzo A, Turfani V, Narducci V, et al (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem* 153:109–13
33. Michael F (2000) Patterns of inflammation linked to ulcer disease. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 14: 27–40
34. Arawwawala M, Thabrew I, Arambewela L, et al (2010) Anti-inflammatory activity of *Trichosanthes cucumerina* Linn. in rats. *J Ethnopharmacol* 131:538–43
35. Chen L, Deng H, Cui H, et al (2018) Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* 9:7204–18
36. Bakhtaoui FZ, Lakmichi H, Chaitand A, et al (2014) In vivo gastro-protective effects of five Moroccan medicinal plants against gastric ulcer. *Am J Phytomed Clin Ther* 2:1262–76
37. Rtibi K, Jabri MA, Selmi S, et al (2015) Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. *BMC Complementary Altern Med* 15:292
38. Rtibi K, Selmi S, Jabri MA, et al (2016) Effects of aqueous extracts from *Ceratonia siliqua* L. pods on small intestinal motility in rats and jejunal permeability in mice. *RSC Adv.* 6:44345
39. Tan SY, Mei Wong JL, Sim YJ, et al (2019) Type 1 and 2 diabetes mellitus: a review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes Metab Syndr* 13:364–72
40. Qasem MA, Noordin MI, Arya A, et al (2018) Evaluation of the glycemic effect of *Ceratonia siliqua* pods (carob) on a streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat model. *PeerJ* 6:e4788. doi: 10.7717/peerj.4788
41. Ratiu IA, Al-Suod H, Ligor M, et al (2019) Simultaneous determination of cyclitols and sugars following a comprehensive investigation of 40 plants. *Food Anal Method* 12:1466–78
42. Rtibi K, Selmi S, Grami D, et al (2018) In vitro α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities and in vivo improving glucose tolerance and hypoglycemic effect of *Ceratonia siliqua* leaves aqueous extract. *EC Nutrition* 13:171–9
43. Zheng X, Zhong Ch, Zhu Z, et al (2021) Association between serum matrix metalloproteinase-9 and poor prognosis in acute ischemic stroke patients: The role of dyslipidemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 31:209–15
44. Macho-González A, Garcimartín A, López-Oliva ME, et al (2020) Carob-fruit-extract-enriched meat modulates lipoprotein metabolism and insulin signaling in diabetic rats induced by high-saturated-fat diet. *J Funct Foods* 64:103600
45. Debnath S, Jawahar S, Muntaj H, et al (2019) A review on dietary fiber and its application. *J Pharmacogn Phytochem* 11:109–13
46. Xing L, Jing L, Tian Y, et al (2020) Epidemiology of dyslipidemia and associated cardiovascular risk factors in northeast China: a cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 30:2262–70
47. Sour S, Fridi C, Taif A (2019) Beneficial effects of carob Pulp (*Ceratonia siliqua*) on lipids profile and oxidant/antioxidant status in obese rats. *Rev Agrobiol* 9:1200–6
48. de la Fuente-Fernández M, González-Hedström D, Amor S, et al. (2020) Supplementation with a carob (*Ceratonia siliqua* L.) fruit extract attenuates the cardiometabolic alterations associated with metabolic syndrome in mice. *Antioxidants* 9:339. doi: 10.3390/antiox9040339
49. Macho-González A, Garcimartín A, López-Oliva ME, et al (2019) Can carob-fruit-extract-enriched meat improve the lipoprotein profile, VLDL-oxidation, and LDL receptor levels induced by an atherogenic diet in STZ-NAD-diabetic rats? *Nutrients* 11:332. doi: 10.3390/nu11020332

Phytochemical Study and Biological Activities of *Arbutus unedo* L.

Étude phytochimique et activités biologiques d'*Arbutus unedo* L.

F. Lehfa · F. Sahnouni

© Lavoisier SAS 2022

Abstract The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) is a shrub (small tree) with evergreen leaves of the Ericaceae and is a main constituent of the flora of the Mediterranean basin. An increasing interest in the use of the strawberry tree (*Arbutus unedo* L., Ericaceae) has recently been reported in the industrial, pharmaceutical, and chemical fields. Indeed, some research on the fruits of *Arbutus unedo* has revealed the presence of several compounds, including large amounts of carbohydrates, dietary fiber, minerals, polyphenols, and flavonoids. In addition, the secondary metabolite profile of arbutus extracts includes a matrix rich in polyphenols, which is responsible for several biological activity and health attributes, namely antiseptic, diuretic, and laxative effects, and also to treat cardiovascular pathologies such as high blood pressure, atherosclerosis, and thrombosis.

Keywords The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) · Biological activity · Secondary metabolite · Polyphenols

Résumé L'arbousier (*Arbutus unedo* L.), un arbuste (petit arbre) à feuilles persistantes des Ericaceae, est un constituant principal de la flore du bassin méditerranéen. Un intérêt croissant pour l'utilisation de l'arbousier (*Arbutus unedo* L., Ericaceae) a été récemment rapporté pour les domaines industriels, pharmaceutiques et chimiques. En effet, certaines recherches sur les fruits d'*Arbutus unedo* ont révélé la présence d'un certain nombre de composés dont de grandes quantités de glucides, de fibres alimentaires, de minéraux, de polyphénols et de flavonoïdes. De plus, le profil de métabolite secondaire des extraits d'*Arbutus unedo* comprend une matrice riche en polyphénols qui est responsable de plusieurs activités biologiques et attributs de santé, à savoir effets antiseptiques, diurétiques et laxatifs et également pour traiter les

pathologies cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle, l'athérosclérose et la thrombose.

Mots clés Arbousier (*Arbutus unedo* L.) · Activités biologiques · Métabolite secondaire · Polyphénols

Introduction

Medicinal plants have been used in the therapeutic field since ancient times [1]. These plants are a natural reservoir of secondary metabolites, which exert various biological activities within the plant and on other organisms [2]. *Arbutus unedo* L. is one of those plants. *Arbutus unedo* L., the strawberry tree (family Ericaceae), is one of the most common fleshy fruited species in the Mediterranean basin [3,4]. *Arbutus unedo* L. is a plant characterized by evergreen leaves with small globular tuberous fruits and long stems (Fig. 1a). It ripens in the fall with a color changing from yellow and scarlet to a deep crimson color ranging from crimson when ripe [5] (Fig. 1b). The strawberry tree reaches 5–10 m tall, rarely up to 15 m, with a trunk diameter up to 80 cm. The leaves are dark green and shiny, 5–10 cm long and 2–3 cm broad, with a serrated margin. The fruit is a red berry, 1–2 cm in diameter, with a rough surface. It ripens in the fall at the same time as the next flowering. The fruit is sweet when it is reddish, so it is edible [3,6,7].

Arbutus unedo L. naturally is located in a wide geography, including Algeria, Morocco, Tunisia, Turkey, Lebanon, Palestine, Syria, Cyprus, Ireland, Ukraine, Albania, Bulgaria, Croatia, Greece, Italy, France, Portugal, Spain, Canada, and the United States [9] (Fig. 2).

Plant systematic

The genus *Arbutus* belongs to the Ericaceae, a family of small trees or shrubs. The name “unedo” is explained by Pliny the Elder as being derived from *unum edo* (“I eat one”), which could be related to the alcohol content of the

F. Lehfa · F. Sahnouni (✉)
Laboratory Research on Biological Systems and Geomatics,
Faculty of Natural Sciences and Life,
University of Mustapha Stambouli, Mascara 29000, Algeria
e-mail : fatiha.lehfa@univ-mascara.dz

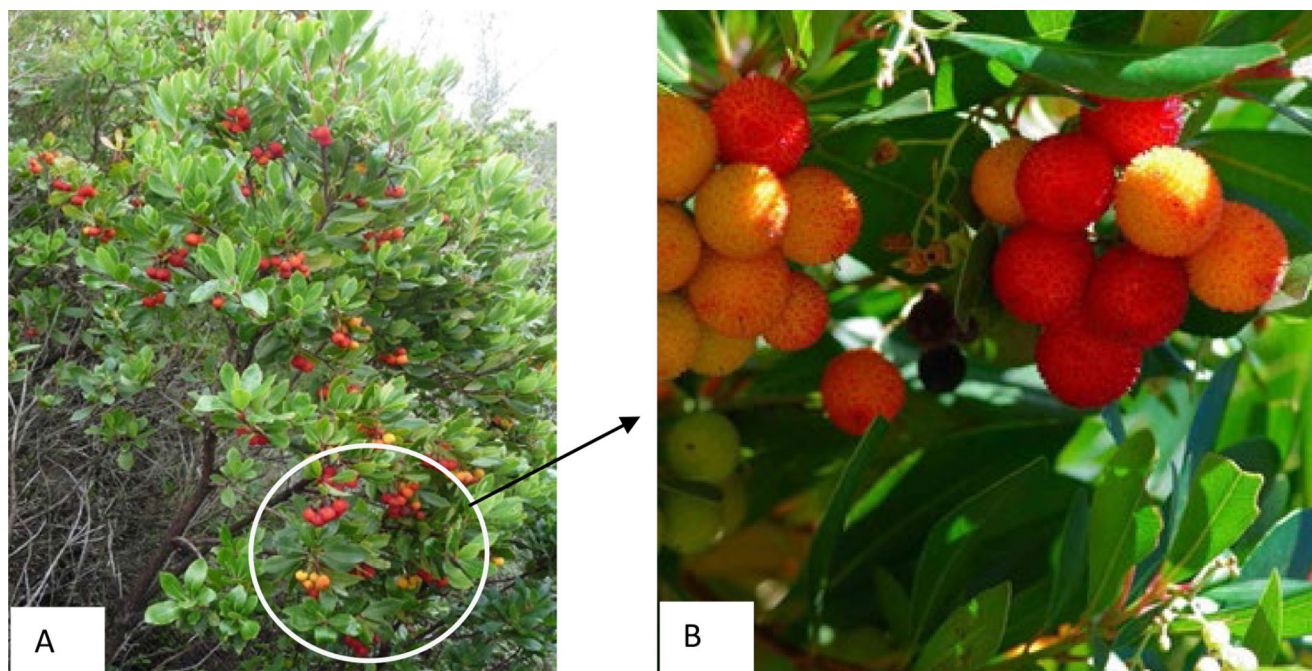


Fig. 1 *Arbutus unedo* tree (a), Ripe and unripe fruits (b) [8]



Fig. 2 Center of origin and distribution of the strawberry tree in the world [10]

overripe fruit. In some countries, fruit is used to produce alcoholic drinks [7,10] (Table 1).

Functional chemical components

Fresh fruits constitute an important dietary source of such natural antioxidants as vitamins, fiber, and certain minor compounds often known as phytochemicals (including phenolic compounds) [11,12]. Therefore, the consumption of fresh *Arbutus unedo* fruit is a good source of antioxidants (flavonoids, anthocyanins, ellagic acid, and its derivative diglucoside) as well as vitamins C and E and carotenoids, and also ripe fruits have a high content of phenolic acids, terpenoid compounds, mineral elements, and tannin [13].

Phenols

Strawberry fruit contains several components belonging to various phenolic groups, such as phenolic acids, flavonols, flavan-3-ols, galloyl derivatives and anthocyanins. And among the acids, gallic acid was the main phenolic compound in the fruit *Arbutus unedo* [14]. On the other hand, the polar extract of *Arbutus unedo* leaves presents higher polyphenols and flavonoid levels of 179.6 ± 6.7 (mg GAE/g DW) and 21.4 ± 0.01 (mg QE/g DW), respectively [15] (Fig. 3).

Fatty Acid

The fatty acid levels of the fruits of the *Arbutus unedo* L. plant were determined as polyunsaturated fatty acids (PUFA) at 50.13%, monounsaturated fatty acids (MUFA) at 19.21%, unsaturated fatty acids (USFA) at 69.34%, and saturated fatty acids (SFA) at 29.56% [17].

Sugar

These fruits also present high amounts of sugars, ranging from 42% to 52% of dry [18] either monosaccharides (fructose and glucose), disaccharides (sucrose), or polysaccharides (cellulose and starch). The amount of saccharides present in fruits varies according to ripeness stages, with sucrose being the major saccharide in unripe fruit (208.0 ± 2.0 g/kg of dry weight) and fructose being the most abundant in ripe fruits (87.7 ± 0.6 g/kg of dry weight) [19].

Vitamins and Minerals

Fruits of the strawberry tree appear to be a good source of vitamins, namely niacin, ascorbic acid [20,21], and vitamin E. Among the vitamin E vitamers, the most important was γ -tocotrienol. The total free vitamin E content was reduced with ripening: from 1,369 mg/kg in unripe fruits to 557 mg/kg in ripe ones [22]. Minerals are also present in

Kingdom	Plantae
Phylum	Magnoliophyta or Spermatophytes
	Angiosperms
Subphylum	Angiospermae
Class	Magnoliopsida or Dicotyledonous
Subclass	Gamopétales
Order	Ericales
Family	Ericaceae
Genus	<i>Arbutus</i>
Species	<i>Arbutus unedo</i>
International Common Names	French: Arbousier
	Arabic: Lenj, sessnou
	English: Strawberry Tree

strawberry-tree fruits. Potassium, calcium, and phosphorus are the major minerals present in fruits [8]. Mature strawberry fruits are a good resource of minerals [4].

Biological Activities

The chemical composition of fruits and leaves of this species has been medicinally used in the Mediterranean for its anti-septic, diuretic, and laxative effects, and also to treat cardiovascular pathologies such as arterial hypertension, atherosclerosis, and thrombosis [23,24].

Antioxidants and reactive oxygen species (ROS) effects

Oxidative stress is today's problem because it is responsible for several diseases. It can be identified as an imbalance between the equilibrium of prooxidants and antioxidants [25]. To protect against these harmful species, we use synthetic or natural antioxidant molecules which can scavenge ROS [26] and up-regulate endogenous antioxidant defenses and are also capable of neutralizing chemically active products of metabolism, such as free radicals, which damage the body [27,28]. More recently, the antioxidant activity of fruit

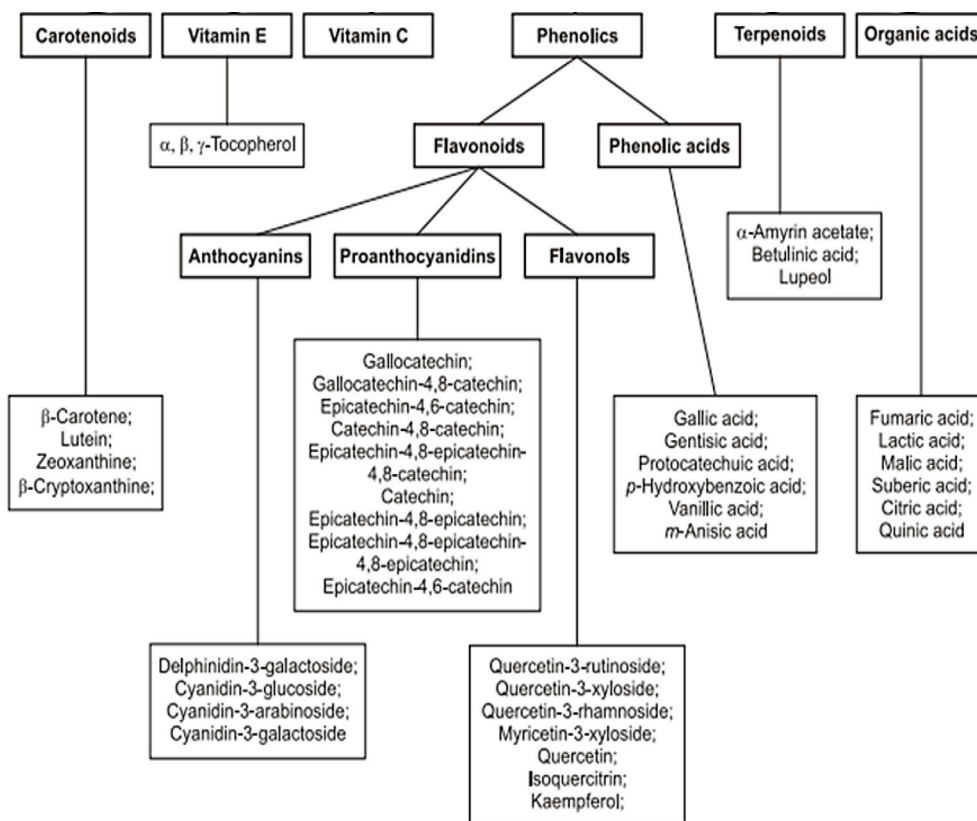


Fig. 3 The phenolic compounds of *Arbutus unedo* L. [16]

extracts has also been used in the meat industry to preserve quality and prevent the oxidation of lipids and proteins [14]. On the other hand, Noureddine et al. confirms that the macerated extracts have significant antioxidant activity [29]. In addition, the efficacy of extract from the leaves of *Arbutus unedo* in the neutralization of free radicals has been demonstrated by Kachkoul and his collaborators. Their results showed that the extracts effectively inhibited the DPPH radical and had a high reducing power of the Fe^{3+} /ferricyanide complex. These properties may be due to the high levels of phenolic compounds quantified and identified in extracts from leaves of *Arbutus unedo* plants, suggesting that the plant may be useful as a preventive and/or therapeutic agent for diseases related to oxidative stress [6]. Furthermore, several authors have underlined the presence, in the fruit, of bioactive compounds as antioxidants, namely phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids, and polyphenols but also fibers and important fatty acids [30]. New data suggest that extracts from the roots of *Arbutus unedo* have significant antioxidant activity, which could have potential therapeutic use against pathologies linked to oxidative stress.

Anti-inflammatory effect

Inflammation is the reaction of living tissue to injury, infection, or irritation [31]. Lysosomal enzymes released during inflammation produce a variety of disorders that lead to tissue damage by damaging macromolecules and lipid peroxidation of membranes which are believed to be responsible for certain pathologies such as heart attacks, septic shock, rheumatoid arthritis, etc. [32]. Inflammation is classified as acute or chronic. Acute inflammation is the body's initial response to harmful stimuli, characterized by the infiltration of white blood cells, e.g., granulocytes, swelling, and redness. On the other hand, chronic inflammation is prolonged inflammation characterized by the destruction and healing of tissues from the inflammatory process [33]. The results found by Moualek et al. [10] show that the aqueous extract of leaves of *Arbutus unedo* has good antioxidant activity and interesting anti-inflammatory properties. So, the aqueous extract of *Arbutus unedo* can be used to prevent oxidative and inflammatory processes. In addition, Mariotto et al. [34] demonstrated that the inflammatory response induced by the injection of carrageenan into the pleural cavity of mice is significantly attenuated by treatment with *Arbutus unedo* extract (AuE). Although the exact mode of action of AuE remains to be elucidated, the mechanisms of the anti-inflammatory effect of AuE appear to be correlated with the reduction in IL-6 production, the formation of other pro-inflammatory cytokines such as TNF- and IL-1 and increased recruitment of neutrophils, which may ultimately

lead to decreased tissue damage. Also, Fruit extracts present high anti-inflammatory activity and moderate toxicity compared with the leaf extracts [35].

Anti-diabetic Effects

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases caused by overeating and lack of physical activity. It is characterized by chronic hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both [36]. Type 1 diabetes mellitus occurs when the body fails to produce insulin. People with type I diabetes are insulin-dependent, they must take artificial insulin daily to stay alive, whereas, in type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin-stimulated glucose uptake in the liver and fatty tissue gets reduced due to insulin resistance. In contrast, β -cells that initially produce insulin in sufficient amounts end up producing insufficient amounts, leading to the onset and progression of diabetes [37,38]. Concetta et al. [35] studied the hypoglycemic activity by inhibition tests of α -amylase and α -glucosidase. They found that fruit extracts also exhibit high anti-inflammatory activity and moderate toxicity compared to leaf extracts. In 2017, Naceiri Mrabti et al. demonstrated that the aqueous extract of the roots of *Arbutus unedo* has significant in vitro and in vivo antidiabetic effects and improves metabolic alterations [39]. In addition, the inhibitory activity of α -glucosidase has been confirmed by the traditional use of the roots of *Arbutus unedo* as an antidiabetic agent [40]. The aqueous extract of the root bark of *Arbutus unedo* L. has a direct inhibitory effect on the electrogenic intestinal absorption of glucose in vitro. Moreover, the aqueous extract roots of *Arbutus unedo* L. have good anti-hyperglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic rats, and this effect might be at least due to the presence of active components [41]. Therefore, the results of these studies add scientific support to the ethnopharmacological relevance of the use of the root of *Arbutus unedo* L. to treat diabetes.

Antimicrobial effect

Globally, food spoilage caused by microorganisms still affects all types of food everywhere and causes food waste and loss [42]. Prevention of food spoilage and food poisoning pathogens is usually achieved through the use of chemical preservatives which have negative impacts [43]. Antimicrobial agents are essentially important in reducing the global burden of infectious diseases [44]. Due to these concerns, the need to find potentially effective, healthy, safe, and natural alternative preservatives is heightened. In this context, the preliminary analyzes of the antimicrobial potential found by Malheiroa et al. have shown that extracts from

the leaves of *Arbutus unedo* exhibit antibacterial activity, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 1 and 5 mg/mL for some gram-positive and gram-negative bacteria, respectively [45]. Also, the ethanolic extract of the fruits of *Arbutus unedo* showed strong antimicrobial activity against certain bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and moderate activity against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, and *Candida albicans* [46]. On the other hand, Arbutus honey (*Arbutus unedo* L.) from southern Europe determined biological activities such as anti-inflammatory and antimicrobial activity against seven (7) microorganisms (*Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, and *Penicillium commune*) [47]. In addition, Bouyahya et al. confirm that *Arbutus unedo* extracts exhibited antibacterial activity at different levels against certain strains as causative agents of foodborne illness [48].

Author effects

Kachkoul et al. demonstrate that *Arbutus unedo* has been valued in the treatment of lithiasis and the prevention of calcium oxalate crystals formation [6]. In addition, other studies show that chronic treatment with strawberry extract regresses the development of hypertension and improves cardiovascular and renal functions thanks to the richness of this plant in polyphenols [24]. Moreover, the Strawberry tree (*Arbutus unedo*) honey can induce cell death and increase intracellular ROS generation in colon cancer cells [49] (Table 2).

Table 2 Traditional medicinal uses of different parts of <i>Arbutus unedo</i> plant [16]	
Part used	Medicinal use
Leaves	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardiovascular application, kidney diseases, hypertension, cardiac diseases, diabetes, anti-hemorrhoidal, diuretic, anti-inflammatory, anti-diarrheal
Fruits	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, kidney diseases, cardiovascular application
Bark	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardiovascular application
Roots	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardio-vascular application, hypertension, cardiac diseases, diabetes, diuretic, anti-inflammatory, anti-diarrheal

Conclusion

At the end of this study, we will conclude that *Arbutus unedo* has an important therapeutic interest linked to the chemical composition of this plant such as polyphenols, flavonoids, fatty acids, fibers, and some minerals.

Conflicts of interests : the authors have no conflicts of interests to declare.

References

- Chandra S, Lata H, Varma A (2013) Biotechnology for medicinal plants, micropropagation and improvement. Library of Congress Control Number: 2012942923, Forwood, VII
- Manziona MG, Martorell M, Sharopov F, et al (2020) Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside. *Eur J Pharmacol* 883:173344
- Molina M, Pardo-de-Santayana M, Aceituno L, et al (2011) Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. *Forestry* 84:419–29
- Özcan MM, Haciseferoğulları H (2007) The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *J Food Eng* 78:1022–28
- Sulusoglu M, Cavusoglu A, Erkal S (2011) *Arbutus unedo* L. (Strawberry tree) selection in Turkey Samanlı mountain locations. *J Med Plants Res* 5:3545–51
- Kachkoul R, Squalli HT, Mohim M, et al (2019) Chemical compounds as well as antioxidant and litholytic activities of *Arbutus unedo* L. leaves against calcium oxalate stones. *J Integr Med* 17:430–37
- Delgado-Pelayo R, Gallardo-Guerrero L, Hornero Méndez D (2016) Carotenoid composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Food Chem* 199:165–75
- Morgado S, Morgado M, Plácido AI, et al (2018) *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. *J Ethnopharmacol* 225:90–102
- Fazenda P, Pereira R, Fonseca M, et al (2019) Identification and validation of microsatellite markers in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.). *Turk J Agric Forestry* 43:430–36
- Moualek I, Mouloua A, Iratni AG, et al (2017) In vitro activity of *Arbutus unedo* aqueous extract against *Leishmania infantum* Promastigote. Doctoral thesis, Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. *Annu Res Rev Biol* 12:1–5
- Mosele JI, Macià A, Romero MP, et al (2016) Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under in vitro digestion and colonic fermentation. *Food Chem* 201:120–30
- Albuquerque BR, Prieto MA, Vazquez JA, et al (2018) Recovery of bioactive compounds from *Arbutus unedo* L. fruits: Comparative optimization study of maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Food Res Int* 109:455–71
- Gomes MFFN (2011) Strategies for the improvement of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree): in vitro propagation, mycorrhization and diversity analysis. Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, p. 9
- Miguel MG, Faleiro ML, Guerreiro AC, et al (2014) *Arbutus unedo* L.: Chemical and biological properties. *Molecules* 19:15799–823

15. Guendouze-Bouchéfa N, Madani KR, Chibane M, et al (2015) Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of three Ericaceae from Algeria. *Ind Crops Prod* 70:459–66
16. Oliveira I, Baptista P, Bento A, et al (2011) *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *J Food Nutr Res* 50:73–85
17. Umaz K, Umaz A (2019) Determination of fatty acid composition of *Arbutus unedo* L. fruit (Turkey). *Spec 5th International Conference on Engineering & Natural Sciences*, pp. 20–22
18. Oliveira I, Guedes de Pinho P, Malheiro R, et al (2011) Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. *Food Chem* 128:667–73
19. Morgadoa S, Morgadoa M, Plácido AI, et al (2018) *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. *J Ethnopharmacol* 225:90–102
20. Alarcão-E-Silva MLCMM, Leitão AEB, Azinheira HG, et al (2001) The *Arbutus Berry*: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *J Food Compos Anal* 14:27–35
21. Ruiz RBM, Sanchez MC, Ancos B, et al (2014) Wild *Arbutus unedo* L. and *Rubus ulmifolius* Schott fruits are underutilized sources of valuable bioactive compounds with antioxidant capacity. *Fruits* 69:435–48
22. Oliveira I, Baptista P, Malheiro R, et al (2011) Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Res Int* 44:1401–407
23. Ruiz-Rodríguez BM, Morales P, Fernández-Ruiz V, et al (2011) Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Res Int* 44:1244–53
24. Afkir S, Nguелеfack TB, Aziz M, et al (2008) *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 116:288–95
25. Altaany Z, Alkaraki A, Abu-siniyeh A, et al (2019) Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulphurous springs residents. *Heliyon* 5:e02885
26. Sebai H, Souli A, Chehimi L, et al (2013) In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J Med Plants Res* 7:85–90
27. Costantini D (2019) Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol* 222:jeb194688
28. Lachkar N, Al-Sobarry M, El Hajaji H, et al (2016) Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res* 8:202–10
29. Noureddine A, Gherib A, Bakchiche B, et al (2019) Chemical composition, antioxidant activity and mineral content of *Arbutus unedo* (leaves and fruits). *J Microbiol Biotech Food Sci* 8:1335–39
30. Alexandre AMRC, Serra T, Matias AA, et al (2020) Supercritical fluid extraction of *Arbutus unedo* distillate residues — Impact of process conditions on antiproliferative response of extracts. *J CO₂ Util* 37:29–38
31. Tran TH, Le Huyen T, Tran TM, et al (2017) Investigation of anti-inflammatory lignans from the leaves of *Symplocos sumuntia* Buch-Ham ex D Don (Symplocaceae). *Trop J Pharm Res* 9:2191–96
32. Kaur S, Syed Ali M, Anuradha V, et al (2018) In vitro anti-inflammatory activity of mangrove plant *Rhizophora mucronata* Lam. (Malpighiales: Rhizophoraceae). *Braz J Biol Sci* 5:417–26
33. Jimmy EO, Okon NS (2018) *Moringa oleifera* leaves extract has same anti-inflammatory potentials as nonsteroidal anti-inflammatory drugs (ibuprofen). *Int J Herb Med* 6:40–42
34. Mariotto S, Esposito E, Di Paola R, et al (2008) Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice. *Pharmacol Res* 57:110–24
35. Concetta TM, Deguin B, Loizzo MR, et al (2020) Contribution of flavonoids and iridoids to the hypoglycaemic, antioxidant, and nitric oxide (NO) inhibitory activities of *Arbutus unedo* L. *Antioxidants* 9:184
36. Kharroubi AT, Darwish HM (2015) Diabetes mellitus: the epidemic of the century. *World J Diabetes* 6:850–67
37. Donath MY (2014) Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nat Rev Drug Discov* 13:465–76
38. Asiful IM, Alam F, Solayman M, et al (2016) Dietary phytochemicals: natural swords combating inflammation and oxidation-mediated degenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016: 5137431
39. Naceiri Mrabti H, Sayah K, Jaradat N, et al (2018) Antidiabetic and protective effects of the aqueous extract of *Arbutus unedo* L. in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *J Complement Integr Med* (<https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0165>)
40. Naceiri Mrabti H, Jaradat N, Fichtali I, et al (2018) Separation, identification, and antidiabetic activity of catechin isolated from *Arbutus unedo* L. plant roots. *Plants* 7:31
41. Medjdoub H, Selles C, Tabti B (2014) Preliminary phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. and antihyperglycemic effect of the root aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *J Chem Pharm Res* 6:195–99
42. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, et al (2018) Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Front Microbiol* 9:1639
43. Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, et al (2018) Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi J Biol Sci* 25:361–66
44. Manandhar S, Luitel S, Kumar Dahal R (2019) In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J Trop Med* 2019:1895340
45. Malheiro R, Sá O, Pereira E, et al (2012) *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties. *Ind Crops Prod* 37:473–78
46. Ben Salem I, Ouesleti S, Mabrouk Y, et al (2018) Exploring the nutraceutical potential and biological activities of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits. *Ind Crops Prod* 122:726–31
47. Osés SM, Nieto S, Rodrigo S, et al (2020) Authentication of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honeys from southern Europe based on compositional parameters and biological activities. *Food Biosci* 38:100768
48. Bouyahya A, El Moussaoui N, Abrini J, et al (2016) Determination of phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf extracts. *Br Biotechnol J* 14:1–10
49. Afrin S, Forbes-Hernandez TY, Gasparini M, et al (2017) Strawberry-tree honey induces growth inhibition of human colon cancer cells and increases ROS generation: a comparison with Manuka honey. *Int J Mol Sci* 18:613

III.3. Les polyphénols

L'intérêt des composés phénoliques alimentaires s'est accru en raison de leurs propriétés antioxydantes et de piégeage des radicaux libres, de leurs activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anti-prolifération et de la modulation de la transduction des signaux (Ahmed et *al.*, 2015 ; Velderrain-Rodríguez et *al.*, 2014). Les principaux groupes de polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Oliveira et *al.*, 2011).

III.3.1. Principales classes de polyphénols

Les composés phénoliques présentent une grande diversité de structure et sont divisés en plusieurs classes (figure 14) :

- **Les acides phénoliques** : On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Ces composés sont constitués d'un cycle benzène lié à un groupement carboxyle (acides benzoïques) ou à un acide propénoïque (acides cinnamiques).
 - Les acides hydroxybenzoïques comprennent les acides : gallique, p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanilique et syringique. Les acides hydroxybenzoïques sont à la base de structures complexes présents dans les mangues, et les fruits rouges comme les fraises, les framboises ou encore les mûres (Manach et *al.*, 2014).
 - Les acides hydroxycinnamiques, les plus importants sont les acides : caféique, férulique, p-coumarique et sinapique (Abramovič, 2015). Les acides hydroxycinnamiques sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement composés d'acide p-coumarique, férulique, sinapique et caféique. Ce dernier, se combine avec l'acide quinine pour former l'acide chlorogénique, que l'on retrouve dans de nombreux fruits et à forte concentration dans le café (El Gharras, 2009).
- **Les flavonoïdes** : sont des pigments végétaux très abondants dans la nature. Les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs sous-groupes qui sont principalement indiqués soit par : hydroxylation, Ométhylation, C-méthylation, isoprénylation, ou substitution de méthylènedioxy (Oroian et Escriche, 2015), les sous-classes les plus représentatives des flavonoïdes sont : flavones, flavanones, flavonols, flavanols

(également appelés flavan-3-ols ou catéchines), anthocyanidines et isoflavones (Ziberna et *al.*, 2014).

- **Les flavonols** : Ce sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempférol et la quercétine, que l'on trouve dans les oignons, les brocolis, les poireaux et les myrtilles (Manach et *al.*, 2014).
 - **Les flavones** : cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Les flavones se composent principalement de lutéoline glycosylée et d'apigénine (Manach et *al.*, 2014).
 - **Les flavanones** : sont présents dans les tomates et la menthe, et sont également présents en quantités significatives dans les citrons. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'hespéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron (El Gharras, 2009).
 - **Les isoflavones** : les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation. On les rencontre également dans les légumineuses (El Gharras, 2009).
 - **Flavanols** : ils existent soit sous forme de monomères (l'unité la plus simple est la catéchine), soit sous forme de polymères connus sous le nom de proanthocyanidines. Les catéchines sont présentes dans de nombreux fruits comme les pommes, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé (El Gharras, 2009).
 - **Les anthocyanes** : on retrouve ces pigments naturels dans les plantes vasculaires. Ils ont l'aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux ce qui leur confère des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin) (Castaneda-Ovando et *al.*, 2009).
- **Les tanins** : Les tanins sont produits par les plantes comme des métabolites secondaires. Selon leur structure, les tanins peuvent être divisés en deux classes de macromolécules, les tanins hydrolysables (THs) et les tanins condensés (TCs) (Saric et *al.*, 2015). Les tanins hydrolysables ont une masse moléculaire comprise entre 500 et 5000 Da. Outre leur caractère astringent (ils réduisent les sécrétions et resserrent les tissus), ils ont une très forte activité antioxydante. Les tanins condensés sont des polymères de haut poids moléculaire dont le poids moléculaire peut atteindre 30 000 Da (Arapitsas, 2012).

- **Les stilbènes** : Ces composés se trouvent en très petites quantités dans notre alimentation. Le plus courant d'entre eux est le resvératrol, qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses, comme le démontrent les activités biologiques des plantes médicinales (El Gharras, 2009).
- **Les lignanes** : sont formés de deux unités de phénylpropane. On les trouve en grande quantité dans les graines de lin, mais les céréales, les fruits et certains légumes en contiennent également des traces (Adlercreutz et Mazur, 1997).

III.3.2. Propriétés fondamentales des polyphénols

Au cours des dernières années, de nombreuses études ont démontré les avantages des polyphénols pour la santé, ils sont largement utilisés dans les domaines thérapeutiques et pharmaceutiques (Quiñones et *al.*, 2013). Parmi les nombreux intérêts qu'offrent les polyphénols à la santé, nous pouvons citer les suivants :

- **Activité antioxydante** : Les composés phénoliques en tant qu'antioxydants, un antioxydant est défini comme toute substance capable de retarder ou d'empêcher l'oxydation des substances biologiques. En outre, l'effet protecteur global des polyphénols est principalement dû à leur large éventail d'actions biologiques, telles que la capacité de piéger les radicaux libres, de chélater les métaux et d'activer d'autres antioxydants présents dans l'organisme (Jayasena et *al.*, 2013 ; Rodrigo et *al.*, 2011). Cette même activité antioxydante permet aux polyphénols de réguler les bons-mauvais radicaux (qui peuvent être les deux), comme l'oxyde nitrique, qui favorise une circulation sanguine saine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules cérébrales (Kenny et *al.*, 2007). Les polyphénols peuvent stimuler les enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, la catalase et la superoxyde dismutase, et inhiber l'expression des enzymes impliquées dans la production de radicaux libres telles que la xanthine oxydase (Alvarez-Suarez et *al.*, 2011).

L'activité antioxydante des composés phénoliques dépend du nombre et de la position des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique, de la position des liaisons, de la position des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique et du type de substituant, ainsi que de la glycosylation des molécules de flavonoïdes. Cet effet antioxydant prévient les dommages oxydatifs causés aux composants cellulaires importants et conduit à des recherches sur les polyphénols en tant que vasodilatateurs, antithrombotiques, anti-

inflammatoires, anti-apoptotiques, hypolipidémiques ou anti-athérogènes (Jayasena et *al.*, 2013).

- **Activité anti-inflammatoire** : Le stress oxydatif provoque une augmentation des activités d'enzymes telles que la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (LPO), qui sont impliquées dans la libération de facteurs tels que les interleukines et les chimiokines (Quiñones et *al.*, 2013). Les polyphénols expriment une activité anti-inflammatoire en modulant l'expression de ces gènes pro-inflammatoires (COX, LPO, NO synthases et plusieurs cytokines) (Capiralla et *al.*, 2012).
- **Activité anticancéreuse** : Les polyphénols ont le potentiel d'arrêter la progression du cancer en modulant la prolifération et en stimulant la mort cellulaire, soit par un effet toxique direct, soit en modulant l'expression de divers facteurs pro-apoptotiques (Rodrigo et *al.*, 2011 ; Capiralla et *al.*, 2012). Les flavanones peuvent être efficaces contre la cancérogenèse en minimisant les dommages à l'ADN, le développement des tumeurs et la prolifération cellulaire (Khan et *al.*, 2014). En outre, d'autres flavonoïdes, comme la quercétine, ont des effets anticancéreux par l'inhibition de la prolifération cellulaire et l'induction de l'apoptose (Cardona et *al.*, 2013).

Les enzymes de phase I et II agissent également dans la muqueuse intestinale. Elles sont synthétisées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates) (Ames et *al.*, 1995).

- **Activité antidiabétique** : Les polyphénols peuvent également exercer des effets antidiabétiques importants en améliorant l'absorption du glucose dans les muscles et les adipocytes (Anhê et *al.*, 2013). Par exemple, la catéchine, qui a un effet hypoglycémiant dû à une inhibition de la α -glucosidase, la α -amylase et la sucrase (Rodrigo et *al.*, 2011). Les polyphénols peuvent également protéger les cellules β pancréatiques de la glucotoxicité et peuvent améliorer la sécrétion d'insuline, minimisant ainsi le DT2 (Anhê et *al.*, 2013).
- **La protection cardiovasculaire** : Les polyphénols jouent un rôle dans la protection du système cardio-vasculaire, grâce à la réduction du stress oxydatif et de l'inflammation qui sont impliqués dans les maladies cardiovasculaires. Les polyphénols inhibent aussi l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose, qui induit l'occlusion des artères. Ainsi en prévenant l'athérosclérose et les risques de thrombose, ces composés limitent les risques d'infarctus du myocarde (Rodrigo et *al.*, 2011 ; Rein et *al.*, 2000). La naringine a un effet anti-athérosclérose en cas d'hypercholestérolémie,

ce qui peut conduire à la préservation de la paroi vasculaire. Les polyphénols sont également capables de fixer le LDL et d'augmenter les taux des lipoprotéines de haute densité (HDL) (Scoditti *et al.*, 2014).

- **Action gastro-protectrice des polyphénols** : Les polyphénols ; dont principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide cafféique, l'acide gallique et l'acide é gallique ; sont capables de réduire la surface des lésions gastriques. L'acutissimine B et phillyraeoïdine A (Ils sont des tannins complexes) ont aussi confirmé l'action gastroprotectrice attribuée aux polyphénols. De même, ces derniers montrent une activité antibactérienne très importante contre *Helicobacter pylori*, responsable de l'ulcère de l'estomac et du duodénum (Funatogawa *et al.*, 2004).
- **Activité antimicrobienne** : L'activité antimicrobienne des composés phénoliques dans les plantes et les herbes médicinales est largement étudiée contre un large éventail de micro-organismes. Parmi les polyphénols, les flavan-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu le plus d'attention en raison de leur large spectre et de leur activité antimicrobienne élevée par rapport aux autres polyphénols et du fait que la plupart d'entre eux sont capables de supprimer le facteur de virulence d'un certain nombre de microbes, comme l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes, et présentent une synergie avec les antibiotiques (Daglia, 2012). Les propriétés antimicrobiennes de certains types de polyphénols ont été proposées pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires et éviter les conservateurs synthétiques ou pour développer des thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes, étant donné l'augmentation de la résistance microbienne contre l'antibiothérapie conventionnelle (Daglia, 2012).
- **D'autres effets biologiques des polyphénols** : Les polyphénols alimentaires, peuvent aider à prévenir l'apparition de la maladie d'Alzheimer. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) ont été utilisés pour traiter la maladie d'Alzheimer. Actuellement, le seul traitement efficace de la maladie d'Alzheimer concerne le système cholinergique et fait appel à des composés anticholinestérasiques (Marcoux et Choi, 2002 ; Pasinetti *et al.*, 2015). Ils possèdent également des activités antifongiques et antivirales très puissantes (Ruggiero *et al.*, 2006), ainsi qu'un effet contre le vieillissement (Xia *et al.*, 2010) et certains effets sur les lésions gastriques et hépatiques,

la protection de l'intestin et la stabilité des cellules rouges sanguines (Quiñones et al., 2013).

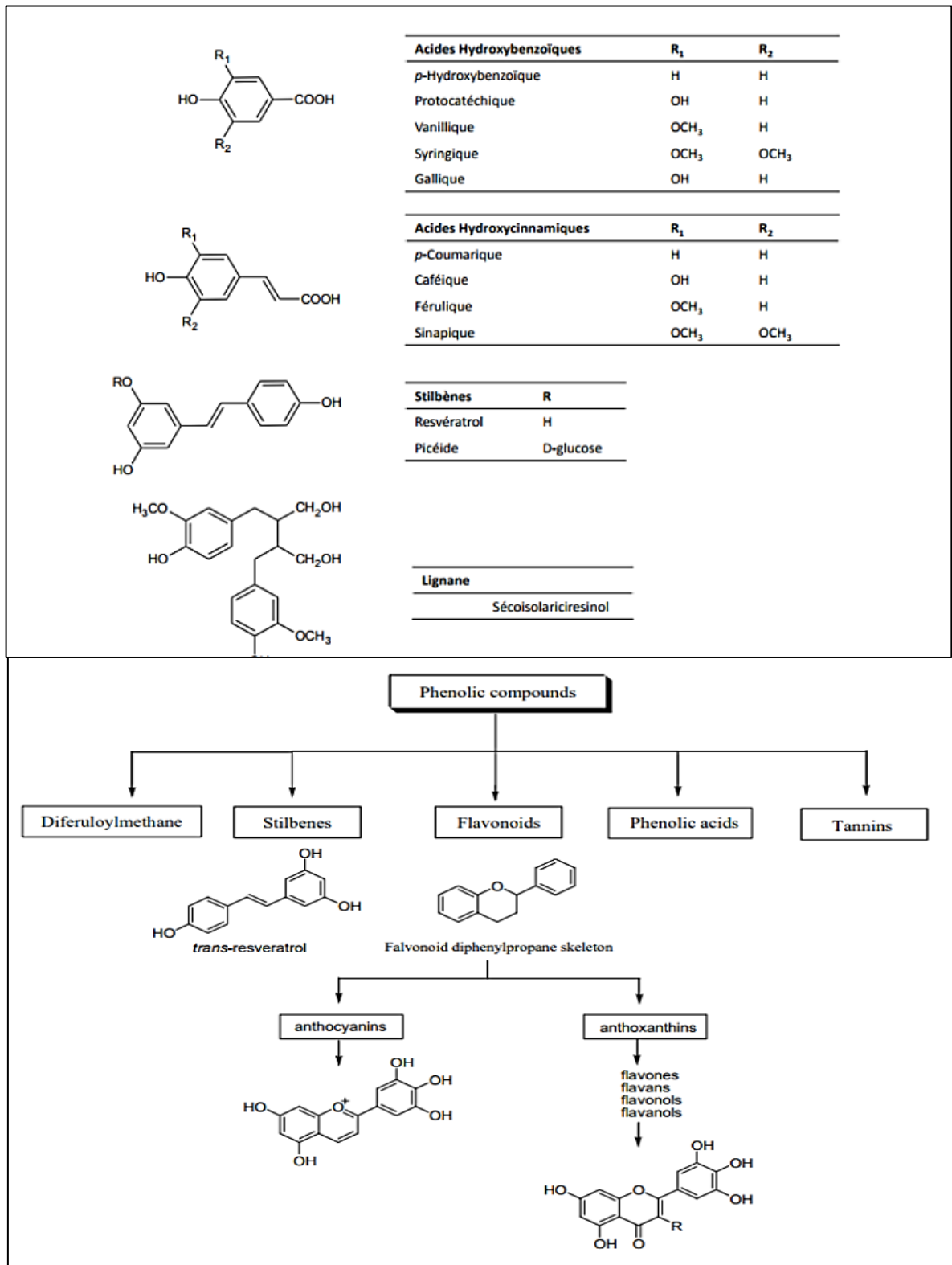


Figure 13. Classification des polyphénols (en haut) et structures des composés phénoliques non flavonoïques (en bas) (El Gharras, 2009).

