

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université–Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie
Thème

**Recherche d'activités biologiques chez les gousses de
*Ceratonia siliqua***

Présenté Par :

- 1) Melle. TALEB Kawter.
- 2) Melle. TOLBA Fadia.

Devant les jurys composés de :

Dr. Nassima BRIXI GORMAT (MCB)	Président.
Dr. Nassira GHEMBAZA (MCB)	Examineur.
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA (MCB)	Encadrant.

Année Universitaire 2021/2022

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier *DIEU* le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail qui sanctionnera nos efforts et servira à notre réussite.

Nous tenons aussi à exprimer tout notre respect, nos vifs remerciements et notre immense gratitude à notre encadrant *Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA* pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, pour sa rigueur et pour sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à *Dr. Nassima BRIXI GORMAT* qui nous a fait l'honneur de présider le jury, ainsi qu'à *Dr. Nassira GHEMBAZA* pour avoir accepté d'examiner notre travail, pour leur lecture attentive de mémoire et pour les remarques qu'ils nous adresseront afin d'améliorer notre travail.

Nous voudrions aussi remercier tous les enseignantes et les enseignants au département de biologie qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours universitaire. Ainsi, nous remercions les techniciens du laboratoire spécialement *AHMED* pour leurs aides, leurs avis et conseils durant notre pratique.

Finalement, nous remercions également nos familles *TALEB* et *TOLBA* pour leurs soutiens et leurs amours.

TALEB Kawter.
TOLBA Fadia.

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

À ma très **chère mère**,

Qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

À mon très **cher père**,

Pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice, afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

À mes **chères sœurs**,

Fadia, Nouria, Hadjer, Assia et Zayneb pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

À **mes amies**,

Fatna, Amouna, Ashouak, Halima qu'elles trouvent dans ce modeste travail l'expression de mon profond respect et reconnaissance.

À **mon binôme Fadia TOLBA**,

Qui était toujours à mes côtés, et qui a contribué à la réalisation de ce mémoire.

Puisse DIEU vous donne tous santé, bonheur, courage, et surtout la réussite.

Kawter TALEB

Dédicace

Je dédie ce modeste travail particulièrement à **mes chers parents** qui ont consacré leur existence à bâtir la mienne, pour leur soutien, patience et tendresse et d'affection pour tout ce qui ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.

À **Ma mère** qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu.

Quelle trouve ici mon amour et mon affection.

À **Mon père** qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect.

À **mon cher oncle Chikh** qui m'a soutenu et qui été toujours à mes côtés, je le souhaite tout le bonheur et la réussite dans sa vie.

À **mes chères sœurs Zahra et Khadidja** et à **mes chers frères Mohamed et Ali** que je les souhaite tout le bonheur et la réussite dans leurs vie.

À **mes petits chéris Wassim, Arslane et Assile** .

À **ma chère Binôme Kawter** et tout sa famille.

À celles avec qui j'ai partagé des merveilleux moments et de joies, *Amouna, Fatna Achouak, yousra et Loubna* .

À tout la famille TOLBA.

À tous ceux qui m'ont aidé.

Fadia TOLBA

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique	m : mètre
ADP : adénosine diphosphate	mg : milli gramme
AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens	min : Minute
AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens	mL : milli litre
ANT : Adenine nucleotide translocator	mM : Millimolaire
ARN : acideribonucléique	N₂O₃ : trioxyde d'azote
ARNt : acides ribonucléiques de transfert	NAD⁺ : nicotinamide adénine dinucléotide
ATP : adénosine triphosphate	NaOH : Hydroxyde de sodium
C : Concentration	nm : nanomètre
C° : Degré Celsius	NO• : monoxyde d'azote
CACT : carnitine-acylcarnitine	O₂ : molécule d'oxygène
CE : Commission des Enzymes	O₂⁻ : l'anion superoxyde
Cm : centimètre	OH : hydroxyle
COX : cyclooxygénase	ONOO⁻ : l'anionperoxynitrite
DO : Densité Optique	P :Produit
DPPH : 2,2-DiPhénylPicrylHydrazyl	PG : prostaglandine
E : Enzyme	PGD₂ : les prostaglandines D ₂
EAA : Espèces Actives Azotées	PGE₂ : les prostaglandines E ₂
EAO : Espèces Actives de l'Oxygène	PGF₂ : la prostaglandines F ₂
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène	PGI₂ : la prostacycline I ₂
wES : Enzyme-Substrat	pH :Potentiel d'Hydrogène
g : gramme	rpm : tour par <i>minute</i>
GSH : Glutathion	S : Substrat
h : heure	SOD : superoxyde dismutase
H₂O₂ : peroxyde hydrogène	UV : ultraviolets
HCl : Acide Chlorhydrique	V : Volume
IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane	µg : microgramme
IKI : iode/potassium iodure	µL : microlitre
IUBMB : Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire	% : pourcentage
M : Molaire	H⁺ : proton

Sommaire

Remerciements

Dédicace

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	
I Les propriétés biologiques.....	3
I.1 Les propriétés antioxydantes.....	4
I.2 Les propriétés anti-inflammatoires.....	6
I.3 Les propriétés enzymatiques.....	9
I.4 Les propriétés biologiques.....	12
I.5 Importance des propriétés biologiques.....	13
I.6 Les différentes sources des propriétés biologiques.....	14
II La plante <i>Ceratonia siliqua</i>	18
II.1 Les caractéristiques de la plante et des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	19
II.2 Composition et propriétés biologiques de <i>Ceratonia siliqua</i> et de ses différentes parties.....	20
Matériels et méthodes	
1 Récolte du matériel végétal.....	24
2 Préparation de l'extrait de <i>Ceratonia siliqua</i>	24
3 Détermination du pH de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	24
4 Dosage des protéines selon la méthode de Bradford (1976).....	25
5 Recherche de l'activité antioxydante chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	25
5.1 Test de l'activité catalasique de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	25
5.2 Test de l'activité anti-radicalaire chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> par la méthode de piégeage du DPPH.....	26
6 Recherche de l'activité anti-inflammatoire chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	28
7 Recherche de l'activité enzymatique chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	29
7.1 Détermination de l'activité amyliasique chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	29
7.2 Détermination de l'activité lipasique chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	30
7.3 Détermination de l'activité gélatinasiq ue chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	31
8 L'influence du pH sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	32

9 L'influence de la température sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	32
10 L'influence du traitement thermique et du pH sur la stabilité des 3 enzymes testées des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	32
10.1 L'influence du traitement thermique sur la stabilité des 3 enzymes.....	32
10.2 L'influence du traitement pH sur la stabilité des 3 enzymes.....	32
Résultats et discussion	
1 Collecte du matériel végétal.....	34
2 Détermination du pH de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	34
3 Dosage des protéines chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	34
4 Recherche de l'activité antioxydante chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	35
4.1 Test de l'activité catalasique de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	35
4.2 Test de l'activité anti-radicalaire chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> par la méthode de piégeage du DPPH.....	36
5 Recherche de l'activité anti-inflammatoire chez les gousses de <i>C. siliqua</i>	40
5.1 Dosage de l'albumine humaine et de l'ovalbumine.....	40
6 Recherche et caractérisation de l'activité enzymatique amylasique, lipasique et gélatinasique chez les gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	48
6.1 L'influence du pH et de la température sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	51
Conclusion et perspectives	62
Références bibliographiques	65
Résumé	