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

I. Objectifs du travail

Cette étude est menée dans le cadre d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo*, ainsi que l'activité antioxydante de certains extraits polyphénoliques de *Ceratonia siliqua* (Caroubier) et *Arbutus unedo* (Arbousier). Pour se faire, plusieurs étapes ont été suivies :

- Préparer des différents extraits polyphénoliques des parties spécifiques de *C. siliqua* et *A. unedo* ;
- Caractériser dans les extraits polyphénoliques, les principaux groupes et composants chimiques ;
- Détermination de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* des extraits précédents par différentes méthodes ;
- Evaluation de la toxicité aigüe des extraits des plantes étudiées ;
- Tester *in vivo*, l'effet anti-inflammatoire des extraits polyphénoliques (voir leurs effets sur l'activité antiulcéreuse).

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Plantes

Le choix des deux plantes utilisées dans ce travail a été basé, non seulement sur une enquête pharmaco-traditionnelle auprès d'une population familiarisée avec leur usage traditionnel, mais aussi sur un choix spécifique de valorisation de plantes ne disposant pas d'études complémentaires, dans le but de contribuer à l'évaluation d'autres activités biologiques non élucidées sur ces plantes, notamment *in vivo*.

L'identification de nos deux plantes, *Ceratonia siliqua* et *Arbutus unedo*, a été soigneusement réalisée par un botaniste du département de biologie de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara (figure 14).



(A)



(B)

Figure 14. Les gousses de *Ceratonia siliqua* (A) et les fruits d'*Arbutus unedo* (B).

I.1.1.2. Présentation et situation de la zone de récolte

Dans notre étude, nous avons utilisé comme espèce le caroubier « *Ceratonia siliqua* » et l'arbousier « *Arbutus unedo* ». Les deux plantes ont été récoltées de deux zones différentes en Algérie ; Wilaya de Mascara pour *Ceratonia siliqua* (en Juillet) et wilaya de TiziOuzou pour *Arbutus unedo* (en Novembre). Les lieux de récolte ont été déterminés par le logiciel de Google Earth (figure 15).



Figure 15. Carte géographique représentant les sites de récolte.

Les situations géographiques ainsi les étages bioclimatiques des différentes zones de récolte sont représentés dans le tableau 6.

Tableau 06 : Lieu de récolte des plantes et caractéristiques géographiques et bioclimatiques des stations d'étude.

Espèce	Zone	Coordonnées géographiques	Altitude	Etage climatique
<i>Ceratonia siliqua</i>	Mascara	Latitude : 35.4799, Longitude : 0.244875 35° 28' 48" Nord, 0° 14' 42" Est	804 m	Climat semi-aride sec et froid.
<i>Arbutus unedo</i>	Tiziouzou	Latitude : 36.7167 Longitude : 4.05 36° 43' 0" Nord 4° 3' 0" Est	229 m	Climat méditerranéen avec été chaud

I.1.2. Animaux d'expérimentation

L'étude a été réalisée sur des rats mâles et femelles de type « Wistar » (provenant de l'institut Pasteur, d'Alger, Algérie), élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie de Université de Mascara, de poids corporel moyen de 223.34 ± 5.42 g (mâles) et 221.55 ± 3.45 g (femelles). Les animaux sont traités conformément aux conseils relatifs à la protection et l'utilisation des animaux de laboratoire (Council of European Communities, 1986). Les animaux sont logés dans des cages individuelle en conditions contrôlées de température (25°C), un taux d'humidité entre 60% et 70% et soumis à un rythme nyctéméral de 12 heures. Les animaux ont eu accès libre à l'eau et à la nourriture.

I.2. Méthodes de travail

I.2.1. Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées

I.2.1.1. Détermination de la teneur en eau

La méthode utilisée est la dessiccation par évaporation (Audigie et *al.*, 1978). Pour déterminer la teneur en eau, nous avons réalisé une dessiccation de la matière fraîche à la température de 103 ± 2 °C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à une mesure pratiquement constante (Audigie et *al.*, 1978).

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation lorsque leur poids soit constant.

$$\text{H}_2\text{O}\% = ((M1 - M2) / P) \times 100$$

H₂O % : taux d'humidité ou teneur en eau.

M1 : masse en g de la capsule avec l'échantillon avant la déshydratation.

M2 : masse en g de la capsule avec l'échantillon après la déshydratation.

P : masse en g de la prise d'essai

I.2.1.2. Détermination de taux de cendres

Dans ce travail de thèse, nous avons opté vers la méthode la plus simple ; la minéralisation par calcination (Pinta, 1980 ; AOAC, 1984). Elle consiste à un passage au four à une température de 400 à 600 °C jusqu'à la destruction totale de toute particule carbonéuse. La détermination de la teneur en matière organique se fait par le calcul de la différence de poids selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en matière organique (MO\%)} = ((M_i - M_f) / P) \times 100$$

Où : MO : Teneur en matière organique ;

M_i : Masse initiale (avant calcination) ;

M_f : Masse finale (après calcination) ;

P : Masse de la prise d'essai ;

Le taux des cendres est calculé selon la relation suivante :

$$\text{Taux de cendres (C\%)} = 100 - \text{MO\%}$$

I.2.2. Extraction des composés phénoliques

I.2.2.1. Extraction par macération à l'eau

Pour réaliser l'extraction, nous avons suivi la méthode de Salem *et al.*, 2018 avec des modifications. Nous avons pesé 20 g d'échantillon ont été dissous dans 200 ml d'eau distillée. Il s'agit d'une macération à 10 %. Après 24 h de macération sous agitation à température ambiante. La solution obtenue a été filtrée sur papier filtre puis évaporée à 55 °C pour obtenir l'extrait, cette opération a été effectuée trois fois. L'extrait aqueux obtenu (E. Aq) a été conservé dans des flacons en verre, stériles et hermétiquement fermés à une température de 4 °C jusqu'à son utilisation (Salem *et al.*, 2018).

I.2.2.2. Extraction par macération au Méthanol (80%)

20 g d'échantillon a été introduits dans un erlenmeyer et macérés dans 200 ml dans le méthanol à 80 %, sous agitation magnétique, pendant 24 heures. Après filtration sur papier filtre, le filtrat a été concentré au rota-vapeur à la température de 45 °C. Nous avons répété cette opération trois fois successivement (Saeed et Farzaneh, 2010). L'extrait obtenu (E.H.Me) a été conservé à une température de 4 °C jusqu'à son utilisation.

I.2.2.3. Extraction par montage Soxhlet au Méthanol (100%)

La préparation de l'extrait consiste à introduire 25 g de l'échantillon dans la cartouche cellulosique ; celle-ci est insérée dans l'extracteur de l'ensemble Soxhlet (Figure 16), qui est complété par un réfrigérateur et 250 ml de méthanol dans le flacon de montage, après ébullition pendant 4 h à 65 °C. Par ailleurs, le méthanol est également évaporé par rota-vaporisation à 45 °C (Kachkoul *et al.*, 2019). L'extrait obtenu (E. MeOH) a été conservé à une température de 4 °C jusqu'à son utilisation.



Figure 16. Montage de Soxhlet.

I.2.3. Calcul des rendements d'extraction

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé par l'équation (Harborne, 1980) :

$$R (\%) = (Me / Mv) \times 100$$

Où : R (%) : Rendement en %,

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant,

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

I.2.4. Etude quantitative et qualitative de différents extraits obtenus

I.2.4.1. Les analyses qualitatives des extraits polyphénoliques

Screening phytochimique ou criblage phytochimique est une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques (tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, phénols, saponosides, anthocyanes, coumarines et composés réducteurs...) contenus dans un organe végétal. Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes colorés. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié et est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans une molécule (Trease et Evans, 1987).

Les analyses qualitatives de la teneur en substances phytochimiques ont été réalisées à l'aide des méthodes publiées suivantes, avec quelques modifications mineures (Singh et Kumar, 2017 ; Kumar *et al.*, 2020).

I.2.4.2. Les Analyses quantitatives des extraits polyphénoliques

Les méthodes colorimétriques, basées sur l'utilisation de spectrophotomètres UV-visible, ont été utilisées pour déterminer la quantité de composés phénoliques dans le matériel végétal.

➤ Détermination du contenu phénolique total (TPC)

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyyles présents dans l'extrait.

Brièvement, dans des tubes 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. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 200 µg/ml) (Singleton et Ross, 1965).

➤ Détermination de la teneur en flavonoïdes (FC)

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par Dewanto *et al.*, (2002) et Kumar *et al.*, (2018). L'essai est basé sur la formation d'un complexe de chlorure d'aluminium a été utilisé pour déterminer la teneur en flavonoïdes des extraits. La quercétine a été utilisée comme étalon et la teneur en flavonoïdes a été déterminée en tant qu'équivalent quercétine.

1000 µl des dilutions ultérieurement préparées de quercétine ont été ajoutés à 300 µl de nitrate de sodium à 4 % et laissé reposer pendant 5 minutes. Ensuite, 300 µl de solution de chlorure d'aluminium à 10 % ont été ajoutés et laissés au repos pendant 6 minutes, après 2000 µl de solution d'hydroxyde de sodium 1M ont été ajoutées séquentiellement et le volume a été complété à 10 ml. L'absorbance de ce mélange réactionnel a été mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV. La teneur en flavonoïdes a été calculée en équivalents de quercétine (mg QE/g). Toutes les analyse sont été effectuées en trois répétitions.

➤ Détermination des tanins condensés (TC)

Les tanins condensés des extraits ont été déterminés à l'aide du test à la vanilline décrit par Hayet *et al.*, (2020).

À 500 µl d'étalon (catéchine) ou d'extrait, 3000 µl de solution de vanilline/méthanol (4%) ont été ajoutés et mélangés. Ensuite, 1500 µl de HCl concentré ont été ajoutés et laissé réagir à température ambiante pendant 15 minutes. L'absorbance a été mesurée à 500 nm par rapport à un blanc. La concentration totale en tanins condensés a été exprimée en microgrammes d'équivalents catéchine par milligramme en référence à la courbe d'étalonnage de la catéchine (Julkunen-Titto, 1985).

I.2.4.3. Analyse chromatographique des extraits polyphénoliques (LC-MS/MS)

L'analyse chromatographique LC-MS/MS de nos différents extraits était réalisée au niveau de Laboratoire Alume, à l'université d'Igdir, Igdir, Turquie.

Les composés phénoliques ont été analysés quantitativement par LC-MS/MS sur un spectromètre de masse Agilent Technologies 1260 Infinity II, 6460 Triple Quad, utilisant une colonne Poroshell 120 SB-C18 (3,0 × 100 mm, 2,7 µm) (Erenler *et al.*, 2023).

L'analyse a commencé par la dissolution de 50 mg des extraits secs de *C. siliqua* et *Aunedo* dans 1 mL de méthanol dans des tubes Eppendorf de 2mL. Après avoir ajouté de l'hexane, le mélange a été centrifugé à 7000 rpm pendant 7 minutes.

Une quantité de 100 µL ont été prélevés de la couche de méthanol et dilués avec 450 µL d'eau et 450 µL de méthanol, puis analysées par l'appareil LC-MS/MS. L'injection a été réalisée avec un volume de 5,12 µL et un débit de 0,40 mL/min. L'analyse a utilisé une phase mobile composée de 0,1 % d'acide formique et de 5,0 mM de formiate d'ammonium dans de l'eau (A) et du méthanol (B), en suivant un protocole de gradient commençant par 25 % de B pendant les 1 à 3 premières minutes, augmentant à 50 % de B pendant les minutes 4 à 12, atteignant 90 % de B pendant les minutes 13 à 21, puis chutant à 3 % de B pendant les dernières minutes 22 à 25. La température de la colonne a été maintenue à 40°C, avec une tension capillaire de 4000 V, un débit d'azote de 11 L/min, et une température du gaz de 300°C (Erenler *et al.*, 2023).

I.2.5. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits polyphénoliques *in vitro*

I.2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

Du point de vue méthodologique, le test du radical libre DPPH est recommandé pour des composés contenant les groupes SH, NH et OH (Salah *et al.*, 1995). Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl picrylhydrazyle ayant une couleur violette en un composé jaune le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans le milieu (figure 17) (Moreno *et al.*, 1998).

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait a été déterminé par la méthode de Diomande *et al.*, (2018). 50 µl de chaque extrait brut à différentes concentrations a été ajoutée à 1,95 ml de solution de DPPH (0.004) (4mg dissous dans le méthanol (100ml)). L'acide ascorbique (dilutions utilisées) a été utilisé comme antioxydant de référence, et l'absorbance a été déterminée après 30 minutes d'incubation à 515 nm.

La capacité de piégeage du radical DPPH a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$PI \% = [AC - AE / AC] \times 100$$

Avec :AC : absorbance du contrôle ; AE : absorbance de l'extrait.

➤ Evaluation du potentiel antiradicalaire par le calcul de l'IC₅₀

L'IC₅₀ (Concentration inhibitrice 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres *et al.*, 2006). Pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne de trois essais.

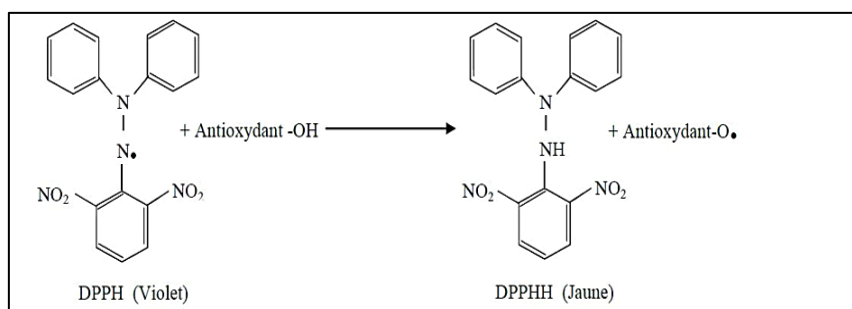


Figure 17. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et l'antioxydant.

I.2.5.2. Le pouvoir réducteur (PR)

L'activité réductrice des extraits est basée sur la réaction chimique de réduction de Fer (III) présent dans le complexe ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) en fer (II). La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et al., 2002). En effet, le système $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz et al., 2004).

Le pouvoir réducteur de l'extrait végétal a été déterminé en appliquant la méthode décrite par Moriasi et al., (2021). 1ml d'extrait à différentes concentrations ont été mélangés avec 2,5 ml de solution tampon phosphate (0,2 M, pH = 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1%). Les mélanges ont été incubés à 50 ° C pendant 20 minutes, suivi par l'addition de 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% (p / v). Le mélange a ensuite été centrifugé à 3000 tr / min pendant 10 min. ensuite, 2,5 ml du surnageant ont été mélangés avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de [$FeCl_3, 6 H_2O$] (0,1%) qui lui a été ajoutée.

L'absorbance a été lue à 700 nm, en utilisant de l'acide ascorbique comme témoin positif. L'analyse statistique est réalisée par l'Excel, pour déterminer les EC_{50} de l'activité anti radicalaire.

I.2.5.3. Activité antioxydante totale (TAC)

La capacité antioxydante totale (TAC) (test du PPM (Phosphomolybdate)) est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de Prieto et al., (1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'extrait pour former un complexe vert à jaunâtre de phosphate/ Mo(V) à pH acide. Un volume de 0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées en 3 fois.

I.2.6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire *In vitro*

I.2.6.1 Inhibition de la dénaturation des protéines (La méthode de dénaturation par l'albumine de l'œuf) :

Préparation de la solution d'albumine d'œuf : Une solution à 0,2 % (p/v) d'albumine d'œuf a été préparée dans un PBS (pH 6,4) (Idir Moualek et *al.*, 2016). L'activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine a été réalisée selon à la méthode décrite par Dadoriya et *al.*, (2020).

Bref, 0,2 mL d'albumine d'œuf, 2,8 mL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS, pH 6,4) et 2 mL d'extrait ou de diclofénac sodique (250-500 µg/mL en PBS). Le contrôle contenait du PBS. Le mélange a été incubé à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ dans un incubateur pendant 15 min puis chauffé pendant 5 min à 70°C . Le mélange a été refroidi et centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times ((A_t - A_c) / A_c)$$

A_t = absorbance de l'échantillon d'essai ; A_c = absorbance de contrôle. Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions.

I.2.6.2. Stabilité membranaire des érythrocytes humains :

La capacité des extraits méthanoliques à protéger la membrane des érythrocytes humains contre l'hémolyse induite par le milieu hypotonique est évaluée selon la méthode décrite par Dadoriya et *al.*, (2020).

Brièvement, 100µL de la suspension érythrocytaire diluée à 10% dans un milieu isotonique (tampon phosphate 10 mM, pH=7.4, 154 mM NaCl) sont ajoutés à 1 ml de chaque extrait à différentes concentrations (100-1000µg/ml) dissous dans un milieu hypotonique (10 mM tampon phosphate, pH=7.4, 50 mM NaCl) ou 1 ml Diclofénac (0.1 mg/ml) qui est utilisé comme référence. Le contrôle considéré comme 100% d'hémolyse contient la suspension érythrocytaire avec le milieu hypotonique seul. Après incubation pendant 30 minutes à 37°C , une centrifugation est effectuée à 3000 rpm à pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant récupéré est lue à 450 nm. Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times (A_1 - A_2) / A_1.$$

A_1 = L'absorbance du contrôle négatif ; A_2 = L'absorbance de l'extrait ou le diclofénac

I.2.7. Test de toxicité aiguë

L'étude de la toxicité aiguë est une analyse qualitative et quantitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours (2 semaines). Cette toxicité est évaluée en déterminant la dose létale 50 (DL50) c'est-à-dire, la dose unique qui provoque la mort de 50 % des animaux traités.

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il est nécessaire de réaliser des essais de toxicité. Afin d'évaluer l'effet toxique des extraits polyphénoliques de *Cerantonia siliqua* et même d'*Arbutus unedo*, une détermination de l'effet toxique aigu est nécessaire.

Par contre, l'étude bibliographique a révélé que les deux plantes ne sont pas toxiques et que les deux plantes sont comestibles. C'est pour cela que j'ai utilisé qu'une seule dose selon (Rtibi et *al.*, 2015 ; Kais et *al.*, 2016 ; Latifa et *al.*, 2023).

➤ Protocole expérimental

Des rats mâles et femelles albinos ont été utilisés. Ils ont des poids moyens de 220.13 ± 5.75 g (mâles) et 220.80 ± 3.86 g (femelles). Les rats sont répartis, selon le sexe, en 03 lots de 10 rats (05 mâles et 05 femelles dans des cages au nombre de 5 rats par cage. La toxicité aiguë a été estimée en utilisant la méthode décrite par Tahraoui et ses collaborateurs (2010), Les rats ont reçu une dose unique allant de 2 g/kg de poids corporel (PC) de l'extrait de *C. siliqua*, de l'extrait d'*A. unedo* et du NaCl 9‰ (témoin) par voie orale (P.O).

I.2.7.1. Suivi des animaux

Après l'administration des extraits, les rats sont surveillés en permanence dans la première, 6ème et 24ème heure, et tous les jours pendant 15 jours pour toute mortalité ou changement de comportement. Le suivi des signes cliniques de la toxicité inclue l'observation de l'évolution de poids des rats tout au long de la période de l'expérience (Adjoungoua et *al.*, 2008). Le nombre des rats morts est calculé et transformé en pourcentage.

Les principaux signes recherchés sont (Tahraoui et *al.*, 2010) :

- Activité : démarche anormale, activité réduite ;
- Convulsion ;
- Diarrhée ;
- Mortalité ;



Figure 18. Administration des extraits par gavage.

I.2.8. Evaluation de l'activité anti-ulcéreuse des extraits polyphénoliques

Pour déterminer les propriétés anti-inflammatoires des extraits polyphénoliques de *C. siliqua* et *A.unedo*, une activité antiulcéreuse expérimentale chronique ont été réalisés.

➤ Choix des animaux

Pour le choix du modèle animal pour cette étude de l'activité anti-ulcéreuse, une attention particulière doit être portée sur les aspects quantitatifs (suffisance d'organe pour l'étude) ou qualitatifs (ressemblance aux tissus humains).

L'étude a été réalisée sur des rats males de type « Wistar » (provenant de l'institut Pasteur, d'Alger, Algérie) élevés à l'animalerie au niveau du département de Biologie, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie de Université de Mascara. Les animaux sont logés dans des cages individuelle en conditions contrôlées de température (25⁰C), un taux d'humidité entre 60% et 70% et soumis à un rythme nyctéméral de 12 heures. Ils ont eu accès libre à l'eau et à la nourriture.

➤ Induction d'ulcère gastrique chez le rat

Dans le cadre d'évaluer les propriétés gastro-protectrice des extraits des plantes, plusieurs tests ont été utilisés pour induire l'ulcère gastrique, parmi ces méthodes : induction d'ulcère par l'aspirine, a l'issue d'évaluation de l'activité anti-ulcère de l'extrait aqueux de *C. siliqua* et *A.unedo*, l'ulcération a été induite selon le protocole décrit par Balekar *et al.*, (2012).

➤ **Protocole expérimental**

Les manipulations sont effectuées en respectant le bien-être de l'animal, excluant tout état de stress et de nervosité susceptible d'interférer avec les résultats. Au total, 25 Rats Wistar de poids corporel de 224.38 ± 2.88 g ont été utilisés dans l'étude des effets des extraits de *C. siliqua* et *A. unedo*. Les rats sont placés par 5 dans des cages (tableau 07), avec un accès à une nourriture standardisée et de l'eau ad libitum. L'évaluation de l'effet antiulcéreux a été réalisée selon le protocole d'Abewaw et *al.*, (2017) avec quelques modifications.

Toutes les procédures expérimentales ont été effectuées en conformité avec les directives éthiques pour l'étude de la douleur expérimentale chez des animaux conscients, ainsi que la directive du Conseil des Communautés européennes 86/609/ CEE, avec toutes les mesures adéquates sont prises pour minimiser la douleur ou de l'inconfort des animaux.

Tableau 07 : Les différents traitements appliqués.

Groupe	Type de traitement
Lot 1 (Témoin)	Rats normaux témoins (Chaque rat a reçu de l'eau physiologique 0.9% (2 ml/kg ; p.o.).
Lot 2 (Témoin négatif)	Rats malades et Non Traités (Chaque rat a reçu de l'aspirine (1 ml/kg ; p.o.)
Lot 3 (Témoin positif)	Rats malades + Traités avec Ranitidine (Chaque rat a reçu un traitement par le médicament ranitidine (100 mg/kg, 1 ml/kg ; p.o.) suivi par l'aspirine (1 ml/kg ; p.o.).
Lot 4 (<i>C. siliqua</i>)	Rats malades + Traités avec l'extrait de <i>C. siliqua</i> (Chaque rat a reçu un traitement par l'extrait (200 mg/kg, 1 ml/kg ; p.o.) suivi par l'aspirine
Lot 5 (<i>A. unedo</i>)	Rats malades + Traités avec l'extrait de <i>A. unedo</i> (Chaque rat a reçu un traitement par l'extrait d' <i>A. unedo</i> (200 mg/kg, 1 ml/kg ; p.o.) suivi par l'aspirine (1 ml/kg ; p.o.).

I.2.8.1. Poids corporel

L'état physiologique des animaux influe sur leur apport en nutriments, ainsi leurs poids corporels. Les rats sont pesés deux fois par semaine tout au long de la période d'expérimentation à l'aide d'une balance électrique (Sartorius, BP 610, précision : 0,01 g).

I.2.8.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes :

Après 21 jours d'expérimentation, les rats de chaque lot, sont anesthésiés à l'aide d'une injection intra péritonéale d'une solution de chloral à 10% (0,3 ml par 100g de poids corporel), après 12 heures de jeûne (Figure 19). Le sang est prélevé par ponction dans l'aorte abdominale (Figure 20). Une quantité du sang prélevé est récupérée dans des tubes hépariné. Les échantillons prélevés sur tubes hépariné sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 min. Le plasma est prélevé pour le dosage des paramètres biochimiques. (CRP, PAL, Transaminases, et Créatinine). Les organes : le foie, les reins, l'estomac, les poumons et le cœur, sont soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9‰, ensuite pesés.

Le poids relatif de chaque organe a été ensuite calculé par rapport au poids corporel (g/100g de poids corporel).



Figure 19. Sacrifice des rats.

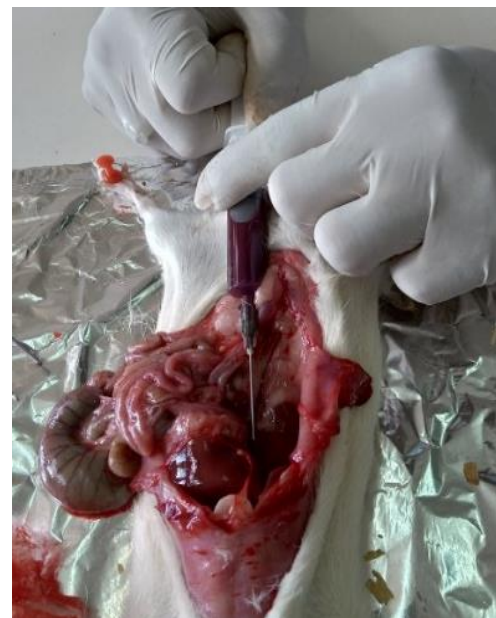


Figure 20. Préparation des échantillons du sang



Figure 21. Dissection des rats et prélèvement des organes.

I.2.8.3. Indice d'ulcère et Pourcentage d'inhibition

Les estomacs étaient ouverts selon la grande courbure et rincé à l'eau puis sérum salé isotonique (0.9%) pour éliminer le contenu gastrique et les caillots sanguins et examiné à l'aide d'une loupe 10× pour évaluer la formation d'ulcères. Cependant, l'évaluation l'indice d'ulcère gastrique et le pourcentage d'inhibition ont été évalués selon Mohamed *et al.*, (2022).

En bref, la muqueuse gastrique a été examinée pour détecter les sites d'érosion, puis la gravité des lésions a été déterminée et notée sur une échelle de 0 à 5, où 0 signifie aucune lésion, 1 signifie une érosion hémorragique mineure, 2 signifie un ulcère gastrique de moins de 1 mm, 3 signifie un ulcère gastrique de 1 à 2 mm, 4 signifie un ulcère gastrique de 3 à 4 mm et 5 signifie un ulcère gastrique de plus de 4 mm.

Ensuite, l'indice d'ulcère gastrique et le pourcentage d'inhibition ont été calculés à l'aide des formules suivantes formules suivantes.

L'indice d'ulcère gastrique = score total d'un groupe ÷ nombre de rats atteints d'ulcération par groupe.

Pourcentage d'inhibition = [(indice d'ulcère du groupe malade - indice d'ulcère du groupe traité) ÷ indice d'ulcère du groupe malade] x 100.

I.2.8.4. Étude histopathologique

Afin d'étudier les lésions touchant les estomacs prélevés, nous les avons emmenées à laboratoire d'anatomie et pathologique Kahiaà Oran, où ils subissent un traitement histologique. La technique histologique nous permet d'obtenir des coupes minces de cet organe (estomac).

Cette technique comprend plusieurs étapes principales successives : fixation, déshydratation, inclusion, coloration, et montage.

. **Fixation** : Les estomacs ont été découpés l'axe longitudinal en tranches fines (2,3mm), placés dans les cassettes référencées selon les groupes cités précédemment, les cassettes préparées ont été émergées dans le formol à (10%) pendant 24 heures.

-**Mensuration et description des pièces**, découpage, mise en cassettes C'est l'étape de la macroscopie, qui les échantillons ont été mesurés et après les échantillons mise dans des cassettes spécialisées.

-**Déshydratation** : Cette étape a été faite automatiquement à l'aide d'un appareil de déshydratation, réglé sur un cycle de 18h. Elle a lieu dans une série de 7 bains d'alcool à différents degrés, qu'est effectuée à l'aide d'un automate « Leica, TP 1020 », qui est programmable selon le cycle et peut contenir un grand nombre des cassettes rangées dans un panier.

Ensuite l'étape suivante d'éclaircissement nécessite de faire 2 bains de xylène afin d'éliminer toutes les traces d'alcool. Et enfin l'étape dernière à l'aide d'automate, c'est l'imprégnation qui se fait par remplacement la paraffine liquide au xylène.

Inclusion en paraffine A l'aide « station d'enrobage » qu'il comporte deux plaques : une plaque de travail avec une température de 70 °C (A), Plaque de refroidissement 15°C (B)

Mettre les échantillons dans les moules métalliques afin de couler dans des cassettes après les repérages du futur plan coupe est délicatement posé.

Un complément de paraffine est ajouté. Une fois la paraffine refroidie dans une deuxième plaque, les cassettes marquées et les blocs sont prêts à la coupure.

Confection des rubans Réalisation des coupes • L'appareil utilisé est le microtome à paraffine modèle « Leica RM2235 ». Cet appareil permet d'obtenir des coupes séries disposées en forme de ruban et très fines dont l'épaisseur de 3 à 5 μm .

Les tissus gastriques ont été traités comme décrit précédemment et colorés à l'hématoxyline et à l'éosine (H & E) (figure 23). La coloration à l'hématoxyline-éosine a été appliquée pour l'évaluation histopathologique du tissu gastrique. Ensuite, chaque section a été déparaffinée, colorée et observée à l'aide d'un microscope BIOBASE BMM-1000. Les images peuvent être soumises à des droits d'auteur l'aide d'un microscope aux grossissements 100 \times .

Les sections ont ensuite été analysées par un pathologiste en aveugle, et les changements histopathologiques du tissu gastrique ont été classés en fonction de l'hémorragie, de la congestion des vaisseaux sanguins, de l'œdème de la muqueuse, de l'atrophie tissulaire et de la desquamation des cellules épithéliales de surface (Mohamed et *al.*, 2022).



Figure 22. Des lames préparées pour l'analyse histologique.

I.2.5. Analyses statistiques

Les données ont été présentées sous forme de moyennes \pm écart-type et avec une analyse de régression linéaire pour le calcul des valeurs de la CI50 et de la CE50. (excel 2019, GraphPad prism7). La signification statistique ($p < 0,05$) a été évaluée par une analyse de variance à sens unique ANOVA.

Résultats et discussions

II.1. Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées

II.1.1. Teneur en eau et taux de cendres

La composition chimique d'une plante varie d'une espèce à l'autre, voire au sein d'une même espèce. Elle dépend des conditions de culture (qualité du sol, climat, irrigation, traitements phytosanitaires, l'organe étudié de la plante ainsi que la période de récolte).

Les résultats de l'étude de la teneur en eau et en cendres des deux plantes choisies, *Ceratonia siliqua* et *Arbutus unedo*, sont représentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Teneurs en eau et taux de cendre des deux plantes étudiées

Paramètre/Plante	<i>Ceratonia siliqua</i>	<i>Arbutus unedo</i>
Teneur en eau (H ₂ O%)	10,91 % ± 0,14	43,73 % ± 0,81
Taux de cendres (C%)	2,04 % ± 0,05	4,85 % ± 0,17

Pour les fruits d'*Arbutus unedo*, nos résultats sont proches de ceux trouvés par Ruiz-Rodríguez et al., (2014) ($46,82 \pm 1,72$) avec une légère différence et supérieure à ceux trouvés par Ait lhajet al., (2021) ($9,87 \pm 0,10$). Oliveira et al., (2011) et Ozcanet al., (2007) montrent que l'humidité est le composant le plus important du fruit d'*A. unedo*, représentant plus de 50% du poids total du fruit frais. D'autre part, les gousses de caroube ont une teneur en eau de 10,91%, légèrement supérieure à celle trouvée par Ben Othman et al., (2024) et Durazzo et al., (2014) (6,56 ; 7,4%), respectivement.

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'*Arbutus unedo* présente une teneur en eau plus élevée (43,73 %), par rapport à *Ceratonia siliqua* (10,91 %), puisqu'il s'agit d'une espèce qui accumule de l'eau dans ses fruits.

Debussche et al., (1987) indiquent également que les plantes ayant une distribution strictement méditerranéenne sont moins aqueuses que celles ayant une large distribution ou celles qui sont rares dans la région méditerranéenne.

En ce qui concerne la matière minérale, on a obtenu un taux de cendre de 4,85% pour *A. unedo* et 2,04% pour *C. siliqua*. Ces résultats pour *C. siliqua* sont confirmés par les travaux de Brassesco et al., (2021), Dilek (2020) et sont inférieurs à ceux trouvés par Rima et al., (2024) qui ont obtenu une valeur de 9,94%.

D'une manière globale, les variations rencontrées dans la teneur en eau et le taux de cendres des deux échantillons comparés à certains travaux antérieurs peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif ou même à des facteurs génétiques (Soltner, 2001).

II.2. Les rendements d'extraction

Après l'extraction et l'élimination de solvant, le rendement est calculé et illustré dans la figure ci-dessous (figure 23).

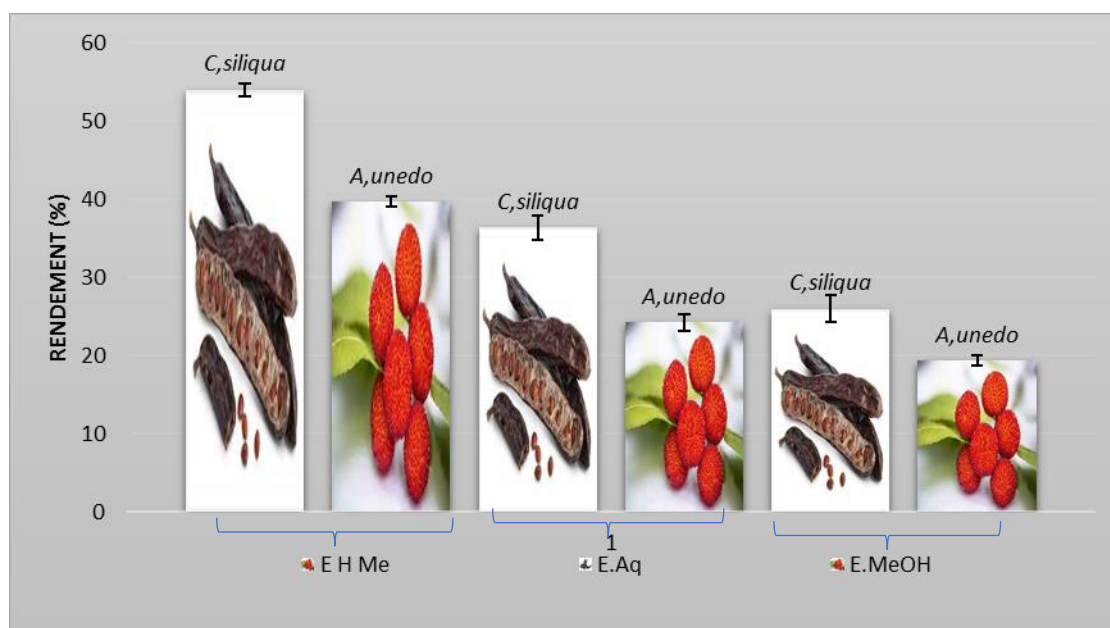


Figure 23. Résultats des rendements secs obtenus.

E.H.Me : extrait hydrométhanolique; **E.Aq** : extrait aqueux ; **E.MeOH** : extrait méthanolique.

D'après ces résultats, nous constatons que les extraits polyphénoliques des *C. siliqua* ont enregistré des rendements nettement considérables par rapport à *A. unedo*. Particulièrement pour l'extrait hydrométhanolique (macéré) qui présente un rendement de l'ordre de 52,30 % qui concorde parfaitement avec celui obtenu par Ben Othmen et ses collaborateurs en 2019 (52,70 %). Cependant, ce rendement était supérieur de celui obtenu par Mekhoukhe et *al.*, en 2018 (24,66 %). D'autres rendements plus au moins considérables ont été observés dans les extraits aqueux et méthanolique de *C. siliqua* qui sont de l'ordre de 36,36 et 26,01 % respectivement. Luísa Custódio et ses collaborateurs (2011) ont enregistrés des rendements plus faibles entre (5,6 et 11,6 %) pour l'extrait méthanolique.

En revanche, pour l'espèce *Arbutus unedo*, les rendements d'extraction obtenus étaient de l'ordre de (19,35 ; 24,25 et 39,75%). Ces résultats sont proches à ceux obtenus par Maria Concetta *et al.*, en (2020) (42,3% et 39,2%), mais inférieurs à ceux enregistrés par Hafssa *et al.*, (2020) (51,11% et 59,17%)-

En général, la diversité des plantes est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques qui influencent l'extraction des composés phytochimiques. Entre autres, le type de solvant organique utilisé est un facteur très important qui affecte la séparation d'un produit chimique sélectif à partir des échantillons des plantes. La principale fonction des solvants polaires est d'améliorer et de faciliter la perméabilité de la paroi cellulaire des substances chimiques, ce qui permet un meilleur contact entre le solvant et les solutés, augmentant ainsi le pourcentage de rendement de l'extraction (Patle *et al.*, 2020).

II.3. Résultats des analyses qualitatives et quantitatives

II.3.1. Analyse qualitative des extraits polyphénoliques

Le criblage phytochimique joue un rôle essentiel dans l'identification des composés clés des plantes communément appelés les métabolites secondaires. Le tableau 9 présente les tests phytochimiques réalisés sur les deux plantes testées (extraits de *Ceratonia siliqua*, et extraits d'*Arbutus unedo*).

Tableau 9 : Résultats du screening phytochimique des différents extraits de plantes

	<i>Ceratonia siliqua</i>			<i>Arbutus unedo</i>		
	E.Aq	E.H.Me	E.MeOH	E.Aq	E.H.Me	E.MeOH
Alcaloïdes	+	+	+	+	-	-
Flavonoïdes	++	+++	+++	++	++	+++
Tanins	++	++	+++	++	++	+++
Phénols	++	++	++	++	++	++
Saponosides	+	-	-	+	-	-
Terpénoïde	++	+	+	++	-	-
Stéroïde	++	+	+	++	-	-
Anthocyane	+	-	-	+	++	+++
Sucre réducteur	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Coumarine	+++	-	+	-	-	-

E.Aq : extrait aqueux ; **E.H. Me** : extrait hydrométhanolique; **E.MeOH** : extraitméthanolique.

Les symboles : +++, ++, + et - désignent respectivement des quantités appréciables, modérées, infimes et nulles.

➤ ***Ceratonia siliqua***

Les essais phytochimiques effectués sur les extraits de *Ceratonia siliqua* L. ont révélé la présence des flavonoïdes, des phénols, glucoside cardiaque et des tanins en grande quantité. Ce résultat concorde avec ceux trouvés par (Kumazawa et *al.*, 2002) et (Moubtakir et *al.*, 2024) sur la richesse de caroubier en flavonoïdes, tanins et glucoside cardiaque.

D'autre part, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes n'étaient légèrement présents. Les saponosides et les coumarines n'ont été observés que dans E.Aq et E.MeOH, mais étaient totalement absents dans E.H.Me, comme le confirment les résultats obtenus par (Moubtakir et *al.*, 2024).

➤ ***Arbutus unedo***

Le criblage phytochimique préliminaire des extraits d'*A. unedo* a révélé la présence de divers composés chimiques. Les phénols, tanins, flavonoïdes, anthocyanes et sucres réducteurs ont été observés en quantités, allant de fortes à modérées dans les divers extraits. D'autre part, les terpénoïdes et les stéroïdes ont été détectés à des concentrations modérées dans l'E. Aq et étaient totalement absents dans l'E.H.Me et l'E.MeOH. Ces résultats, à l'exception de la présence des stéroïdes dans l'E.Aq, sont en accord avec les analyses réalisés par et Benamari et *al.*, (2024).

D'après les premiers résultats, il ressort que les extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo* étaient riches en métabolites secondaires. La présence d'alcaloïdes, des saponines et des tanins suggère un potentiel d'action antimicrobienne (Mekhoukhe et *al.*, 2019 ; Murali et *al.*, 2021). En outre, les flavonoïdes et les composés phénoliques sont reconnus pour leurs solides capacités antioxydantes et leur rôle dans la neutralisation des radicaux libres, ce qui contribue à réduire le stress oxydatif et possède des capacités anticancéreuses considérables (Ayoola et *al.*, 2008 ; Secka et *al.*, 2021). Les coumarines sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ce qui présente des avantages potentiels pour le traitement des troubles cutanés hyperprolifératifs (Messaadiaa et *al.*, 2020). En outre, les terpénoïdes sont réputés pour un spectre d'activités biologiques telles que les effets anticancéreux, antimicrobiens, antifongiques, antiparasitaires, antiviraux, antiallergiques, antispasmodiques, antihyperglycémiques, anti-inflammatoires et immunomodulateurs,

soulignant leur valeur dans la prévention et la gestion de diverses maladies (Messaadiaa et al., 2020).

II.3.2. Analyse quantitative des extraits polyphénoliques

Le dosage des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins a été effectué dans cette étude, car la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués à ces substances.

Le tableau 10 montre les taux des composés phénoliques, des flavonoïdes totaux et des tanins contenus dans les différents extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo*.

Tableau 10 : Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins dans les extraits phénoliques de *Ceratonia siliqua* et *Arbutus unedo*.

		Polyphénols totaux (mg GAE/g PS) ^a	Flavonoïdes totaux (mg EC/g PS) ^b	Tannins condensés (mg EC/g PS) ^c
<i>Ceratonia siliqua</i>	E.Aq	64,84 ± 6,60	18,22 ± 3,48	12,19 ± 1,01
	E.H.Me	88,59 ± 8,53	19,21 ± 2,63	11,00 ± 4,04
	E.MeOH	102,83 ± 2,07	13,01 ± 2,60	23,14 ± 1,01
<i>Arbutus unedo</i>	E.Aq	12,38 ± 0,29	16,13 ± 2,30	1,46 ± 0,04
	E.H.Me	49,32 ± 0,44	50,86 ± 1,52	1,78 ± 0,40 mg
	E.MeOH	61,96 ± 5,33	51,16 ± 0,57	2,40 ± 0,14

^a: mg acid galique équivalent/g poids sec. ^b: mg Quercétine équivalent/g poids sec. ^c:mg catechine équivalent/g poids sec. (Toutes les valeurs sont la moyenne de trois répétitions ± écart type).

➤ *Ceratonia siliqua*

D'après les résultats obtenus (tableau 10), nous pouvons constater que les trois extraits obtenus (E.Aq, E.H.Me et E.MeOH) étaient riches en polyphénols mais avec des quantités différentes, selon la plante étudiée et les solvants utilisés pour l'extraction. Les résultats obtenus montrent qu'E.MeOH révèle la présence des teneurs hautement significatives en polyphénols (102,83 ± 2,07 mg EAG/g) suivi par E.H.Me (88,59 ± 8,53 mg EAG/g) (Oruma et al., 2008).

Contrairement à nos résultats, Mekhoukhe et al., (2018) et Luisa et al., (2011) ont rapporté que les teneurs en polyphénols totaux sont plus faibles dans les extraits méthanoliques de *C. siliqua* (11,97 ± 0,01 ; 39,04 ± 2,3 mg GAE/g). Cependant, les résultats de Mousa et al.,

(2018) et de Ydjedd et *al.*, (2017) ont montré des teneurs en polyphénols totaux plus élevées ($127,02 \pm 7,18$; $162,55 \pm 5,44$ mg GAE/g).

Les concentrations en flavonoïdes obtenus sont supérieurs à ceux obtenus par Mekhoukhe et *al.*, (2018) et de Dallali et *al.*, (2018), qui ont trouvé des concentrations en flavonoïdes de $1,06 \pm 0,02$ mg QE/g et de $7,42 \pm 0,22$ mg QE/g, respectivement. Cette concentration en flavonoïdes dans nos échantillons signifie une richesse notable en ces composés. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Luisa et *al.*, (2011), Guaouar en (2011) et Papagiannopoulos et *al.*, (2004).

Concernant, le dosage des tanins condensés, l'extrait E.MeOH renferme la plus importante teneur en tanins condensés, avec une valeur de $23,14 \pm 1,01$ mg EC / g. En revanche, l'extrait E.H.Me a enregistré des teneurs plus faibles avec des concentration atteignant $11 \pm 4,04$ mg EC / g.

➤ *Arbutus unedo*

Pour l'espèce *A. unedo*, les résultats ont révélé des teneurs en phénols, en flavonoïdes et en tanins les plus élevées dans l'E.MeOH par rapport aux autres extraits (E.H.Me et E.Aq) (tableau 10). La teneur en polyphénol totaux a varié entre $61,965 \pm 5,337$ à $12,38 \pm 0,296$ mg GAE/g dans l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux, respectivement. Ces valeurs sont similaires à celles observées par Hafssa et *al.*, (2020). En revanche, ces valeurs sont supérieures à celles trouvées par Asmaa et *al.*, (2019) et Zitouni et *al.*, (2022) et inférieures à celles obtenues par Salem et *al.*, (2018).

Les résultats expérimentaux ont montré que l'extrait des fruits d'*A. unedo* contient des flavonoïdes allant de $51,166 \pm 0,577$ à $16,133 \pm 2,309$ mg de QE/g d'extrait dans le E.MeOH et l'E.Aq, respectivement, ces valeurs sont proches à celles trouvées par Haffsa et *al.*, (2020) avec 54,9 mg EQ/g, et supérieures à celles rapportées par Mariaet *al.*, (2020) et par Moualek et *al.*, (2016).

Les teneurs en tanins des extraits variaient de $2,408 \pm 0,144$ à $1,46 \pm 0,044$ EC mg/g dans l'extrait méthanolique et aqueux, respectivement. Bien que la quantité de tanins soit supérieure à celle obtenue par Hafssa et *al.*, (2020) et similaire à celle trouvée par Bouzid (2015).

Nous pouvons conclure que les extraits de *C. siliqua* ont montré des teneurs phénoliques et tanniques les plus élevés comparés aux extraits d'*A. unedo*. Par contre, En outre, les extraits d'*A. unedo* présentent les teneurs les plus élevés en flavonoïdes.

Les recherches menées par Yassine et *al.*, (2014), Ben Othmen et *al.*,(2019), et Oliveira et *al.*, (2011) ont révélé une relation directe entre l'âge d'une plante et sa teneur en composés phénoliques, observant que les plantes plus jeunes ont tendance à avoir des concentrations plus élevées en polyphénols. D'après la littérature, il s'agit d'un mécanisme de défense, les fruits en phase de développement produisent une abondance de composés phénoliques pour se protéger des menaces biotiques et abiotiques (Emira et *al.*, 2011).

Aussi, les études de Ydjedd et *al.*, (2017), Ben Othmn et *al.*, (2009), et Radwan et *al.*, (2020), entre autres, indiquent que la teneur en composés phénoliques des plantes peut varier de manière significative en raison d'une multitude de facteurs. Ceux-ci comprennent le cadre géographique de la plante, le moment de la récolte, les méthodes employées pour l'extraction, les techniques utilisées pour quantifier les composés et les solvants utilisés au cours du processus d'extraction.

II.4. Analyses chromatographiques des extraits polyphénoliques

II.4.1. Analyse chromatographique des extraits polyphénoliques par LC-MS/MS

Les analyses par LC-MS/MS menés pour déterminer les profils phénoliques de *Ceratonia siliqua* (figure 24) et d'*Arbutus unedo* (figure 25), ont identifiés et quantifiés quarante-deux (42) composés phénoliques (tableau 11). L'analyse quantitative des métabolites secondaires dans les plantes est cruciale dans le processus de développement des médicaments, servant de guide pour isoler les composés cibles présentes dans les plantes avec des propriétés médicinales potentielles (Erenler et *al.*,2018).

Dans cette recherche, les composés bioactifs des extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo* ont été déterminés quantitativement, l'acide shikimique et l'acide chlorogénique étant identifiés comme les principaux composés à 37,878 et 91,716 mg/g d'extrait, respectivement, suivi par la rutine à 1,49 et 1,46 mg/g d'extrait.

L'acide shikimique présente des activités biologiques essentielles, notamment des effets anticancéreux et antiviraux. En particulier, des dérivés tels que l'acide shikimiquemonopalmyloxy et l'acide shikimiquetriacétyl possèdent des propriétés anticoagulantes et antithrombotiques. Par conséquent, l'acide shikimique est utilisé comme

réactif dans la synthèse organique et dans diverses formulations de médicaments (Denis et *al.*,2012).

L'acide chlorogénique est un polyphénol présent dans de nombreuses plantes. Des études récentes ont montré qu'un apport continu d'acide chlorogénique améliore l'activité du système nerveux autonome et la qualité du sommeil. Une fonction réduite du système nerveux autonome peut être impliquée dans le développement de symptômes vasomoteurs. De plus, ces symptômes ont également un impact sur la qualité du sommeil. Une étude randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo, a évalué les effets de la prise d'acide chlorogénique sur les symptômes vasomoteurs, en particulier les bouffées de chaleur, chez des femmes ménopausées en bonne santé. En outre, la microflore gastro-intestinale décompose l'acide chlorogénique en plusieurs sous-produits d'acides aromatiques, notamment les acides caféiques et quinique. L'acide chlorogénique est réputé pour ses nombreux avantages biologiques, notamment ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, de cicatrisation, de protection du foie, de gestion du diabète, de promotion de la santé cardiaque, de régulation de la tension artérielle, de gestion du poids, de prévention du syndrome métabolique, de protection neuronale, de résistance microbienne et ses avantages prébiotiques possibles (Erenler et *al.*, 2023).

La rutine, cette molécule, qui appartient à la grande famille des flavonoïdes, est chimiquement très proche de la quercétine, possède des effets antioxydants qui jouent un rôle dans la prévention du vieillissement cutané et peut légitimement s'inscrire dans une stratégie anti-âge ; elle est également bénéfique pour la circulation veineuse, en exerçant une action bénéfique sur les capillaires et les veines, ce qui en fait un allié intéressant pour une bonne circulation sanguine. Des études cliniques ont examiné l'effet de la rutine dans de nombreux domaines, dont le traitement de l'insuffisance veineuse et le soulagement de l'arthrose (Marion, 2015).

De plus, l'acide gallique (0,0372 et 0,0250 mg/g d'extrait), l'acide salicylique (0,4084 et 0,3093 mg/g d'extrait), l'acide caféique (0,0483 et 0,0961 mg/g d'extrait), l'acide protocatéchique (0,9262 et 2,0364 mg/g d'extrait), l'acide p-coumarique (0,3082 et 0,1558 mg/g d'extrait), l'isoquercitrine (0,2238 et 0,2689 mg/g d'extrait), la quercétine (0,0189 et 0,0131 mg/g d'extrait), la quercétine-3-D-xyloside (0,0454 et 0,0428 mg/g d'extrait) et l'ester éthylique protocatéchique (0,0102 et 0,0187 mg/g d'extrait) ont été identifiés dans les extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo*, respectivement (tableau 14).

Tableau 11 : Les résultats de l'analyse LC-MS/MS de l'extrait de méthanol de *Ceratonia siliqua* et d'*Arbutus unedo* (mg/g d'extrait).

N°	Nom	Temps	Quantité	
			<i>C. siliqua</i>	<i>A. unedo</i>
1	Shikimicacid	1,471	37,878	91,716
2	Gallicacid	3,717	0,0372	0,0250
3	Protocatechuicacid	6,141	0,9262	2,0364
4	Catechin	6,992	ND	ND
5	Chlorogenicacid	7,780	8,4287	9,9212
6	Hydroxybenzaldehyde	8,227	0,0171	0,0261
7	Vanillicacid	7,855	0,0985	ND
8	Caffeicacid	8,313	0,0483	0,0961
9	Syringicacid	8,578	ND	0,3203
10	Caffeine	8,656	ND	ND
11	Vanillin	9,059	0,0038	0,0172
12	p-coumaricacid	9,731	0,3082	0,1558
13	Salicylicacid	9,812	0,4084	0,3093
14	Taxifolin	9,541	ND	ND
15	Polydatin	9,758	ND	ND
16	Resveratrol	9,791	ND	ND
17	Trans-ferulicacid	10,245	0,2201	0,1757
18	Sinapicacid	10,438	ND	ND
19	Scutellarin	10,909	ND	ND
20	o-coumaricacid	11,083	ND	ND
21	Coumarin	11,531	0,5826	ND
22	Protocatechuicethyl ester	11,549	0,0102	0,0187
23	Rutin	11,778	1,4923	1,4682
24	Isoquercitrin	11,794	0,2238	0,2689
25	Hesperidin	12,236	ND	0,1094
26	Quercetin-3-D-xyloside	12,417	0,0454	0,0428
27	Kaempferol-3-glucoside	13,249	ND	ND
28	Fisetin	13,538	0,0140	ND
29	Baicalin	13,536	ND	ND
30	Trans-cinnamicacid	14,224	ND	ND
31	Quercetin	14,791	0,0189	0,0131
32	Naringenin	14,665	0,0060	ND
33	Hesperetin	15,769	ND	ND
34	Morin	15,756	ND	ND
35	Kaempferol	16,369	ND	ND
36	Baicalein	17,006	ND	ND
37	Luteolin	17,773	ND	ND
38	Biochanin A	17,892	ND	ND
39	Chrysin	18,044	ND	ND
40	Capcaicin	18,219	ND	ND
41	Dihydrocapcaicin	18,134	ND	ND
42	Diosgenin	23,356	ND	ND

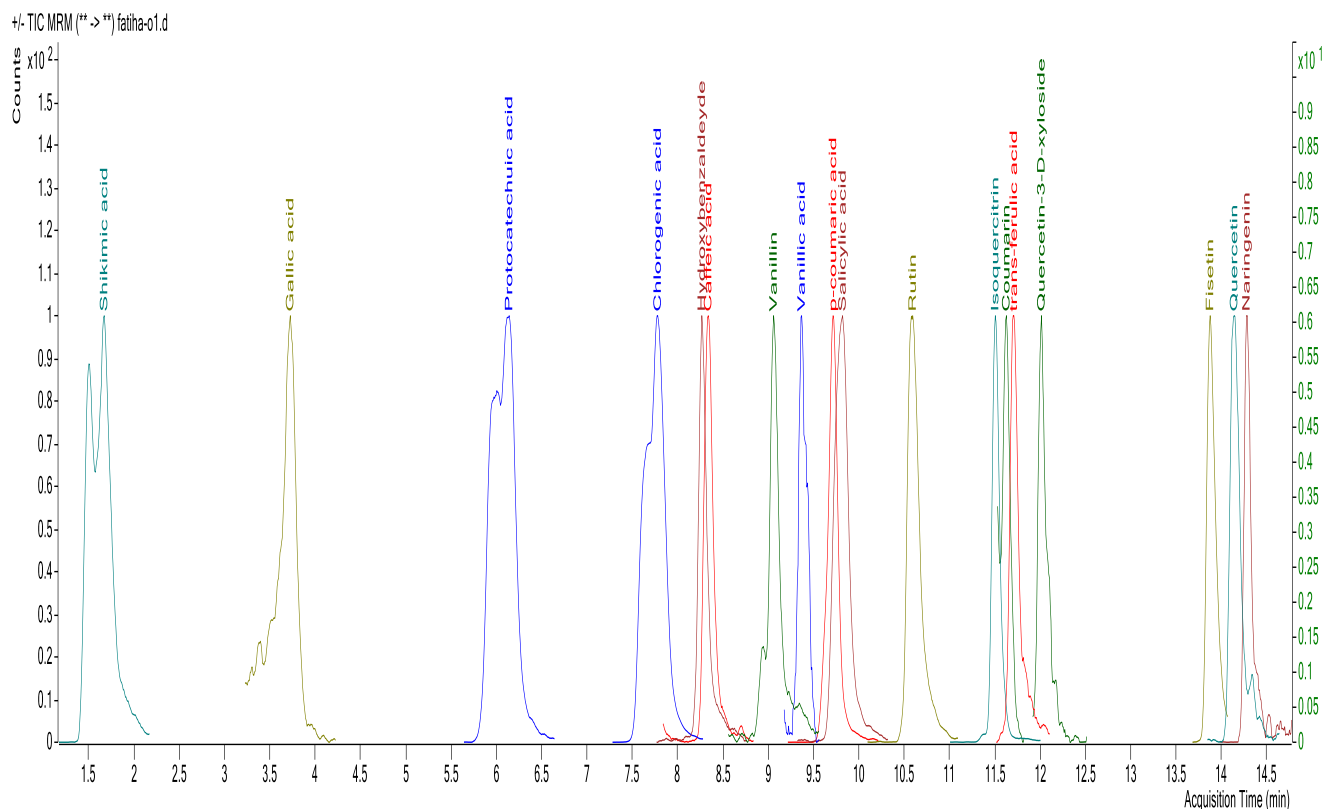


Figure 24. Chromatogramme de l'extrait méthanolique de caroube (*Ceratonia siliqua*)

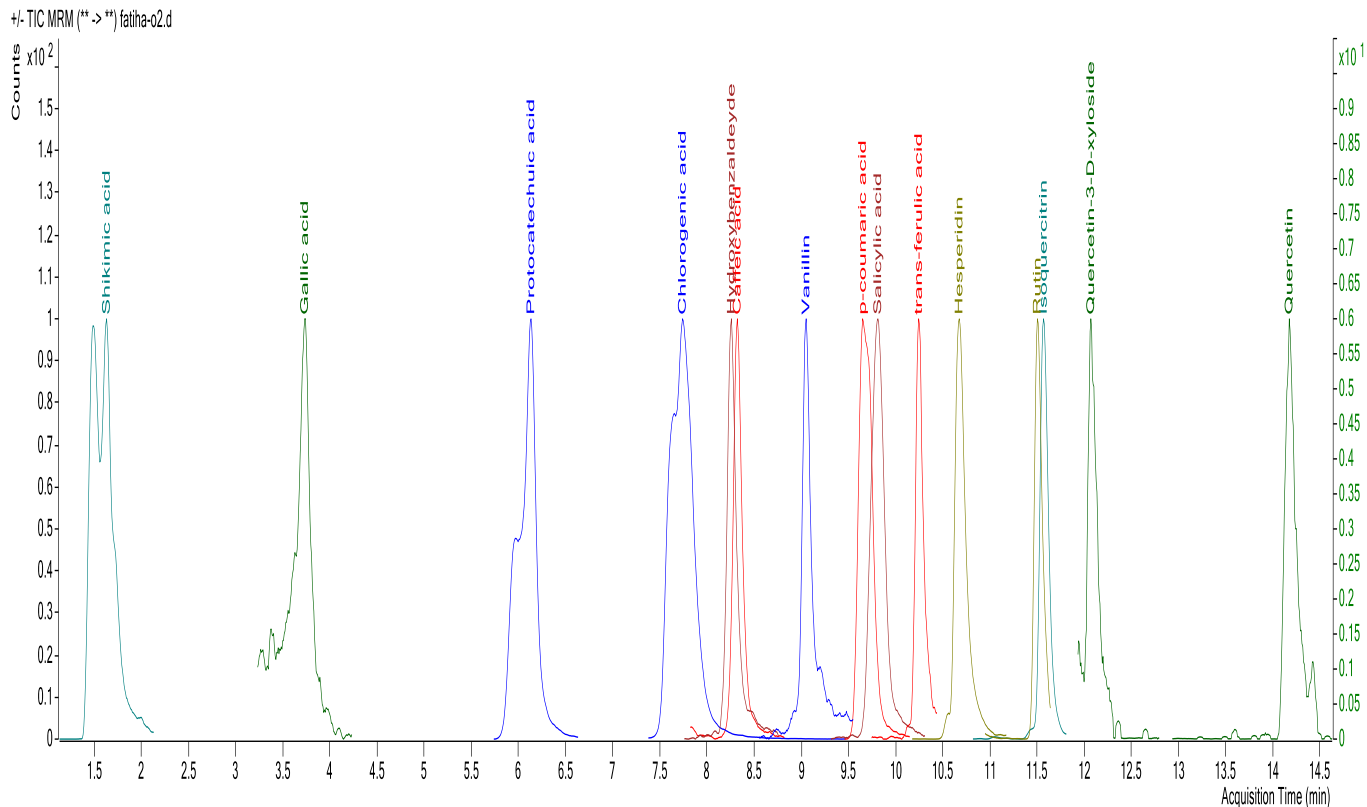


Figure 25. Chromatogramme de l'extrait méthanolique d'arbousier (*Arbutus unedo*)

II.5. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

II.5.1. Résultats de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH

Le test de piégeage des radicaux DPPH a révélé que la capacité à neutraliser les radicaux libres s'améliorait avec l'augmentation de la concentration.

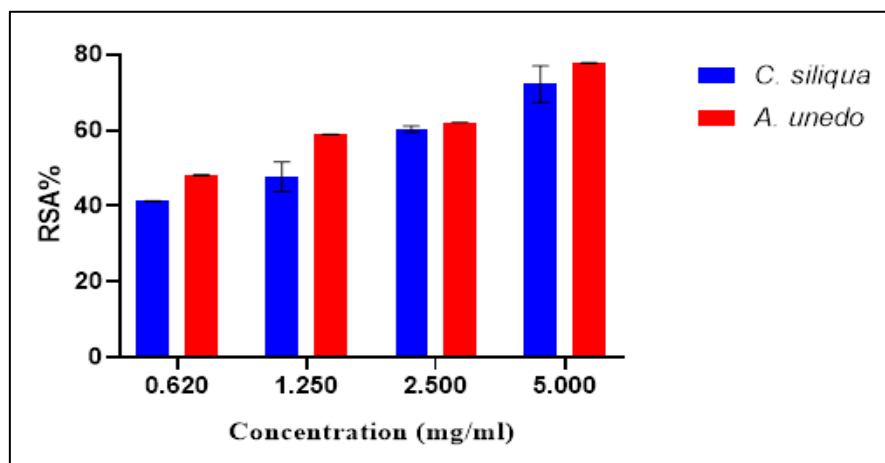


Figure 26. Activité de piégeage des radicaux d'extrait méthanolique de *C. siliqua* et d'*A. unedo*.

Comme le montrent le tableau 12 et la figure 26, l'extrait d'*A. unedo* a donné les meilleurs résultats dans la neutralisation des radicaux libres, avec une IC_{50} de $1,85 \pm 0,009$ mg/ml. Ce résultat est supérieur à celui de l'extrait de *C. siliqua*, qui a montré une efficacité de piégeage réduite avec un IC_{50} de $1,98 \pm 0,137$ mg/ml, respectivement. En outre, l'acide ascorbique, utilisé comme contrôle, a montré une IC_{50} significativement plus élevée que celles des deux plantes étudiées, ($0,16 \pm 0,015$ mg/ml), soulignant ses propriétés antioxydantes importantes.

Les valeurs IC_{50} obtenues sont plus élevées que celles trouvées par Rtibi et *al.*, (2015) et Ben Ayache et *al.*, (2020), qui ont observé des valeurs IC_{50} considérablement plus basses pour l'extrait de *C. siliqua*, à savoir $0,22 \pm 5,27$ mg/ml et $1,04 \pm 0,00$ mg/ml respectivement, ce qui suggère des activités antioxydantes plus puissantes.

En revanche, les valeurs IC_{50} obtenues pour l'extrait d'*A. unedo* était de $1,85 \pm 0,009$ mg/ml. Ces résultats sont plus élevés que ceux rapportés par Masmoudi et *al.*, (2020), Tenta et *al.*, (2020) et El Mekkaoui et *al.*, (2023), étaient de $0,31 \pm 0,00$ mg/ml, $0,07 \pm 2,07$ mg/ml et $0,033 \pm 0,0004$ mg/ml, respectivement. En conséquence, ces variations dans les valeurs de IC_{50} proviennent des différents solvants utilisés pour l'extraction. En outre, Ydjedd et *al.*, (2017) ont souligné l'influence du stade de maturité sur les valeurs IC_{50} , illustrant une

variation de l'efficacité antioxydante entre les stades immatures et matures, avec des valeurs IC_{50} enregistrées de $0,53 \pm 9,03$ mg/ml et $0,79 \pm 3,95$ mg/ml, respectivement.

II.5.2. Résultats de pouvoir réducteur

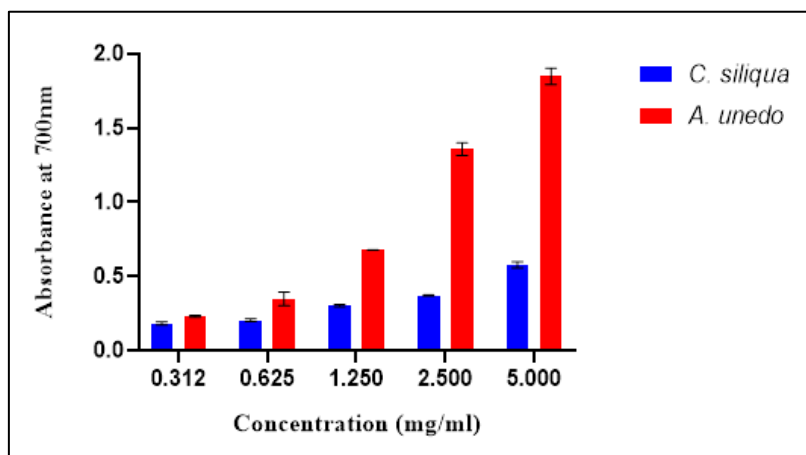


Figure 27. Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques de *C. siliqua* et d'*A. unedo*.

Les résultats obtenus ont montré une augmentation du pouvoir réducteur des deux extraits en fonction de la dose (figure 27). Une augmentation de l'absorbance à 700 nm indique une capacité significative de réduction des ions ferriques en ions ferreux. L'extrait, *A. unedo* ont montré un pouvoir réducteur supérieur, atteignant une absorbance de 1,848 nm à une concentration de 5mg/ml, tandis que l'extrait de *C. siliqua* a montré une absorbance comparativement plus faible de 0,578 à la même concentration.

Les valeurs EC_{50} que nous avons déterminées sont nettement inférieures à celles rapportées par Oliveira et *al.*, (2011) et Mendes et *al.*, (2011), qui ont trouvé des valeurs EC_{50} pour l'extrait d'*A. unedo* de $1,50 \pm 0,10$ mg/ml et de $2,894 \pm 0,049$ mg/ml, respectivement. Cependant, les valeurs EC_{50} que nous avons obtenues pour l'extrait de *C.siliqua* sont plus élevées que celles trouvées par Moubtakir et *al.*, (2024).

Table 12. Valeurs IC_{50} et EC_{50} des extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo*.

Activités antioxydants	Extraits		
	<i>C. siliqua</i>	<i>A. unedo</i>	Acide ascorbique
DPPH (IC_{50} mg/ml)	$1,98 \pm 0,137$	$1,85 \pm 0,009$	$0,16 \pm 0,015$
FRAP(EC_{50} mg/ml)	$0,85 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,042$	$0,15 \pm 0,013$
TAC μ g/ml EAA*	$64,25 \pm 6,54$	$70,37 \pm 6,78$	-

*EAA: équivalent d'acide ascorbique

II.5.3. Activité antioxydante totale (TAC) des extraits

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est essentielle pour son rôle d'antioxydant donneur d'électrons, une caractéristique clé qui sous-tend ses divers effets physiologiques. Agissant comme un puissant agent réducteur et neutralisant des radicaux libres dans les systèmes biologiques, la capacité de la vitamine C à donner des électrons l'aide à contrecarrer ou à s'engager avec les radicaux libres réactifs, réduisant ainsi leur activité (Makris et *al.*, 2004).

Les résultats obtenus dans le tableau 12 ont montré que les extraits méthanoliques de *C. siliqua* et d'*A. unedo* ont une capacité antioxydant totale ($64,25 \pm 6,54$ et $70,37 \pm 6,78$ $\mu\text{g/ml}$ EAA), respectivement.

➤ *Ceratonia siliqua*

La capacité antioxydante totale de l'extrait méthanolique de *C. siliqua* est présentée dans le tableau 12. Leur capacité antioxydante totale était de $64,25 \pm 6,54$ $\mu\text{g/ml}$ d'EAA. Ce résultat est proche de celui trouvé par Ait Ouahioune et *al.*, (2022) ($72,81 \pm 0,09$; $67,22 \pm 3,91$ $\mu\text{g/mL}$ EAA). Une étude rapportée par Mekhoukhe et *al.*, (2019) sur l'activité antioxydante des extraits de caroube a montré que le TAC diminuait dans l'ordre suivant : extrait aqueux d'acétone > extrait aqueux éthanolique > extrait aqueux méthanolique. Leurs TAC respectifs étaient de 112,59 ; 62,73 et 41,83 $\mu\text{g/mL}$. Une autre étude a rapporté que le TAC diminuait dans l'ordre suivant : extrait d'acétone > extrait méthanolique > extrait éthanolique (Lakkab et *al.*, 2019).

➤ *Arbutus unedo*

La capacité antioxydante totale de l'extrait d'*A. unedo* était de $70,37 \pm 6,78$ $\mu\text{g/ml}$ d'EAA. El Mekkaoui et *al.*, (2023) ont trouvé que l'extrait de fruit d'*A. unedo* avait la capacité antioxydante la plus élevée, avec 267,37 mg AAE par rapport à nos résultats. Les capacités antioxydantes rapportées dans la littérature sont difficiles à comparer en raison des différences dans les méthodologies utilisées. Sofia et *al.*, (2010) ont constaté que la capacité antioxydante, évaluée par ORAC, était de ($11,66 \pm 2,01$ mmol TE.100 g⁻¹ dw). Cependant, García-Alonso et *al.*, ont déterminé l'activité antioxydante de 27 fruits, dont la fraise, et ont établi un classement (méthode TEAC) dans lequel la capacité antioxydante de la fraise était exceptionnelle (Garcia-Alonso et *al.*, 2004).

Des recherches approfondies ont mis en évidence le lien entre les capacités antioxydantes des produits naturels et leurs molécules bioactives, en particulier les polyphénols. Cette relation est probablement attribuée aux groupes hydroxyles présents dans les composés phénoliques, qui agissent comme des donneurs d'électrons, rendant ces molécules efficaces pour réduire et désactiver les radicaux libres (Siwar et *al.*, 2021 ; Sour et Taif, 2019). De plus, les études de Benchikh et *al.*, (2014) et de Oliveira et *al.*, (2011) ont montré que ces composés bioactifs ont tendance à être plus concentrés dans les stades prématurés des produits naturels.

II.6. Résultats de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro*

II.6.1. Résultats de l'inhibition de dénaturation des protéines

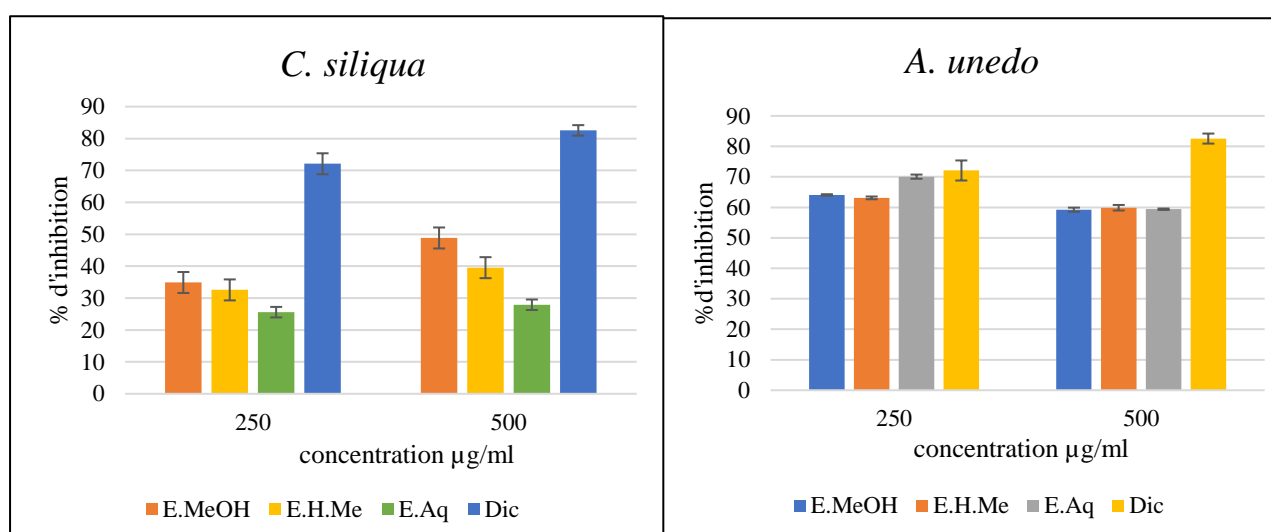


Figure 28. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines albumine d'œuf.

➤ *Ceratonia siliqua*

Tous les extraits (E.MeOH, E.H.Me et E.Aq) et le diclofénac empêche la dénaturation de l'albumine de l'œuf d'une manière dose-dépendante (figure 28). Le diclofénac en tant que médicament anti-inflammatoire standard a montré l'inhibition maximale (72,09 %) à la concentration de 250µg/ml et (82,55%) à 500µg/ml. Le pourcentage maximal de l'effet inhibiteur avec des valeurs de (48,83% et 62,79 %) a été observé dans l'extrait de E.MeOH à la concentration 250µg/ml et 500µg/ml respectivement. Suivi de l'extrait E.H.Me (53,48 % et 41,86 %) à la concentration 250µg/ml, 500µg/ml respectivement.

➤ *Arbutus unedo*

L'inhibition de la dénaturation des protéines ne dépendait pas de la dose (figure 28). L'E.Aq d'*A. unedo* a montré l'activité inhibitrice la plus élevée de la dénaturation des protéines à des concentrations de 250 et 500 µg/ml ($70,064 \pm 0,686$ et $59,385 \pm 0,228$ %, respectivement), suivi par l'E.H.Me à des concentrations de 250 et 500 µg/ml ($63,915 \pm 0,228$ et $58,737 \pm 0,686$ %, respectivement).

Bien que les deux extraits aient révélé des activités d'inhibition très élevées, aucun d'entre eux n'a surpassé le médicament standard diclofénac, déjà mentionné en haut. En comparant l'activité de l'extrait végétal sur la dénaturation de l'albumine, il a été observé que l'extrait d'*A. unedo* était inférieur à celui rapporté par Moualek et *al.*, (2016).

II.6.2. Résultats de Stabilité membranaire des érythrocytes humains

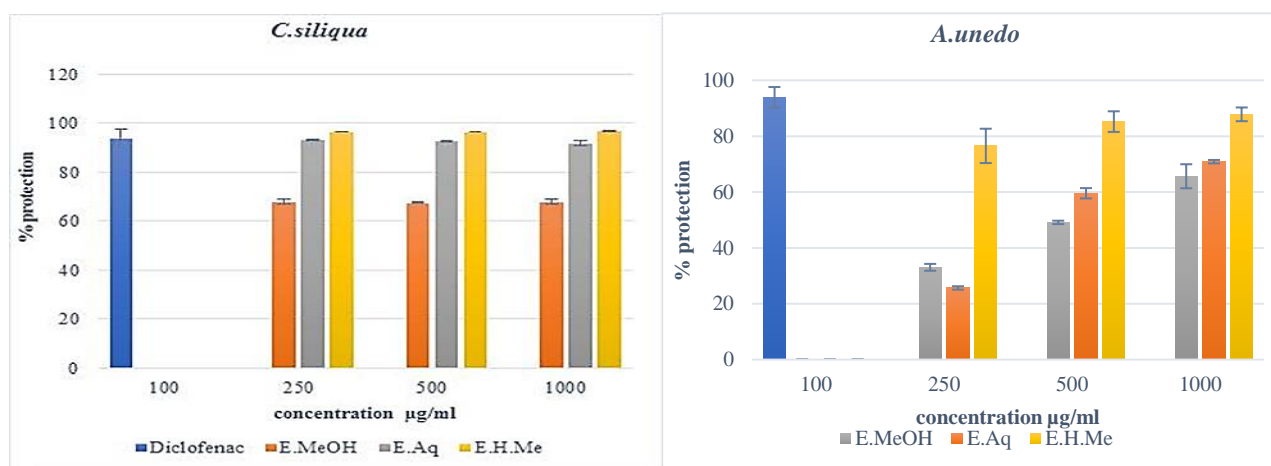


Figure 29. Activité de stabilisation de la membrane HRBC des extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo*.

➤ *Ceratonia siliqua*

D'après les résultats obtenus (figure 29) l'extrait hydrométhanolique et le diclofénac ont montré une activité anti-inflammatoire remarquable pour toutes les concentrations. La concentration de 1 mg/ml a révélé une protection de (96,91%) pour l'E.H.Me et (96,76%) pour le diclofénac. Par ailleurs, l'extrait E.MeOH à la même concentration (1 mg/ml) montré une protection de (67,87%).

Sur la base des résultats obtenus, que les extraits de caroubier ont un effet de stabilisation de la membrane en inhibant les lyses induites par l'hypotonie de la membrane érythrocytaire. Le

maintien de la forme de disque biconcave des globules rouges est important pour leur fonction. D'après Ham et Shen, (1948), les érythrocytes exposés à des températures élevées, se divisent progressivement et changent leur morphologie pour devenir sphériques. Sous ces conditions, les hématies perdent leur capacité à résister à l'hémolyse en perturbant leurs membranes plasmiques. De plus, les résultats obtenus par Ahmed et son équipe (2013) montrent que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), en particulier le Diclofénac, à des doses importantes, modulent la réponse anti-inflammatoire en inhibant l'activation des neutrophiles et d'autres cellules inflammatoires. Bloquer la production d'enzymes telles que la collagénase et l'élastase.

➤ *Arbutus unedo*

Les résultats de l'essai de stabilisation de la membrane (HRBC) présentés à la figure 29 indiquent que l'E.Aq d'*A. unedo* présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé à 500 et 1000 µg/ml ($59,565 \pm 1,844$ et $70,867 \pm 0,614$, respectivement), suivi par l'E.MeOH, qui présente une activité inhibitrice de $49,130 \% \pm 0,614$ et $65,652 \% \pm 4,304$ à la même concentration. Les extraits d'*A.unedo* ont présenté une activité de stabilisation plus faible que le diclofénac sodique standard, qui présentait une inhibition de $93,913 \% \pm 3,689$ à 100 µg/ml.

Ces résultats ont prouvé l'activité anti-inflammatoire de l'extrait qui a montré un bon effet protecteur de la membrane. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Moualek et *al.*, (2016). La dénaturation des protéines est une cause bien documentée de l'inflammation et de l'arthrite rhumatoïde. Mariotto et *al.*, (2014) ont également démontré que l'inflammation pulmonaire aiguë était significativement atténuée par un traitement à l'extrait d'*A. unedo*.

La stabilisation de la membrane lysosomale est un facteur essentiel pour limiter l'inflammation en inhibant la libération du contenu lysosomal par les neutrophiles, qui sont les principaux responsables de l'inflammation et des lésions tissulaires. Le test d'hémolyse des érythrocytes *in vitro* était couramment utilisé pour sélectionner les médicaments en fonction de leur activité anti-inflammatoire. La plupart des médicaments anti-inflammatoires stabilisent la membrane plasmique des érythrocytes et inhibent donc l'hémolyse induite par la chaleur et l'hypotonie (Al-Timimi et Hameed, 2016).

II.7. Toxicité aiguë

Les tests de toxicité aiguë consistent à mesurer et à enregistrer les différents effets indésirables qui surviennent immédiatement après l'administration d'une dose unique de la substance testée. Le test de toxicité orale aiguë chez le rat peut être utilisé pour répondre aux besoins de classification des dangers via la DL₅₀ et pour l'évaluation des risques pour la santé humaine et/ou l'environnement (LeBlanc, 2010).

II.7.1. Observations cliniques et évolution du poids des rats

L'étude de la toxicité générale aiguë des extraits est indispensable pour déterminer leur sécurité d'emploi sans risque d'intoxication. Les observations effectuées au cours d'une période d'expérimentation n'ont montré aucun symptôme clinique grave de souffrance, malgré certains signes cliniques habituels observés, tels que l'anorexie et l'hypoactivité. Ils sont réversibles et apparaissent chez les rats pendant une courte période, après laquelle ils reprennent leur activité normale. Les résultats des observations des signes cliniques dans tous les lots de rats sont présentés dans le tableau 13.

L'absence de signes cliniques graves et de rats morts durant la période d'observation indique que l'extrait de *ceratonia siliqua* et même d'*Arbutus unedo* administrée par voie orale est dépourvue de toxicité aiguë chez les rats. L'étude de toxicité aiguë a révélé que l'extrait de la plante était sans danger pour les rats à une dose limite de 2000 mg/kg.

Tableau 13 : L'effet toxique des extraits polyphénoliques sur des rats traités oralement.

N° lot	Lot 1	Lot 2	Lot 3
Nombre des rats	10	10	10
Substance à gavé	NaCl 0.9%	<i>Ceratoniasiliqua</i> (2g/kg)	<i>Arbutusunedo</i> (2g/kg)
Mortalité	0	0	0
Signes de toxicité	Absence	Absence	Absence

La variation du poids corporel constitue un paramètre très important, elle est utilisée comme indicateur des effets néfastes des composés chimiques Hilaly et *al.*, (2004). La perte de poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal. La diminution de poids chez peut s'expliquer par une réduction de la consommation alimentaire, mais aussi par la possibilité d'interactions dose/absorption et une réduction de la quantité de nourriture absorbée.

Le suivi régulier des rats au cours de l'expérience de la toxicité aiguë nous a amené à obtenir les valeurs présentées à la figure 30, n'a démontré aucun changement significatif durant les 15 jours du traitement dans tous les groupes traités par les deux extraits polyphénoliques comparativement aux rats du groupe témoin.

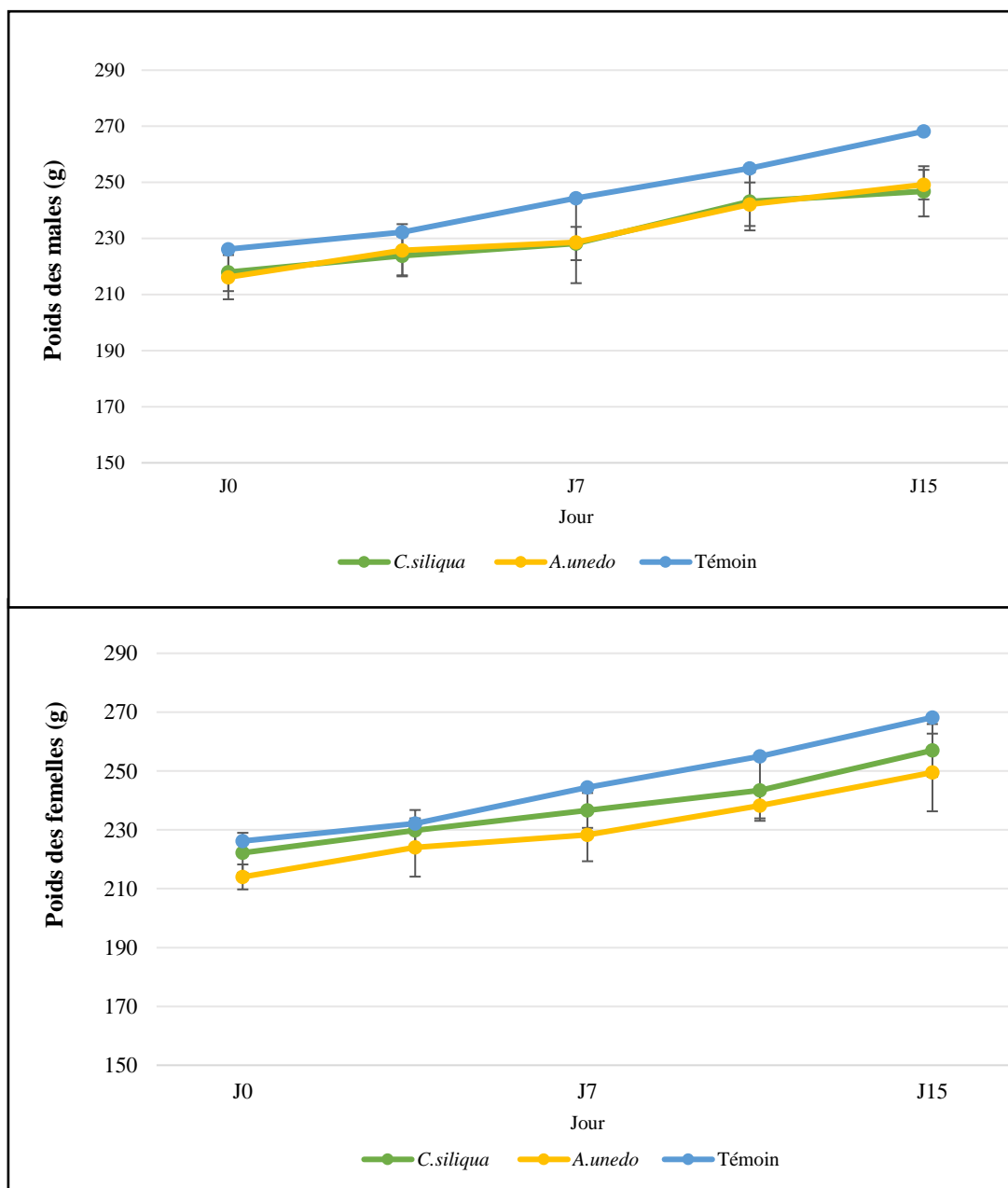


Figure 30. Evolution du poids des rats durant les 15 jours d'observation.

II.7.2. Poids des organes

Après 15 jours, le poids des organes (Cœur, Poumons, Foie, Reins et l'estomac) a été pris pour suivre et confirmer l'action des deux extraits sur les organes durant la période d'expérimentation. Les valeurs sont présentées dans la figure 31.

L'examen macroscopique des différents organes prélevés a montré que leur taille étaient normales chez les deux sexes traités par rapport aux témoins.

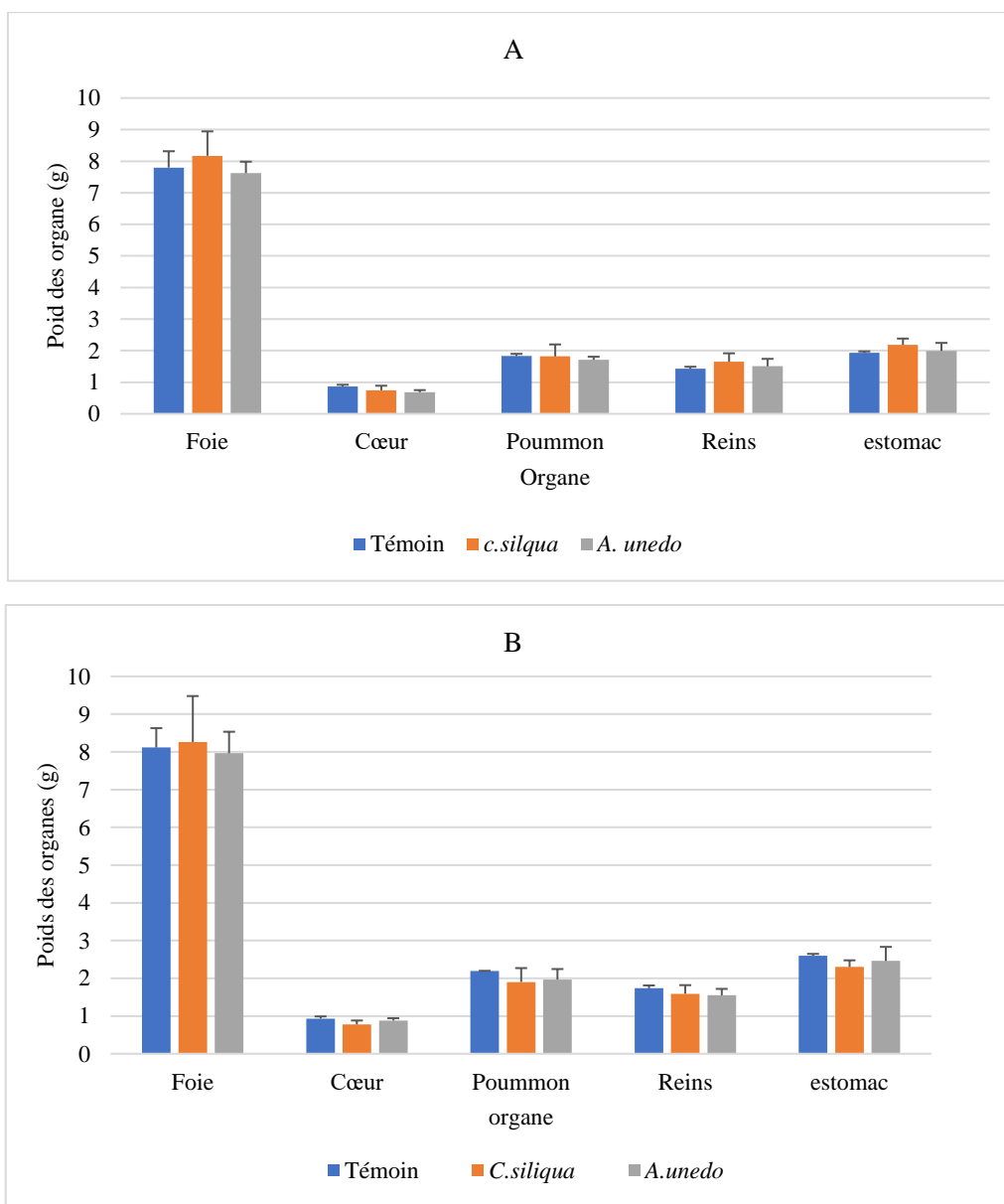


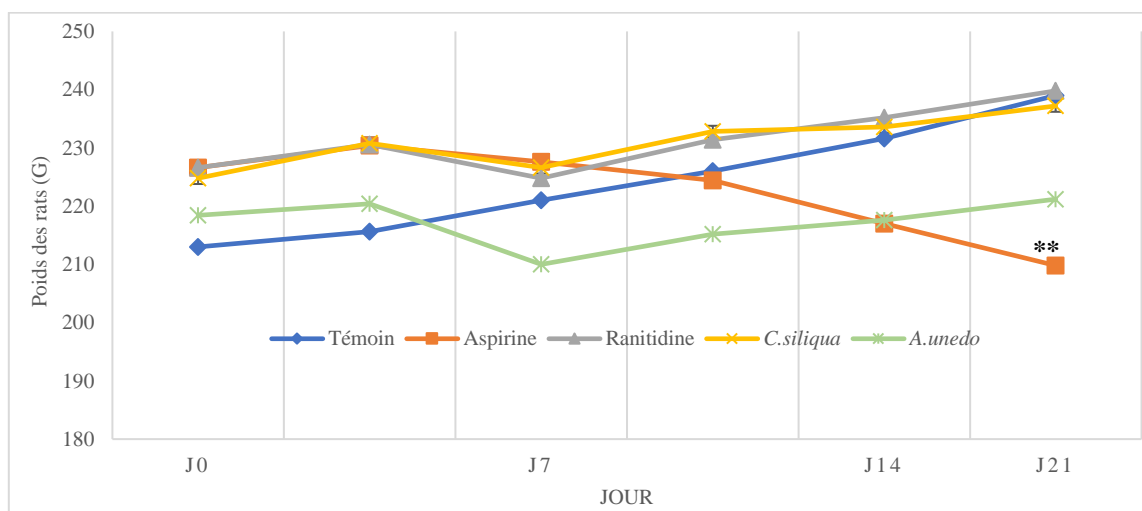
Figure 31. Le poids des organes des rats témoins et traités pour les deux sexes, (A) males et (B) femelles.