Liste des figures

Figure 1 : Schéma qui résume le mécanisme de la réponse inflammatoire.....	8
Figure 2 : Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme.....	9
Figure 3 : Photos de l'arbre et des gousses de <i>C. siliqua</i>	20
Figure 4 : Matériels biologiques utilisés, les gousses et la poudre des gousses de <i>C. siliqua</i>	24
Figure 5 : Mesure du pH de la solution des gousses de <i>C.siliqua</i>	34
Figure 6 : Courbe d'étalon d'Hémoglobine.....	34
Figure 7 : Courbe d'étalon d'H ₂ O ₂	35
Figure 8 : Capacité de dégradation de l'H ₂ O ₂ par la solution des gousses de <i>C.siliqua</i> , la cinétique de la dégradation de l'H ₂ O ₂ , pourcentage de dégradation de l' H ₂ O ₂ en fonction du temps.....	36
Figure 9 : Courbe d'étalon du DPPH.....	36
Figure 10 : Cinétique de dégradation du DPPH.....	37
Figure 11 : Pourcentage du DPPH dégradé par la solution des gousses de <i>C.siliqua</i> à différentes concentrations.....	38
Figure 12 : dégradation du DPPH et détermination de l'IC ₅₀ de la solution des gousses de <i>C. siliqua</i>	39
Figure 13 : Courbes d'étalons de l'albumine humaine et de l'ovalbumine.....	40
Figure 14 : Pourcentage de la dénaturation de l'albumine humaine par le traitement thermique en présence de concentration des gousses de 50 et 100mg/mL de la solution des gousses de <i>C. siliqua</i>	41
Figure 15 : Pourcentage de la dénaturation de l'ovalbumine par le traitement thermique en présence des concentrations des gousses de 50 et 100 mg/mL de <i>C.siliqua</i>	42
Figure 16 : Inhibition de la dénaturation de l'albumine humaine et de l'ovalbumine en présence des gousses de <i>C. siliqua</i>	43
Figure 17 : Pourcentage de la dénaturation de l'albumine humaine par le traitement thermique en présence des concentrations des gousses de 50 et 100mg/mL de l'acide acétylsalicylique.....	44
Figure 18 : Pourcentage de la dénaturation de l'ovalbumine par le traitement thermique en présence des concentrations de 50 et 100mg/mL de l'acide acétylsalicylique.....	45
Figure 19 : Inhibition de la dénaturation de l'albumine humaine et de l'ovalbumine en présence de l'acide acétylsalicylique.....	46
Figure 20 : Courbe d'étalon de l'amidon.....	48

Figure 21 : Courbe de la cinétique de la dégradation de l'amidon, par la solution des gousses de <i>C.siliqua</i> , en fonction du temps.....	49
Figure 22: Courbe de la cinétique de la libération des acides gras, par la solution des gousses de <i>C.siliqua</i> , en fonction du temps.....	50
Figure 23 : Résultats du test de l'activité gélatinasiq.....	51
Figure 24 : Influence du pH et de la température sur l'activité amylasique des gousses de <i>C. siliqua</i>	52
Figure 25 : Influence du pH et de la température sur l'activité lipasique chez les gousses de <i>C. siliqua</i>	53
Figure 26 : Influence du traitement thermique et pH sur la stabilité des amylases présentent dans les gousses de <i>C. siliqua</i>	56
Figure 27 : Influence du traitement thermique et du pH sur la stabilité des lipases présentent dans les gousses de <i>C. siliqua</i>	57

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>Ceratonia siliqua</i>	19
Tableau2 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine....	25
Tableau3 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'H ₂ O ₂	26
Tableau 4 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de DPPH.....	27
Tableau 5 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'albumine.....	29
Tableau 6 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'amidon.....	30
Tableau 7 : Tableau récapitulatif de la caractérisation de l'activité enzymatique et de la stabilité.....	58

***I**ntroduction générale*

Depuis l'Antiquité l'homme a utilisé différentes ressources de la nature notamment les animaux, les plantes et les microorganismes (Krief, 2003 ; Chin *et al.*, 2006 ; Yiliet *al.*, 2014) pour leurs activités biologiques telles que les activités antivirales, antifongiques, antibactériennes (Greesonet *al.*, 2001; You *et al.*, 2015), antioxydantes (Bougandoura et Bendimerad, 2013), anti-inflammatoires (Loe *et al.*, 2018) et enzymatiques (Tsouli, 1974) qui sont utilisées dans divers domaines d'industries, comme les industries pharmaceutiques (Davies, 2006), médicinales (Thomford *et al.*, 2018; Seca *et al.*, 2019), alimentaires (Lourenço *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2021) et cosmétiques (Taofiq *et al.*, 2017).

Les plantes synthétisent naturellement certains métabolites secondaires qui sont utilisés pour traiter différentes maladies (Monzote *et al.*, 2021), principalement en raison de leurs propriétés biologiques fonctionnelles telles que les propriétés antivirales, antifongiques, antibactériennes, cicatrisantes, antidépressives et antioxydantes (You *et al.*, 2015).