Dans la présente étude, nous avons conclu que l'administration orale de 2000 mg/kg d'extraits de *Ceratonia siliqua* et d'*Arbutus unedo* n'avait aucun effet sur le poids du corps ou des organes, et aucun changement de comportement. Les deux extraits peuvent donc être utilisés *in vivo* sans risque toxicologique. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par (Rtibi et al., 2015 ; Aicha et al., 2023 ; Mohammed et al., 2021).

II.8. Résultats de l'activité anti-ulcéreuse *in vivo*

II.8.1. Évolution du poids corporel des rats

Le suivi régulier du poids corporel des rats normaux témoins et traités par Ranitidine, l'extrait de *C. siliqua*, *A. unedo* et les rats malades non traités nous a permis d'obtenir les résultats représentés dans la figure 32. Sachant que les rats ont bénéficié de la même nourriture, en libre accès, et ont été pesés sur la même balance.



** diminution significative

Figure 32. Evolution du poids corporel chez les rats durant la période d'expérimentation.

Nos résultats montrent une diminution significative du poids corporel des rats injectés avec de l'Aspirine, c'est-à-dire des rats malades non traités, par rapport au lot témoin (figure 32). De même pour les rats auxquels on a injecté de l'aspirine puis le médicament (Ranitidine), l'extrait polyphénolique de *C. siliqua* et *A. unedo*, une diminution du poids corporel a été observée, suivie d'une récupération du poids après le 10ème jour suivant le traitement. La réduction du poids corporel est utilisée comme indicateur de la détérioration de l'état de santé général du rat. Ainsi, cette réduction du poids corporel peut être associée à une diminution de la prise alimentaire quotidienne après l'administration d'Aspirine (Moreau et al., 2010).

En revanche, les rats malades non traités ont continué à perdre du poids, en raison de l'influence continue de l'aspirine dans l'organisme du rat, et plus particulièrement dans l'estomac. Ceci pourrait s'expliquer par l'effet de l'Aspirine qui peut provoquer des ulcères gastroduodénaux. En effet, des études antérieures ont montré que l'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissent en inhibant la synthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique (Tanasescu et *al.*, 2000) et par l'inhibition de la cyclo-oxygénase (COX) qui est une enzyme clé catalysant la formation de prostaglandines (Jianyong et *al.*, 2012), comme nous le savons, les prostaglandines sont l'un des facteurs de protection, elles assurent la protection gastrique, jouent un rôle dans la médiation de la douleur et de l'inflammation (Yague, 1989 ; Lullman-Rauche, 2008) de sorte que leur inhibition par l'aspirine contribuera à la formation de l'ulcère.

La récupération du poids corporel peut s'expliquer par l'effet curatif de la Ranitidine et des extraits polyphénoliques de *C. siliqua* et d'*A. unedo* par rapport au lot non traité. Rtibi et *al.*, ont montré que la consommation d'extrait aqueux de gousses de caroube chez les rats améliorait la prise alimentaire et la prise de poids (Rtibi et *al.*, 2016).

Dans ce contexte, cette étude a tenté d'évaluer le potentiel antioxydant et gastro protecteur des extraits polyphénoliques de *C. siliqua* et d'*A. unedo* contre l'ulcère gastrique causé par l'aspirine chez des rats expérimentaux comme modèle animal. Les flavonoïdes présentent de nombreuses activités pharmacologiques notamment cardioprotectrices, neuroprotectrices et anti-inflammatoires. De plus, il a été rapporté que ces constituants agissent au niveau du tractus gastro-intestinal, exerçant des effets antispasmodiques, antidiarrhéiques, anti-sécrétoires et antiulcéreux et anti-inflammatoires intestinaux (Serafim et *al.*, 2020)

II.8.2. Evaluation des paramètres biochimiques

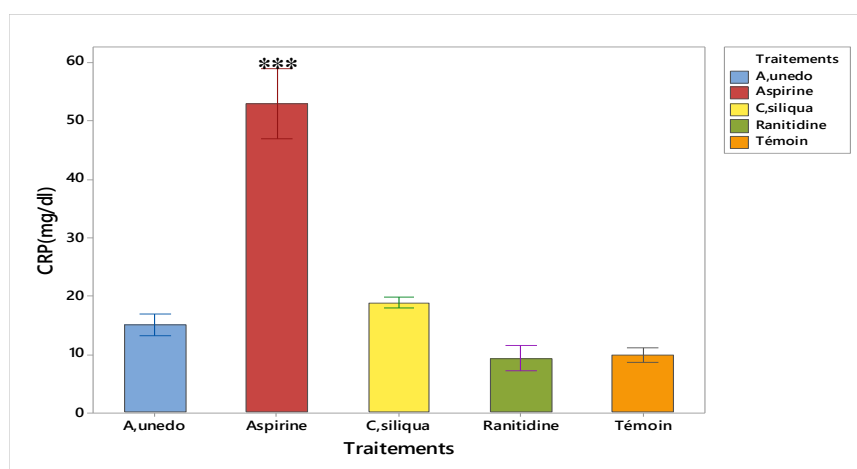
Au cours de notre expérimentation, nous avons intéressé au suivi de quelques paramètres biochimiques (la Protéine C-Réactive (CRP) ; la phosphatase alcaline (PAL), la créatinine, l'aspartate aminotransférase (ASAT), l'alanine aminotransférase (ALAT), (Annexe 2).

➤ Protéine C-Réactive (CRP)

Les valeurs de la CRP obtenues chez les différents groupes des rats sont présentées dans la figure 34. L'inflammation est l'ensemble des mécanismes réactionnels de défense par lesquels l'organisme reconnaît, détruit et élimine toutes les substances qui lui sont étrangères. La réaction inflammatoire dépasse parfois ses objectifs et cause des effets délétères (Iwalewa et

al., 2007 ; Medzhitov, 2010). La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses de type anti-inflammatoire non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), ce sont des médicaments largement utilisés, mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier la toxicité sur le système rénal et digestif (irritations digestives pouvant aller jusqu'à l'ulcération gastrique) (Das et *al.*, 2010). La protéine C-réactive (CRP) est une protéine pro-inflammatoire de la phase aiguë produite par le foie en réponse à une infection, une blessure, un traumatisme ou une inflammation (Hariharan et Kabrhel, 2011 ; Kainth et Gigliotti, 2014). D'après les résultats obtenus, les valeurs de CRP chez les rats des 04 lots (Malades non traités (aspirine), Ranitidine, *C. siliqua* et *A. unedo*) étaient significativement élevées comparée aux résultats chez les autres groupes. Le groupe malade a montré une augmentation significative de $52,96 \pm 12,19$ mg/dl.

La CRP est élevée, dans la plupart des cas ce qui signifie la présence d'une inflammation aiguë. Mais elle peut également indiquer la présence d'une maladie inflammatoire chronique (un cancer ou une maladie cardiaque) ou une infection, la valeur de CRP sont proportionnelles au niveau de lymphocytes T. Compte tenu de la relation connue entre CRP et IL-6, il est suggéré que l'IL-6 produite peut être en partie responsable des élévations de la CRP systémique observées (Matsumoto et *al.*, 2006). IL-6 est connu pour être le principal régulateur de la production de CRP et peut avoir un rôle dans le processus d'ulcère gastrique. IL-6 est connu d'effet direct sur les chondrocytes et stimule les cellules T (Legendre et *al.*, 2003). Un autre stimulus potentiel de la production de CRP par les hépatocytes est l'IL-1. Cette cytokine semble fonctionner en synergie avec l'IL-6 pour promouvoir la production de CRP (Aronson et *al.*, 2006).



*** Augmentation significative

Figure 33. Variations de la protéine C-Réactive chez les rats témoins et traités.

L'administration de l'extrait polyphénoliques de *C. siliqua*, *A. unedo* et le médicament (Ranitidine®) a favorisé une réduction des valeurs de la CRP à $9,31 \pm 4,24$; $18,82 \pm 1,88$; $15,01 \pm 3,85$ mg/dl, respectivement. Ainsi, l'administration des différents traitements (extrait de *C. siliqua*, *A. unedo* et Ranitidine®) a diminué les valeurs de CRP par rapport au groupe de rats malades.

Les activités antiradicalaires de l'extrait polyphénoliques de *C. siliqua*, *A. unedo* pourraient être attribuées à la composition et aux caractéristiques spéciales des polysaccharides présents (Mariod et al., 2009) et (Locatelli et al., 2010). Les extraits qui présentent les plus fortes teneurs en composés phénoliques possèderaient les activités antioxydantes les plus élevées. Les polyphénols étant reconnus comme ayant des fortes propriétés antioxydantes (Muanda, 2010). Cependant, la présence d'autres molécules que les polyphénols dans ces extraits ou alors la nature des sucres présents pourraient être responsables des activités observées.

➤ Phosphatase alcaline (PAL)

Les résultats obtenus concernant les variations de l'enzyme hépatique PAL chez les souris sont illustrés dans la figure 34.

Les résultats ont montré une légère variation de l'activité de l'enzyme phosphatase alcaline (PAL) chez les rats traités par l'Aspirine par rapport aux rats témoins et aux rats traités aux extraits polyphénoliques. En revanche, nous avons noté une variation de l'activité PAL chez les rats traités à l'aspirine avec une valeur de $217,42 \pm 35,27$ par rapport aux rats traités aux extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo* à $192,45 \pm 33,3$ et $191 \pm 36,86$, respectivement.

A partir des résultats obtenus, on peut déduire l'impact positif du traitement par l'extrait extraits polyphénoliques de *C. siliqua*, *A. unedo* serait donc due à leur composition phytochimique, ces résultats obtenus sont en accord avec ceux publiés par Thommas et son équipe (2012) qui montrent qu'il y a une activité hépato-protectrice sur le foie car la plante est riche en flavonoïdes, ce qui lui confère ses propriétés thérapeutiques dans l'hépatite qu'il régénère et protège la cellule hépatique. L'extrait des feuilles *Ceratonia siliqua* L de indique que l'extrait empêche l'augmentation de l'enzyme hépatique « PAL », Cela peut être dû à la composition chimique des feuilles de cette plante.

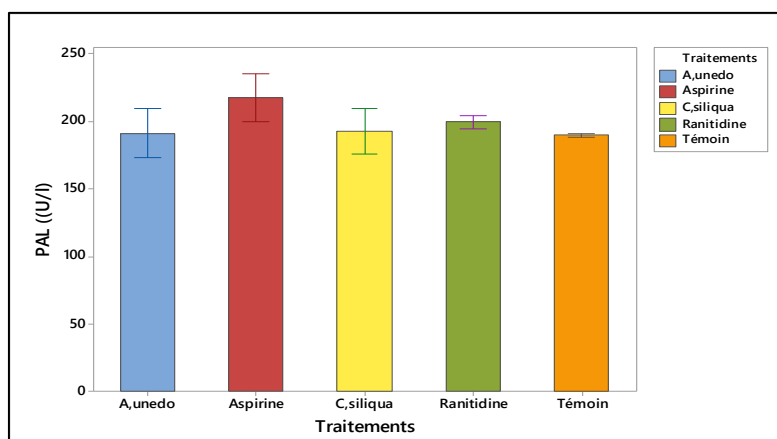
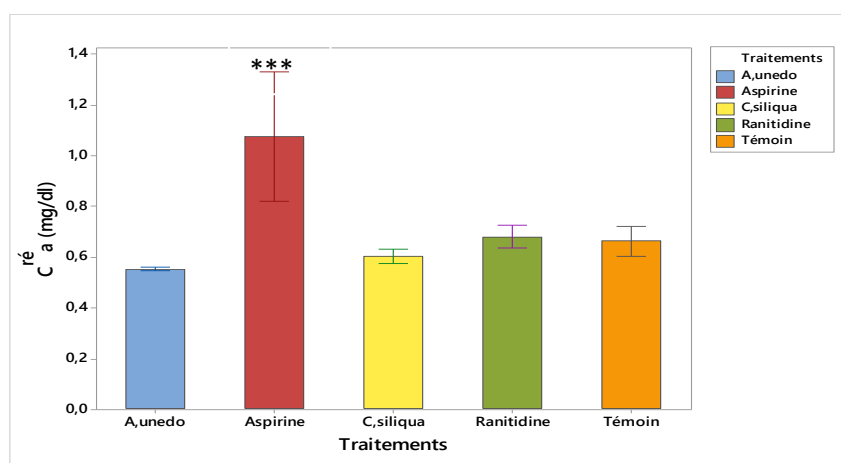


Figure 34. Variations de la phosphatase alcaline chez les rats témoins et traités.

➤ Créatinine

Les résultats obtenus concernant les variations de la créatinine chez les rats sont illustrés dans la figure 35. Dans la présente étude nos résultats indiquant une augmentation significative des valeurs de créatinine chez les rats traités à l'aspirine par rapport aux rats témoins et aux rats traités à l'extrait polyphénolique de *C. siliqua*, *A. unedo* et à la Ranitidine®.

Nos résultats montrant que l'aspirine provoque une augmentation significative de la créatinine. Ceci peut justifier un risque de lésions rénales et une détérioration du métabolisme endogène des rats traités (Anne et Ménard., 2002).



*** Augmentation significative

Figure 35. Variations de la créatinine chez les rats témoins et traités.

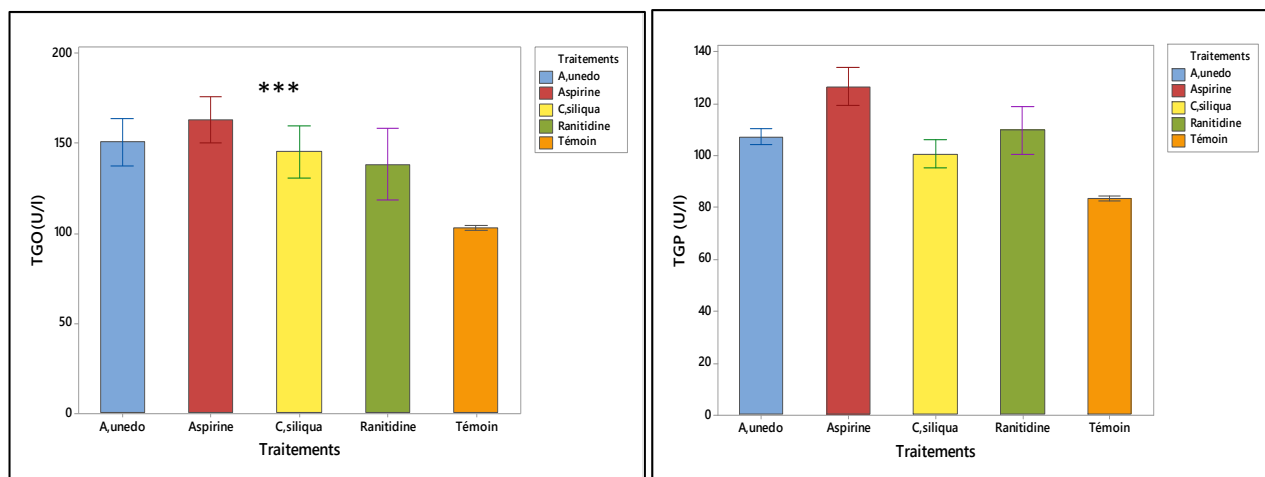
Nos résultats démontré le rôle bénéfique des extraits de *C. siliqua*, *A. unedo* et Ranitidine® sur la fonction rénale. Nous avons enregistré une normalisation des valeurs de créatinine chez les rats traités avec les extraits par rapport aux rats du lot témoin. La caroube est notamment utilisée dans le secteur pharmaceutique et en cas d'insuffisance rénale chronique, elle va retenir la créatinine, l'acide urique et les phosphates dans le tube digestif, provoquant une baisse significative et bénéfique de l'urée sanguine (Berrougui, 2007). D'autre part, Karlo et al., (2018) ont étudié la fonction rénale en utilisant les niveaux de créatinine et ont constaté que l'extrait de fraise présentait une biocompatibilité élevée avec les tissus rénaux. Il n'a pas altéré la fonction rénale chez les rats.

Lorsque l'insuffisance rénale s'installe, la créatininémie augmente. C'est ce que nous avons observé chez les rats malades. De plus, l'augmentation de la créatinine indique une diminution de la capacité des reins à filtrer ces déchets du sang et à les excréter dans l'urine (Feig et al., 2006).

➤ **Transaminases (ASAT, ALAT)**

Les résultats obtenus concernant les concentrations plasmatique de **ASAT, ALAT** chez les rats sont illustrés dans la figure 36. D'après les résultats obtenus, l'injection d'aspirine et la ranitidine chez les rats a provoqué une augmentation significative des enzymes hépatiques (ALAT), probablement liée au stress lors de l'installation de l'ulcère gastrique (Pfaender et al., 2006). Alors que l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) était dans les normes pour tous les groupes, elle ne dépassait pas 150 U/L, sauf que chez les rats malades non traité on observe une légère augmentation. Ainsi, une stabilité des valeurs des transaminases a été remarquée pour le groupe témoin. Nous pouvons expliquer cette augmentation par l'effet hépatotoxique de l'aspirine chez les rats (Giovanni et al., 2015). Des études antérieures ont fait état de cas occasionnels d'hépatite, soit hépatocellulaire, soit hépato-canaliculaire, soit les deux, avec ou sans ictère, après administration orale de ranitidine (Ran, 2015).

Les résultats ne montrent aucun changement significatif dans aucun de ces paramètres pendant la période de traitement avec les extraits polyphénoliques des plantes étudiées. Ceci indique l'absence de lésions hépatiques, et de sécrétion et d'élimination rénales



*** Augmentation significative

Figure 36. Variations des transaminases chez les rats témoins et traités.

Une étude antérieure a révélé que l'enzyme Gamma Glutamyl Transférase (GGT est une enzyme liée à la membrane et ces des indicateurs bien connus dans les dommages cellulaires et tissulaires par des substances toxiques) s'échapperaient alors de l'hépatocytes gonflés et nécrotiques (à cause du CCL4 le tétrachlorure de carbone) dans la circulation sanguine et des niveaux évidemment élevés sont obtenus, c'est-à-dire associés à la nécrose centro-lobulaire massive, à la dégénérescence et à l'infiltration cellulaire du foie. Il a été démontré que certaines plantes diminuent les effets hépatotoxiques du CCl4 grâce à leurs activités antioxydantes (Fadhel et Amran,2002), et comme notre extrait de *C. siliqua*, *A. unedo* est douée d'une activité antioxydante très importante et considérable mentionnée dans l'étude de et évaluée dans les tests antioxydants (DPPH, FRAP et TAC). Cela indique que l'extrait de *Ceratonia siliqua* L et d'*Arbutus unedo* ont diminué les dommages cellulaires et tissulaires provoqués par le CCL4. On peut supposer que l'administration de l'extrait a protégé le foie contre le CCL4.

II.8.3. Poids relatif des organes

À la fin du traitement, tous les rats ont été sacrifiés et les organes (foie, cœur, rate, reins, poumons et estomac) ont été prélevés, observés et pesés.

Les valeurs de masse relative des organes internes prélevés sur les différents groupes de rats témoins et ceux recevant les différentes substances préparées sont élucidées dans la figure 37.

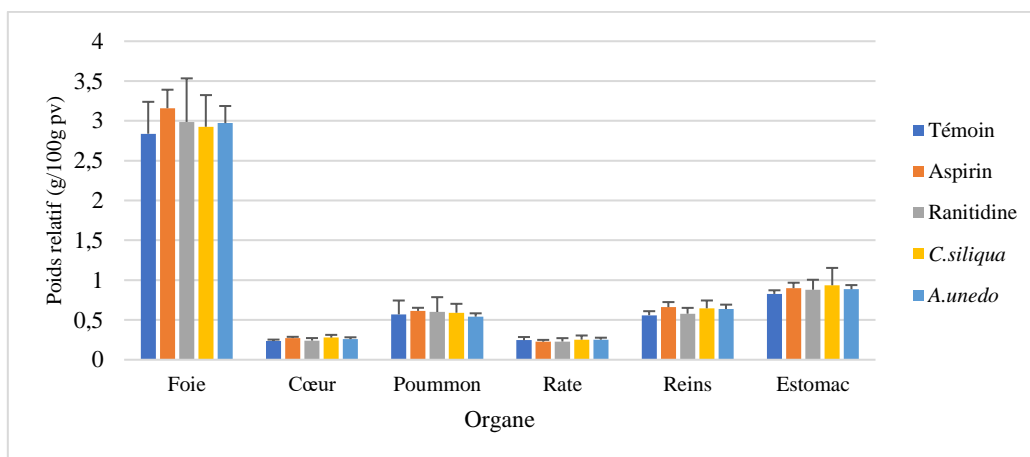


Figure 37. Poids relatif des différents organes chez les différents groupes de rats.

Le suivi du poids absolu des organes montre que les poids du cœur, des poumons, des reins et de la rate des rats traités et non traités sont proches de ceux des rats témoins normaux (Figure 37). En revanche, notre étude montre une légère augmentation du poids du foie chez les rats malades non traités. Les causes responsables d'une hépatomégalie peuvent être d'origine très diverse, car le foie remplit de nombreuses fonctions essentielles à l'organisme (telles que le stockage de nutriments, la production de protéines et la filtration d'éléments toxiques), aussi en cas d'inflammation, les cellules qui composent le foie peuvent gonfler.

Dans notre étude, l'inflammation hépatiques peuvent être d'origine médicamenteuse (Aspirine). L'aspirine est complètement hydrolysée en acide salicylique, moins actif dans le foie, qui est ensuite transformé en acide salicylurique et en acide gentisique (Al-abdaly et *al.*, 2021). L'acide salicylique est connu comme étant toxique à fortes quantités peut causer des dommages au foie et des effets sur la croissance des rats (Selves et *al.*, 2013).

II.8.4. Evaluation macroscopique

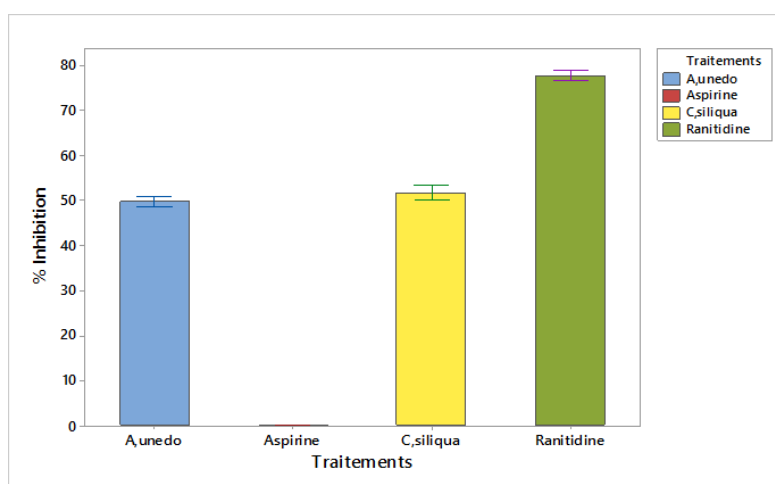
➤ Indice ulcéreux et pourcentage d'inhibition d'ulcère gastrique

La figure 39 (A-E) montre des images représentatives d'estomacs de rats de différents groupes. Les rats ayant reçu de l'aspirine présentaient de graves lésions de la muqueuse gastrique, alors que les rats du groupe normal ne présentaient aucune lésion macroscopique (Tableau 14).

Tableau 14 : Effet des extraits polyphénoliques sur l'indice d'ulcère gastrique.

Groupe	Scor total	Indice d'ulcer
Témoin	0	0
Aspirine	26 ± 1,41	6,5 ± 0,35
Ranitidine	5,75 ± 0,35	1,43 ± 0,08
<i>C. siliqua</i>	12,5 ± 0,70	3,125 ± 0,17
<i>A. unedo</i>	14 ± 1,41	3,5 ± 0,35

L'administration d'aspirine a entraîné de graves lésions de la muqueuse gastrique, avec un score total et un indice d'ulcère gastrique élevés par rapport au groupe témoin (tableau 14). Cependant, le traitement par la ranitidine a entraîné une diminution significative du score et de l'indice d'ulcère gastrique, ainsi qu'une augmentation du pourcentage d'inhibition de l'ulcère (figure 38), les groupes *C. siliqua* et *A. unedo* ont montré une réduction efficace de la sévérité des dommages gastriques avec un pourcentage d'inhibition (51,775 % ± 5,33 ; 45,92 % ± 8,37), respectivement par rapport au groupe aspirine. Il est intéressant de noter que la protection offerte par la caroube et le fruit de l'arbousier était comparable à celle de la ranitidine, un médicament antiulcéreux standard.

**Figure 38.** Pourcentage d'inhibition d'ulcère chez les rats témoins et traités.

A**B****C****D****E**

Figure 39. Des images représentatives montrent les changements macroscopiques dans l'estomac du rat. **A**, muqueuse gastrique normale du groupe témoin sans lésions visibles, **B**, muqueuse gastrique du groupe traité à l'aspirine avec nécrose sévère, **C**, muqueuse gastrique du groupe traité à la ranitidine montrant des images plus ou moins similaires à celles du groupe témoin, **D** et **E**, muqueuse gastrique des groupes traités à l'extrait polyphénolique de *C. siliqua* et *A. unedo*, respectivement, montrant une nécrose légère de la muqueuse gastrique.

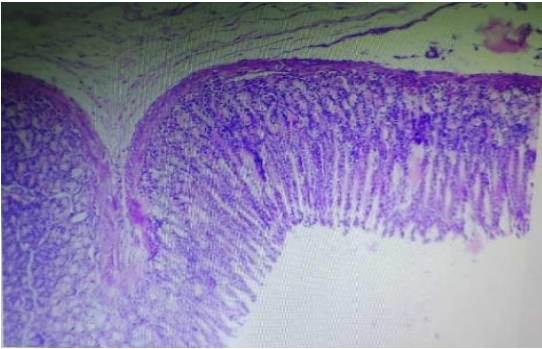
II.9. Résultat de l'étude histopathologique (Evaluation microscopique)

Pour confirmer les résultats macroscopiques mentionnés, un test histopathologique correspondant a été réalisé. Comme le montre la figure 40, la muqueuse gastrique des rats du groupe normal était lisse et plate, et la disposition des cellules épithéliales basales était serrée. En revanche, les rats traités à l'aspirine présentaient une destruction profonde de toutes les couches de l'estomac, ainsi que des signes d'inflammation sous-muqueuse, notamment une congestion des vaisseaux sanguins et une infiltration de cellules mononucléaires, par rapport aux rats normaux, qui présentaient des couches normales de l'estomac sans aucun signe de détérioration.

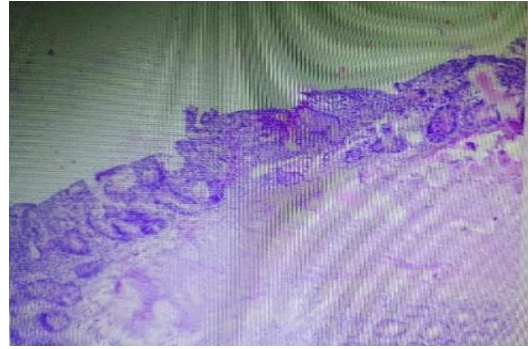
D'autre part, le traitement avec la Ranitidine[®] a amélioré l'altération structurelle avec une muqueuse complètement réparée et de légers signes d'inflammation. L'absence d'ulcères et une muqueuse complètement réparée ont également été observées chez les rats ulcérés traités avec des extraits polyphénoliques, nous pouvons dire que les mêmes résultats ont été observés chez les rats traités avec des médicaments standards (Ranitidine[®]).

En outre, tous les groupes traités ont montré des effets protecteurs avec moins d'inflammation gastrique, les rats traités avec les extraits polyphénoliques bénéficiant d'une meilleure protection contre l'ulcération gastrique, comme en témoignent la réduction de l'œdème sous-muqueux, la suppression de l'infiltration leucocytaire et la réduction de la surface de l'ulcère, ce qui indique que l'extrait aqueux de *C. siliqua* et d'*A. unedo* atténue de manière significative les changements pathologiques dans l'ulcération gastrique induite par l'aspirine.

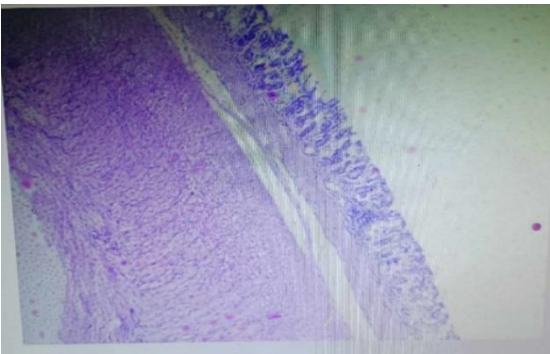
A



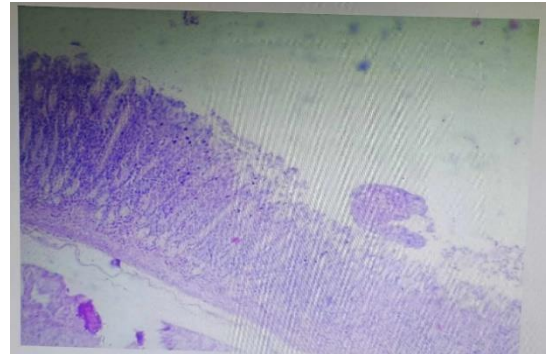
B



C



D



E

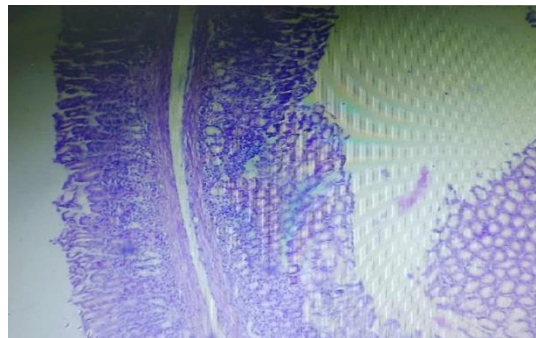


Figure 40. Effet du extraits polyphénolique et le médicament standard sur l'évaluation histologique de la muqueuse gastrique dans les lésions de la muqueuse gastrique induites par l'aspirine chez le rat (grossissement 100 ×). (A) Groupe témoin ; (B) Groupe traité par l'aspirine (ulcérogène) ; (C) groupe traité par Ranitidine, (D) groupe traité par *C.siliqua*, (E) groupe traité par *A. unedo*.

Moubtakir et *al.*, (2024) ont montré que les propriétés thérapeutiques de *Ceratonia siliqua* sont attribuées à son abondance de polyphénols et de stérols, qui jouent un rôle important dans ses effets anti-inflammatoires et antiulcéreux. Les propriétés anti-inflammatoires et antiulcéreuses de *C. siliqua* font qu'il est important de poursuivre les recherches en tant que source d'ingrédients pharmaceutiques actifs.

D'autre part, *Arbutus unedo* est l'une des plantes contenant de l'arbutine, une substance naturelle que l'on trouve dans la famille des Ericaceae (Medha et *al.*, 2023). Zhang et *al.*, (2019) ont montré dans leur étude que l'arbutine avait la capacité de réduire l'inflammation en abaissant les niveaux du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), de l'interleukine-6 et de la voie du récepteur des œstrogènes. Selon Lee et *al.*, (2012) l'arbutine réduit la production d'oxyde nitrique et l'expression de la cyclooxygénase (COX-2) et de l'oxyde nitreux synthétase. Le mode d'action de l'arbutine inclurait également la suppression des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-1b, le facteur nécrotique de tumeur- α , ainsi que la réduction de la capacité d'adhésion cellulaire et de la production de molécules d'adhésion.

Dans la présente étude, nous avons évalué les effets gastro-protecteurs des extraits polyphénoliques de *Ceratonia siliqua* et d'*Arbutus unedo* sur les ulcères gastriques aigus induits par l'aspirine chez le rat. Nos résultats indiquent que *C. siliqua* et *A. unedo* peuvent réduire de manière significative le stress oxydatif gastrique induit par l'aspirine et supprimer la voie NF- κ B qui affecte l'expression des cytokines pro-inflammatoires en aval TNF- α et IL-6 et les médiateurs inflammatoires iNOS et COX-2, ce qui peut en fin de compte conduire à la diminution des dommages tissulaires et contribuant ainsi à améliorer les lésions ulcéreuses gastriques (Yuan et *al.*, 2022). Ces effets protecteurs peuvent s'expliquer par la richesse des plantes étudiées en métabolites secondaires.

La voie de la cyclooxygénase (COX) joue un rôle crucial dans la production et la libération des prostaglandines inflammatoires. Plusieurs rapports confirment l'activité immunomodulatrice exercée par les flavonoïdes, faisant des plantes riches en ces métabolites de formidables agents anti-inflammatoires (Moubtakir et *al.*, 2024). Sur cette base, nous nous sommes tournés vers l'utilisation du fruit de *Ceratonia siliqua* et d'*Arbutus unedo* pour traiter l'inflammation et la prévention de l'ulcère gastrique.

Les flavonoïdes augmentent la teneur en prostaglandines de la muqueuse, réduisent la sécrétion d'histamine par les mastocytes en inhibant l'histidine décarboxylase, inhibent la

croissance de *Helicobacter pylori*, et agissent comme des piègeurs de radicaux libres (Wenji et *al.*, 2020 ; Kelly et *al.*, 2009).

D'autre part, les saponines peuvent activer des facteurs de protection dans la muqueuse, tandis que les tanins rendent la couche externe de la muqueuse moins perméable, par exemple, à l'irritation chimique. En outre, les coumarines, les terpénoïdes et les alcaloïdes auraient une activité puissante contre les ulcères gastriques (Ahmed et *al.*, 2023 ; Heloina et *al.*, 2008).

Les polyphénols ; dont principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques comme l'acide caféique et l'acide gallique ; sont capables de réduire la surface des lésions gastriques. De même, ces derniers montrent une activité antibactérienne très importante contre *Helicobacter pylori*, responsable de l'ulcère de l'estomac et du duodénum (Funatogawa et *al.*, 2004 ; Ruggiero et *al.*, 2006). De plus, des études antérieures ont montré que la quercétine a un effet thérapeutique significatif sur les lésions gastriques induites chez les rats (Shams, Eissa., 2022).

Les résultats de LC-MS/MS ont montré que *C. siliqua* et *A. unedo* sont riches en acide caféique, acide gallique et quercétine, ce qui nous permet de conclure que l'effet antiulcéreux des plantes étudiées est lié à leur richesse en métabolites secondaires.

Conclusion Générale
Et
Perspectives

Notre travail de recherche est centré sur la valorisation de deux espèces Algériennes largement connues : *Ceratonia siliqua* et *Arbutus unedo*. Cette étude comprend une analyse phytochimique, biologique et toxicologique des extraits obtenus à partir de différents solvants. L'objectif est d'identifier les composants bioactifs présents dans ces plantes, d'évaluer leur activité biologique et de déterminer leur innocuité.

Les études phytochimiques basées sur des tests préliminaires révèlent que les différents extraits de *Ceratonia siliqua* et d'*Arbutus unedo* étaient riches en métabolites secondaires. La détermination quantitative de la teneur totale en polyphénols et en tanins a révélé que l'extrait méthanolique de *C. siliqua* était le plus riche, avec des teneurs de $102,83 \pm 2,07$ mg EAG/g et $23,14 \pm 1,01$ mgEC/g respectivement.

Ensuite, nous avons évalué l'activité antioxydante *in vitro* des différents extraits à l'aide de trois méthodes : DPPH, capacité antioxydante totale (CAT) et pouvoir réducteur FRAP. Néanmoins, la meilleure activité a été observée dans les extraits méthanoliques de *C. siliqua* et *A. unedo* avec $IC_{50} = 1.98 \pm 0.137$; 1.85 ± 0.009 mg/ml, comparé à l'antioxydant synthétique (acide ascorbique) avec $IC_{50}=0.16 \pm 0.015$ mg/ml, $CAT= 64.25 \pm 6.54$ 70.37 ± 6.78 μ g/ml AAE et FRAP, $EC_{50}=0.85 \pm 0.04$ 0.82 ± 0.042 mg/ml, respectivement.

En outre, les extraits de *C. siliqua* et d'*A. unedo* ont montré une très forte activité anti-inflammatoire. Ces résultats *in vitro* ont été confirmés *in vivo*. L'absence de signes cliniques graves de toxicité et de rats morts pendant la période d'observation indique que les extraits de *C. siliqua* et même d'*A. unedo* administrés par voie orale sont dépourvus de toxicité chez les rats. En revanche, *C. siliqua* et *A. unedo* ont montré une réduction efficace de la sévérité des lésions gastriques avec un pourcentage d'inhibition ($51,775 \% \pm 5,33$; $45,92 \% \pm 8,37$), respectivement. Il est intéressant de noter que la protection offerte par les gousses de caroube et les fruits d'arbousier était comparable à celle de la ranitidine ($77,82 \% \pm 2,06$), un médicament antiulcéreux standard.

Ceci permettra dans le futur l'isolement de molécules potentiellement actives et des applications *in vivo* dans le traitement des certaines pathologies qui pourraient être envisagées pour valider ces premiers résultats. Ces études pourront être approfondies par d'autres :

- 1) Fractionnement et isolement des biomolécules actives contenues dans les extraits testés par des méthodes plus spécifiques.
- 2) Evaluation des effets biologiques étudiés dans le présent travail sur les molécules isolées.

3) Evaluation d'autres effets biologiques *in vitro* comme *in vivo* des extraits polyphénoliques et de leurs composés actifs.

4) Toutefois, nous estimons que cette étude doit être complétée par une autre étude sur l'utilisation de l'aspirine, qui provoque des ulcères gastriques, et que des études sont nécessaires pour confirmer s'il existe d'autres effets néfastes sur la santé humaine.

Il est donc impératif de traduire ces connaissances traditionnelles et orales en connaissances scientifiques, afin de les valoriser et de les conserver ; il s'agit en effet de sauvegarder une partie d'un patrimoine très imparfaitement inventorié, et dont beaucoup restent à comprendre, voire à valoriser. Les scientifiques disposeraient ainsi de composés inestimables qui pourraient servir de point de départ à la mise au point de nouveaux médicaments et produits de bien-être.

Enfin, nous considérons ce travail comme une contribution à la recherche dans ce domaine et nous espérons, avec nos résultats, avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la disponibilité de plantes médicinales locales efficaces et accessibles pour le traitement de l'ulcère gastrique.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

-A-

- **Aafi A., 1996.** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua*. L). Centre National de la Recherche Forestière, Rabat.
- **Abdelnour R., Arnold N., 2004.** Contribution à l'étude ethnopharmacologique et pharmacognosique des drogues médicinales les plus utilisées et vendues par les herboristes du Liban et recherche de leurs falsifications.
- **Abebaw M., Bharat M., Dessalegn A., 2017.** Evaluation of anti-ulcer activity of the leaf extract of *Osyris quadripartita* Decne. (Santalaceae) in rats. *Journal of Experimental Pharmacology* :9 1–11.
- **Abramovič H., 2015.** Chapter 93-Antioxidant properties of hydroxycinnamic acid derivatives: A focus on biochemistry, physicochemical parameters, reactive species, and biomolecular interactions. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier.
- **Adjoungoua A.L., Koffi A., Traore F., et Diafouka F., 2008.** Etude Phytochimique et Toxicologique de *Ziziphus mauritiana*, (Rhamnaceae), Une Plante Anti-hypertensive. *Med. Pharm. Afr*, Vol 21,73-82.
- **Adlercreutz H., Mazur W., 1997.** Phyto-oestrogens and Western diseases. *Annals of Medicine*, 29, 95–120.
- **Afkir S., Nguelack T.B., Aziz M., 2008.** *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 116:288–95
- **Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A., 2007.** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxyde dismutases μ rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74 : 636–643.
- **Ahmed I.A., Mikail M.A., Bin Ibrahim M., Bin Hazali N., Rasad M.S.B.A., Ghani R. A., 2015.** Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised *Baccaurea angulata* fruit. *Food Chemistry* 172, 778-787.
- **Ahmed O., Nedi T., Yimer E.M., 2022.** Evaluation of anti-gastric ulcer activity of aqueous and 80% methanol leaf extracts of *Urtica simensis* in rats. *Metabolism Open* 14, 100172
- **Aiassa V., Zoppi A., Albesa I., Longhi M.R., 2015.** Inclusion complexes of chloramphenicol with β -cyclodextrin and aminoacids as a way to increase drug solubility and modulate ROS production. *Carbohydrate Polymers* 121, 320-327.

- **Aicha M., Zineb M., Sihem H., Nadia Z., Amira N., Abdelmalik B., 2023.** Phytochemical Investigation of Algerian *Ceratonia siliqua* L. Leaves Extract, Evaluation of the Antioxidants, and Analgesic Effects. *Egypt. J. Chem.* Vol. 66, No. 3 pp. 519 – 528.
- **Ait Chitt M., Belmir M., Lazrak A., 2007.** Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. *Transfert de technologie en Agriculture*, N°153, IAV Rabat, pp : 1-4.
- **Ait lhaj Z., Bchitou R., Gaboun F., Abdelwahd R., Benabelouahab T., Kabbour M.R., Pare P., Diria G., Bakhy K., 2021.** Moroccan Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Fruits: Nutritional Value and Mineral Composition. *Foods* 2021, 10, 2263. <https://doi.org/10.3390/foods10102263>
- **Al-abdaly Y.Z., Saeed M.G., Al-Hashemi H.M., 2021.** Effect of methotrexate and aspirin interaction and its relationship to oxidative stress in rats. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 35, (151-156). DOI: 10.33899/ijvs.2020.126490.1335
- **Alain B., Bertrand M., Fourestier M., 1980.** Dictionnaire des constantes biologiques et physiques. 5^{ème} édition Maloin : 523.
- **Alain D.P.B., Banga B., 2011.** Sciences et nature antioxydants in arterial hypertension. In: *Lipid Peroxidation*. Intech, Open Access Publisher, Academic Press, 1(17): 345-392
- **Alain F., 2003.** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*. p108-115
- **Alarcão-E-Silva M., Leitão A.E.B., Azinheira H.G., Leitão M.C.A., 2001.** The Arbutus Berry: Studies on its Color and Chemical Characteristics at Two Mature Stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, pp. 27-35.
- **Alvarez-Suarez J.M., Dekanski D., Ristic S., Radonjic N.V., Petronijevic N.D., Giampieri F., Astolfi P., Gonzalez-Paramas A.M., Santos-Buelga C., Tulipani S., Quiles J.L., Mezzetti B., Battino M., 2011.** Strawberry polyphenols attenuate ethanol-induced gastric lesions in rats by activation of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. *PLoS One* 6, 258-278
- **Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J. A., 2004.** Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84, 551 – 562.
- **Ames B.N., Gold L.S., Willett W.C., 1995.** The causes and prevention of cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 92: 5258-65.