La plante *Ceratonia siliqua* et ses constituants comme les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, les écorces, les racines et surtout les gousses (El Kahkahi *et al.*, 2016), ont une large gamme de composés biologiquement actifs, notamment des fibres alimentaires, des polyphénols et des cyclitols (Avallone *et al.*, 1997; Zhu *et al.*, 2019), des vitamines A et B (Vekiari *et al.*, 2011). Ces groupes de composés bioactifs ont été associés aux effets bénéfiques de *C.siliqua* sur la santé (Gruendel *et al.*, 2007), comme des effets sur le tube digestif, notamment des actions antidiarrhéiques, antibactériennes, anti-ulcéreuses (Rtibi *et al.*, 2017 in Darwish et al., 2021), et des propriétés antioxydantes (El Hajaji *et al.*, 2011), anti-inflammatoires (Lachkar *et al.*, 2016) et enzymatiques (Ahmed, 2010).

Les gousses de *Ceratonia siliqua* sont considérées comme la partie la plus importante de cette plante en raison de ces composants bioactifs (Karim et Azlanet *al.*, 2012) qui possèdent plusieurs propriétés biologiques telles que les propriétés antioxydantes (Rtibi, *et al.*, 2016), antimicrobiennes (Goulas *et al.*, 2019), antitumorales (Corsi *et al.*, 2002) et anti-inflammatoires (Rico *et al.*, 2019).

Pour cette raison, dans cette étude, les gousses de la plante *C. siliqua* (caroube) ont été choisies comme matériel biologique afin de rechercher des activités biologiques antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques.

Synthèse bibliographique

I- Les propriétés biologiques

Tout au long de l'histoire de l'humanité, la nature a été toujours une source des composés biologiquement actifs, qui ont été utilisés comme médicaments (Lopez, 2011). En effet, les produits naturels ont toujours joué un rôle très important dans les processus de découverte et de développement de médicaments (Newman et Cragg, 2012).

Les métabolites secondaires des plantes, animaux, et des champignons (Krief, 2003) sont connus pour leurs larges gammes de propriétés biologiques telles que les propriétés antitumorales, antibactériennes, anti-inflammatoires, antivirales et antifongiques (Dar, Shahnawaz, 2017).

L'être humain a toujours utilisé une diversité des sources de la nature pour soigner ses maladies et pour améliorer sa santé (Alves *et al.*, 2009). En effet, en raison de leurs propriétés biologiques, les plantes, les microorganismes (Fabricant et Farnsworth, 2001), les animaux et leurs dérivés peuvent être un excellent outil thérapeutique (Costa-Neto, 2005).

Les microorganismes ont été, toujours, considérées comme une source puissante de métabolites secondaires avec des applications technologiques possibles dans le domaine pharmaceutique, ce qui a suscité un intérêt accru dans ces domaines de recherche (Tan *et al.*, 2007). Les plantes et les animaux à leur tour ont été utilisés, depuis l'Antiquité, comme des sources médicinales (Alves *et al.*, 2009) et ils continuent à jouer un rôle essentiel au niveau des soins et au niveau de la santé mondiale (Alves *et al.*, 2012). Ces organismes vivants possèdent naturellement une diversité de propriétés biologiques, telles que les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques, qui vont les aider à faire face aux différentes agressions, et assurer leurs survies. Dans la partie suivante, ces différentes propriétés biologiques seront développées.

Pour les propriétés antioxydantes, les organismes vivants sont dotés d'un système de défense efficace contre le stress oxydatif. Par exemple, les plantes possèdent une défense contre des agressions radicalaires et les systèmes chimiques et enzymatiques de détoxification permettent la protection de l'organisme contre les dommages provoqués par ces espèces radicalaires (Prost *et al.*, 2002).

I.1 Les propriétés antioxydantes

Le stress oxydatif est défini comme étant l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des Espèces Actives de l'Oxygène (EAO), suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue d'EAO, soit à une diminution de la capacité de la défense antioxydante (Sies, 1991), ce qui peut conduire à des dommages importants des molécules de l'ADN, aux protéines, et aux lipides (Ames *et al.*, 1993).

Les Espèces Actives de l'Oxygène, font partie des radicaux libres (Pincemail *et al.*, 1999), sont des espèces chimiques (atome ou molécule) contenant un électron non apparié (célibataire) (Favier, 2003), et elles sont inévitablement produits dans les systèmes biologiques (Singh et Singh, 2008). Il existe aussi des Espèces Actives Azotées (EAA), qui influencent sur l'homéostasie globale de réduction/oxydation (redox). (Michaelson et Ward, 2013). Parmi les principaux EAA on peut citer le monoxyde d'azote NO•, l'anhydride nitreux N₂O₃, et l'ion peroxydite ONOO⁻. Le monoxyde d'azote NO•, par exemple est formé à l'issue d'une réaction catalysée par la NO synthase par liaison entre l'atome d'azote et une molécule d'oxygène (Bensakhria, 2018). Le NO• en présence de l'O₂•⁻ forme un intermédiaire azoté hautement réactif, le peroxydite ONOO⁻ (Michaelson *et al.*, 2013).

Il existe de nombreux facteurs endogènes comme par exemple les enzymes oxydantes (NADPH oxydase) (Migdal *et al.*, 2011) ou exogènes comme par exemple des agents chimiques (métaux lourds) qui peuvent contribuer à la génération de ces radicaux (Lobo *et al.*, 2010).

L'oxygène moléculaire (O₂) est la molécule clé de la production d'une oxydation (Finkele et Holbrook, 2000). L'oxygène est nécessaire à tous les organismes vivants (animaux, plantes et microorganismes) permettant la production de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons (Gardès-Albert, 2003). L'oxygène est l'accepteur final des électrons lors de la respiration. (Halliwell et Gutteridge, 2015).

Lors du métabolisme normal, la réduction tétravalente de l'oxygène (O₂) en une molécule d'eau (H₂O) se fait en plusieurs étapes successives, ce qui donne naissance à des intermédiaires appelés radicaux primaires ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) (voir réaction) qui sont beaucoup plus réactives que l'oxygène (Migdal et Serres, 2011).



(Durznteau, 2008).

$O_2^{\bullet -}$: radical superoxyde.

H_2O_2 : peroxyde hydrogène.

OH : radical hydroxyle.

A l'état normal, la balance antioxydants/pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre, cependant, cette homéostasie redox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydantes et on parle, ainsi, de stress oxydant (Lawenda *et al.*, 2008; Sthijns *et al.*, 2018).

Le paradoxe des ERO c'est qu'elles constituent des produits, potentiellement, toxiques et sont, en même temps, des molécules essentielles à la signalisation et à la régulation cellulaire (Carrière *et al.*, 2006).

Concernant leurs effets toxiques, une surproduction d'ERO ou un déficit des systèmes de défense entraîne l'apparition d'un stress qui provoque l'oxydation, de manière non spécifique et irréversible de molécules biologiques, conduisant à une perte de fonction (Morel et Barouki, 1999). Parmi ces molécules, l'ADN (oxydation de l'ADN) (Beckman *et al.*, 1997), les protéines (carbonylation des protéines) (Finkel, 2000) et les lipides (peroxydation lipidique) (Murphy, 1996).

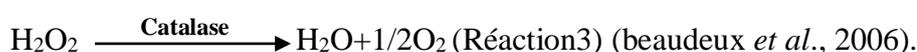
Par contre, la production sublétales des ERO peut interférer avec les voies de transduction du signal (Finkel, 1999). Celle-là peut donc être perturbée par une surproduction de ERO survenant à la suite d'un dysfonctionnement des mécanismes de régulation et de défense antioxydante (Morel *et al.*, 1998).

Le système de défense antioxydant peut être constitué d'antioxydants non enzymatiques et d'antioxydants enzymatiques (Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

Des systèmes enzymatiques détoxifient les ERO par exemple, la SOD élimine $O_2^{\bullet -}$ par dismutation ce qui permet la production de l' H_2O_2 .

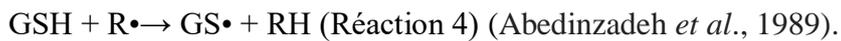


Ensuite, l' H_2O_2 produit sera éliminé par la catalase en molécule d'oxygène (O_2) et en molécule d'eau (H_2O).



Il existe aussi une large gamme d'antioxydants non-enzymatiques qui permettent l'élimination des oxydants comme par exemple la vitamine E (la plus active et la plus absorbée), un antioxydant majeur qui possède une action de la neutralisation de l'O₂^{•-} et la vitamine C ou l'acide ascorbique, un agent réducteur qui réagit directement sur les radicaux libres et permet l'élimination de l'H₂O₂. (Halliwell et Gutteridge, 2015; Bensakhria, 2018).