- **Amtul M., Mohammed Ashfaq H., Syed S.K.H., Ghousia T., Shaik M. A., 2019.** Anti-Ulcer Activity of Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Pages: 96-102
- **Anhê F.F., Desjardins Y., Pilon G., Dudonné S., Genovese M.I., Lajolo F.M., Marette A., 2013.** Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review. *Pharma. Nutrition* 1, 105-114.
- **Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S. E., Bektaşoğlu B., Berker K. I., Özyurt D., 2007.** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compound with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496-1547.
- **Arapitsas P., 2012.** Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food Chemistry* 135, 1708-1717.
- **Aronson D., Goldberg A., Roguin A., Petcherski S., Rimer D., 2005.** Effect of obesity on the relationship between plasma C-reactive protein and coronary artery stenosis in patients with stable angina. *Atherosclerosis*; 185:137
- **Ashcroft G.S., Lei K., Jin W., Longenecker G., Kulkarni A.B., Greenwell-Wild T., Hale-Donze H., McGrady G., Song X.Y., Wahl S.M., 2000.** Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med*, 6, 1147-53.
- **Ashley T.N., Weil Z.M., Nelson R.J., 2012.** Inflammation: mechanisms, costs and natural variation. *Annual Review*, 43; 385-406
- **Asmaa N., Abdelaziz G., Boulanouar B., Carbonell Barrachina A.A., Cano-Lamadrid M., Noguera-Artiaga L., 2019.** Chemical composition, antioxidant activity and mineral content of *Arbutus unedo* (Leaves And Fruits). *J Microbiol Biotechnol Food Sci* ;8(6):1335. doi:10.15414/jmbfs.2019.8.6.1335-1339
- **Atawodi S.E., 2005.** Antioxidant potential of African plants. *African J of Biotec*, 4(2) :128-133
- **Audigie C., Figarella J., Zonszaain F., 1978.** Manipulation d'analyse biochimique. Doin (Ed). Paris, 274p.
- **Avallone R., Plessi M., Baraldi M., Monzani A., 1997.** Détermination of Chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua* .L): protein, fat, carbohydrates, and Tannins, *Journal of food composition and analysis*, 10, 166-172.
- **Ayaz F. A., Kucukislamoglu M., Reunanen M., 2000.** Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(2), 171-177.

- **Aydogan U., Durmaz E., Ercan C.M., Eken A., Ulutas O.K., Kavuk S., 2013.** Effects of smoking during pregnancy on DNA damage and ROS level consequences in maternal and newborns' blood. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 64, 35-46
- **Ayoola G. A., Coker H. A. B., Adesegun S. A., Adepoju-Bello A. A., Obaweya K., Ezennia E. C., 2008.** Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *-Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3): 1019-1024.
- **Aziz K., Bonnet D., Foppa B., 2012.** Hépatogastro-entérologie: chirurgie digestive. 2ème édition. Elsevier-Masson. Pp: 441-467.

-B-

- **Babior B.M, Lambeth J.D., Nauseef W., 2002.** The neutrophil NADPH Oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* 397: 342-344
- **Bado A., Sobhani I., 2011.** Physiologie de la sécrétion gastrique. Elsevier Masson SAS, Paris, Gastroentérologie, 9-000-C-10, pp1-13
- **Balian A., 2011.** Ulcère gastrique et duodéal. In : Hépatogastro entérologie. 2eme édition. Paris : Elsevier Masson. p. 79-83.
- **Barone R., 1976.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 3 splanchnologie-fœtus et annexes, Fasc 1er : appareil digestif, appareil respiratoire ; Lyon : ENV-Laboratoire d'Anatomie ; 2945p.
- **Barry H., Antonia M., Susanna C., Okezie I., 1995.** Free Radicals and Antioxidants in Food and In Vivo: What They Do and How They Work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(1&2):7-20.
- **Battle I., Tous J., 1997.** Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant, Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- **Beaugerie L., Sokol H., Goirand F., Roman S., 2014.** Les fondamentaux de la pathologie digestive. Paris: Masson. 288.
- **Beiranvand M., 2022.** A review of the most common in vivo models of stomach ulcers and natural and synthetic anti-ulcer compounds: A comparative systematic study. *Phytomedicine Plus*. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100264>
- **Ben Hsouna A., Trigui M., Ben Mansour R., Mezghani Jarraya R., Damak M., Jaoua S., 2011.** Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia*

siliqua essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *Journal of Food Microbiology*, 148(1):66-72.

- **Ben Othman K., Cherif M.M., Assadi I., Elfalleh W., Khezami L., Ghorbal A., Assadi A.A., 2024.** Exploring Cold plasma technology: Enhancements in Carob seed germination, phytochemical Composition, and antioxidant activity. *Heliyon* 10 (2024) e28966
- **Ben Othmen K., Walid E., Belgacem L., Mansour H., 2019.** Evolution of phytochemical and antioxidant activity of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) pods during maturation. *The EuroBiotech Journal*. VOLUME 3 ISSUE 3
- **Benamari O., Rejdali M., Labhar A., Ahidar N., Benyoub B., Salhi A., Ahari M., Elyoussfi A., Amhamdi H., 2024.** Qualitative and Quantitative Study of the Bioactive Compounds in *Arbutus Unedo* L. from the Ait Ammart Area in Northern Morocco. *E3S Web of Conferences* 527, 01004. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202452701004>
- **Benia H., Amroune., 2005.** L'ulcère gastrique, Université de M'SILA. Mémoire des études supérieures en Biologie (DES).
- **Berrougui H., 2007.** Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express* Vol. 5, N° 9.
- **Bicoti J., 1988.** La place des anti-sécrétoires dans le traitement de l'ulcère gastro-duodéal. Thèse : Pharmacie : Dakar ; 32.
- **Bigard M. A., 1999.** Ulcère gastrique et ulcère duodéal (Syndrome de Zollinger- Ellison exclu): Épidémiologie, physiopathologie, diagnostic, évolution, traitement. *La Revue du praticien*, vol.49, no.5, pp.547- 554
- **Blain., Jouzeau., Netter., Jeandel C., 2002.** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives. *Rev médinterne*, 21, 978-88.
- **Bnouham M., Merhfour F. Z., Legssyer A., Mekhfi H., Maa'llem S., Ziyat A., 2007.** Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsuta*. *Pharmazie* 62: 630–632. doi: 10.1691/ph.2007.8.6587
- **Boligon A., Freitas B., Brum F., Waczuk P., Klimaczewski C.V., de Ávila D.S., Athayde M.L., Bauermann L.F., 2014.** Antiulcerogenic activity of *Scutiabuxifolia* on gastric ulcers induced by ethanol in rats. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4: 358-367
- **Bonnefont-Rousselot D., 2004.** Gamma radiolysis as a tool to study lipoprotein oxidation mechanisms. *Biochimie*. 86, 903 -911.

- **Bordt E.A., Polster B.M., 2014.** NADPH oxidase- and mitochondria-derived reactive oxygen species in proinflammatory microglial activation: a bipartisan affair? *Free Radical Biology and Medicine* 76, 34-46
- **Borovikova L.V., Ivanova S., Zhang M., Yang H., Botchkina G.I., Watkins L.R., Wang H., Abumrad N., Eaton J.W., Tracey K.J., 2000.** Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nat Med*, 405, 458-62.
- **Bouvenot G., Devulder., Guillevin L., 1995.** Pathologie médicale, Gastro-entérologie, hépatologie, hématologie ; Paris : Masson : 27-42.
- **Bouzid K., 2015.** Contribution for study of valorisation options of pieces *Arbutus unedo* L. in west Algerian. Doctoral Thesis: 90.
- **Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B., 2003.** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience& Nutrition*, 4 (6): 7.
- **Brassesco M.E., Teresa R.S., Brandao., Cristina L.M. S., Manuela P., 2021.** Carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) : A new perspective for functional food. *Trends in Food Science & Technology* 114, 310–322
- **Bruneton J., 1999.** Pharmiognosie, phytochimie, plante médicinales, 2eme édition, paris: Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisire, 1999, pp : 1120.
- **Burton G., Jauniaux E., 2011.** Oxidative stress. Best practice and research clinical obstetrics and gynaecology, 25; 287-299.

-C-

- **Calop J., Limats S., Fernandez C., 2008.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 3e Ed., 223.
- **Capiralla H., Vingtdeux V., Zhao H., Sankowski R., Al-Abed Y., Davies P., Marambaud P., 2012.** Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and Abeta-mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF-kappaB/STAT signaling cascade. *Journal of Neurochemistry* 120, 461-472.
- **Cardona F., Andrés-Lacueva C., Tulipani S., Tinahones F.J., Queipo-Ortuño M.I., 2013.** Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24, 1415-1422.
- **Carrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Pénicaud L., Casteilla L., 2006.** Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Méd. Sci*, 22 : 47-53)

- **Caso J., Leza J., Menchen L., 2008.** The effects of physical and psychological stress on the gastro-intestinal tract: lessons from animal models. *Curent Molecular Medecin*, 8: 299-312.
- **Castaneda-Ovando A., Pacheco-Hernandez M. d. L., Paez-Hernández M. E., Rodriguez J. A., Galan-Vidal C. A., 2009.** Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113(4), 859-871.
- **Celikel G., Demirsoy L., Demirsoy H., 2008.** The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 118(2), 115-119
- **Chaibou M., 1965.** Etude de l'activité des extraits d'écorce du tronc de *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth. (Mimosaceae) R.Br. Thèse : Méd.Vet : Dakar ; 15.
- **Chandra S., Lata H., Varma A., 2013.** Biotechnology for medicinal plants, micropropagation and improvement. Library of Congress Control Number: 2012942923, Forwoed, VII.
- **Charbon G., Bjorn L., Mendoza-Chamizo B., Frimodt-Moller J., Lobner-Olesen A., 2014.** Oxidative DNA damage is instrumental in hyperreplication stress-induced inviability of *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*, 42(21); 13228-13241.
- **Charles N.S., Peter A.W., Derek W.G., 2010.** *Fundamentals of Inflammation*. Cambridge University Press, p. 2-3.
- **Chen H., Liao H., Liu Y., Zheng Y., Wu X., Su Z., Su Z., 2015.** Protective effects of pogostone from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Fitoterapia*, vol.100, pp.110-117.
- **Choi E.Y., Hwang H. J., Kim I.H., Nam T.J., 2009.** Protective effects of a polysaccharide from *Hizikia fusiformis* against ethanol toxicity in rats. *Food Chemical Toxicology*, vol.47, no.1, pp.134-139.
- **Christophe P., Christophe S., 2011.** *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain*. Edition Springer,p 84
- **Christou C., Poulli E., Yiannopoulos S., 2019.** GC–MS analysis of D-pinitol in carob: syrup and fruit (flesh and seed). *J Chromatogr B* 1116:60–4
- **Chung Y. C., Chang C. T., Chao W. W., Lin C. F., Chou S. T., 2002.** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454.
- **Clappaz J.P., 1955.** L'ulcère gastro-œsophagien du porc. Thèse : Méd.vét : Lyon ; 55.
- **Clement O.A., Akwasi A., Yaw D. B., Abdulai A. Naazo., Derrick H. A., 2020.** Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Anthelmintic Activities of *Ocimum basilicum* (Sweet Basil)

Fruits. Hindawi Journal of Chemistry, Article ID 2153534, 9 pages
<https://doi.org/10.1155/2020/2153534>

- **Cohen J. H., Kristal A. R., Stanford J. L., 2000.** Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 92 : 61-68
- **Cotticelli M.G., Crabbe A.M., Wilson R.B., Shchepinov M.S., 2013.** Insights into the role of oxidative stress in the pathology of Friedreich ataxia using peroxidation resistant polyunsaturated fatty acids. *Redox Biology*, 1; 398-404.
- **Custodio L., Carneiro M.F., Romano A., 2004.** Microsporogenesis and another culture in carob tree (*Ceratonia siliqua*. L). *Scientia Horticultirae*, 104 (1): 65-77.

-D-

- **Dadoriya P., Yadu N.D., Deepti S., Mahendra Y., Manish M., Wanjari S.N., Gaidhani V.S., 2020.** In-vitro anti-inflammatory and antioxidant activities of an Ayurvedic formulation –Trayodashang guggulu. *Journal of Herbal Medicine*.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100366>
- **Daglia M., 2012.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 23(2): 174-81
- **Dallali S., Aloui F., Selmi H., Sebei H., 2018.** Comparaison de la composition chimique et de l'Activité antioxydante des feuilles de Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) collectées dans trois sites de Djebel Zaghuan (Tunisie) ;21.
- **Dangles O., Stoeckel C., Wigand M.C., Brouillard R., 1992.** Two very distinct types of anthocyanin complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 33: 5227-30.
- **Das K., Tiwari R. K. S., Shrivastava D. K., 2010.** Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2) : 104-111.
- **Dashputre N.L., Naikwade N.S., 2011.** Evaluation of Anti-Ulcer Activity of Methanolic Extract of *Abutilon indicum* Linn Leaves in Experimental Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 3(2): 97-100.
- **De Castro M.L., Garcia-Ayuso L., 1998.** Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Anal. Chimi. Acta.*, 369(1): 1- 10.
- **Debabrata M., James B., 2019.** *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. *Medicine* 292-300.

- **Debussche M., Cortez J., Rimbault I., 1987.** Variation in fleshy fruit composition in the Mediterranean region: the importance of ripening season, life-forme, fruit type and geographical distribution. *Oikos*, vol. 49 (3): 244-252.
- **Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont- Rousselot D., 2005b.** "Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques." 87-108
- **Delmas V., Brémond-Gignac D., Douard R., Dupont S., Latrémouille C., 2008.** Anatomie générale. Elsevier Masson. France. ISBN : 978-2-294-07235-2.
- **Denis V. B., Sergey V. S, Alexander I. K., Irina A. S., 2012.** Shikimic acid: review of its analytical, isolation, and purification techniques from plant and microbial sources. -*J Chem Biol* 5(1): 5-17.
- **Derbal N., Fedali H., 2017.** L'activité antioxydante, anti-inflammatoire et analgésique de plante médicinale Algérienne *Inula .Viscosa*.
- **Devries J.W., Rosky L.P., Li B., 1999.** A historical perspective on defining dietary fiber. *Cereal Foods World* 44:367–9
- **Dewanto V., Wu X., Adom K.K., Liu R.H., 2002.** *J. Agric. Food Chem.* 50 :3010–3014.
- **Dhingra A.K., Chopra B., Bonthagarala B., 2018.** Natural Anti-Inflammatory Agents: Recent Progress and Future Perspectives. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics.* 3 (5);1158.
- **Diamantoglou., Mitrakos K., 1981.** Leaf longivity in Mediterranean evergreen Sclerophylls. In *Components of Productivity of Mediterranean Climat Région. Basic and Apple id Aspects* (N.S.Margaris and H.A. Money, eds), pp: 17-19. Junk Publishers, The Hague ISBN. 90: 6193-9445.
- **Diegelman R.F., Evans M.C., 2004.** Wound healing: Anoverview of acute, fibrotic and delayed. *Frontiers in Bioscience* 9,283-289.
- **Dilek D.A., 2020.** Physicochemical, sensory properties and in-vitro bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of traditional noodles enriched with carob (*Ceratonia siliqua* L.) flour. *Food Science and Technology*. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.21020>
- **Diomande A., Youssouf S., Honora D.T., Adama B., Witabouna K.M., 2018.** Antioxidant power and phenolic compound content of two species of the genus *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman and *Albertisia scandens* (Mangenot & J. Miego) Forman (Menispermaceae). *Eur Sci J.*14(30):128-44. doi:10.19044/ESJ.2018.V14N30P128
- **Drake R.L., Vogl W., Mitchel M., 2006.** *Gray's Anatomie pour les étudiants.* Elsevier-Masson. P.281-283

- **Droge W., 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82; 47-95.
- **Du J., Cullen J.J., Buettner G.R., 2012.** Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 1826, 443-457
- **Dube C., Molet J., Akanksha S., Autumn I., Maras P., Tallie Z., 2015.** Hyper-excitability and epilepsy generated by chronic early-life stress. *Neurobiology of Stress*, 2: 10-19.
- **Důračková Z., 2008.** Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In: *Mitochondrial medicine*. Springer Science and Business Media, pp; 19-54.
- **Durazzo A., Valeria T., Valentina N., Elena A., Giuseppe M., Marina C., 2014.** Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chemistry* 153, 109–113

-E-

- **El Batal H., Hasib A., Dehbi F., 2016.** Assessment of nutritional composition of carob pulp (*Ceratonia siliqua* L.) collected from various locations in Morocco. *J Mater Environ Sci* 7:3278–85 6. Mariod AA (ed.) (2019) *Wild fruits: composition, nutritional value and products*, AG, chap. 36, pp 481–98
- **El Gharras H., 2009.** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology* 44(12), 2512- 2518.
- **EL Hajaji H., Lachkar N., Alaoui K., Cherrah Y., Farah A., Ennabili A., El Bali B., Lachkar M., 2010.** Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*.
- **El mekkaoui A., Khamar M., Slimani C, Nounah A., Cherkaoui E., Benradi F., Rais C., 2023.** studies and in vitro evaluation of the antioxidant evaluation of the antioxidant activity of some medicinal and aromatic plants from Morocco Morocco. *Not Sci Biol* 15(1):11423
- **Elqaj M., Ahami A., Belghyti D., 2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
- **Eming S.A., Krieg T., Davidson J.M., 2007.** Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *J Invest Dermatol*, 127, 514–525.
- **Erdong Y., Yingyi L., Qiuhua L., Zhaoxiang L., Lingli S., Xingfei L., Ruohong C., Shuai W., Junquan Z., Wenji Z., Shili S., 2022.** Roles of *Adinandra nitida* (Theaceae) and

camellianin A in HCl/ethanol-induced acute gastric ulcer in mice. Food Science and Human Wellness 11, 1053-1063 1053

- **Erenler. R, Atalar M. N., Yildiz I., Gece E. N., Yildirim A., Ibrahim D., Mehmet H. A., 2023.** Quantitative analysis of bioactive compounds by LC-MS/MS from *Inula graveolens*. journal of integrative and anatolian medicine. -Research Article 4(3): 3-10.
- **Erenler R., Carlik U. E., Aydin A., 2023.** Antiproliferative activity and cytotoxic effect of essential oil and water extract from *Origanum Vulgare L.* -Sigma 41(1): 202-208. <https://10.14744/sigma.2023.00018>
- **Erenler R., Demirtas I., Karan T., Gul F., Kayir O., Karakoc O., 2018.** Chemical constituents, quantitative analysis and insecticidal activities of plant extract and essential oil from *Origanum onites L.* -Trends in Phytochemical Research 2(2): 91-96.
- **Erenler R., Yaman C., Demirtas I., Alma M. H., 2023.** Phytochemical Investigation of *Hypericum heterophyllum* Flowers: LC-ESIMS/MS Analysis, Total Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant Activity. -The Natural Products Journal 13(7), e120123212672. https://doi.org/10.2174/22103155136662301121_65545.
- **Esclapez M.D., García-Pérez J.V., Mulet A., Cárcel J.A., 2011.** Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. Food Eng. Rev., 3(2): 108-120.
- **Eskilsson C.S., Björklund E., 2000.** Analytical-scale microwave-assisted extraction. J. Chromatogr. A, 902(1): 227-250.
- **Evans P., Halliwell B., 1999.** Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria." Annals of the New York Academy of Sciences 884: 19-40.

-F-

- **Fadhel Z. A., Amran S., 2002.** Effects of black tea extract on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver, kidneys, and testes of rats. Phytotherapy Research, 16(S1), 28-32
- **Favier A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. In Annales pharmaceutiques françaises, Elsevier Masson, Paris, France. 64(6):390—396 p
- **Fazenda P., Pereira R., Fonseca M., 2019.** Identification and validation of microsatellite markers in strawberry tree (*Arbutus unedo L.*). Turk J Agric Forestry 43:430–36
- **Feig D.I., Mazzali M., Kang D.H., Nakagawa T., Price K., Kannelis J., 2006.** Serum uric acid: a risk factor and a target for treatment? Journal of the American Society of Nephrology. 17: S 69-73.

- **Francine De Pachtere., 2020.** L'intérêt santé des polyphénols de l'alimentation. M NUTRITION S2. p 1
- **Frank H., Netter M.D., 2007.** Atlas d'anatomie humaine. Italie : Masson 276p.
- **Fransen M., Nordgren M., Wang B., Apanasets O., 2012.** Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. Biochim Biophys Acta BBA Mol. Basis Dis. 1822, 1363-1373
- **Funatogawa K., Hayashi S., Shimomura H., Yoshida T., Hatano T., Ito H., Hirai Y., 2004.** Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. Microbiol. Immunol. 48 (4): 251-61

-G-

- **Gaouar N., 2011.** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes.
- **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A., 2010.** Phenolic Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. Molecules, 15, 8813- 8826.
- **Gervason A.M., Anthony M.I., Elias M. N., Mathew P. N., 2021.** In vivo anti-inflammatory, anti-nociceptive, and in vitro antioxidant efficacy, and acute oral toxicity effects of the aqueous and methanolic stem bark extracts of *Lonchocarpus eriocalyx* (Harms). Heliyon 7. e07145. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07145>
- **Gilroy D., Lawrence T., 2008.** The resolution of acute inflammation: a 'tipping point' in the development of chronic inflammatory diseases. In: Rossi A.G. and Sawatzky D.A. The resolution of inflammation; progress in inflammation research. Birkhäuser, Basel, Boston, Berlin, p; 1-4.
- **Gimenez F., Brazier M., Calop J., Dine T., Tchiakpé L., Claerbout J. F., 2000.** Traitement de l'ulcère gastroduodéal dans Pharmacie Clinique et Thérapeutique. Ed. Masson, Paris, 1065
- **Godinho-Ferreira P., Azevedo A., Rego F., 2005.** Carta da tipologia florestal de Portugal Continental. Silva Lusitana, 13(1), 1-34.
- **Goodwin R.D., Keyes K.M., Stein M.B., Talley N.J., 2009.** Peptic ulcer and mental disorders among adults in the community: the role of nicotine and alcohol use disorders. US National Library of Medicine, 71 (4): 463-468.
- **Goudable J., Favier A., 1997.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition. Nutr Clin Mdtabol 1997; 11:115-20

- **Goulas V., Stylos E., Chatziathanasiadou M.V., 2016.** Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological space. *Int J Mol Sci* 17:1875. doi:10.3390/ijms17111875
- **Gurib-Fakim A., 2006.** Medicinal Plants: Traditions Of Yesterday And Drugs Of Tomorrow. *Molecular Aspects Of Medicine*, 27, 1-93p.
- **Gutowski M., Kowalczyk S., 2013.** A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *ACTA biochimica polonica*, 60(1); 1-16.
- **Gutteridge J.M., 1993.** Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* ; 19:141-158.

-H-

- **Habellah R.M., Karoune S., Kechebar M.S.A., Bounab H., 2016.** Etude des composés phénoliques et des activités antioxydantes de l'Acacia ehrenbergiana de la région de Tindouf. *Journal Algérien des Région Arides (JARA)*. N°13 :27-34.
- **Hadj Salem J., 2009.** Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE.
- **Hafssa E., Asmae E., Ayoub K., Yassine O.E., Miguel P. L., Jamal B., Paola D., Luigi M., Francesco C., 2020.** Wild strawberry (*Arbutus unedo*): Phytochemical screening and antioxidant properties of fruits collected in northern Morocco. *Arabian Journal of Chemistry* 13, 6299–6311
- **Hajjaj G., 2017.** Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de *l'ormenis mixta* l. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc. 216 p.
- **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P., 2007.** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*; 62 : 10 : 628-638
- **Halliwell B., 1999.** Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
- **Harborne J.B., 1980.** Plant Phenolics: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New series. P 8, 329-402.
- **Hariharan P., Kabrhel C., 2011.** Sensitivity of erythrocyte sedimentation rate and c-reactive protein for the exclusion of septic arthritis in emergency department patients. *The Journal of Emergency Medicine* 40, 428-431.
- **Havsteen H.B., 2002.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids

- **Hayat J., Akodad M., Moumen A., Baghour M., Skalli A., Ezrari S., 2020.** Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon* ;6(11): e05609. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05609
- **Heloina S. F., Jacqueline A. L., José M.B.F., Petrônio F. A.F., Maria C. O. C., Marcelo D. M., Anderson L. F., Ana B. A. A., Alba R. M. S.B., Margareth F. F. M. D., Leônia M. B., 2008.** Gastric and Duodenal Antiulcer Activity of Alkaloids: A Review. *Molecules*, 13, 3198-3223; DOI: 10.3390/molecules13123198
- **Henzen C., 2003.** Traitement aux glucocorticoides: risques et effets secondaires. *Forum médical suisse*, 19, 442-446.
- **Hilaly J.E., Israili Z.H., Lyouss B., 2004.** Acute and chronic toxicological studies of *Ajuva Iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology* 91, 43–50.
- **Holley A.K., Miao L., StClair D.K., StClair W.H., 2014.** Redox-Modulated Phenomena and Radiation Therapy: The Central Role of Superoxide Dismutases. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 1567-1589
- **Hrabielles M., 1981.** Abrégé de matière médicale, Ed : Masson ; Paris.

-I-

- **Ignat I., Volf I., Popa V.I., 2011.** A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 126(4): 1821-35.
- **Ignatius V., Narayanan M., Subramanian V., Periyasamy B.M., 2012.** Antiulcer Activity of Indigenous Plant *Operculina turpethum* Linn. *Evidence- based Complementary and Alternative Medicine*, 2013: 1-7.
- **Ilhami G., Ahmet C. G., Parham T., Saleh H. A., Omer K., Ercan B., 2020.** Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of Anatolian pennyroyal (*Mentha pulegium*)-analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS. *-Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 23.
- **Iwalewa E.O., McGaw L.J., Naidoo V., Eloff G.N., 2007.** Inflammation: The foundation of of diseases and disorders: a review of phytomedicines of South African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr J Biotechnol*, 6 (25), 2868-85

-J-

- **Jason W., Kenneth R., Sirinek., 2018.** Acid Peptic Disease. *Surg Clin N Am* 98, 933–944
<https://doi.org/10.1016/j.suc.2018.06.003>

- **Jayasena T., Poljak A., Smythe G., Braidy N., Münch G., Sachdev P., 2013.** The role of polyphenols in the modulation of sirtuins and other pathways involved in Alzheimer's Disease. *Ageing Research Reviews* 12, 867-883.
- **Jianyong L., Yuanguang Y., Yajun Y., Xiwang L., Jiyu Z., Bing L., Xuzheng Z., Jianrong N., Xiaojuan W., Zhiqi L., 2012.** A 15-day oral dose toxicity study of aspirin eugenol ester in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* 50, 1980–1985
- **Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A., Stevens P., 2002.** Botanique systématique : une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.
- **Julkunen-Titto R., 1985.** Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods.

-K-

- **Kachkoul R., Housseini T.S., Mohim M., El Habbani R., Miyah Y., Lahrichi A., 2019.** Chemical compounds as well as antioxidant and litholytic activities of *Arbutus unedo* L. leaves against calcium oxalate stones. *J Integr Med.* 17(6):430-7. doi:10.1016/j.joim.2019.08.001
- **Kada S., 2018.** Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques. Thèse de Doctorat en Sciences.
- **Kainth M.K., Gigliotti F., 2014.** Simultaneous Testing of Erythrocyte Sedimentation Rate and C-Reactive Protein: Increased Expenditure without Demonstrable Benefit. *THE JOURNAL OF PEDIATRICS* 165, 625-627.
- **Kais R., Slimen S., Mohammed-Amine J., Jamel E., Mohamed A., Lamjed M., Hichem S., 2016.** Protective Effect of *Ceratonia siliqua* L. Against a Dextran Sulfate Sodium-Induced Alterations in Liver and Kidney in Rat. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD. J Med Food* 19 (9), 882–889, DOI: 10.1089/jmf.2016.0020
- **Kardeh S., Ashkani-Esfahani S., Alizadeh A.M., 2014.** Paradoxical action of reactive oxygen species in creation and therapy of cancer. *European Journal of Pharmacology* 735, 150- 168
- **Karlo J., Vesna B., Sunčana S., Irena B.K., Nevenka K., 2018.** The effects of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) water leaf extract and arbutin upon kidney function and primary DNA damage in renal cells of rats. *Natural Product Research* <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1534106>
- **Kazi M.H., Nasrin T., Anwarul H., 2018.** Biochemical and histopathological profiling of Wistar rat treated with *Brassica napus* as a supplementary feed. *Food Science and Human Wellness*, P 77-82. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2017.12.002>

- **Keita A., 2004.** Thèse de pharmacie : Etude de trios plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastroduodénal dans le District de Bamako : *Borassus aethiopicum* Mart (Palmeae), *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst. (Anacardiaceae) et *Xinania americana* L. (Olacaceae). Mali. 26-27P.
- **Kelly S.L.M., Guilherme E.N.D., Meri E.F.P., Anderson L-F., Alba R.M.S-B., Clélia A. H-L., José M. B-F., Leônia M.B., 2009.** Flavonoids with Gastroprotective Activity. *Molecules* 14, 979-1012; doi:10.3390/molecules14030979
- **Kenny T.P., Keen C.L., Schmitz H.H., Gershwin M.E., 2007.** Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Exp. Biol. Med.* 232:293-300.
- **Khan M.K., Huma Z.E., Dangles O., 2014.** A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis* 33, 85-104.
- **Khanna S., Biswas S., Shang Y., Collard E., Azad A., Kauh C., 2010.** Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS ONE*, 5, 953-959.
- **Khelifi R., Hamza-Chaffai A., 2010.** Head and neck cancer due to heavy metal exposure via tobacco smoking and professional exposure: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology* 248, 71-88.
- **Kivçak B., Mert T., 2002.** Antimicrobial and cytotoxic activities of *Ceratonia siliqua* L extracts. *Turk J. Biol.* 26:197-200.
- **Koehler-Ramonatxo C., 2006.** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutr. Clin. Métabol*, 20: 165-177
- **Kraaij M.D., Van-Kooij S.W., Reinders M.E.J., Koekkoek K., Rabelink T.J., Van-Kooten C., Gelderman K.A., 2011.** Dexamethasone increases ROS production and T cell suppressive capacity by anti-inflammatory macrophages. *Molecular Immunology* 49, 549-557
- **Kumar J., Kaur A., Narang P., 2020.** Phytochemical screening and metal binding studies on floral extract of *Solanum nigrum*. *Mater Today: Proc.* 26:3332-6. doi:10.1016/j.matpr.2019.09.170
- **Kumar R., Sharma S., Devi L., 2018.** Investigation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity from extracts of *Azadirachta indica* of Bundelkhand Region. *Int J Life Sci Scienti Res.* 4 (4):1925-33. doi:10.21276/ijlssr.2018.4.4.10

- **Kumari A., Kakkar P., 2008.** Screening of antioxidant potential of selected barks of Indian medicinal plants by multiple in vitro assays. *Biomedical and environmental sciences*, 21 : 24-29
- **Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M-S., Nakayama T., 2002.** Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods.
- **Kundu T.K., Velayutham M., Zweier J.L., 2012.** Aldehyde oxidase functions as a superoxide generating NADH oxidase: an important redox regulated pathway of cellular oxygen radical formation. *Biochemistry (Mosc)* 51, 2930-2939.

-L-

- **Lacour B., Belon J.P., 2015.** *Physiologie*. Edition Elsevier Masson, France ISBN : 978-2-294-74287-3.
- **Laloo D., Satyendra K.P., Krishnamurthy S., Hemalatha S., 2013.** Gastroprotective activity of ethanolic root extract of *Potentilla fulgens* Wall. *Journal of Ethnopharmacology*, 146: 505–514.
- **Lamarque D., 2004.** Physiopathologie des lésions gastroduodénales induites par les anti-inflammatoires non stéroïdiens, *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 28: 18- 26.
- **Lamnaouer D., 2008.** *Plantes médicinales du Maroc: usages et Toxicité*. pp: 1-7.
- **Latifa D., Hanae N.M., Samiah H.A., Mohamed R.K., Kaoutar B., Hamza A., Ahmed Q., Emad M.A., Bodour S.R., Khoulood H., Mouna M., Abdelhakim B., Moulay E.A.F., 2023.** Phytochemical, Antidiabetic, Antioxidant, Antibacterial, Acute and Sub-Chronic Toxicity of Moroccan *Arbutus unedo* Leaves. *Journal of Pharmacopuncture* ;26(1):27-37, <https://doi.org/10.3831/KPI.2023.26.1.27>
- **Laughton M. J., Halliwell B., Evans P. J., Robin J., Houlst S., 1989.** Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolts quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*, 38 (17), 2859-2865
- **Lavallee P., 1962.** Le Caroubier, son utilisation dans l'alimentation du bétail en Algérie et en Tunisie, Alger, pp : 47.
- **Lavanya R., Maheshwari S.U., Harish G., Raj J.B., Kamali S., Hemamalani D., Varma J.B., Reddy C.U., 2010.** Investigation of in-vitro anti-inflammatory, anti-platelet and anyiarthritic activities in the leaves of *Anisomeles malabarica* Linn. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 1(4): 746- 752.

- **Lavranos G., Balla M., Tzortzopoulou A., Syriou V., Angelopoulou R., 2012.** Investigating ROS sources in male infertility: A common end for numerous pathways. *Reproductive Toxicology* 34, 298-307
- **Lechat P., Lagier G., Kouveix B., Vincens M., Weber S., 1982.** *Pharmacologie Medical* 4ème Edition Masson, Paris, 763 p.
- **Lee H.J., Kim K.W., 2012.** Anti-inflammatory effects of arbutin in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells. *J. Inflamm. Res.* 61, 817-825, <https://doi.org/10.1007/s00011-012-0474-2>.
- **Lee H.N., Surh Y. J., 2012.** Therapeutic potential of resolvins in the prevention and treatment of inflammatory disorders. *Biochem Pharmacol*, 84, 1340-1350.
- **Legendre F., 2003.** *J Biol Chem*, 278(5) : p. 2903-12
- **Leonti M., Casu L., Sanna F., Bonsignore L., 2009.** A comparison of medicinal plant use in Sardinia and Sicily—De Materia Medica revisited?. *Journal of ethnopharmacology*, 121(2), 255-267.
- **Levine R.L., 2002.** Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med.* 32 (9), 790 -796
- **Liebler D.C., Kling D.S., Reed D.J., 1986.** Antioxidant protection of phospholipids bilayers by Tocopherol. *The Journal of biological chemistry*, 2, 12114- 12119.
- **Liguori I., Russo G., Curcio F., Bulli G., Aran L., Della-Morte D., Abete P., 2018.** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757.
- **Linlin C., Huidan D., Hengmin C., Jing F., Zhicai Z., Junliang D., Yinglun L., Xun W., Ling Z., 2018.** Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, Vol. 9, (No. 6), pp: 7204-7218
- **Locatelli M., Travaglia F., Coisson J.D., Martelli A., Stevigny C., Arlorio M., 2010.** Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI) : Impact of different roasting conditions. *Food Chemistry*.
- **Lou L., Fang Y., Jing Z., Chun Shui P., Li C., Yong F., Xian W., 2006.** Endoplasmic reticulum stress response is involved in the pathogenesis of stress induced gastric lesions in rats. *Life Sciences*, 79: 1856-1864.
- **Louvet A., 2010.** *Hépto Gastro-entérologie chirurgie digestive*, collection med line, p99-111.
- **Luísa C., Ana L.E., Eliana F., Alba F., Rosa A., Fernando A., Nuno N., José M.F.N., Anabela R., 2011.** Phytochemical Profile, Antioxidant and Cytotoxic Activities of the

Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) Germ Flour Extracts. *Plant Foods Hum Nutr.* 66:78–84
DOI 10.1007/s11130-011-0214-8

- **Lullman-rauche R., 2008.** Histologie. 1ère édition. Bruxelles : De boeck. 391 p.
- **Luque de Castro. M.D., Priego-Capote F., 2010.** Soxhlet extraction: Past and present panacea. *J. chromatogr. A*, 1217(16): 2383-9.

-M-

- **Maberley D.J., 1987.** The plant-book. A portable dictionary of the higher plants. Cambridge University Press. Cambridge
- **Machlin L.J., 1987.** Sites de production intracellulaire des ERO.
- **Madamanchi N.R., Vendrov A., Runge M.S., 2005.** Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25(1), 29-38.
- **Majdalawieh A.F., Fayyad M.W., 2015.** Immunomodulatory and anti-inflammatory action of *Nigella sativa* and thymoquinone: A comprehensive review. *Int Immunopharmacol*, 28, 295-304.
- **Makris D.P., Kefalas P., 2004.** Carob Pod as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technol. Biotechnol.* Vol. 42, N° 2, pp. 105–108.
- **Male D., 2005.** Immunologie : aide-mémoire illustré. 4 ème éd, De Boeck, Bruxelles, pp; 79-83.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition.* 79:727–47.
- **Manzione M.G., Martorell M., Sharopov F., 2020.** Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside. *Eur J Pharmacol* 883:173344
- **Marcoux F.W., Choi D.W., 2002.** Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 155, CNS Neuroprotection. Springer, Berlin, Heidelberg, Germany, pp. 308–312.
- **Mares R., 1971.** Le caroubier et la lutte contre l'incendie. *Revue Forestière Française* XXIII 1, pp : 79.
- **Maria C.T., Brigitte D., Monica R.L., Annabelle D., Rosaria A., Giuseppe A.M., Marco B., Chouaha B., Rosa T., 2020.** Contribution of Flavonoids and Iridoids to the Hypoglycaemic, Antioxidant, and Nitric Oxide (NO) Inhibitory Activities of *Arbutus unedo* L. 9, 184; doi:10.3390/antiox9020184
- **Marian V., Dieter L., Jan M., Mark T.D., Milan M., Joshua T., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39, 44–84

- **Marieb E.N., Hoehn K., 2010.** Anatomie et physiologie humaines. 8ème édition. Québec: Pearson. 985p.
- **Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N., 2009.** Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. Food Chemistry.
- **Mariod A.A., 2019.** Wild fruits: composition, nutritional value and products, AG, chap. 36, pp 481–98
- **Martins J.L.R., Rodrigues O.R.L., Silva D.M., Galdino P.M., De Paula J.R., Romão W., Costa H.B., Vaz B.G., Ghedini P.C., Costa E.A., 2014.** Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea* (Jacq). Sargent on gastric lesions in mice. Journal of Ethnopharmacology, vol. 155, p. 1616– 1624.
- **Masson A., 1984.** Paris ,478p / AOAC. Official methods of analysis. 11th Edition William Horvi Washington. D.C.
- **Matsumoto T., Tsurumoto T., Shindo H., 2006.** Interleukin-6. Levels in synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis correlated with the infiltration of inflammatory cells in synovial membrane. Rheum Int ; 26 : 96.
- **Mebirouk R., 2017.** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités antiinflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique. Thèse de Doctorat. Université des frères Mentouri Constantine, Algérie. 172 p
- **Medzhitov R., 2010.** Inflammation 2010: new adventures of an old flame. Cell, 140(6) :771- 776.
- **Mekhoukhe A., Houda K., Adidi L., Lamia M-H., Fatiha B., Sonia M-A., Khodir M., 2018.** Antioxidant activity of carob seeds and chemical composition of their bean gum by-products. Journal of Complementary and Integrative Medicine. 20170158
- **Mekhoukhe A., Kicher H., Ladjouzi A., Medouni-Haroune L., Brahmi F., Medouni A.S., Madani K., 2019.** Antioxidant activity of carob seeds and chemical composition of their bean gum by- products. -Journal of Complementary and Integrative Medicine 16(1): 1-11. <https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0158>
- **Menche N., 2006.** Anatomie physiologie biologique. 3èmeédition. Paris : Maloine. 335p.
- **Menon R., 2014.** Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. Frontiers in Immunology, 5(567); 1-14.
- **Mereti M., Grigoriadou K., Nanos G.D., 2002.** Micropropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L. Scientia horticulturae, 93(2), 143-148.

- **Messaadia L., Bekkar Y., Benamira M., Lahmar H., 2020.** Predicting the antioxidant activity of some flavonoids of Arbutus plant: A theoretical approach. -Chemical Physics Impact 1: 100007.
- **Middelton I.J., Kandaswami C., Theoharide T.C., 2000.** The effects of plants flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart diseases and cancer, Pharmacological reviews;52:673-751
- **Miwa S., Muller F.L., Beckman K.B., 2008.** The basics of oxidative biochemistry. In: Oxidative stress in aging. Aging Medicine, pp; 11-35.
- **Mohamed F. B., Ziyad S. A., Abdullah K. A., Nehad J. A., Marwa F. B., 2022.** AMPK/m TOR-driven autophagy & Nrf2/HO-1 cascade modulation by amentoflavone ameliorates indomethacin-induced gastric ulcer. Biomedicine & Pharmacotherapy 151 113200(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)
- **Mohammed E-H., Najat A., Sushil C., Manoj K., Sevgi D. D., Jovana R., Yasaman T., Javad S-R., 2021.** An Insight into Phytochemical, Pharmacological, and Nutritional Properties of Arbutus unedo L. from Morocco. Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 1794621, 19 pages <https://doi.org/10.1155/2021/1794621>
- **Moniczewski A., Gawlik M., Smaga I., Niedzielska E., Krzek J., Przegaliński E., Pera J., Filip M., 2015.** Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. Pharmacological Reports 67, 560-568
- **Moore K.L., Dalley A. F., Agur A.M.R., 2011.** Anatomie Médical, Aspects fondamentaux et applications cliniques. Bruxelles : De boeck. 230-232p.
- **Moreau M., Troncy E., Bichot S., Lussier B., 2010.** Influence of changes in body weight on peak vertical force in osteoarthritic dogs: A possible bias in study outcome. Vet Surg. Jan; 39(1): 43-7.
- **Moreno S. C., José A.L., Fulgencio S-C., 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270:AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270:AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- **Morgado S., Morgado M., Plácido A.I., 2018.** Arbutus unedo L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. J Ethnopharmacol 225:90–102
- **Moriasi G.A., Ileri A.M., Nelson E.M., Ngugi M.P., 2021.** In vivo anti-inflammatory, anti-nociceptive, and in vitro antioxidant efficacy, and acute oral toxicity effects of the

aqueous and methanolic stem bark extracts of *Lonchocarpus eriocalyx* (Harms.). *Heliyon* ;7(5): e07145. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07145

- **Moualek I., Aiche G.I., Guechaoui N.M., Lahcene S., Houali K., 2016.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pac J Trop Biomed* ; 6(11):937-44. doi:10.1016/j.apjtb.2016.09.002
- **Moualek I., Mouloua A., Iratni A.G., 2017.** In vitro activity of *Arbutus unedo* aqueous extract against *Leishmania infantum* Promastigote. Doctoral thesis, Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. *Annu Res Rev Biol* 12:1–5
- **Moubtakir S., Chafik T., Mehdi A.L., Majda B., Khadija O., Fatima Z.A., Rachida A., Loubna E.Y., Ahmed E.A., Abderrahman C., 2024.** Antioxidant, anti-inflammatory and antiulcer effects of Moroccan *Ceratonia siliqua* pulp in animal models. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* May 2024; 23 (5): 847-853
- **Mousa A.Q., Mohamed I.N., Aditya A., Abdulsamad A., Soher N.J., 2018.** Evaluation of the glycemic effect of *Ceratonia siliqua* pods (Carob) on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat model. -PeerJ 6: e4788; DOI 10.7717/peerj.4788
- **Muñoz M. S. A., Martínez. M.P., Benedito S., López-Oliva M. E., García-Sacristán A., Prieto D., 2015.** COX-2 is involved in vascular oxidative stress and endothelial dysfunction of renal interlobar arteries from obese Zucker rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 77-90.
- **Murali V.S., Meena D.V.N., Parvathy P., Murugan M., 2021.** Screening, FTIR spectral analysis, antioxidant and antibacterial activity of leaf extract of *Pimenta dioica* Linn. *Materials Today: Proceedings* 45, 2166–2170

-N-

- **Nicolas J-F., Florance C., Jean T., 2001.** Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. *Jonh Libbey Eurotext*, 55-58.
- **Noack M., Kolopp-Sarda M.N., 2018.** Cytokines et inflammation : physiologie, physiopathologie et utilisation thérapeutique. *Rev Fr Lab*, 489 (3), 28- 37.
- **Nordgren M., Fransen M., 2014.** Peroxisomal metabolism and oxidative stress. *Biochimie* 98, 56-62.
- **Novais M.H., Santos I., Mendes S., Pinto-Gomes C., 2004.** Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of ethnopharmacology*, 93(2), 183-195.