Ainsi que, le Glutathion (GSH) est un antioxydant qui permet la réduction des protéines oxydées comme s'est montré dans la (Réaction 4).



R•:protéines oxydées.

Le glutathion permet aussi l'élimination des espèces OH[•], O₂^{•-} par interaction directe (Halliwell et Gutteridge, 2015; Bensakhria, 2018).

I.2 Les propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation est une réponse immédiate et naturelle des microorganismes envahisseurs, à des corps étrangers, à des cellules nécrotiques, à des irritants ou à des cellules néoplasiques (Xiao *et al.*, 2020). Autrement dit, l'inflammation est un processus physiologique complexe de défense utilisée par l'organisme, après une agression étrangère, vasculaire et tissulaire, et qui vise à éliminer ou à isoler l'agresseur afin de maintenir l'intégrité des tissus infectés (Loynes *et al.*, 2018). Pour arriver à ce but, l'inflammation comprend une longue chaîne de réactions moléculaires et d'activités cellulaires qui visent à restaurer un tissu (Arulselvan *et al.*, 2016).

Les facteurs déclenchant l'inflammation peuvent être d'origine exogène via des agents physiques (coupures, gelures), chimiques (acides, bases) et biologiques (bactéries, virus), ou endogène comme les Microcristaux ou les rhumatismes à hydroxyapatites (Danowski, 1991).

Selon la durée et la cinétique du processus inflammatoire, cette dernière peut être classée en deux catégories : une inflammation aiguë et une inflammation chronique (Aggarwal *et al.*, 2009).

L'inflammation aiguë s'accompagne généralement d'une accumulation rapide de liquide, de chimiokines, de cytokines et de cellules inflammatoires (en particulier les neutrophiles) dans les tissus ou organes impliqués (Zhang *et al.*, 2007). L'inflammation aiguë c'est une réaction de défense de l'organisme qui fait appel, essentiellement, à l'immunité

innée (Lioté, 2011), pour faire face à toute lésion tissulaire pouvant être de nature infectieuse, traumatique, immunologique, néoplasique ou autre (Humblot et Godeau, 2005).

L'inflammation chronique des tissus se produit généralement lors que les réponses inflammatoires sont en l'absence d'un stimulus réel (Arulselvan *et al.*, 2016). Elle se produit généralement suite à des infections qui n'ont pas été éliminées que ce soit par des mécanismes de protection endogènes, ou par un autre mécanisme de défenses de l'hôte (Eaves-Pyles *et al.*, 2008).

L'inflammation est un événement intrinsèquement bénéfique qui conduit à l'élimination des facteurs incriminés et à la restauration de la structure tissulaire et de la fonction physiologique (Ricciotti *et al.*, 2011).

L'inflammation comprend divers processus cellulaires par exemple, la phagocytose, la chimiotaxie, la mitose et la différenciation cellulaire (Arulselvan *et al.*, 2016) et divers processus chimiques qui permettent la production de molécules telles que les molécules d'adhésion, les cytokines, les chimiokines et le facteur d'activation plaquettaire (Calixto et Santos, 2003) mais aussi des médiateurs lipidiques telles que les prostaglandines (Ricciotti *et al.*, 2011).

Les prostaglandines jouent un rôle clé dans la génération de la réponse inflammatoire (Roome et Choudhary, 2008), sous l'action des PG, de nombreuses cellules produisent des médiateurs lipidiques, des enzymes protéolytiques, des radicaux libres, qui sont des facteurs directement responsables de l'inflammation (Loynes *et al.*, 2018).

Les (PG) sont formées à partir de l'acide arachidonique (Smith, 1992), un médiateur lipidique qui est le précurseur des médiateurs bioactifs pro-inflammatoires (Wang *et al.*, 2019). L'acide arachidonique est métabolisé par les cyclooxygénases (COX), ces enzymes contiennent à la fois une activité cyclooxygénase et une activité peroxydase, existantes sous des isoformes distinctes appelées COX-1 et COX-2 (Smith *et al.*, 2000) qui catalysent la réaction initiale de cyclooxygénase conduisant à l'insertion de deux molécules d'oxygène dans l'acide arachidonique pour générer la prostaglandine (Wang *et al.*, 2019) (Figure 1).