- **Nowicka B., Kruk J., 2012.** Plastoquinol is more active than α -tocopherol in singlet oxygen scavenging during high light stress of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1817, 389-394

-O-

- **O'zcan M.M., Haydar H., 2007.** The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering* 78, 1022–1028
- **OCDE., 2004.** Ligne directrice 428 - Absorption cutanée : méthode in vitro. OCDE, Paris.
- **Oliveira I., Guedes de Pinho P., Malheiro R., 2011.** Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. *Food Chem* 128:667–73
- **Oliveira L.D.L.D., Carvalho M.V.D., Melo L., 2014.** Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres* 61,764-779.
- **Orliaguet G., Gall O., Benabess-Lambert F., 2013.** Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en Anesthésie Réanimation*. 17(5):228—237.
- **Oroian M., Escriche I., 2015.** Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74, 10-36
- **Ortiz G.G., Pacheco-Moisés F.P., Bitzer-Quintero O.K., Ramírez-Anguiano A.C., Flores-Alvarado L.J., Ramírez-Ramírez V., Macias-Islas M.A., Torres-Sánchez E.D., 2013.** Immunology and oxidative stress in multiple sclerosis: clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013; 1-14
- **Oruma P., Prapasri P., Anadi N., Prapaisri P.S., 2008.** Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 241-248.
- **Ozcan M.M., Haciseferoğulları H., 2007.** The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *J Food Eng* 78:1022–28

-P-

- **Packer L., Weber S. U., 2001.** The role of vitamin E in the emerging field of nutraceuticals. In: Kramer K, Hoppe P P and Packer L. *Nutraceuticals in health and disease prevention*. New York (Marcel Dekker), p. 27-43

- **Paital B., Chainy G.B.N., 2014.** Effects of temperature on complexes I and II mediated respiration, ROS generation and oxidative stress status in isolated gill mitochondria of the mud crab *Scylla serrata*. *Journal of Thermal Biology* 41, 104-111.
- **Pallauf K., Rivas-Gonzalo J. C., Del Castillo M.D., Cano M.P., Pascual T. S., 2008.** Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(4), 273-281.
- **Papagiannopoulos M., Wollseifen H.R., Mellenthin A., Haber B., Galensa R., 2004.** Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC -UV- ESI/MSn, *J Agric Food Chem*.
- **Parck D.A., Bukley G.B., Granger D., Hamilton S.R., Mc Cord., 1982.** Ischemic injury in the cats small intestine: role of superoxyde radical. *Gastroenterology*. 82: 9-15.
- **Pasinetti G.M., Wang J., Ho L., Zhao W., Dubner L., 2015.** Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment. *Biochimica et Biophysica Acta* 1852, 1202-1208.
- **Patle T.K., Shrivastava K., Kurrey R., Upadhyay S., Jangde R., Chauhan R., 2020.** Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc.* 242:118717. doi:10.1016/j.saa. 2020.118717
- **Patrice M., 2014.** La réaction inflammatoire aigue. Copyright 2000-2014 Maxicours RCS Paris B432623429.
- **Payne D.N.R., Adcock I.M., 2001.** Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatric Respiratory Reviews*, 2, pp : 145–150.
- **Pellequer Y. L., 1971.** Les ulcères de la caillette du veau. Thèse : Méd. Vét. : Lyon; 34.
- **Peltier A-P., 2012.** Universalis: INFLAMMATION. (page consultée le 23 juin 2012); <http://www.universalis-edu.com/bases-doc.univ.lorraine.fr/encyclopedie/inflammation/>
- **Pereira D. M., Valentão P., Pereira J. A., Andrade B. P., 2009.** Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules* 14, pp : 2202-2211.
- **Perrotis C., Caraffa N., Ailis., 1999.** Précis de matière médicale, Ed : Masson.
- **Philip T. R., Aaron C., 2011.** Gastric Acid and Digestive Physiology. *Surg Clin N Am* 91, 977–982, doi:10.1016/j.suc.2011.06.010
- **Philippe M., 1983.** Physiologie humaine, édition Flammarion. Pages : 1002-1010.
- **Pierre C., 1995.** Encyclopédie des médecines naturelles tome 1, Ed : Frison Roche Paris 1995.

- **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O., 2002.** Physiological action of antioxidant defenses. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16: 233-239,
- **Pinta M., Bourdou B., Rousselet F., 1980.** Spectrophotométrie d'absorption atomique.
- **Pisoschi A.M., Pop A., 2015.** The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* 97, 55-74
- **Pocock et Richards., 2004.** *Physiologie humaine les fondements de la médecine*, Masson, Paris, 409-418p.
- **Poljsak B., Šuput D., Milisav I., 2013.** Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 1-11.
- **Preston C. D., Hill M. O., 1997.** The geographical relationships of British and Irish vascular plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 124(1), 1-120.
- **Prieto P., Pineda M., Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant.
- **Prin L., Hachulla E., Hennache B., Bonnotte B., Dubucquoi S., Abbal M., Faure G., Bouletreau P., 2009.** Available from: http://w3med.univlille2.fr/inflammation/documents/Immuno_1.pdf
- **Pritzker K. P., 1994.** Animal models for osteoarthritis: processes, problems and prospects. *Ann Rheum Dis*, 53(6), 406-420.

-Q-

- **Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A., 2013.** Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological Research* 68, 125-131.
- **Quinton A., 1994.** *Décision en Gastro-entérologie et hépatique* ; Paris : Ed.vigot frères ; 464p.

-R-

- **Radwan S. F., Mohamed S. A-L., Hanaa H., Abd E. B., Layla S. T., 2020.** Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. *-Biotechnology Reports* 28.
- **Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K., 2014.** Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, 2014, 1-14
- **Ramakrishnan N., McClain D.E., Catravas G.N., 1993.** Membranes as sensitive targets in thymocyte apoptosis. *Int J Radiat Biol.* 63, 693 -701

- **Rankin J.A., 2004.** Biological mediators of acute inflammation. AACN Clinical Issues, 15; 3 -17
- **Rathinam V.A., Fitzgerald K.A., 2016.** Inflammasome complexes: Emerging mechanisms and effector functions. Cell, 165, 792–800
- **Rein D., Paglieroni T.G., Wun T., Pearson D.A., Schmitz H.H., Gosselin R., Keen C.L., 2000.** Cocoa inhibits platelets activation and function, Am. J. Clin. Nutr. 72:30-5.
- **Rejeb M.N., 1995.** Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris, pp: 79-85.
- **Rezaire A., 2012.** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse doctorat Université des Antilles et de la Guyane. 208p.
- **Rima A., Radia A., Latifa Z., Nour El Houda B., 2024.** ALGERIAN WILD GREEN CAROB (*Ceratonia siliqua* L.): PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIOXIDANT POTENCY. Bull. Chem. Soc. Ethiop. 2024, 38(1), 187-198. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/bcse.v38i1.14>
- **Roberts C.K., Sindhuk K., 2009.** Oxidative stress and metabolic syndrome. Life Sciences, 84 :705-712
- **Rodrigo R., Miranda A., Vergara L., 2011.** Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. Clinica Chimica Acta 412, 410-424.
- **Roede J. R., Jones D. P., 2010.** Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4- hydroxynonenal. Environmental and Molecular Mutagenesis, 51 : 380-390
- **Roifman I., Beck P.L., Anderson T.J., Eisenberg M.J., Genest J., 2011.** Chronic inflammatory diseases and cardiovascular risk: a systematic review. Can J Cardiol, 27, 174-182
- **Rostami-Motamed H., Taati M., Dezfoulian O., Alirezaei M., Moghaddasi M., 2015.** The Effects of Moderate Exercise on Ethanol-Induced Gastric Injuries in Rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, vol.17, no.10, pp.7.
- **Rtibi K., Mohamed A.J., Slimen S., Abdelaziz S., Hichem S., Jamel E-B., Mohamed A., Lamjed M., 2015.** Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. BMC Complementary and Alternative Medicine. 15:292 DOI 10.1186/s12906-015-0819-9

- **Ruggiero P., Tombola F., Rossi G., Pancotto L., Lauretti L., Del Giudice G., Zoratti M., 2006.** Polyphenols reduce gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection or VacA toxin administration in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50 (7): 2550-52.
- **Ruiz-Rodríguez.B.M., Sanchez M.C., Ancos B., 2014.** Wild *Arbutus unedo* L. and *Rubus ulmifolius* Schott fruits are underutilized sources of valuable bioactive compounds with antioxidant capacity. *Fruits* 69:435–48
- **Ruiz-Rodríguez B. M., Morales P., Fernández-Ruiz V., Sánchez-Mata M. C., Cámara M., Díez-Marqués C., Tardío J., 2011.** Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Research International*, 44(5), 1244-1253.

-S-

- **Saber B., Sandra A., Mourad B., Ratiba S., 2017.** Antioxidant , antibacterial activities and phenolic content of organic fractions obtained from *Chamaerops humilis* L. leaf and fruit. *International Journal of Biosciences | IJB |*. 11, No. 1, p. 284-297.
- **Saeed M.M., Farzaneh N., 2010.** Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran. *Food Chemistry* 119: 1637-1642.
- **Saito S., Lin Y.C., Tsai M.H., Lin C.S., Murayama Y., Sato R., Yokoyama K.K., 2015.** Emerging roles of hypoxia-inducible factors and reactive oxygen species in cancer and pluripotent stem cells. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 31, 279-286.
- **Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., Rice-Evans C.A., 1995.** Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 339-346.
- **Salem I.B., Ouesleti S., Mabrouk Y., Landolsi A., Saidi M., Boulilla A., 2018.** Exploring the nutraceutical potential and biological activities of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits. *Ind Crops Prod.* 122:726-31. doi:10.1016/j. indcrop.2018.06.024
- **Saric T., Rogosic J., Zupan I., Beck R., Bosnic S., Sikic Z., 2015.** Anthelmintic effect of three tannin-rich Mediterranean shrubs in naturally infected sheep. *Small Ruminant Research* 123, 179-182.
- **Sarni-Manchado P., Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398.
- **Sasaki K., Takahashi T. A., 2002.** flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochem.* 61 (3): 339-43.

- **Sbay H., Abourouch M., 2006.** Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, pp : 1-9.
- **Scoazec J-Y., 2011.** Pathologie œsophagienne et gastrique : lésions néoplasiques précoces. Cas no 8. Une tumeur endocrine de l'estomac. *Annales de pathologie* 31, 390—395.
- **Scoditti E., Capurso C., Capurso A., Massaro M., 2014.** Vascular effects of the Mediterranean diet-Part II: Role of omega-3 fatty acids and olive oil polyphenols. *Vascular Pharmacology* 63, 127-134.
- **Secka I., Hosu A., Cimpoi C., Ndoye S. F., Ba L. A., Salla C., 2021.** Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa procera* (barks) (Meliaceae). -*South African Journal of Botany* 137: 369-376.
- **Seifried H.E., Anderson D.E., Fisher E.I., Milner J.A., 2007.** A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *Journal of Nutritional Biochemistry* 18, 567-579.
- **Selves A., Ruiz S., Crognier L., Conil J.M., Bonneville F., Georges B., Dupuy M., Fourcade O., Geeraerts T., 2013.** Aspirin and its danger: Reye syndrome in young adult. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, p 814-816.
- **Serafim C., Araruna M.E., Junior E.A. Diniz M., Hiruma-Lima C., Batista L., 2020.** A• Review of the Role of Flavonoids in Peptic Ulcer. *Molecules*, 25(22):5431.
- **Serhan C.N., 2007.** Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*, 25, 101-37.
- **Serhan C.N., Savill J., 2005.** Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* , 6, 1191-7.
- **Serhan C.N., Ward P.A., Gilroy D.W., 2010.** Fundamentals of inflammation. Hardback,USA, pp; 13-14.
- **Servais S., 2004.** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en Oméga-3. Thèse de doctorat de l'université de Claude Bernard.
- **Shams G.E.S., Rana G.E., 2022.** Amelioration of ethanol-induced gastric ulcer in rats by quercetin: implication of Nrf2/HO1 and HMGB1/TLR4/NF-κB pathways. *Heliyon* 8e11159
- **Shih P. W., Lai P.L., Jen H.W.K., 2006.** Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry* 99, 775–783

- **Silanikove N., Serge L., Diti O., Dorit K., Israel B.Z.N., 1996.** Analytical approach and effects of condensed tannins in carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) on feed intake, digestive and metabolic responses of kids, *Livestock Science*. Vol. 99, pp: 29-38, N°1.
- **Singh V., Kumar R., 2017.** Study of phytochemical analysis and antioxidant activity of *Allium sativum* of Bundelkhand region. *Int J Life Sci Sci Res*. 3(6):1451-8. doi:10.21276/ijlssr.2017.3.6.4
- **Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299:152-78. doi:10.1016/http://www.
- **Singleton V.L., Rossi J.R., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic*, 16: 144–158.
- **Sinha M., Gautam L., Shukla P.K., Kaur P., Sharma S., Singh T.P., 2013.** Current Perspectives in NSAID-Induced Gastropathy. *Mediators of inflammation*, 10: 1155-1167.
- **Smaga I., Niedzielska E., Gawlik M., Moniczewski A., Krzek J., Przegaliński E., Pera J., Filip M., 2015.** Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism. *Pharmacological Reports* 67, 569-580
- **Soltner D., 2001.** Les bases de la production végétale : Tome 3 ; la plante et son amélioration, *Science et techniques agricoles*, P 303.
- **Stevens A., Lowe J., 2006.** *Histologie humaine*. 3ème édition. Paris : Elsevier. 222 p
- **Stevens A., Lowe J., 2009.** *Core Pathology*. Ed Mosby Elsevier, China, 50-54.
- **Stevens C.D., 2010.** *Clinical immunology and serology*. Therd edition, F.A. Davis Company Philadelphia, pp; 2-10.
- **Stevnsner A., Thorslunda T., Souza-Pintob N.C.D., Bohr V.A., 2002.** Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Exp Gerontol*. 37, 1189

-T-

- **Tahraoui A., Israili Z.H., Lyoussi B., 2010.** Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaurium erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 132: 48-55.
- **Talia F.M., Karthik G., Kevin S., 2023.** *Peptic Ulcer Disease*. StatPearls Publishing.
- **Tan B.L., Norhaizan M.E., Liew W.P., 2018.** Nutrients and oxidative stress: friend or foe. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Article ID 9719584, 24 pages.

- **Tanasescu S., Lkvesque H., Thuillez C., 2000.** Pharmacologic de l'aspirine. Rev MCD Interne; 21 Suppl I : 18-26
- **Tang S. Y., Halliwell B., 2010.** Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? Biochemical and Biophysical Research Communications, 394 :1-5.
- **Tardío J., Pardo-de-Santayana M., Morales R., 2006.** Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Botanical Journal of the Linnean Society, 152(1), 27.
- **Tardío J., Pascual H., Morales R., 2002.** Alimentos silvestres de Madrid: Guía de plantas y setas de uso alimentario tradicional en la Comunidad de Madrid. Ediciones La Librería. Madrid.
- **Techer S., 2013.** Criblage d'activités biologiques de plantes endémiques ou indigènes de La Réunion - Recherche de molécules antivirales ciblant le virus du chikungunya. Vegetal Biology. Thèse de doctorat. Université de la Réunion. Disponible sur : <https://tel.archivesouvertes.fr/tel-01199856/>
- **Terpolilli N.A., Moskowitz M.A., Plesnila N., 2012.** Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke. J. Cereb Blood Flow Metab. 32, 1332-1346.
- **Thommas D., Boyer M., Manns P., Arun J., Zakim S., 2012.** Hepatology: a textbook of liver disease, 6th edition, p 465-466
- **Torres R., Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe C., Guerrero J., 2006.** Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. Phytochemistry. 67: 984–987.
- **Tracey K.J., 2002.** The inflammatory reflex. Nature, 420, 853-859 .
- **Trease E., Evans W.C., 1987.** Pharmacognosie, Bellaire Tindal, London. pp: 61-62
- **Tsao R., 2010.** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients 2, pp: 1231-1246
- **Tucker S.C., 1992a.** The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Ceasalpinoideae: Cassieae). Am. J. Bot. 79(3): 367-327.
- **Turrens J.F., 2003.** Mitochondrial formation of reactive oxygen species. J. Physiol, 552 : 335-344

-V-

- **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 39:44-84

- **Valko M., Morris H., Cronin M.T.D., 2005.** Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208 1161
- **Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1): 1-40.
- **Van R.P., Fogliano V., 2020.** Roasting carob flour decreases the capacity to bind glycoconjugates of bile acids. *Food Funct* 11: 5924–32
- **Vander A., 2001.** Human physiology: the mechanism of body. The McGraw-Hill Companies, San Francisco. Pp: 143 – 240
- **Vardar Y., Seçurenand Ö., Ahmed M., 1972.** Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans, *Qual. Plant Mater*, Vol. XXI, pp:318- 327, N°4.
- **Velderrain-Rodríguez G.R., Palafox-Carlos H., Wall-Medrano A., Ayala-Zavala J.F., Chen C.O., Robles-Sánchez M., 2014.** Phenolic compounds: Their journey after intake. *Food & Function* 5, 189-197.
- **Venditti P., Di S.L., DiMeo S, 2013.** Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Mitochondrion* 13, 71-82.

-W-

- **W.H.O. 2022.** A report of the consultation meeting on traditional and modern medicine: Harmonizing two approaches, Beijing, Geneve: 22-26.
- **Wages P. A., Silbajoris R., Speen A., Brighton L., Henriquez A., Tong H., Samet J. M., 2014.** Role of H₂O₂ in the oxidative effects of zinc exposure in human airway epithelial cells. *Redox biology*, 3, 47-55.
- **Wagner J.G., Roth R.A., 2000.** Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. *Pharmacological Reviews*, 52; 349-374.
- **Wang L., Weller C.L., 2006.** "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants." *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
- **Weill B., Batteux F., 2003.** Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bruxelles: De Boeck Supérieur.
- **Wenji Z., Yingyi L., Qiuhua L., Lingli S., Ruohong C., Xingfei L., Zhaoxiang L., Erdong Y., Shili S., 2020.** Preventative and Therapeutic Potential of Flavonoids in Peptic Ulcers. *Molecules*, 25, 4626
- **Wichtl M., Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris : 38, 41.

- **Woronuk G., Demissie Z., Rheault M., Mahmoud S., 2010.** Biosynthesis and Therapeutic Properties of Lavandula Essential Oil Constituents. DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1250136>

-X-

- **Xia E.Q., Deng G.F., Guo Y.J., Li H.B., 2010.** Biological activities of polyphenols from grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 622-646.

-Y-

- **Yague C., 1989.** Modulation pharmacologique de la synthèse des prostaglandines gastriques chez le rat. Thèse; Université de Namur
- **Yan L.J., 2014.** Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerances. *Redox Biology*, 2; 165-169.
- **Yassine B., Hayette L., Béatrice G., André M., 2014.** Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. *-Industrial Crops and Products* 60: 298-303.
- **Ydjedd S., Chaalal M., Richard G., Kati D., E-López-Nicolás R., Fauconnier M., 2017.** Assessment of antioxidant potential of phenolic compounds fractions of Algerian *Ceratonia siliqua* L. pods during ripening stages. *-International Food Research Journal* 24(5): 2041-2049.
- **Young D.S., 2000.** Effects of Drugs on clinical Laboratory Tests. 5th Ed. AACC Press.
- **Youssef M.K.E., El-Manfaloty M.M., Ali H.M., 2013.** Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Food Public Health* 3:304–8

-Z-

- **Zaid A., Almuthanna A., Ahmed A. S., Waleed A. M., Omar T., 2019.** Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulfurous springs residents. *Heliyon* 5 e02885
- **Zeitoun J.C., Chryssostalis A., Lefevre A., 2014.** Chapitre 7 Anatomie de l'estomac. In : *Hépatologie Gastro-entérologie Chirurgie digestive*. Paris : édition Vernazobres- Grego. P 21.
- **Zhang B., Zeng M., Li B., Wang Y., Kan Y., Wang S., Meng Y., Gao J., Feng W., Zheng X., 2019.** Inhibition of oxidative stress and autophagy by arbutin in lipopolysaccharide-

induced myocardial injury. *Pharmacogn. Mag.* 15, 507, <http://www.phcog.com/text.asp?2019/15/63/507/258393>.

- **Zhang M., Shi J., Jiang L., 2015.** Modulation of mitochondrial membrane integrity and ROS formation by high temperature in *Saccharomyces cerevisiae*. *Electronic Journal of Biotechnology* 18, 202-209.
- **Zibera L., Fornasaro S., Čvorović J., Tramer F., Passamonti S., 2014.** Bioavailability of flavonoids: The role of cell membrane transporters. *Polyphenols in Human Health and Disease* 1, 489-511.
- **Zitouni H., Marie Laure F., Lahcen H., Rachida O., Manuel V-M., Francisca H., Sezai E., Lhoussain A.H., Zerhoune M., Hafida H., 2022.** Phenols, Volatile Compounds, Organic Acids and Antioxidant Activity of Strawberry Tree (*Arbutus Unedo L.*) Fruits Belonging to Five Genotypes Growing in Morocco. *INTERNATIONAL JOURNAL OF FRUIT SCIENCE* VOL. 22, NO. 1, 414–437 <https://doi.org/10.1080/15538362.2022.2037038>
- **Zohary M., 1973.** *Geobotanical Foundations of the Middle East*, 2 vols. Stuttgart, 1973
- **Zohoun T.H., Flenon J., 1997.** La médecine traditionnelle et la pharmacopée africaine peuvent-elles constituer une alternative de soins face aux coûts prohibitifs actuels de la médecine moderne ? *Pharm. Méd. Trad. Afr.* 1997, Vol. 9, pp.3-16.

Annexes

➤ **Les analyses qualitatives**

1. Test des tannins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de chaque extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%. •L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleue verte indique la présence des tanins

2. Test des alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner. 1ml de chaque extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 0,5ml de réactif de Mayer, l'autre par 0,5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

3. Test des phénols

Les poly phénols totaux ont été mis en évidence par la réaction avec le chlorure ferrique. Une portion de 2 ml de l'extrait de plante a été ajouté deux gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'aspect d'un bleu noirâtre plus ou moins foncé ou la couleur verte indique la présence de composés polyphénoliques.

4. Test des flavonoïdes

Dans un tube à essais, introduire 1ml d'extrait à tester, ajouter 1ml d'acide chlorhydrique (HCL) et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge ou jaune révèle présence des flavonoïdes.

5. Test des saponines

Solution mère d'extrait brut, 0.5 ml a été diluée avec 20 ml d'eau distillé puis le tube à essai été secoué à la main (15 min), formation d'une couche de mousse sur le dessus du tube à essai a montré la présence de saponines.

6. Test des terpénoïdes et stéroïdes

5 ml de solution d'extrait ont été mélangés dans 2ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté pour former une couche, une coloration brun rougeâtre de l'interface s'est formée pour indiquer la présence de terpénoïdes, la couleur rouge a la surface inférieure indique la présence de stéroïdes.

9. Test de carbohydate (réduction de sucre)

0.5 ml de solution d'extrait avec 1 ml de l'eau distillé et chauffé après avoir ajouté 5 à 8 gouttes de solution Fehling, une précipitation rouge brique a indiqué la présence de sucre réducteur.

10. Test des anthocyanes

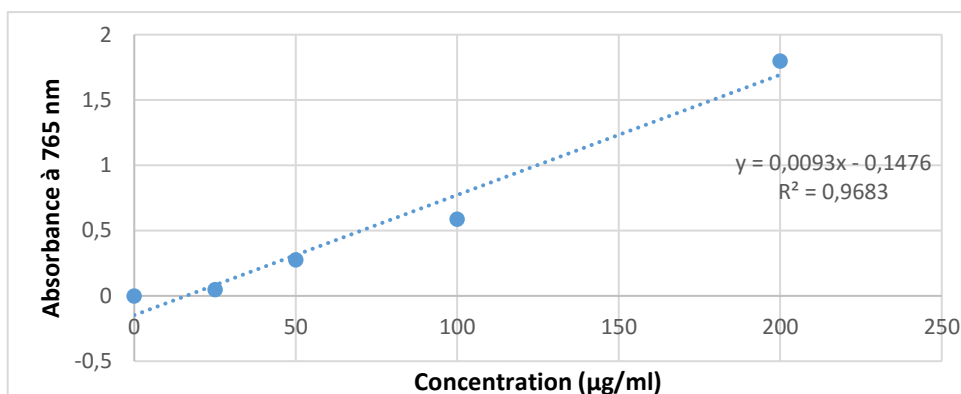
2 ml de solution de l'extrait avec 2 ml de HCL (2N), couleur rose rouge qui vire au bleu violacé après l'ajout d'ammoniac indique la présence des anthocyanes (Abba Pacôme O et al., 2015).

11. Test des coumarines

1 ml de 10% d'hydroxyde de sodium ajouté à 1 ml d'extrait. La couleur jaune est un signe de présence de coumarines.

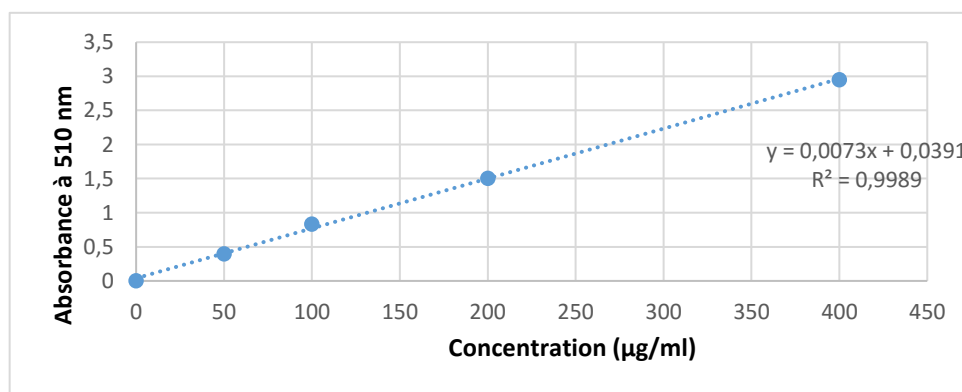
➤ Les analyses quantitatives

1. Dosages des polyphénols totaux



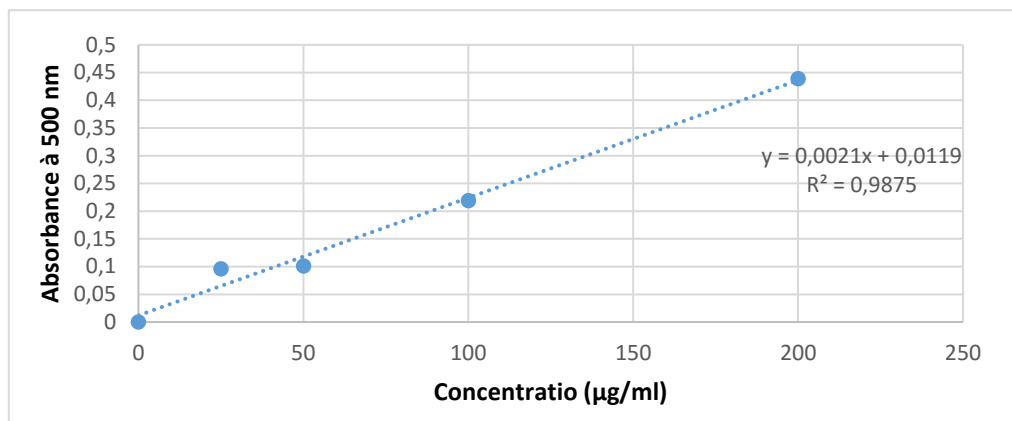
Droite d'étalonnage de l'Acide Gallique

2. Dosages des flavonoïdes



Droite d'étalonnage de Quercétine

3. Dosage des tanins condensés



Droite d'étalonnage de catéchine.

1-Analyse statistique des résultats activité antioxydante (*in vitro*)➤ DPPH IC₅₀

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Extraits	1	1,63896	1,63896	165,71	0,00021
Erreur	4	0,03956	0,00989		
Total	5	1,67852			

Comparaisons deux à deux de Tukey

Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %

Extraits	N	Moyenne	Groupement
Extrait 1	3	1,9879	A
Extrait 2	3	0,9426	B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Tests de simultanéité de Tukey pour les différences des moyennes

Différence des niveaux	Différence des moyennes	Erreur type de la différence	IC à 95 %	Valeur de T	Valeur de p ajustée
	Extrait 2 - Extrait 1	-1,0453		0,0812	(-1,2707; -0,8198)

Niveau de confiance individuel = 95,00 %

➤ FRAP

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Extraits	1	0,646527	0,646527	470,52	0,000027
Erreur	4	0,005496	0,001374		
Total	5	0,652024			

Comparaisons deux à deux de Tukey						
Informations de groupement avec la méthode de Tukey et un niveau de confiance de 95 %						
Extraits	N	Moyenne	Groupement			
Extrait 2	3	1,6565	A			
Extrait 1	3	1		B		
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						
Tests de simultanéité de Tukey pour les différences des moyennes						
Différence des niveaux	Différence des moyennes	Erreur type de la différence	IC �� 95 %	Valeur de T	Valeur de p ajustée	
	Extrait 2 - Extrait 1	0,6565		0,0303	(0,5725; 0,7406)	21,69
<i>Niveau de confiance individuel = 95,00 %</i>						

2-Analyse statistique des résultats activité antiinflammatoire (*in vitro*)

- L'inhibition de dénaturation des protéines

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitements	3	3735,47	1245,16	160,16	0
Conc (��g/ml)	1	684,49	684,49	88,04	0
Traitements*Conc (��g/ml)	7	4477,76	639,68	82,28	0,000001
Erreur	8	62,2	7,77		
Total	15	4539,95			

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Traitements_1	3	375,588	125,196	133,49	0
Conc (��g/ml)	1	0,06	0,06	0,06	0,807
Traitements_1*Conc (��g/ml)	3	497,412	165,804	176,79	0
Erreur	8	7,503	0,938		
Total	15	880,563			
Total	15	880,563			

➤ Résultats de Stabilité membranaire des érythrocytes humains

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
		ajust			
interaction	9	3061,78	340,198	193,71	0
Erreur	10	17,56	1,756		
Total	19	3079,34			

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
		ajust			
interaction	9	9622,44	1069,16	113,2	7,2089E-09
Erreur	10	94,45	9,45		
Total	19	9716,89			

3-Analyse statistique de l'étude *in vivo*

Tableau 1 : Représentation des paramètres biochimiques chez les rats témoins et traités.

Groupe	Paramètre				
	CRP (mg/dl)	PAL (U/l)	Créa (mg/dl)	TGO (U/l)	TGP (U/l)
Témoin	9,86 ± 2,24	189,55 ± 3,32	0,66 ± 0,1	103,21 ± 2,99	83,3 ± 4,56
Aspirine	52,96 ± 12.19	217,42 ± 35.27	1,07 ± 0,51	163,29 ± 25,89	126,39 ± 29.28
Ranitidine	9.31 ± 4.24	199,17 ± 10,06	0,68 ± 0,07	138.45 ± 40.07	109,73 ± 37,09
<i>C, siliqua</i>	18,82 ± 1.88	192,45 ± 33,3	0,6 ± 0,05	145,37 ± 29.72	100,55 ± 21.79
<i>A, unedo</i>	15,01 ± 3,85	191 ± 36,86	0,55 ± 0,015	150,79 ± 26,64	107,17 ± 11,99

- ANOVA à un facteur contrôlé : Créatinine, CRP, TGO, TGP et PAL en fonction des Traitements (*A, unedo*; Aspirine; *C, siliqua*; Ranitidine; Témoin), ($\alpha = 0,05$)

➤ Créatinine

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur
		ajust			de p
Traitements	4	0,6875	0,17186	2,84	0,065
Erreur	14	0,8473	0,06052		
Total	18	1,5348			

➤ CRP

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur
		ajust			de p
Traitements	4	5154,6	1288,64	31,89	0
Erreur	14	565,7	40,41		
Total	18	5720,2			

➤ TGO

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur
		ajust			de p
Traitements	4	6731	1682,8	2,03	0,146
Erreur	14	11618	829,9		
Total	18	18349			

➤ TGP

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur
		ajust			de p
Traitements	4	3383	845,7	1,38	0,291
Erreur	14	8579	612,8		
Total	18	11962			

➤ PAL

Analyse de variance					
Source	DL	SomCar	CM ajust	Valeur F	Valeur
		ajust			de p
Traitements	4	2047	511,7	0,63	0,649
Erreur	14	11370	812,1		
Total	18	13416			

*Publications
Internationales*



Phytochemical Screening, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Polyphenolic Extracts of Strawberry-tree Fruits (*Arbutus unedo* L)

Fatiha Lehfa^{1*}, Hamza Belkhodja², Fatima Sahnouni¹

¹ Laboratory Research on Biological Systems and Geomatics, Department of Biology, University of Mustapha Stambouli, Mascara, 29000, Algeria

² Laboratory of Bioconversion, Microbiology Engineering and Health Safety, Department of Biology, University of Mustapha Stambouli, Mascara, 29000, Algeria

Corresponding Author: Fatiha Lehfa, PhD, Laboratory Research on Biological Systems and Geomatics, Department of Biology, University of Mustapha Stambouli, Mascara, 29000, Algeria. Tel: 00213659320528, E-mail: fatiha.lehfa@univ-mascara.dz

Received January 11, 2023; Accepted April 8, 2023; Online Published June 18, 2023

Abstract

Introduction: *Arbutus unedo* L., is an evergreen plant belonging to the Ericaceae family, an endemic species of the Mediterranean flora. The aim of this study was to characterize the polyphenolic extract of *A. unedo* fruits with phytochemical analysis followed by evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities.

Materials and Methods: Antioxidant activity was determined using the scavenging activity of DPPH free radical and ferric-reducing antioxidant power assay. Then, the anti-inflammatory potential of *A. unedo* extracts was evaluated using Human Red Blood Cells (HRBC) membrane stabilization, and egg albumin denaturation assays.

Results: The highest total phenolic, flavonoid, and tannin content was recorded in the methanolic extract with 61.96 ± 5.33 mg GAE/g, 51.16 ± 0.57 mg QE/g, and 2.40 ± 0.14 mg CE/g, respectively. On the other hand, the best radical scavenging activity ($IC_{50} = 0.459 \pm 0.022$ mg/ml) and the highest reducing power activity ($EC_{50} = 0.471 \pm 0.022$ mg/ml) were exhibited by the methanolic extract *A. unedo*. Whereas regarding the anti-inflammatory activities, *A. unedo* aqueous extract exerted the highest HRBC stabilization of $70.86 \pm 0.61\%$ and Egg albumin denaturation inhibition of $70.06 \pm 0.68\%$.

Conclusions: Overall, the results suggest that aqueous and methanolic extracts of *A. unedo* fruits can be used as future ethnomedicinal antioxidants and anti-inflammatories due to their rich content of bioactive molecules.

Keywords: *Arbutus unedo*, Polyphenols, Oxidative Stress, Inflammation, Phytochemical Screening

Citation: Lehfa F, Belkhodja H, Sahnouni F. Phytochemical Screening, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Polyphenolic Extracts of Strawberry-tree Fruits (*Arbutus unedo* L). J Appl Biotechnol Rep. 2023;10(2):992-999. doi:10.30491/JABR.2023.380993.1596

Introduction

In the last decades, herbal medicines have received much attention in Western and Eastern countries as sources of biologically active substances, notably for the discovery of antioxidant, anti-inflammatory, anticarcinogenic, and cytotoxic agents.^{1,2} These plants are a natural reservoir of secondary metabolites, which exert various biological activities within the plant and on other organisms.³ The strawberry tree (*Arbutus unedo* L, family Ericaceae), is one of the most common fleshy fruited species in the Mediterranean basin⁴⁻⁶ producing berries with high nutritional value due to its rich content of bioactive components such as phenolic compounds, sugar, fatty acids, vitamins, and carotenoids.⁷ The fruit is used medicinally to treat gastrointestinal disorders, urological problems, skin problems, kidney disease, and cardiovascular applications.⁸ Their leaves are used medicinally to treat urological problems, dermatologic problems, kidney diseases, hypertension, cardiac diseases, diabetes, diuretic, anti-

inflammatory, and anti-diarrheal.^{8,9} It is a well-known fact that oxidative (or redox) status plays a central role in biological processes.¹⁰ Oxidative stress can be identified as an imbalance between the equilibrium of prooxidants and antioxidants; favoring prooxidants induces oxidative damage. The presence of a low amount of reactive oxygen species can be helpful, but an excessive amount is harmful and can cause oxidative damage to biomolecules, leading to many chronic diseases.¹¹ In addition, these ROS usually occur due to the leakage of electrons from the electron transport chain to oxygen during aerobic respiration.¹² Polyphenols, commonly called antioxidant compounds, are important in maintaining health and protecting against diseases such as cancer.¹³ Moreover, the search for new sources of novel anti-inflammatory agents is increasingly in demand due to the growing number of indications of inflammatory-mediated diseases.¹⁴ Mostly, lysosomal enzymes

released during inflammation produce a variety of disorders that lead to tissue damage by damaging macromolecules and lipid peroxidation of membranes that are believed to be responsible for certain pathological conditions such as heart attacks, septic shock, and rheumatoid arthritis.¹⁵ To the best of our knowledge, few studies have described the biological activities of fruit extracts of *A. unedo*. This study aimed to estimate the antioxidant and anti-inflammatory activity of *A. unedo* fruit extracts.

Materials and Methods

Plant Collection

The fruits of *A. unedo* were collected at the end of November 2020 in Tizi-Ouzou, Algeria at their optimal stage of maturation. The plant was identified by experts in these fields, using standard literature and taxonomic keys. The samples were packed in plastic boxes and stored in a cold system before extraction. All the selected berries presented a healthy external appearance.

Preparation of Polyphenolic Extracts

Hot Extraction (Decoction)

The preparation of the methanolic extract (MetEx) consisted of introducing 25 g of the sample into the cellulosic cartridge; the latter was inserted into the extractor of the Soxhlet assembly, which was topped with a refrigerator and 250 ml of methanol in the mounting flask, after boiling for 4 h at 65 °C. In addition, the methanol is also performed using rotavapor at 45 °C.¹⁶

Cold Extraction (Maceration)

20 grams of powder were dissolved in 200 ml of distilled water. After 24 h of maceration at room temperature, this operation was performed three times.^{17,18} The resulting solution was filtrated and then evaporated to obtain *A. unedo* L. extract. The extract obtained (AqEx) was stored at a temperature of 4 °C until use.¹⁹ The extraction yield (%) was calculated using the following formula²⁰:

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Weight of extract (g)}}{\text{Weight of dried plant}} \times 100$$

Phytochemical Screening

Qualitative Analysis

Qualitative analysis of phytochemical content was performed using the following published methods with minor modifications.²¹⁻²⁷

Quantitative Analysis

Determination of Total Phenolic Content (TPC)

The amount of phenol in the extract was determined by the Folin-Ciocalteu reagent method.²⁸ The assays were performed as follows: 1250 µl of the Folin Ciocalteu reagent (diluted 10-fold in distilled water) were mixed with 250 µl of the gallic acid solution and 1000 µl of 7% Na₂CO₃, the

final mix was slightly stirred; after 1 h reaction at room temperature, the absorbance was measured at 765 nm. The extracts solutions were mixed with the same reagents and treated as indicated above. All determinations were carried out in triplicate, and the results were expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE).²⁹

Determination of Flavonoid Content (FC)

The protocol was optimized from the study of Kumar et al.³⁰ An aluminum chloride complex-forming assay was used to determine the flavonoid content of the extracts. Quercetin was used as the standard and flavonoid content was determined as the quercetin equivalent. 1000 µl of the quercetin dilution was mixed with 300 µl of 4% sodium nitrate and allowed to stand for 5 minutes. Then, 300 µl of 10% aluminum chloride solution was added and allowed to stand for 6 minutes, after which 2000 µl solution of 1 M sodium hydroxide was added sequentially and completed volume to 10 ml. The absorbance of this reaction mixture was recorded at 510 nm on a UV spectrophotometer. The flavonoid content was calculated as quercetin equivalents (mg QE/g). All the procedures were performed in triplicate.

Determination of Condensed Tannins (CT)

Condensed tannins of the extracts were determined using the vanillin assay described by Hayet et al.,³¹ with some modifications. To 500 µl of standard (catechin) or extract, 3000 µl of vanillin/methanol (4%) solution was added and mixed. Then, 1500 µl of concentrated HCl was added and allowed to react at room temperature for 15 min. The absorbance at 500 nm was measured against a blank. The total concentration of condensed tannins was expressed in micrograms of catechin equivalents per milligram of dry matter with reference to the catechin calibration curve.

Antioxidant Activity

2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) Assay

The scavenging potency of the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical of the extract was determined by Diomande Awa,³² with a small modification. The absorbance at 517 nm was measured to assess the remaining amount of DPPH. Ascorbic acid (Vit C) was applied as a standard. The ability to scavenge DPPH radicals was calculated using the following equation:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{test}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Where: A control = The absorbance of the control reaction

A test = The absorbance of the extract

The results were expressed as the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) and compared with the standard. All measurements were fulfilled in triplicate and mean values were calculated.

Reducing power Assay

The reducing power of the extract was accomplished as described by Moriasi et al.³³ The absorbance was recorded at 700 nm in a UV-vis spectrophotometer and ascorbic acid was used as a standard. The extract concentration providing 0.5 of absorbance (EC₅₀) was calculated from the graph of absorbance registered at 700 nm against the correspondent extract concentration. All measurements were accomplished in triplicate.³⁴

Anti-inflammatory Activity

Inhibition of Albumin Denaturation

A solution of 0.2% (w/v) of egg albumin was prepared in a phosphate-buffered saline (PBS, pH 6.4)¹³ The method of inhibiting the denaturation of egg albumin was carried out according to the protocol of Habibur et al.³⁵ With a slight change. The reaction mixture (5 ml) consisted of 0.2 ml of egg albumin, 2.8 ml of PBS (pH 6.4), and 2 ml of varying concentrations (31.25-1000 µg/ml) of extract. A similar volume of double-distilled water served as the control. Then, the mixtures were incubated at 37 ± 2 °C in an incubator for 15 min and then heated at 70 °C for 5 min. After cooling, their absorbance was measured at 660 nm. Diclofenac sodium in concentrations of (31.25-1000 µg/ml) was used as the reference drug and treated similarly for the determination of absorbance.³⁵ Each experiment was done in triplicate and the average was taken. The percentage inhibition of protein denaturation was calculated by using the following formula:

$$\text{Inhibition percentage (\%)} = (A_0 - A/A_0) \times 100$$

Where: A₀ = absorbance of negative control

A = absorbance of test solution

HRBC Membrane Stabilization Method

The membrane-stabilizing activity was performed as per the method described previously by Dadoriya et al.³⁶ 10%

human red blood cells (HRBCs) suspension was prepared in phosphate buffer. An equal volume (1 ml) of extract (100-500 µg/ml in phosphate buffer), diclofenac sodium (100 µg/ml in phosphate buffer), or phosphate buffer (as control) was separately mixed with phosphate buffer (1 ml), hyposaline (1 ml) and HRBC suspension (0.5 ml). All the assay mixtures were incubated at 37 °C for 30 min and then centrifuged at 3000 rpm. The supernatants were decanted and their optical density was measured at 560 nm by spectrophotometer to estimate the hemoglobin content using phosphate buffer as blank. The percentage of hemolysis was calculated by the formula given below considering the hemolysis of control as 100%.

$$\% \text{Protection} = 100 - [\text{Optical density (sample)} / \text{Optical density (control)}] \times 100$$

Statistical Analysis

Data were presented as means ± SD and with linear regression analysis for calculation of IC₅₀ and EC₅₀ values (excel 2019, GraphPad prism7). Statistical significance (*p*<0.05) was assessed by one-way analysis of variance ANOVA coupled with Tukey's post hoc test.

Results and Discussion

Phytochemical Screening

Extraction Yield

The yields were 21.4 and 18.9% for AqEx and MetEx, respectively, as show in Table 1. The type of organic solvent used is a very important factor that affects the separation of a selective chemical from plant samples. The main function of polar solvents is to improve and facilitate the permeability of the cell wall of the chemical substances, which allows a better contact between the solvent and the solute, thus increasing the percentage yield of the extraction.³⁷

Table 1. Yield (%), Phenolic Content, IC₅₀ and EC₅₀ values

	Yield (%)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg QE/g)	TTC (mg CE/g)	DPPH	FRAP
					IC ₅₀ (mg/ml)	EC ₅₀ (mg/ml)
AqEx	21.45 ± 0.07	12.38 ± 0.29	16.13 ± 2.30	1.46 ± 0.04	0.942**** ± 0.03	1.655**** ± 0.03
MetEx	19.35 ± 0.63	61.96 ± 5.33	51.16 ± 0.57	2.40 ± 0.14	0.459**** ± 0.02	0.471**** ± 0.02
Ascorbic Acid	-	-	-	-	0.063**** ± 0.0002	0.085**** ± 0.005

****significant at *p*<0.0001

Table 2. Phytochemical Screening Results of *A. unedo* Extracts

Chemical Compound	Extract	
	AqEx	MetEx
Reducing sugar	+++	+++
Alkaloids	-	-
Flavonoids	+	++
Tannins	+++	+++
Phenols	+++	+++
Saponosides	-	-
Terpenoid	++	-
Steroid	++	-
Anthocyanin	+	+++
Quinone	-	-

The symbols: +++, ++, +, and - refer to appreciable amounts, moderate, trace, and absent amounts, respectively.

Qualitative Analysis

Secondary metabolites were the principal constituents of plants that can be detected by phytochemical screening. Both the preliminary phytochemical screening of the AqEx and MetEx of *A. unedo* fruits revealed the presence of different chemical compounds (Table 2): containing phenols, tannins, reducing sugar at very high concentrations for both and anthocyanins were abundant only in the MetEx. This was observed due to the intense staining caused by the strong reaction between the sample and the reagents. On the other hand, terpenoid and steroid have been detected at moderate concentrations in AqEx and a complete absence of these in MetEx. However, the test showed the presence of flavonoids and anthocyanin traces in AqEx, and a missing of alkaloids, quinone, and saponosides for both extracts. This finding, with the exception of the presence of steroids in AqEx, was in agreement with previous work.³⁸

Quantitative Analysis

This study dealt with the quantitative determination of phenolics, flavonoids, and tannins. The results showed that MetEx presented higher phenol, flavonoid, and tannin content than aqueous ones (Table 1). The TPC was expressed as mg of gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract and varied from 61.965 ± 5.337 to 12.38 ± 0.296 mg GAE/g in methanolic and aqueous extract, respectively. TPC in *A. unedo* fruits reached similar values to those published by El Cadi et al.³⁸ On other hand, these values were higher than those found by Asmaa et al. and Bouzid,^{39, 40} and lesser than those obtained by Salem et al. and Moualek et al.^{17,13} The experimental results showed that the fruit extract of *A. unedo* contains flavonoids ranging from 51.166 ± 0.577 to 16.133 ± 2.309 mg of QE/g of extract in the MetEx and AqEx, respectively, these values similar to those found by El Cadi et al.,³⁸ and a higher value compared to that published by

Moualek et al.¹³ So, the tannins content of the studied extract was varied from 2.408 ± 0.144 to 1.46 ± 0.044 EC mg/g in the methanolic extract and aqueous, respectively. Although the quantity of tannins was higher than that published by El Cadi et al.,³⁸ and similar to that found by Bouzid.⁴⁰ However, the variation in the determination of polyphenols, flavonoids, and tannins can be explained by the fact that the content of phenolic compounds was influenced by several factors and parameters such as geographical, climatic conditions of the locality where the fruits are collected, extraction method, solubility and type of solvent used.^{31,41,42} In addition, this study demonstrated the presence of various phenolic compounds such as phenols, tannins, and flavonoids. These compounds were commonly present in polar extracts such as hydroalcoholic extracts, and could be the main cause of their considerable radical scavenging activity.⁴³

DPPH Scavenging Activity

The DPPH radical scavenging activity (RSA) was recorded in terms of inhibition percent as shown in Figure 1, the parameter used to compare RSA of the extract and ascorbic acid was IC₅₀ value, which represents the concentration of antioxidant sufficient to scavenge 50% of DPPH radicals. The IC₅₀ value for ascorbic acid was (0.063 ± 0.0002) mg/ml, which was comparatively lower than the IC₅₀ [(0.459 ± 0.022) mg/ml, (0.942 ± 0.03)] of the MetEx and AqEx, respectively as shown in Table 1. The IC₅₀ of the extract studied exceeds that reported by Brigitte et al.,⁴⁴ and Oliveira.⁸ In contrast, the methanolic extract has an important antioxidant effect than the aqueous. This finding was in agreement with THE previous work of Masmoudi et al.⁴⁵ So, the DPPH entrapment results detect that *A. unedo* fruit extracts may be useful in the manufacture of drugs to help prevent or cure health problems that could lead to systemic actions of oxidizing agents.

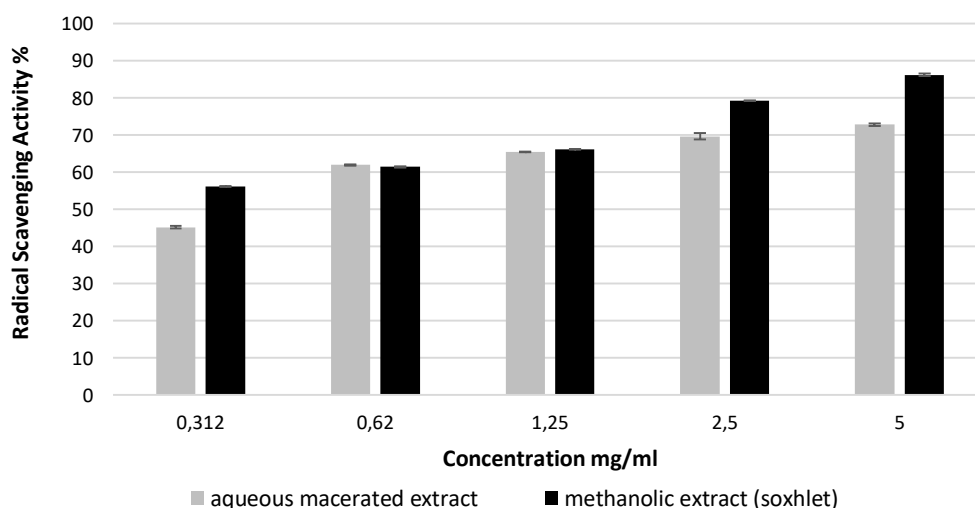


Figure 1. Radical Scavenging Activity of *A. unedo* Extracts.

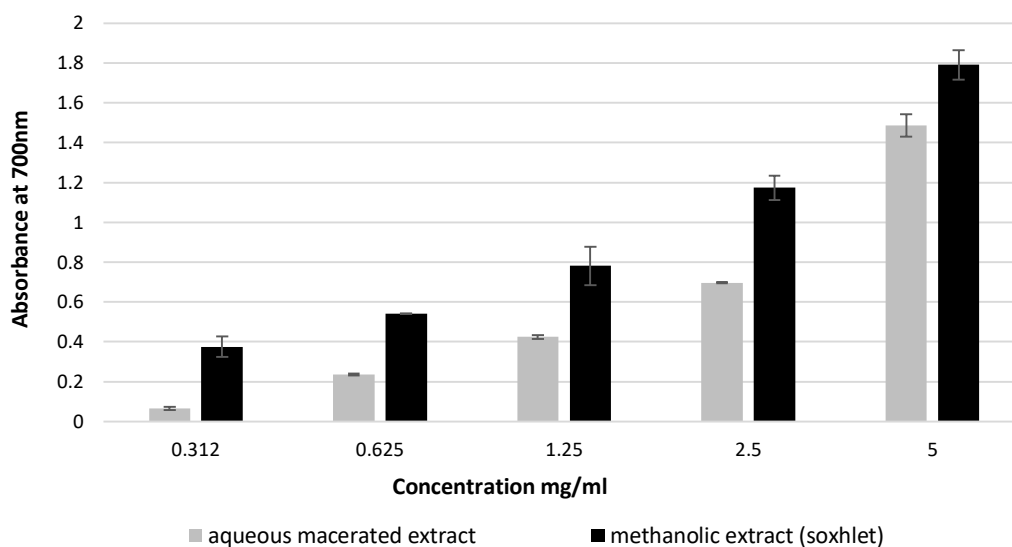


Figure 2. Ferric Reducing Power *A. unedo* Extracts.

Reducing Power Assay

The reducing power of the sample extract, which is related to the antioxidant activity, was evaluated using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) test. When the sample contained antioxidant compounds so it was able to reduce Fe (III) from potassium ferricyanide to Fe (II), resulting in a color change of the solution from yellow to light green. Figure 2 showed the reducing power of *A. unedo* extracts as a function of their concentration. In this assay, the MetEx exhibited a reducing power clearly stronger than that of AqEx. The lower EC_{50} value that corresponds to the higher reducing capacity was obtained from MetEx (0.471 ± 0.022 and 1.655 ± 0.032 mg/ml, for MetEx and AqEx, respectively) (Table 1). The EC_{50} of the extract was lower than the one reported by Oliveira and Mendes et al.^{8,46} On the other hand,

these values were higher than those found by Asmaa et al.³⁹ This antioxidant activity showed that phenolic constituents of *A. unedo* were good electron donors, being able to terminate the radical chain reaction by transforming the free radicals into more stable compounds. Furthermore, the fruits presenting higher amounts of total phenols (intermediate stage of maturation) achieved a lower EC_{50} value for this method. This relationship was also valid for the other two stages of maturity. The unripe fruits, presenting the lowest content of total phenols, present the higher value of EC_{50} in the reducing power assay, and the ripe fruits, with an in-between phenolic content, also presented an intermediate EC_{50} value.⁸ Finally, this study confirmed that antioxidant activity was well correlated with the amount of phenolics present in the extract of *A. unedo* fruits.

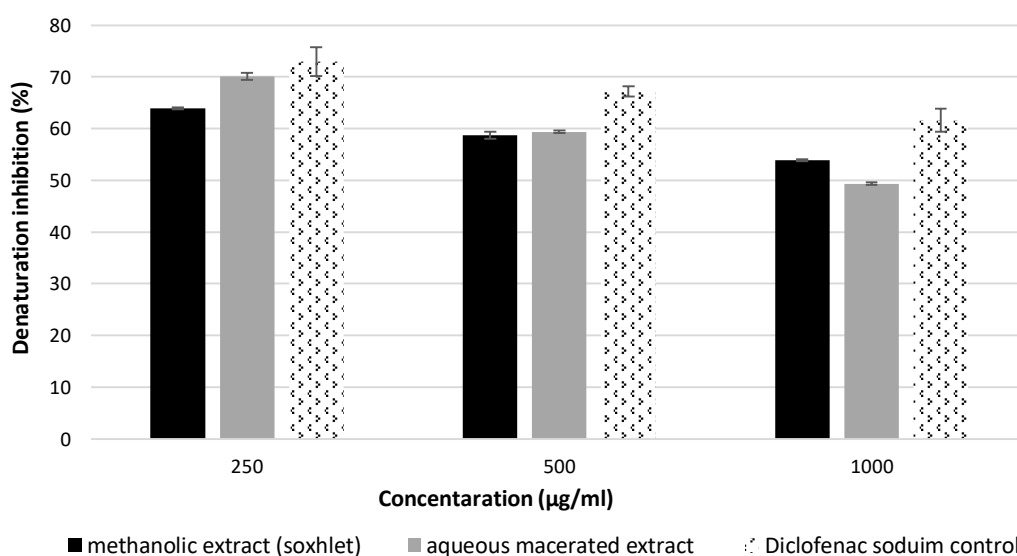


Figure 3. Egg Albumin Protein Denaturation Inhibition Activity of *A. unedo* Extracts.

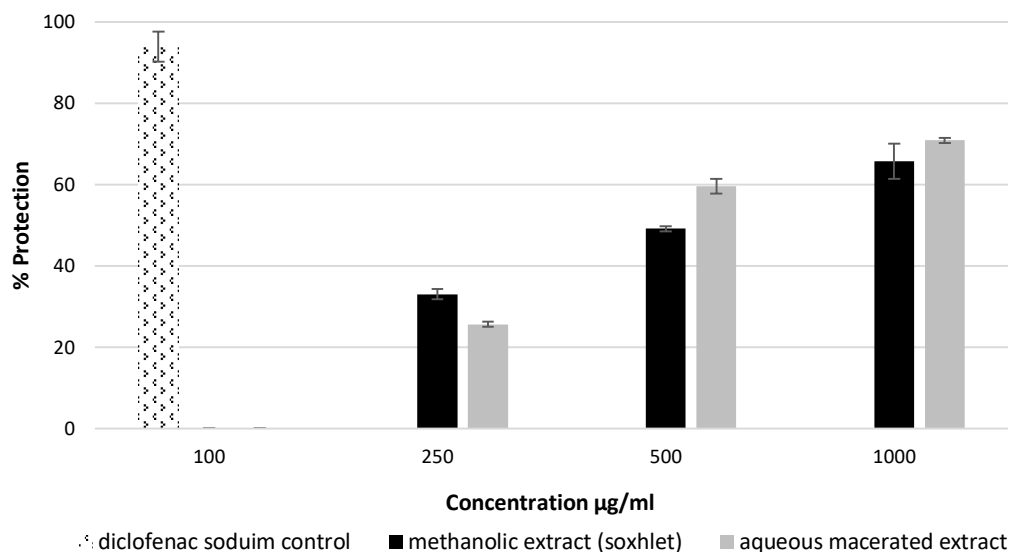


Figure 4. HRBC Membrane Stabilization Activity of *A. unedo* Extracts.

Inhibition of Albumin Denaturation

As shown in Figure 3, this inhibition of protein denaturation was not in a dose-dependent manner. The *A. unedo* AqEx exerted the highest inhibition activity of protein denaturation at concentrations of 250 and 500 µg/ml (70.064 ± 0.686 and $59.385 \pm 0.228\%$, respectively) followed by the MetEx at concentrations of 250 and 500 µg/ml (63.915 ± 0.228 and $58.737 \pm 0.686\%$, respectively). Although both extracts revealed high inhibition activities, none of them surpassed the standard diclofenac drug that had a high protein denaturation inhibition activity of (72.914 ± 2.977 and $67.162 \pm 1.016\%$ at concentrations 250 and 500 µg/ml, respectively). When comparing the activity of plant extract on albumin denaturation, it was observed that *A. unedo* extract was lower than that reported by Moualek et al.¹³

HRBC Membrane Stabilization

HRBC membrane stabilization assay results in Figure 4 indicated that the AqEx of *A. unedo* had the highest inhibition percentage at 500 and 1000 µg/ml (59.565 ± 1.844 and 70.867 ± 0.614 , respectively) followed by the MetEx had an inhibitory activity of $49.130\% \pm 0.614$ and $65.652\% \pm 4.304$ at the same concentration. Both AqEx and MetEx exhibited lower stabilization activity when compared to the standard diclofenac sodium, which had an inhibition of $93.913\% \pm 3.689$ at 100 µg/ml. These results provided evidence of the anti-inflammatory activity of the extract which showed a good protective effect of HRBC. Moreover, this result was in agreement with previous work obtained by Moualek et al.¹³

Protein denaturation was a well-documented cause of inflammation and rheumatoid arthritis. The ability of plant extract to inhibit the thermal denaturation of protein (egg

albumin) was a reflection of its anti-inflammatory activity.⁴⁷ Also, Mariotto et al.⁴⁸ demonstrated that acute pulmonary inflammation was significantly attenuated by treatment with *A. unedo* extract. While the mechanisms of the anti-inflammatory effect of *A. unedo* extract seemed to be correlated with the reduction of IL-6 production, the successive activation of STAT3, the formation of other pro-inflammatory cytokines such as TNF- and IL-1, the increase of neutrophil recruitment, and the expression of iNOS and COX-2 proteins and their activity, which may ultimately lead to the decrease of tissue damage.⁴⁸ Stabilization of the lysosomal membrane was an essential factor in limiting inflammation by inhibiting the release of lysosomal contents by neutrophils, which are primarily responsible for inflammation and tissue damage.³¹ The *in vitro* erythrocyte hemolysis test was commonly used to screen drugs for anti-inflammatory activity. Most anti-inflammatory drugs stabilized the plasma membrane of erythrocytes and thus inhibited heat- and hypotonia-induced hemolysis.⁴⁹

Conclusion

The present study showed that both aqueous and methanolic extracts of *A. unedo* fruits contained various phytochemicals. Furthermore, *A. unedo* methanolic extract possessed the highest total phenolic, flavonoid, and tannin content. Interestingly, all *A. unedo* extracts exhibited promising antioxidant and anti-inflammatory properties. Results indicated that both extracts can be utilized as future antioxidants and anti-inflammatory ethnomedicines.

Authors' Contributions

Conception and design of the study by FS; Acquisition of data and doing the laboratory phase by FL and HB; Analysis

and interpretation of data by FL, HB, and FS. The final manuscript was read and approved by all the authors.

Conflict of Interest Disclosures

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgment

The authors are grateful to the staff of faculty of nature and life sciences, University of Mustapha Stambouli, Mascara, Algeria for providing facilities to conduct the research.

References

- Guendouze-Bouchefa N, Madani K, Chibane M, Boulekbache-Makhlouf L, Hauchard D, Kiendrebeogo M, et al. Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of three Ericaceae from Algeria. *Ind Crops Prod.* 2015;70:459-66. doi:10.1016/j.indcrop.2015.03.053
- Chandra S, Lata H, Varma A. *Biotechnology for Medicinal Plants, Micropropagation and Improvement*, Library of Congress Control Number: 2012942923, Forward VII. 2013. doi:10.1007/978-3-642-29974-2
- Manziona MG, Martorell M, Sharopov F, Bhat NG, Kumar NV, Fokou PV, et al. Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside, a systematic review. *Eur J Pharmacol.* 2020;883:173344. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173344
- Molina M, Pardo-de-Santayana M, Aceituno L, Morales R, Tardío J. Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. *Forestry.* 2011;84(4):419-29. doi:10.1093/forestry/cpr031
- Llzan MM, Haciseferoğulları H. The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: chemical composition, physical properties and mineral contents. *J Food Engineer.* 2007;78(3):1022-8. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.12.014
- Orak HH, Aktas T, Yagar H, Isbilir SS, Ekinici N, Sahin FH. Antioxidant activity, some nutritional and colour properties of vacuum dried strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2011;10(3):331-8.
- Albuquerque BR, Prieto MA, Vazquez JA, Barreiro MF, Barros L, Ferreira IC. Recovery of bioactive compounds from *Arbutus unedo* L. fruits: Comparative optimization study of maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Food Res Int.* 2018;109:455-71. doi:10.1016/j.foodres.2018.04.061
- Bento I, Pereira JA. *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *J Food Nutr Res.* 2011;50:73-85.
- Miguel MG, Faleiro ML, Guerreiro AC, Antunes MD. *Arbutus unedo* L.: chemical and biological properties. *Molecules.* 2014;19(10):15799-823. doi:10.3390/molecules191015799
- Costantini D. Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol.* 2019;222(13):jeb194688. doi:10.1242/jeb.194688
- Altaany Z, Alkaraki A, Abu-Siniyeh A, Al Momani W, Taani O. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulfuric springs residents. *Heliyon.* 2019;5(11):e02885. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02885
- Farrugia G, Balzan R. Oxidative stress and programmed cell death in yeast. *Front Oncol.* 2012;2:64. doi:10.3389/fonc.2012.00064
- Moualek I, Aiche GI, Guechaoui NM, Lahcene S, Houali K. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2016;6(11):937-44. doi:10.1016/j.apjtb.2016.09.002
- Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 2018;9(6):7204-18. doi:10.18632/oncotarget.23208
- Kaur S, Syed Ali M, Anuradha V, Suganya V, Ashashalini A, Bhuvana P. *In vitro* anti-inflammatory activity of mangrove plant *Rhizophora mucronata* Lam. (Malpighiales: Rhizophoraceae). *Braz J Biol Sci.* 2018;5(10):417-26. doi:10.21472/bjbs.051018
- Kachkoul R, Housseini TS, Mohim M, El Habbani R, Miyah Y, Lahrichi A. Chemical compounds as well as antioxidant and litholytic activities of *Arbutus unedo* L. leaves against calcium oxalate stones. *J Integr Med.* 2019;17(6):430-7. doi:10.1016/j.joim.2019.08.001
- Salem IB, Ouesleti S, Mabrouk Y, Landolsi A, Saidi M, Boulilla A. Exploring the nutraceutical potential and biological activities of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits. *Ind Crops Prod.* 2018;122:726-31. doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.024
- Abdelaziz S, Benamira M, Messaadia L, Boughoues Y, Lahmar H, Boudjerda A. Green corrosion inhibition of mild steel in HCl medium using leaves extract of *Arbutus unedo* L. plant: an experimental and computational approach. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Asp.* 2021;619:126496. doi:10.1016/j.colsurfa.2021.126496
- Jimenez-Zamora A, Delgado-Andrade C, Rufian-Henares JA. Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. *Food Chem.* 2016;199:339-46. doi:10.1016/j.foodchem.2015.12.019
- Patle TK, Shrivastava K, Kurrey R, Upadhyay S, Jangde R, Chauhan R. Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2020;242:118717. doi:10.1016/j.saa.2020.118717
- Singh V, Kumar R. Study of phytochemical analysis and antioxidant activity of *Allium sativum* of Bundelkhand region. *Int J Life Sci Scient Res.* 2017;3(6):1451-8. doi:10.21276/ijlssr.2017.3.6.4
- Ayoola GA, Coker HA, Adesegun SA, Adepoku-Bello AA, Obaweya K, Ezennia EC, et al. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Trop J Pharm Res.* 2008;7(3):1019-24. doi:10.4314/tjpr.v7i3.14686
- Auwail MS, Saka S, Mairiga IA, Sanda KA, Shuaibu A, Ibrahim A. Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of *Acacia nilotica* (Thorn mimosa). *Vet Res Forum.* 2014;5(2):95-100.
- Shaikh JR, Patil M. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *Int J Chem Stud.* 2020;8(2):603-8. doi:10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834
- Yadav RN, Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants. *J Phytol.* 2011;3(12):10-4.
- Obouayeba AP, Diarrassouba M, Soumahin EF, Kouakou TH. Phytochemical analysis, purification and identification of *Hibiscus anthocyanins*. *J Pharm Chem Biol Sci.* 2015;3(2):156-68.
- Kumar J, Kaur A, Narang P. Phytochemical screening and metal binding studies on floral extract of *Solanum nigrum*. *Mater Today: Proc.* 2020;26:3332-6. doi:10.1016/j.matpr.2019.09.170
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299:152-78. doi:10.1016/

- S0076-6879(99)99017-1
29. Gonzales M, Villena GK, Kitazono AA. Evaluation of the antioxidant activities of aqueous extracts from seven wild plants from the Andes using an *in vivo* yeast assay. *Results Chem.* 2021;3:100098. doi:10.1016/j.rechem.2021.100098
 30. Kumar R, Sharma S, Devi L. Investigation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity from extracts of *Azadirachta indica* of Bundelkhand Region. *Int J Life Sci Scienti Res.* 2018;4(4):1925-33. doi:10.21276/ijlssr.2018.4.4.10
 31. Hayat J, Akodad M, Moumen A, Baghour M, Skalli A, Ezrari S, et al. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon.* 2020;6(11):e05609. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05609
 32. Diomande A, Yousouf S, Honora DT, Adama B, Witabouna KM. Antioxidant power and phenolic compound content of two species of the genus *Albertia*: *Albertia cordifolia* (Mangenot & J. Minge) Forman and *Albertia scandens* (Mangenot & J. Miede) Forman (Menispermaceae). *Eur Sci J.* 2018;14(30):128-44. doi:10.19044/ESJ.2018.V14N30P128
 33. Moriasi GA, Ileri AM, Nelson EM, Ngugi MP. *In vivo* anti-inflammatory, anti-nociceptive, and *in vitro* antioxidant efficacy, and acute oral toxicity effects of the aqueous and methanolic stem bark extracts of *Lonchocarpus eriocalyx* (Harms.). *Heliyon.* 2021;7(5):e07145. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07145
 34. Oliveira I, Coelho V, Baltasar R, Pereira JA, Baptista P. Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(7):1507-11. doi:10.1016/j.fct.2009.03.042
 35. Rahman H, Eswaraiah MC, Dutta AM. *In-vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritis Activity of *Oryza sativa* Var. Jaha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). *Am Eurasian J Agric Environ Sci.* 2015;15(1):115-21. doi:10.5829/idosi.aejaes.2015.115.121
 36. Dadoriya P, Dey YN, Sharma D, Yadav M, Wanjari MM, Gaidhani SN, et al. *In-vitro* anti-inflammatory and antioxidant activities of an Ayurvedic formulation–*Trayodashang guggulu*. *J Herb Med.* 2020;23:100366. doi:10.1016/j.hermed.2020.100366
 37. Patle TK, Shrivastava K, Kurrey R, Upadhyay S, Jangde R, Chauhan R. Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV–vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc.* 2020;242:118717. doi:10.1016/j.saa.2020.118717
 38. El Cadi H, El Cadi A, Kounnoun A, El Majdoub YO, Lovillo MP, Brigui J, et al. Wild strawberry (*Arbutus unedo*): Phytochemical screening and antioxidant properties of fruits collected in northern Morocco. *Arab J Chem.* 2020;13(8):6299-311. doi:10.1016/j.arabjc.2020.05.022
 39. Asmaa N, Abdelaziz G, Boulanouar B, Carbonell-Barrachina AA, Cano-Lamadrid M, Noguera-Artiaga L. Chemical composition, antioxidant activity and mineral content of *Arbutus unedo* (Leaves And Fruits). *J Microbiol Biotechnol Food Sci.* 2019;8(6):1335. doi:10.15414/jmbfs.2019.8.6.1335-1339
 40. Bouzid K. Contribution for study of valorisation options of species *Arbutus unedo* L. in west Algerian. Doctoral Thesis. 2015: 90.
 41. Mrabti HN, Bouyahya A, Ed-Dra A, Kachmar MR, Mrabti NN, Benali T, et al. Polyphenolic profile and biological properties of *Arbutus unedo* root extracts. *Eur J Integr Med.* 2021;42:101266. doi:10.1016/j.eujim.2020.101266
 42. Farag RS, Abdel-Latif MS, Abd El Baky HH, Tawfeek LS. Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. *Biotechnol Rep.* 2020;28:e00536. doi:10.1016/j.btre.2020.e00536
 43. Seck I, Hosu A, Cimpoi C, Ndoye SF, Ba LA, Sall C, Seck M. Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of *Carapa procera* (barks)(Meliaceae). *S Afr J Bot.* 2021;137:369-76. doi:10.1016/j.sajb.2020.11.019
 44. Tenuta MC, Deguin B, Loizzo MR, Dugay A, Acquaviva R, Malfa GA, et al. Contribution of flavonoids and iridoids to the hypoglycaemic, antioxidant, and nitric oxide (NO) inhibitory activities of *Arbutus unedo* L. *Antioxidants.* 2020;9(2):184. doi:10.3390/antiox9020184
 45. Masmoudi M, Ammar I, Ghribi H, Attia H. Physicochemical, radical scavenging activity and sensory properties of a soft cheese fortified with *Arbutus unedo* L. extract. *Food Biosci.* 2020;35:100579. doi:10.1016/j.fbio.2020.100579
 46. Mendes L, de Freitas V, Baptista P, Carvalho M. Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(9):2285-91. doi:10.1016/j.fct.2011.06.028
 47. Akoto CO, Acheampong A, Boakye YD, Kokloku BK, Kwarteng G. *In vitro* anthelmintic, anti-inflammatory, antioxidant activities and FTIR analysis of *Sclerocarya birrea* root. *J Pharmacogn Phytochem.* 2020;9(2):1389-401.
 48. Mariotto S, Esposito E, Di Paola R, Ciampa A, Mazzon E, de Prati AC, et al. Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice. *Pharmacol Res.* 2008;57(2):110-24. doi:10.1016/j.phrs.2007.12.005
 49. Kardile MV, Mahajan UB, Shaikh HM, Goyal SN, Patil CR. Membrane stabilization assay for anti-inflammatory activity yields false positive results for samples containing traces of ethanol and methanol. *World J Pharm Pharm Sci.* 2016;5(3):493-7.

Phytochemical Study and Biological Activities of *Ceratonia siliqua* L.

Étude phytochimique et activités biologiques de *Ceratonia siliqua* L.

F. Sahnouni · F. Lehfa

© Lavoisier SAS 2022

Abstract The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) belongs to the legume family and is mainly cultivated in the Mediterranean. *Ceratonia siliqua* L. is a medicinal plant used in traditional Algerian medicine. Therefore, this study aims to analyze the phytochemical constituents, traditional uses, and pharmacological activities of *Ceratonia siliqua*. Indeed, certain studies and research on pods and leaves of carob have revealed the presence of a number of compounds, including large amounts of carbohydrates, dietary fiber, minerals, polyphenols, flavonoids, and low amounts of protein and lipids. The secondary metabolite profile of carob extracts includes a matrix rich in polyphenols which is responsible for several biological effects and health attributes, namely, anticancer, antidiabetic, anti-inflammatory, antioxidant, antiulcer, anticonstipation, and antihyperlipidemic activities. So we finally concluded that carob had beneficial preventive and therapeutic properties.

Keywords Carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) · Secondary metabolite · Biological activities

Résumé Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) appartient à la famille des légumineuses. Principalement cultivé en Méditerranée, *Ceratonia siliqua* L. est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle algérienne. Par conséquent, cette étude vise à analyser les constituants phytochimiques, les utilisations traditionnelles et les activités pharmacologiques de *Ceratonia siliqua*. En effet, certaines études et recherches sur les gousses et les feuilles de caroube ont révélé la présence d'un certain nombre de composés dont de grandes quantités de glucides, de fibres alimentaires, de minéraux, de polyphénols, de flavonoïdes et de faibles quantités de protéines et de lipides. Le profil de métabolite secondaire des extraits de caroube comprend une matrice riche en polyphénols qui est

responsable de plusieurs effets biologiques et attributs de santé, à savoir anticancéreux, antidiabétique, anti-inflammatoire, antioxydant, antiulcéreux, anticonstipation et antihyperlipidémique. Finalement, le caroubier avait des propriétés préventives et thérapeutiques bénéfiques.

Mots clés Caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) · Métabolites secondaires · Activités biologiques

Introduction

Plants have been used as a more abundant and profitable renewable resource of medicines since ancient times. Until now, the World Health Organization (WHO) estimates that up to 80% of the world's population still depends primarily on traditional remedies such as plants in one form or another for their medicine [1]. So we can explain this by the beneficial effects of many plants on several pathologies and also the prevention of diseases thanks to their antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties [2]. The scientific basis for the emergence of pharmacology in the 18th and 19th centuries was largely based on substances of plant origin. With the introduction of new botanical therapeutic agents, plants are also poised to continue to play a key role in the era of modern medicine. Globally, the beneficial impact of plant biotechnology has been almost exclusively on medicinal plants [1].

Definition

Carob is the fruit obtained from *Ceratonia siliqua* L. and it is a source of bioactive compounds that have been linked to several beneficial health effects [3] (Fig. 1). This tree has been cultivated in most countries of the Mediterranean basin since antiquity, mainly in Spain, Italy, Portugal, Greece, Morocco, Turkey, Algeria, and Tunisia [4,5]. It is an evergreen leguminous tree and is considered an important part of vegetation for economic and environmental reasons.

F. Sahnouni · F. Lehfa (✉)
Faculty of Natural Sciences and Life,
University Mustapha-Stambouli of Mascara, Algeria
e-mail : fatilahfa@yahoo.com

F. Sahnouni
Environmental Monitoring Network, Faculty of Science,
University of Oran 1, Ahmed-Ben-Bella, Algeria



Fig. 1 Center of origin and distribution of the carob tree in the world [4]

Global production is estimated at around 310,000 tons per year, and produced on around 200,000 hectares with widely varying yields depending on cultivar, region, and farming practices [4]. The tree attains a developed stature and spread of about 6 to 15 m high, with branches spreading out to the ground [6]. The fruit is a dark brown pod, with a straight, curved, or twisted shape, and it might be elongated or compressed in structure. The pod mass ranges between 5 and 30 g. The pods can be up to 25 cm long, up to 1.3 cm thick, and up to 4 cm [4]. The pulp comprises an outer leathery layer (pericarp) and softer inner region (mesocarp). Seeds occur in the pod transversally, separated by mesocarp [7] (Fig. 2).

Identity

The scientific name carob (*Ceratonia siliqua* L.) derives from the Greek keras, horn, and the Latin siliqua, referring to the hardness and shape of the pod [4]. The common name originates from the Hebrew kharuv, from which are derived the Arabic kharrub and later algarrobo or garrofero in Spanish, carrubo in Italian, carob tree in French are derived [4] (Table 1). *Ceratonia siliqua* is an evergreen flowering tree or shrub in the Caesalpinioideae subfamily of the legume family, Fabaceae (Table 2).

Functional chemical components of locust bean fruit

The carob bean consists of two main parts: around 90% pulp and 10% seeds [3]. The carob fruit is a mixture between

primary and secondary metabolites, the presence of sugars and fiber being characteristic of these fruits, followed by a great diversity of many minerals, and amino acids are also present in the carob fruits [7].

Sugar

The carob fruit is known for its high sugar. It contains approximately 40% to 60% sugars (sucrose, glucose, and fructose) [8]. The major carbohydrate in carob bean is the sucrose. Carob sugars are usually used for the production of natural carob syrup [7,9].

Fibers

Hipsley in 1953 was the first to use “dietary fiber” as a shorthand term for the nondigestible constituents that make up the plant cell wall. These constituents were known to include cellulose, hemicellulose, and lignin [10]. Dietary fibers are divided into two types — soluble and insoluble — and are generally heterogeneous substances [11]. Carob pulp contains about 18% cellulose and hemicellulose [12].

Cyclitols = polyols (sugar alcohols)

Cyclic polyols (cyclitols) are secondary metabolites that are produced in plant and have an essential contribution in plant self-defense against hostile environmental conditions like

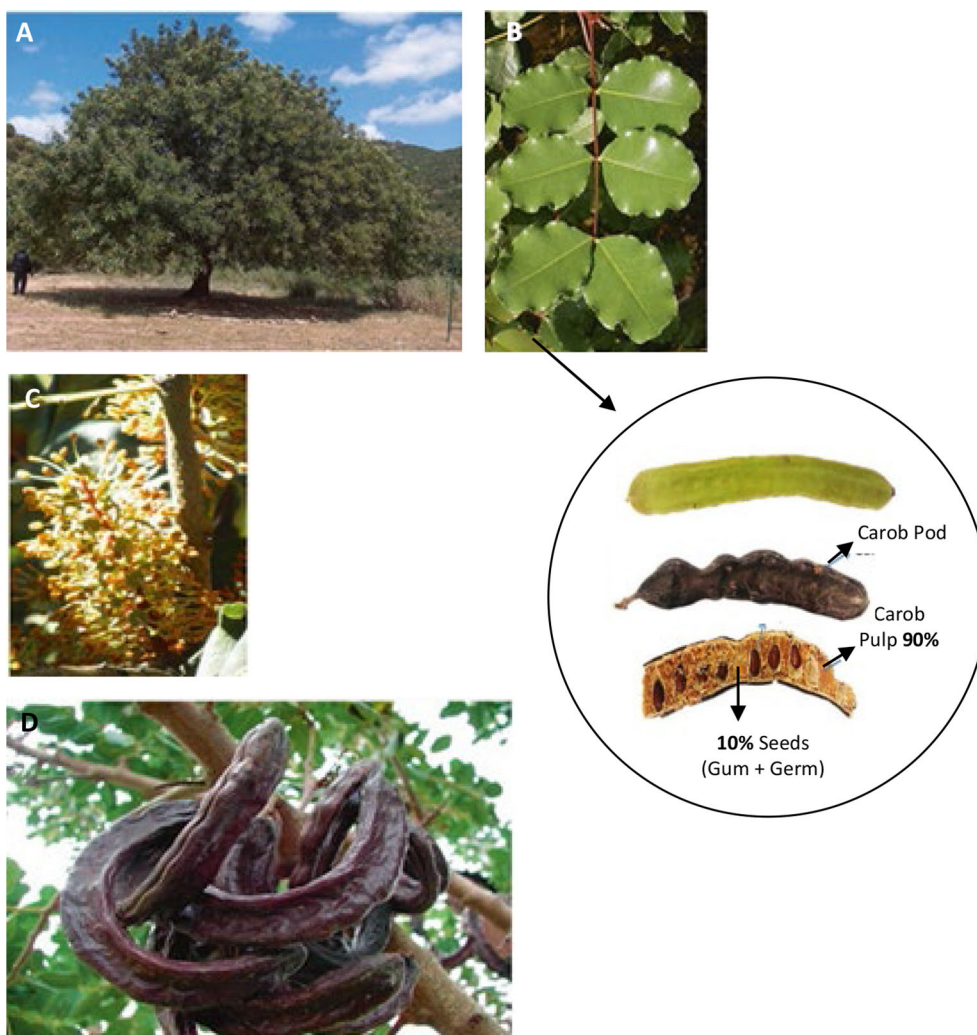


Fig. 2 *Ceratonia siliqua* A. Mature tree. B. Compound leaf. C. Inlorescence. D. Ripe pods. (Source: <https://www.wikimedia.org/>) (Sources of all photographs: Wikimedia website)

Table 1 Represented identity of carob tree [4]	
Preferred scientific name	<i>Ceratonia siliqua</i> Linnaeus
Preferred common name	Locust bean
International common names	English: carob, carob tree, locust tree, St. John's bread Spanish: algarrobera, algarrobo, European algarrobo, garrofero French: caroube, caroubier, caroubier commun Arabic: al-kharoubah

Table 2 Represented taxonomic tree [4]	
Domain	Eukaryota
Kingdom	Plantae
Phylum	Spermatophyta
Subphylum	Angiospermae
Class	Dicotyledonae
Order	Fabales
Family	Fabaceae
Subfamily	Caesalpinioideae
Genus	<i>Ceratonia</i>
Species	<i>Ceratonia siliqua</i>

water and salt stress. Among the main sugars, carob fruit contains the cyclitol D-pinitol (3-O-methyl-D-chiroinositol). Syrup and carob flesh are rich sources of D-pinitol, which is considered a bioactive and effective natural health food sup-

plement [8]. The biological activity of D-pinitol has been shown to be effective in modulating inflammatory cytokines, hormones, tumor markers, lipid profile, and also various biochemical alterations, which lead to retardation of the growth

of tumor cells. Also, the ability of D-pinitol to inhibit diverse events involved in tumor progression and clearly proves its usefulness in the treatment of cancer and inflammatory diseases [13].

Proteins and amino acids

Among the different substances that constitute fruits and vegetables, amino acids are becoming increasingly important and, for various reasons, their analytical determination is becoming by the day, more and more necessary. The protein content of carob germ flour seeds is higher than those observed for other beans such as faba bean, pea, and soy beans [12]. Except for tryptophan, an essential amino acid found at trace levels in carob, it contains all the seven essential amino acids with acceptable levels that meet WHO standards. Several studies are detected that the locust bean germ contains 18 amino acids, namely, aspartic acid, glutamic acid, arginine, asparagine, alanine, leucine, and valine, which are the predominant amino acids representing about 57% of total amino acids [6].

Vitamins and minerals

Carob pod is rich in potassium (75.5 mg/pod) and poor in sodium (1.2 mg/pod). El Bouzdoudi B. et al. said that the seed shows high potassium content (0.305 mg/seed) and a very low level of sodium (0.01 mg/seed). The presence of mineral elements in the pulp and seeds of carob reflects the importance attached for a long time to this food for animal and human consumption [14]. The carob powder is a good source of vitamins E, D, C, niacin, B6, and folic acid. Meanwhile, carob powder contained lower levels of vitamins A, B2, and B12 [12].

Polyphenols

The majority of plants produce thousands of phenolic and polyphenolic compounds as secondary metabolites. They are essential to the physiology of plant, being involved in diverse function such as lignifications and structure, pigmentation, pollination, allelopathy, pathogen and predator resistance, and growth [15,16]. They are characterized structurally by two or more hydroxyl groups attached to one or more benzene rings, and can be classified into four main families: lignans, phenolic acids, stilbenes, and flavonoids.

The use of carob tree parts (carob pulp, seeds germ, gum, leaves, and tree barks) as supplements in food or pharmaceutical products is of great importance due to the beneficial antioxidant properties of polyphenolic compounds [17].

The phenolic compounds found in the carob fruit are mainly phenolic acids, gallotannins, and flavonoids [18]. Goulas V. et al. show that the concentration of polyphenols in carob fruits depends strongly on genetic, environmental and extraction methods. In effect, the concentration of polyphenols in locust bean fruits can so various between 45 and 5376 mg of gallic acid equivalents per 100 g [19]. Thus, the contents of total polyphenols (TP), total flavonoids (TF), and condensed tannins (CT) exhibited the highest levels in the unripe fruits. So, the green carob pods were considered as an interesting source of natural antioxidant for pharmaceutical uses [20] (Fig. 3).

Biological activities

Antioxidants and ROS effects

Oxidative stress is today's problem because it is responsible for several diseases. It can be identified as an imbalance between the equilibrium of pro-oxidants and antioxidants [21]. To protect against these harmful species, we use synthetic or natural antioxidant molecules which are able to scavenge reactive oxygen species (ROS) [22] and to upregulate endogenous antioxidant defenses and also are capable to neutralize chemically active products of metabolism, such as free radicals which damage the body [23,24].

In this context, many studies show that carob has an antioxidant effect. Recently, Ben Othmen K. et al. state that the notable biological effects of carob leaf against oxidative stress have been significantly attributed to the presence of phenolic compounds. In addition, antioxidant activity was positively correlated with phenol content, which recorded an abundance of TP, TF, and CT known for their interesting ability to scavenge free radicals. These data are consistent with other studies which have shown a strong association between phenolic content and antioxidant activity [25,26]. Moreover, the determination of the antioxidant power *in vitro* by the 2,2'-azino-bis[3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS) method showed that the carob extracts have a high antioxidant power. Sebai H. et al. showed that *in vivo* treatment with aqueous extract of carob pods (AECPP) exhibited antioxidant properties in rats by decreasing lipid peroxidation and hydrogen peroxide content of tissues. From these data they suggest that the fruit of the carob has an antioxidant effect and could be proposed as a food additive to protect against damage caused by oxidative stress [22].

On the contrary, the antioxidant activity of carob powder can be significantly increased by roasting due to the improved solubility of polyphenols and the formation of early stage MRP (Maillard reaction product). For this reason, Cepo D.V. et al. show that roasting the carob powder at 130°C for 30 min gave the highest antioxidant activity and the lowest

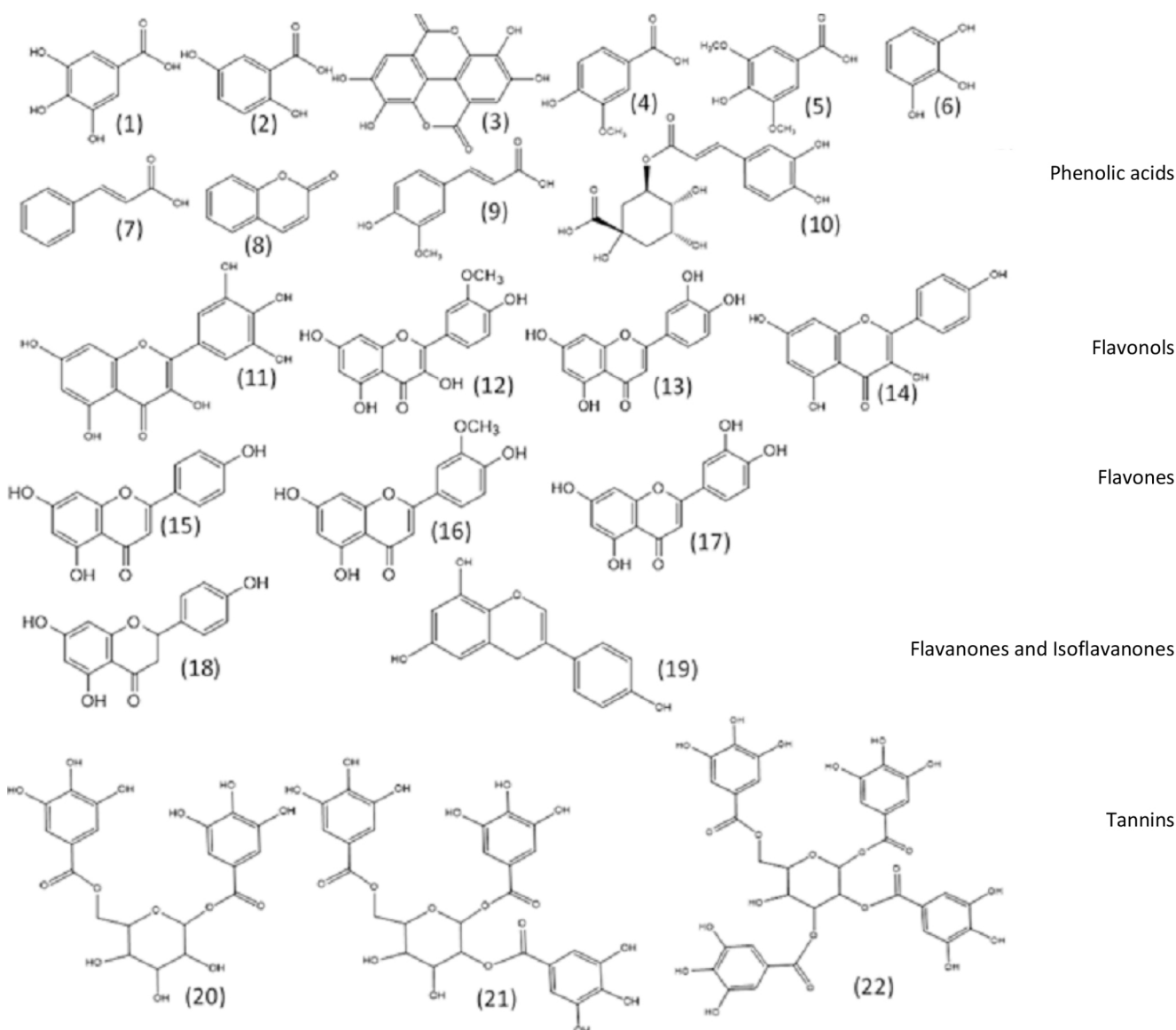


Fig. 3 Identified phenolics from Carob. Phenolic acids: (1) gallic acid, (2) gentisic acid, (3) ellagic acid, (4) vanillic acid, (5) syringic acid, (6) pyrogallol, (7) cinnamic acid, (8) p-coumaric acid, (9) Ferulic acid, (10) chlorogenic acid. Flavonoids: (11) myricetin, (12) isorhamnetin, (13) quercetin, (14) kaempferol, (15) apigenin, (16) chrysoeriol, (17) luteolin, (18) naringenin, (19) genistein. Tannins: (20) 1,6 digalloyl glucose, (21) 1,2,6 trigalloyl glucose, (22) 1,2,3,6 tetragalloyl glucose [6]

toxic MRP formation [27]. In addition, Ydjedd S. et al. suggested *Ceratonia siliqua* L. as a potential natural source of antioxidants with particular emphasis on the polar fraction extracted by effective solvents at the immature stage. The extracts may be suitable for use in the nutritional/pharmaceutical fields [28,29]. Among other things, the antioxidant activity of carob bean bark extracts was evaluated using various *in vitro* tests; the results showed that the carob bean bark showed strong antioxidant activity. Thus, the phenolic compounds and the antioxidant capacity varied significantly with the nature of the extraction solvent [30]. Finally, *Ceratonia siliqua* L. is an excellent source of natural antioxidant that might be

more widely used in cosmetic, pharmaceutical, and food industries [31,32].

Antiulcer and anti-inflammatory effects

The peptic ulceration in both the stomach and duodenum occurred on a background of inflammation [33]. Inflammation is the immune system's response of body tissues to harmful stimuli such as pathogens, damaged cells, toxic compounds, or radiation. These factors can induce acute and/or chronic inflammatory responses, so inflammation is a vital defense mechanism for health [34,35]. Gastric ulcer

disease is the most common gastrointestinal disorder with multiple etiologies causing considerable morbidity and mortality [36]. The pathophysiology of gastric ulcer has generally as a result of an imbalance in the equilibrium that normally exists between the stomach's "protective" barriers and "aggressive" luminal factors such as acid, pepsin, refluxed bile salts and ingested drugs. Endogenous aggressive factors are HCl, pepsinogen, and pepsin. Defensive factors include protection of mucus bicarbonated and prostaglandin. Rtibi K. et al. clearly demonstrate that aqueous carob extract exerts protective effects against acute ethanol-induced ulceration in the gastric mucosa of rats, in part due to its antioxidant properties. Thanks to them for richness in polyphenols and more particularly in tannins and flavonoids [37]. Furthermore, Belhocin et al. study the antioxidant activity of carob which has been tested on DPPH (2,2-diphényl 1-pyrcrilhydrazyle) and its gastroprotective effect. Belhocin et al. found that CPAE (aqueous extract of carob pods) reduced the volume and increased the pH of gastric juice and lowered pepsin activity. Ulcerative lesions and the ulcer index were greatly reduced. Carob therefore has significant antiulcer potential through an antisecretory effect; this antiulcer effect probably linked to its strong antioxidant capacity. Moreover, Bakhtaoui FZ et al. study the protective effects of plants against gastric damage. The results obtained showed that the crude extract of *Ceratonia siliqua* L. possesses important gastroprotective and antisecretory properties which prevent gastric ulceration induced by various agents [36]. On the contrary, to determine the effect of in vitro gastrointestinal digestion of encapsulated and nonencapsulated phenolic carob pulp extracts, Rezgui et al. used a double emulsion/solvent evaporation technique on extracts of carob pulp. They observed that carob has a protective effect against changes in pH and enzymatic activities during digestion. Among other things, in Morocco, a group of researchers has shown the use of *Ceratonia siliqua* in the treatment of inflammatory diseases by determining the anti-inflammatory potential of the extract of the methanolic bark of *Ceratonia siliqua* in rodents. *Ceratonia siliqua* methanolic bark extract has been studied for its anti-inflammatory properties using carrageenan and trauma-induced hind paw edema in rodents [38].

Antidiabetic effects

Diabetes mellitus (DM) is apparently one of the oldest diseases known to man [39], estimated to number 640 million people by 2040 (International Diabetes Federation, 2016) [40]. DM is a metabolic disease typically characterized by an elevation in blood sugar that justifies with frequent monitoring and adequate control [39]. This syndrome is caused either by a lack of insulin secretion or by a decrease in the sensitivity of tissues to insulin [41].

The decrease of postprandial hyperglycemia through the inhibition of two key enzymes coupled with type 2 DM such as α -amylase and α -glucosidase is an important therapeutic strategy used for the regulation or the management of diabetes (type 2) [42]. The D-pinitol present in carob products could be responsible for the antidiabetic effects as it regulates blood sugar level in patients with type 2 DM by increasing insulin sensitivity [7]. In addition, Zheng X. et al. say that the mechanism of blood sugar regulation by locust bean gum may be related to the promotion of glucose uptake by the liver and peripheral tissues, and the inhibition of the hepatic glycogenesis pathway. It can reduce or delay the absorption of glucose from the intestinal tract. It can also increase satiety and reduce hunger [43]. On the contrary, Macho-González A. et al. suggest that the consumption of carob fruit extract restructured meat (CFE-RM) included in the diet as a functional food should be considered an appropriate nutritional strategy to prevent or manage late-stage type 2 DM because CFE-RM has had a positive effect on blood sugar levels, which increase hepatic sensitivity to insulin and improve regeneration of pancreatic β cells [44].

Antihyperlipidemic effects

The diets rich in fiber have shown numerous health benefits against a range of disorders, including obesity, type 2 DM, colon cancer, and cardiovascular disease (CVD) [45]. Atherosclerosis is one of the main CVDs. It is mainly caused by damage to endothelial cells, or excessive serum cholesterol levels, resulting in a large number of low-density lipoprotein-based lipid particles deposited in the endothelial-forming arterial wall [43]. Also, dyslipidemia is one of the major risk factors for the development of atherosclerosis.

Zheng X. et al. showed that carob bean gum had significant activity in counteracting the increment in liver cholesterol and liver total lipids induced by cholesterol feeding in rats [43]. Glucose and lipid metabolism disorders are the primary risk factors for CVD and cerebrovascular disease, the leading causes of deaths worldwide (WHO, 2016). CVDs have emerged as a major cause of mortality and morbidity worldwide [46]. Dyslipidemia is a major modifiable contributor to CVDs; elevated blood cholesterol accounts for nearly one-third of ischemic heart diseases [43].

Sour et al. show that the regular consumption of carob pulp has an effect on the various alterations in the metabolism and the oxidant/antioxidant balance associated with nutritional obesity. However, the consumption of a diet enriched with carob pulp. The carob leads to a reduction in body weight, adipose tissue weight, and blood sugar. In addition, a diet enriched with carob pulp improved lipid profile and oxidant/antioxidant status [47]. Thus, the carob by-products have shown therapeutic potential for the prevention and/or treatment of metabolic syndrome with a decrease in

the capacity of triglycerides and a strong antioxidant activity, which may be linked to a higher content of gallic acid [48]. On the contrary, Sánchez-Muniz et al. show that carob fruit extract (CFE) reduces the presence of VLDL (Very Low Density Lipoprotein), IDL (Intermediary Density Lipoprotein) and LDL (Low Density Lipoprotein) which leads to a reduction in CVD risk [49].

Conclusion

The carob is acclaimed as an ingredient with marked nutritional value due to its levels of dietary and phenolic compounds, such as dietary fibers and polyphenols which have a preventive role against several diseases (heart, digestive, etc.). Besides, polyphenols have antioxidant activity, which mainly improves in the prevention of or delay in oxidative damage.

Conflicts of interests the authors have no conflicts of interests to declare.

References

- Chandra S, Lata H, Varma A (2013) Biotechnology for medicinal plants, micropropagation and improvement. Library of Congress Control Number: 2012942923, Forwood VII
- Ben Ayache S, Behija Saafi E, Emhemmed F, et al (2020) Biological activities of aqueous extracts from carob plant (*Ceratoniasiliqua* L.) by antioxidant, analgesic and proapoptotic properties evaluation. *Molecules* 25:3120
- van Rijs P, Fogliano V (2020) Roasting carob flour decreases the capacity to bind glycoconjugates of bile acids. *Food Funct* 11: 5924–32
- Battle I, Tous J (1997) Carob tree. *Ceratoniasiliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant, Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
- El Batal H, Hasib A, Dehbi F, et al (2016) Assessment of nutritional composition of carob pulp (*Ceratoniasiliqua* L.) collected from various locations in Morocco. *J Mater Environ Sci* 7:3278–85
- Mariod AA (ed.) (2019) Wild fruits: composition, nutritional value and products, AG, chap. 36, pp 481–98
- Goulas V, Stylos E, Chatziathanasiadou MV, et al (2016) Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological space. *Int J Mol Sci* 17:1875. doi:10.3390/ijms17111875
- Christou C, Poulli E, Yiannopoulos S, et al (2019) GC–MS analysis of D-pinitol in carob: syrup and fruit (flesh and seed). *J Chromatogr B* 1116:60–4
- Zhu BJ, Zayed MZ, Zhu HX, et al (2019) Functional polysaccharides of carob fruit. *Chin Med* 14:40
- Devries JW, Rosky LP, Li B, et al (1999) A historical perspective on defining dietary fiber. *Cereal Foods World* 44:367–9
- Durazzo A, Turfani V, Narducci V, et al (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem* 153:109–13
- Youssef MKE, El-Manfaloty MM, Ali HM (2013) Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (*Ceratoniasiliqua* L.). *Food Public Health* 3:304–8
- Rengarajan T, Nandakumar N, Rajendran P, et al (2015) D-pinitol mitigates tumor growth by modulating interleukins and hormones and induces apoptosis in rat breast carcinogenesis through inhibition of NF- κ B. *J Physiol Biochem* 71:191–204
- El Bouzdoudi B, Saïdi R, Embarch K, et al (2017) Mineral composition of mature carob (*Ceratoniasiliqua* L.) pod: a study. *Int J Food Sci Nutr Eng* 7:91–103
- Duthie GG, Gardner PT, Kyle JAM (2003) Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc Nutr Soc* 62:599–603
- Loullis A, Pinakoulaki E (2018) Carob as cocoa substitute: a review on composition, health benefits and food applications. *Eur Food Res Technol* 244:959–77
- Stavrou IJ, Atalanti C, Kapnissi-Christodoulou CP (2018) Polyphenols in carobs: a review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. *Food Chem* 269:355–74
- Arribas C, Cabellos B, Cuadrado C, et al (2019) The effect of extrusion on the bioactive compounds and antioxidant capacity of novel gluten-free expanded products based on carob fruit, pea and rice blends. *Innov Food Sci Emerg Technol* 52:100–7
- Goulas V, Stylos E, Chatziathanasiadou MV, et al (2016) Functional components of carob fruit: linking the chemical and biological space. *Int J Mol Sci* 17:1875. doi:10.3390/ijms17111875
- Ben Othmen K, Elfalleh W, Lachiheb B, et al (2019) Evolution of phytochemical and antioxidant activity of Tunisian carob (*Ceratoniasiliqua* L.) pods during maturation. *EuroBiotech J* 3:135–42. doi: 10.2478/ebtj-0016
- Altaany Z, Alkaraki A, Abu-siniyeh A, et al (2019) Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulfurous springs residents. *Heliyon* 5:e02885
- Sebai H, Souli A, Chehimi L, et al (2013) In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratoniasiliqua* L.). *J Med Plants Res* 7:85–90
- Costantini D (2019) Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol* 222:jeb194688
- Lachkar N, Al-Sobarry M, El Hajaji H, et al (2016) Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratoniasiliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res* 8:202–10
- Ben Othmen K, Elfalleh W, Garcia Beltrán JM, et al (2020) An in vitro study of the effect of carob (*Ceratoniasiliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties. *Fish Shellfish Immun* 99:35–43
- Rtibi K, Selmi S, Grami D, et al (2017) Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratoniasiliqua* L.) on the gastrointestinal tract. *Biomed Pharmacother* 93:522–8
- Cepo DV, Mornar A, Nigović B, et al (2014) Optimization of roasting conditions as a useful approach for increasing antioxidant activity of carob powder. *LWT-Food Sci Technol* 58:578–86
- Ydjedd S, Bouriche S, Lopez-Nicolas R, et al (2017) Effect of in vitro gastrointestinal digestion on encapsulated and nonencapsulated phenolic compounds of carob (*Ceratoniasiliqua* L.) pulp extracts and their antioxidant capacity. *J Agr Food Chem* 65:827–35
- Dumitru G, Abidar S, Nhiri M, et al (2018) Effect of *Ceratoniasiliqua* methanolic extract and 6 hydroxydopamine on memory impairment and oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*) model. *Rev Chim (Bucharest)* 69:3545–8
- Lakkab I, El Hajaji H, Lachkar N, et al (2019) *Ceratoniasiliqua* L. seed peels: phytochemical profile, antioxidant activity, and effect on mood disorders. *J Funct Foods* 54:457–65

31. Benchikh Y, Louaileche H, George B, et al (2014) Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. *Ind Crop Prod* 60:298–303
32. Durazzo A, Turfani V, Narducci V, et al (2014) Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food Chem* 153:109–13
33. Michael F (2000) Patterns of inflammation linked to ulcer disease. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 14: 27–40
34. Arawwawala M, Thabrew I, Arambewela L, et al (2010) Anti-inflammatory activity of *Trichosanthes cucumerina* Linn. in rats. *J Ethnopharmacol* 131:538–43
35. Chen L, Deng H, Cui H, et al (2018) Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget* 9:7204–18
36. Bakhtaoui FZ, Lakmichi H, Chaitand A, et al (2014) In vivo gastro-protective effects of five Moroccan medicinal plants against gastric ulcer. *Am J Phytomed Clin Ther* 2:1262–76
37. Rtibi K, Jabri MA, Selmi S, et al (2015) Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. *BMC Complementary Altern Med* 15:292
38. Rtibi K, Selmi S, Jabri MA, et al (2016) Effects of aqueous extracts from *Ceratonia siliqua* L. pods on small intestinal motility in rats and jejunal permeability in mice. *RSC Adv.* 6:44345
39. Tan SY, Mei Wong JL, Sim YJ, et al (2019) Type 1 and 2 diabetes mellitus: a review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes Metab Syndr* 13:364–72
40. Qasem MA, Noordin MI, Arya A, et al (2018) Evaluation of the glycemic effect of *Ceratonia siliqua* pods (carob) on a streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat model. *PeerJ* 6:e4788. doi: 10.7717/peerj.4788
41. Ratiu IA, Al-Suod H, Ligor M, et al (2019) Simultaneous determination of cyclitols and sugars following a comprehensive investigation of 40 plants. *Food Anal Method* 12:1466–78
42. Rtibi K, Selmi S, Grami D, et al (2018) In vitro α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities and in vivo improving glucose tolerance and hypoglycemic effect of *Ceratonia siliqua* leaves aqueous extract. *EC Nutrition* 13:171–9
43. Zheng X, Zhong Ch, Zhu Z, et al (2021) Association between serum matrix metalloproteinase-9 and poor prognosis in acute ischemic stroke patients: The role of dyslipidemia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 31:209–15
44. Macho-González A, Garcimartín A, López-Oliva ME, et al (2020) Carob-fruit-extract-enriched meat modulates lipoprotein metabolism and insulin signaling in diabetic rats induced by high-saturated-fat diet. *J Funct Foods* 64:103600
45. Debnath S, Jawahar S, Muntaj H, et al (2019) A review on dietary fiber and its application. *J Pharmacogn Phytochem* 11:109–13
46. Xing L, Jing L, Tian Y, et al (2020) Epidemiology of dyslipidemia and associated cardiovascular risk factors in northeast China: a cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 30:2262–70
47. Sour S, Fridi C, Taif A (2019) Beneficial effects of carob Pulp (*Ceratonia siliqua*) on lipids profile and oxidant/antioxidant status in obese rats. *Rev Agrobiol* 9:1200–6
48. de la Fuente-Fernández M, González-Hedström D, Amor S, et al. (2020) Supplementation with a carob (*Ceratonia siliqua* L.) fruit extract attenuates the cardiometabolic alterations associated with metabolic syndrome in mice. *Antioxidants* 9:339. doi: 10.3390/antiox9040339
49. Macho-González A, Garcimartín A, López-Oliva ME, et al (2019) Can carob-fruit-extract-enriched meat improve the lipoprotein profile, VLDL-oxidation, and LDL receptor levels induced by an atherogenic diet in STZ-NAD-diabetic rats? *Nutrients* 11:332. doi: 10.3390/nu11020332

Phytochemical Study and Biological Activities of *Arbutus unedo* L.

Étude phytochimique et activités biologiques d'*Arbutus unedo* L.

F. Lehfa · F. Sahnouni

© Lavoisier SAS 2022

Abstract The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) is a shrub (small tree) with evergreen leaves of the Ericaceae and is a main constituent of the flora of the Mediterranean basin. An increasing interest in the use of the strawberry tree (*Arbutus unedo* L., Ericaceae) has recently been reported in the industrial, pharmaceutical, and chemical fields. Indeed, some research on the fruits of *Arbutus unedo* has revealed the presence of several compounds, including large amounts of carbohydrates, dietary fiber, minerals, polyphenols, and flavonoids. In addition, the secondary metabolite profile of arbutus extracts includes a matrix rich in polyphenols, which is responsible for several biological activity and health attributes, namely antiseptic, diuretic, and laxative effects, and also to treat cardiovascular pathologies such as high blood pressure, atherosclerosis, and thrombosis.

Keywords The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) · Biological activity · Secondary metabolite · Polyphenols

Résumé L'arbousier (*Arbutus unedo* L.), un arbuste (petit arbre) à feuilles persistantes des Ericaceae, est un constituant principal de la flore du bassin méditerranéen. Un intérêt croissant pour l'utilisation de l'arbousier (*Arbutus unedo* L., Ericaceae) a été récemment rapporté pour les domaines industriels, pharmaceutiques et chimiques. En effet, certaines recherches sur les fruits d'*Arbutus unedo* ont révélé la présence d'un certain nombre de composés dont de grandes quantités de glucides, de fibres alimentaires, de minéraux, de polyphénols et de flavonoïdes. De plus, le profil de métabolite secondaire des extraits d'*Arbutus unedo* comprend une matrice riche en polyphénols qui est responsable de plusieurs activités biologiques et attributs de santé, à savoir effets antiseptiques, diurétiques et laxatifs et également pour traiter les

pathologies cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle, l'athérosclérose et la thrombose.

Mots clés Arbousier (*Arbutus unedo* L.) · Activités biologiques · Métabolite secondaire · Polyphénols

Introduction

Medicinal plants have been used in the therapeutic field since ancient times [1]. These plants are a natural reservoir of secondary metabolites, which exert various biological activities within the plant and on other organisms [2]. *Arbutus unedo* L. is one of those plants. *Arbutus unedo* L., the strawberry tree (family Ericaceae), is one of the most common fleshy fruited species in the Mediterranean basin [3,4]. *Arbutus unedo* L. is a plant characterized by evergreen leaves with small globular tuberous fruits and long stems (Fig. 1a). It ripens in the fall with a color changing from yellow and scarlet to a deep crimson color ranging from crimson when ripe [5] (Fig. 1b). The strawberry tree reaches 5–10 m tall, rarely up to 15 m, with a trunk diameter up to 80 cm. The leaves are dark green and shiny, 5–10 cm long and 2–3 cm broad, with a serrated margin. The fruit is a red berry, 1–2 cm in diameter, with a rough surface. It ripens in the fall at the same time as the next flowering. The fruit is sweet when it is reddish, so it is edible [3,6,7].

Arbutus unedo L. naturally is located in a wide geography, including Algeria, Morocco, Tunisia, Turkey, Lebanon, Palestine, Syria, Cyprus, Ireland, Ukraine, Albania, Bulgaria, Croatia, Greece, Italy, France, Portugal, Spain, Canada, and the United States [9] (Fig. 2).

Plant systematic

The genus *Arbutus* belongs to the Ericaceae, a family of small trees or shrubs. The name “unedo” is explained by Pliny the Elder as being derived from *unum edo* (“I eat one”), which could be related to the alcohol content of the

F. Lehfa · F. Sahnouni (✉)
Laboratory Research on Biological Systems and Geomatics,
Faculty of Natural Sciences and Life,
University of Mustapha Stambouli, Mascara 29000, Algeria
e-mail : fatiha.lehfa@univ-mascara.dz

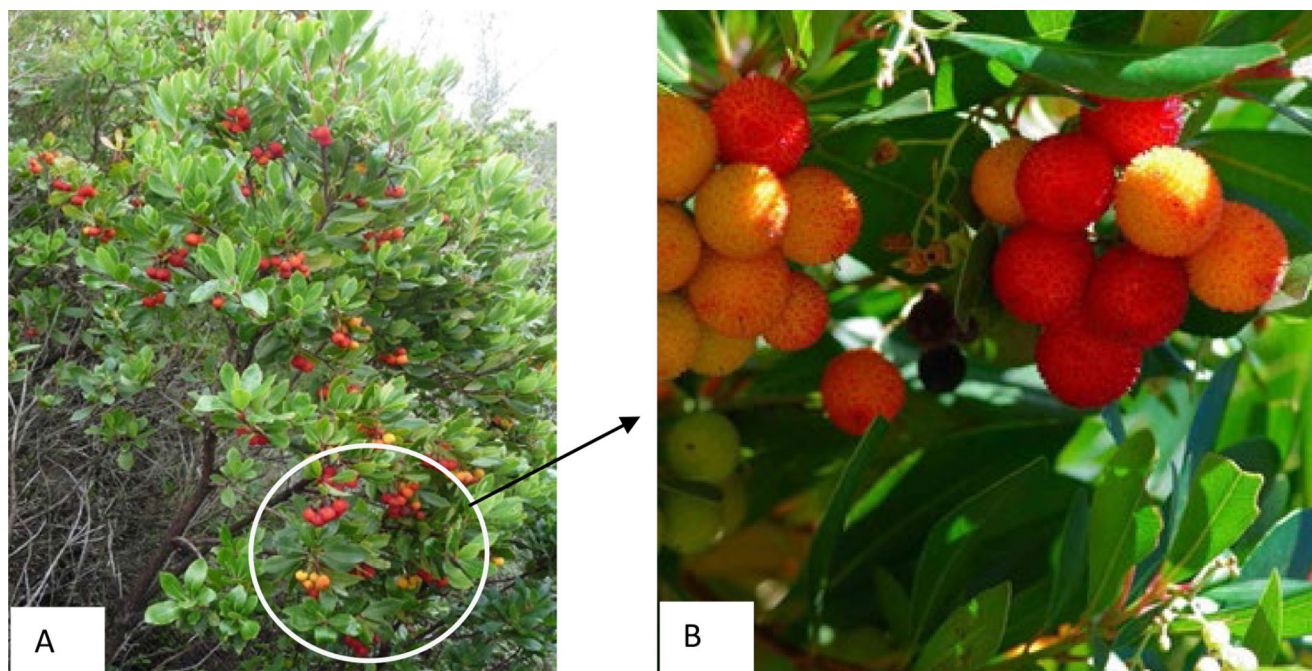


Fig. 1 *Arbutus unedo* tree (a), Ripe and unripe fruits (b) [8]



Fig. 2 Center of origin and distribution of the strawberry tree in the world [10]

overripe fruit. In some countries, fruit is used to produce alcoholic drinks [7,10] (Table 1).

Functional chemical components

Fresh fruits constitute an important dietary source of such natural antioxidants as vitamins, fiber, and certain minor compounds often known as phytochemicals (including phenolic compounds) [11,12]. Therefore, the consumption of fresh *Arbutus unedo* fruit is a good source of antioxidants (flavonoids, anthocyanins, ellagic acid, and its derivative diglucoside) as well as vitamins C and E and carotenoids, and also ripe fruits have a high content of phenolic acids, terpenoid compounds, mineral elements, and tannin [13].

Phenols

Strawberry fruit contains several components belonging to various phenolic groups, such as phenolic acids, flavonols, flavan-3-ols, galloyl derivatives and anthocyanins. And among the acids, gallic acid was the main phenolic compound in the fruit *Arbutus unedo* [14]. On the other hand, the polar extract of *Arbutus unedo* leaves presents higher polyphenols and flavonoid levels of 179.6 ± 6.7 (mg GAE/g DW) and 21.4 ± 0.01 (mg QE/g DW), respectively [15] (Fig. 3).

Fatty Acid

The fatty acid levels of the fruits of the *Arbutus unedo* L. plant were determined as polyunsaturated fatty acids (PUFA) at 50.13%, monounsaturated fatty acids (MUFA) at 19.21%, unsaturated fatty acids (USFA) at 69.34%, and saturated fatty acids (SFA) at 29.56% [17].

Sugar

These fruits also present high amounts of sugars, ranging from 42% to 52% of dry [18] either monosaccharides (fructose and glucose), disaccharides (sucrose), or polysaccharides (cellulose and starch). The amount of saccharides present in fruits varies according to ripeness stages, with sucrose being the major saccharide in unripe fruit (208.0 ± 2.0 g/kg of dry weight) and fructose being the most abundant in ripe fruits (87.7 ± 0.6 g/kg of dry weight) [19].

Vitamins and Minerals

Fruits of the strawberry tree appear to be a good source of vitamins, namely niacin, ascorbic acid [20,21], and vitamin E. Among the vitamin E vitamers, the most important was γ -tocotrienol. The total free vitamin E content was reduced with ripening: from 1,369 mg/kg in unripe fruits to 557 mg/kg in ripe ones [22]. Minerals are also present in

Kingdom	Plantae
Phylum	Magnoliophyta or Spermaphytes
	Angiosperms
Subphylum	Angiospermae
Class	Magnoliopsida or Dicotyledonous
Subclass	Gamopétales
Order	Ericales
Family	Ericaceae
Genus	Arbutus
Species	<i>Arbutus unedo</i>
International Common Names	French: Arbousier
	Arabic: Lenj, sessnou
	English: Strawberry Tree

strawberry-tree fruits. Potassium, calcium, and phosphorus are the major minerals present in fruits [8]. Mature strawberry fruits are a good resource of minerals [4].

Biological Activities

The chemical composition of fruits and leaves of this species has been medicinally used in the Mediterranean for its anti-septic, diuretic, and laxative effects, and also to treat cardiovascular pathologies such as arterial hypertension, atherosclerosis, and thrombosis [23,24].

Antioxidants and reactive oxygen species (ROS) effects

Oxidative stress is today's problem because it is responsible for several diseases. It can be identified as an imbalance between the equilibrium of prooxidants and antioxidants [25]. To protect against these harmful species, we use synthetic or natural antioxidant molecules which can scavenge ROS [26] and up-regulate endogenous antioxidant defenses and are also capable of neutralizing chemically active products of metabolism, such as free radicals, which damage the body [27,28]. More recently, the antioxidant activity of fruit

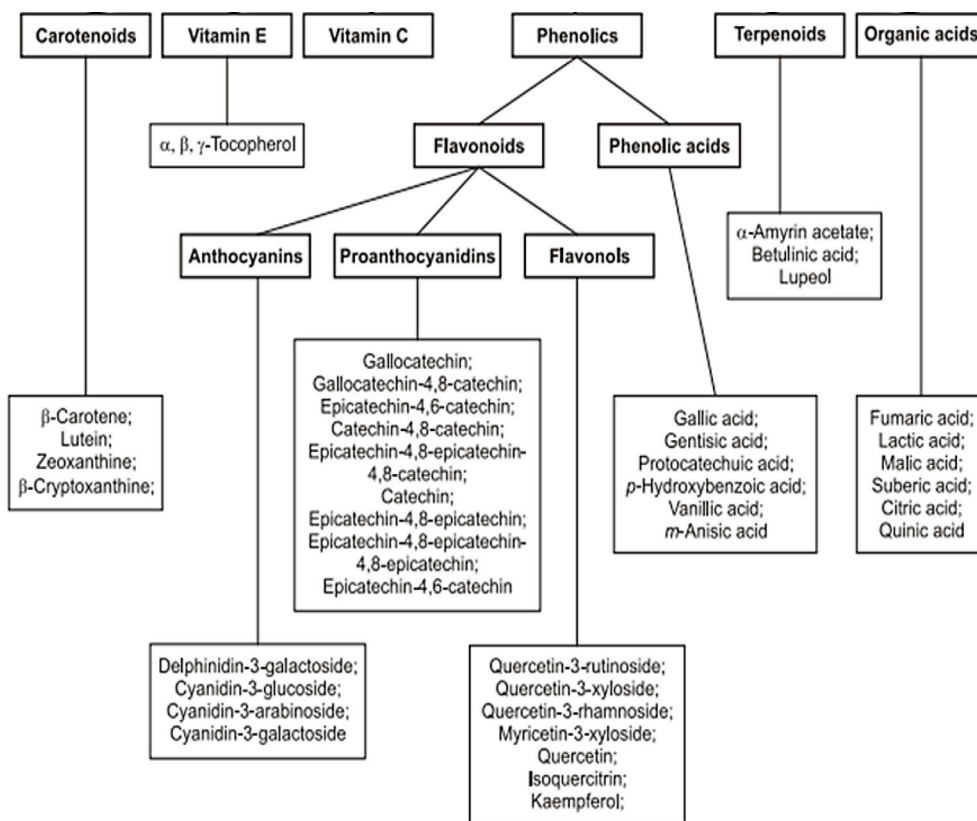


Fig. 3 The phenolic compounds of *Arbutus unedo* L. [16]

extracts has also been used in the meat industry to preserve quality and prevent the oxidation of lipids and proteins [14]. On the other hand, Noureddine et al. confirms that the macerated extracts have significant antioxidant activity [29]. In addition, the efficacy of extract from the leaves of *Arbutus unedo* in the neutralization of free radicals has been demonstrated by Kachkoul and his collaborators. Their results showed that the extracts effectively inhibited the DPPH radical and had a high reducing power of the Fe^{3+} /ferricyanide complex. These properties may be due to the high levels of phenolic compounds quantified and identified in extracts from leaves of *Arbutus unedo* plants, suggesting that the plant may be useful as a preventive and/or therapeutic agent for diseases related to oxidative stress [6]. Furthermore, several authors have underlined the presence, in the fruit, of bioactive compounds as antioxidants, namely phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids, and polyphenols but also fibers and important fatty acids [30]. New data suggest that extracts from the roots of *Arbutus unedo* have significant antioxidant activity, which could have potential therapeutic use against pathologies linked to oxidative stress.

Anti-inflammatory effect

Inflammation is the reaction of living tissue to injury, infection, or irritation [31]. Lysosomal enzymes released during inflammation produce a variety of disorders that lead to tissue damage by damaging macromolecules and lipid peroxidation of membranes which are believed to be responsible for certain pathologies such as heart attacks, septic shock, rheumatoid arthritis, etc. [32]. Inflammation is classified as acute or chronic. Acute inflammation is the body's initial response to harmful stimuli, characterized by the infiltration of white blood cells, e.g., granulocytes, swelling, and redness. On the other hand, chronic inflammation is prolonged inflammation characterized by the destruction and healing of tissues from the inflammatory process [33]. The results found by Moualek et al. [10] show that the aqueous extract of leaves of *Arbutus unedo* has good antioxidant activity and interesting anti-inflammatory properties. So, the aqueous extract of *Arbutus unedo* can be used to prevent oxidative and inflammatory processes. In addition, Mariotto et al. [34] demonstrated that the inflammatory response induced by the injection of carrageenan into the pleural cavity of mice is significantly attenuated by treatment with *Arbutus unedo* extract (AuE). Although the exact mode of action of AuE remains to be elucidated, the mechanisms of the anti-inflammatory effect of AuE appear to be correlated with the reduction in IL-6 production, the formation of other pro-inflammatory cytokines such as TNF- and IL-1 and increased recruitment of neutrophils, which may ultimately

lead to decreased tissue damage. Also, Fruit extracts present high anti-inflammatory activity and moderate toxicity compared with the leaf extracts [35].

Anti-diabetic Effects

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases caused by overeating and lack of physical activity. It is characterized by chronic hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both [36]. Type 1 diabetes mellitus occurs when the body fails to produce insulin. People with type I diabetes are insulin-dependent, they must take artificial insulin daily to stay alive, whereas, in type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin-stimulated glucose uptake in the liver and fatty tissue gets reduced due to insulin resistance. In contrast, β -cells that initially produce insulin in sufficient amounts end up producing insufficient amounts, leading to the onset and progression of diabetes [37,38]. Concetta et al. [35] studied the hypoglycemic activity by inhibition tests of α -amylase and α -glucosidase. They found that fruit extracts also exhibit high anti-inflammatory activity and moderate toxicity compared to leaf extracts. In 2017, Naceiri Mrabti et al. demonstrated that the aqueous extract of the roots of *Arbutus unedo* has significant in vitro and in vivo antidiabetic effects and improves metabolic alterations [39]. In addition, the inhibitory activity of α -glucosidase has been confirmed by the traditional use of the roots of *Arbutus unedo* as an antidiabetic agent [40]. The aqueous extract of the root bark of *Arbutus unedo* L. has a direct inhibitory effect on the electrogenic intestinal absorption of glucose in vitro. Moreover, the aqueous extract roots of *Arbutus unedo* L. have good anti-hyperglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic rats, and this effect might be at least due to the presence of active components [41]. Therefore, the results of these studies add scientific support to the ethnopharmacological relevance of the use of the root of *Arbutus unedo* L. to treat diabetes.

Antimicrobial effect

Globally, food spoilage caused by microorganisms still affects all types of food everywhere and causes food waste and loss [42]. Prevention of food spoilage and food poisoning pathogens is usually achieved through the use of chemical preservatives which have negative impacts [43]. Antimicrobial agents are essentially important in reducing the global burden of infectious diseases [44]. Due to these concerns, the need to find potentially effective, healthy, safe, and natural alternative preservatives is heightened. In this context, the preliminary analyzes of the antimicrobial potential found by Malheiroa et al. have shown that extracts from

the leaves of *Arbutus unedo* exhibit antibacterial activity, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 1 and 5 mg/mL for some gram-positive and gram-negative bacteria, respectively [45]. Also, the ethanolic extract of the fruits of *Arbutus unedo* showed strong antimicrobial activity against certain bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and moderate activity against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, and *Candida albicans* [46]. On the other hand, Arbutus honey (*Arbutus unedo* L.) from southern Europe determined biological activities such as anti-inflammatory and antimicrobial activity against seven (7) microorganisms (*Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, and *Penicillium commune*) [47]. In addition, Bouyahya et al. confirm that *Arbutus unedo* extracts exhibited antibacterial activity at different levels against certain strains as causative agents of foodborne illness [48].

Author effects

Kachkoul et al. demonstrate that *Arbutus unedo* has been valued in the treatment of lithiasis and the prevention of calcium oxalate crystals formation [6]. In addition, other studies show that chronic treatment with strawberry extract regresses the development of hypertension and improves cardiovascular and renal functions thanks to the richness of this plant in polyphenols [24]. Moreover, the Strawberry tree (*Arbutus unedo*) honey can induce cell death and increase intracellular ROS generation in colon cancer cells [49] (Table 2).

Table 2 Traditional medicinal uses of different parts of <i>Arbutus unedo</i> plant [16]	
Part used	Medicinal use
Leaves	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardiovascular application, kidney diseases, hypertension, cardiac diseases, diabetes, anti-hemorrhoidal, diuretic, anti-inflammatory, anti-diarrheal
Fruits	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, kidney diseases, cardiovascular application
Bark	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardiovascular application
Roots	Gastrointestinal disorders, urological problems, dermatologic problems, cardio-vascular application, hypertension, cardiac diseases, diabetes, diuretic, anti-inflammatory, anti-diarrheal

Conclusion

At the end of this study, we will conclude that *Arbutus unedo* has an important therapeutic interest linked to the chemical composition of this plant such as polyphenols, flavonoids, fatty acids, fibers, and some minerals.

Conflicts of interests : the authors have no conflicts of interests to declare.

References

- Chandra S, Lata H, Varma A (2013) Biotechnology for medicinal plants, micropropagation and improvement. Library of Congress Control Number: 2012942923, Forwood, VII
- Manziona MG, Martorell M, Sharopov F, et al (2020) Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside. Eur J Pharmacol 883:173344
- Molina M, Pardo-de-Santayana M, Aceituno L, et al (2011) Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. Forestry 84:419–29
- Özcan MM, Haciseferoğulları H (2007) The strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. J Food Eng 78:1022–28
- Sulusoglu M, Cavusoglu A, Erkal S (2011) *Arbutus unedo* L. (Strawberry tree) selection in Turkey Samanlı mountain locations. J Med Plants Res 5:3545–51
- Kachkoul R, Squalli HT, Mohim M, et al (2019) Chemical compounds as well as antioxidant and litholytic activities of *Arbutus unedo* L. leaves against calcium oxalate stones. J Integr Med 17:430–37
- Delgado-Pelayo R, Gallardo-Guerrero L, Hornero Méndez D (2016) Carotenoid composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. Food Chem 199:165–75
- Morgado S, Morgado M, Plácido AI, et al (2018) *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. J Ethnopharmacol 225:90–102
- Fazenda P, Pereira R, Fonseca M, et al (2019) Identification and validation of microsatellite markers in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.). Turk J Agric Forestry 43:430–36
- Moualek I, Mouloua A, Iratni AG, et al (2017) In vitro activity of *Arbutus unedo* aqueous extract against *Leishmania infantum* Promastigote. Doctoral thesis, Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. Annu Res Rev Biol 12:1–5
- Mosele JI, Macià A, Romero MP, et al (2016) Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under in vitro digestion and colonic fermentation. Food Chem 201:120–30
- Albuquerque BR, Prieto MA, Vazquez JA, et al (2018) Recovery of bioactive compounds from *Arbutus unedo* L. fruits: Comparative optimization study of maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. Food Res Int 109:455–71
- Gomes MFFN (2011) Strategies for the improvement of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree): in vitro propagation, mycorrhization and diversity analysis. Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, p. 9
- Miguel MG, Faleiro ML, Guerreiro AC, et al (2014) *Arbutus unedo* L.: Chemical and biological properties. Molecules 19:15799–823

15. Guendouze-Bouchéfa N, Madani KR, Chibane M, et al (2015) Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of three Ericaceae from Algeria. *Ind Crops Prod* 70:459–66
16. Oliveira I, Baptista P, Bento A, et al (2011) *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health. *J Food Nutr Res* 50:73–85
17. Umaz K, Umaz A (2019) Determination of fatty acid composition of *Arbutus unedo* L. fruit (Turkey). *Spec 5th International Conference on Engineering & Natural Sciences*, pp. 20–22
18. Oliveira I, Guedes de Pinho P, Malheiro R, et al (2011) Volatile profile of *Arbutus unedo* L. fruits through ripening stage. *Food Chem* 128:667–73
19. Morgadoa S, Morgadoa M, Plácido AI, et al (2018) *Arbutus unedo* L.: From traditional medicine to potential uses in modern pharmacotherapy. *J Ethnopharmacol* 225:90–102
20. Alarcão-E-Silva MLCMM, Leitão AEB, Azinheira HG, et al (2001) The *Arbutus* Berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *J Food Compos Anal* 14:27–35
21. Ruiz RBM, Sanchez MC, Ancos B, et al (2014) Wild *Arbutus unedo* L. and *Rubus ulmifolius* Schott fruits are underutilized sources of valuable bioactive compounds with antioxidant capacity. *Fruits* 69:435–48
22. Oliveira I, Baptista P, Malheiro R, et al (2011) Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Res Int* 44:1401–407
23. Ruiz-Rodríguez BM, Morales P, Fernández-Ruiz V, et al (2011) Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Res Int* 44:1244–53
24. Afkir S, Nguielefack TB, Aziz M, et al (2008) *Arbutus unedo* prevents cardiovascular and morphological alterations in L-NAME-induced hypertensive rats Part I: Cardiovascular and renal hemodynamic effects of *Arbutus unedo* in L-NAME-induced hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 116:288–95
25. Altaany Z, Alkaraki A, Abu-siniyeh A, et al (2019) Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in thermal sulphurous springs residents. *Heliyon* 5:e02885
26. Sebai H, Souli A, Chehimi L, et al (2013) In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *J Med Plants Res* 7:85–90
27. Costantini D (2019) Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol* 222:jeb194688
28. Lachkar N, Al-Sobarry M, El Hajaji H, et al (2016) Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res* 8:202–10
29. Noureddine A, Gherib A, Bakchiche B, et al (2019) Chemical composition, antioxidant activity and mineral content of *Arbutus unedo* (leaves and fruits). *J Microbiol Biotech Food Sci* 8:1335–39
30. Alexandre AMRC, Serra T, Matias AA, et al (2020) Supercritical fluid extraction of *Arbutus unedo* distillate residues — Impact of process conditions on antiproliferative response of extracts. *J CO₂ Util* 37:29–38
31. Tran TH, Le Huyen T, Tran TM, et al (2017) Investigation of anti-inflammatory lignans from the leaves of *Symplocos sumuntia* Buch-Ham ex D Don (Symplocaceae). *Trop J Pharm Res* 9:2191–96
32. Kaur S, Syed Ali M, Anuradha V, et al (2018) In vitro anti-inflammatory activity of mangrove plant *Rhizophora mucronata* Lam. (Malpighiales: Rhizophoraceae). *Braz J Biol Sci* 5:417–26
33. Jimmy EO, Okon NS (2018) *Moringa oleifera* leaves extract has same anti-inflammatory potentials as nonsteroidal anti-inflammatory drugs (ibuprofen). *Int J Herb Med* 6:40–42
34. Mariotto S, Esposito E, Di Paola R, et al (2008) Protective effect of *Arbutus unedo* aqueous extract in carrageenan-induced lung inflammation in mice. *Pharmacol Res* 57:110–24
35. Concetta TM, Deguin B, Loizzo MR, et al (2020) Contribution of flavonoids and iridoids to the hypoglycaemic, antioxidant, and nitric oxide (NO) inhibitory activities of *Arbutus unedo* L. *Antioxidants* 9:184
36. Kharroubi AT, Darwish HM (2015) Diabetes mellitus: the epidemic of the century. *World J Diabetes* 6:850–67
37. Donath MY (2014) Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nat Rev Drug Discov* 13:465–76
38. Asiful IM, Alam F, Solayman M, et al (2016) Dietary phytochemicals: natural swords combating inflammation and oxidation-mediated degenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016: 5137431
39. Naceiri Mrabti H, Sayah K, Jaradat N, et al (2018) Antidiabetic and protective effects of the aqueous extract of *Arbutus unedo* L. in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *J Complement Integr Med* (<https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0165>)
40. Naceiri Mrabti H, Jaradat N, Fichtali I, et al (2018) Separation, identification, and antidiabetic activity of catechin isolated from *Arbutus unedo* L. plant roots. *Plants* 7:31
41. Medjdoub H, Selles C, Tabti B (2014) Preliminary phytochemical screening of *Arbutus unedo* L. and antihyperglycemic effect of the root aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *J Chem Pharm Res* 6:195–99
42. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, et al (2018) Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Front Microbiol* 9:1639
43. Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, et al (2018) Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi J Biol Sci* 25:361–66
44. Manandhar S, Luitel S, Kumar Dahal R (2019) In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J Trop Med* 2019:1895340
45. Malheiro R, Sá O, Pereira E, et al (2012) *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties. *Ind Crops Prod* 37:473–78
46. Ben Salem I, Ouesleti S, Mabrouk Y, et al (2018) Exploring the nutraceutical potential and biological activities of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits. *Ind Crops Prod* 122:726–31
47. Osés SM, Nieto S, Rodrigo S, et al (2020) Authentication of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) honeys from southern Europe based on compositional parameters and biological activities. *Food Biosci* 38:100768
48. Bouyahya A, El Moussaoui N, Abrini J, et al (2016) Determination of phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf extracts. *Br Biotechnol J* 14:1–10
49. Afrin S, Forbes-Hernandez TY, Gasparini M, et al (2017) Strawberry-tree honey induces growth inhibition of human colon cancer cells and increases ROS generation: a comparison with Manuka honey. *Int J Mol Sci* 18:613