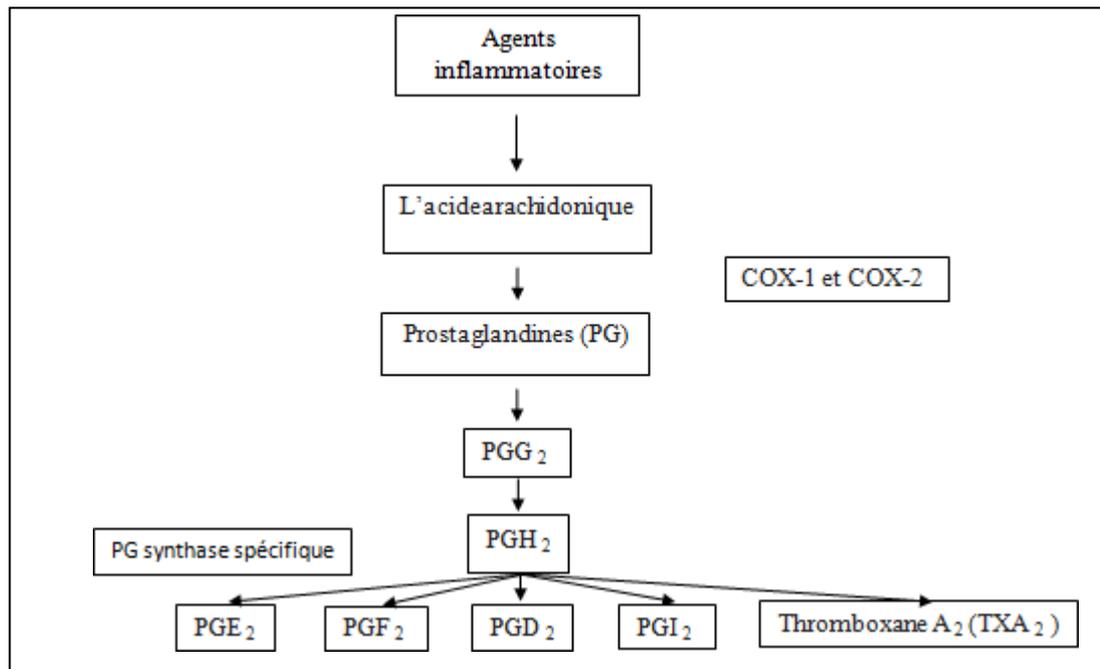


Figure 1 : Schéma qui résume le mécanisme de la réponse inflammatoire adapté selon (Peebles, 2019) PGE₂ : les prostaglandines E₂, PGF₂ : les prostaglandines F₂, PGD₂ : les prostaglandines D₂ PGI₂ : les prostacycline I₂ (smith *et al.*, 2011).

Les anti-inflammatoires sont des composés qui permettent le blocage de la biosynthèse des médiateurs pro-inflammatoires, la réduction de l'expression des enzymes clés, l'inhibition de la libération des médiateurs, le blocage de l'interaction entre le médiateur et ses récepteurs (Patil *et al.*, 2016). Ces composés permettent de lutter contre l'inflammation quelle que soit la cause de cette inflammation (Patil *et al.*, 2019). Les effets des anti-inflammatoires s'exercent par leur action sur des molécules régulatrices clés, notamment la cyclooxygénase (COX) (Pujols *et al.*, 2009).

Les principales classes d'agents anti-inflammatoires sont les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), ces 2 types d'anti-inflammatoires diffèrent par leurs modes d'action (Nunes *et al.*, 2020).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, agissent en inhibant les prostaglandines et les protéines impliquées dans les processus inflammatoires, comme les corticostéroïdes (Fain, 2009), la bétaméthasone, la dexaméthasone, l'hémisuccinate d'hydrocortisone (Souaga *et al.*, 1998).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des inhibiteurs compétitifs du site actif des deux isoformes de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2) (Yuan *et al.*, 2009) et inhibent

la biosynthèse des PG (Yao et Wu, 2019). Parmi ces anti-inflammatoires non stéroïdiens, on peut citer l'acide acétylsalicylique, salicylate acétylé, salicylate non acétylé, acide propénoïque, acide éolique, acide anthranilique, naphthylalanine (Ghlichloo et Gerriets, 2019).

I.3 Les propriétés enzymatiques

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques ou des biocatalyseurs de nature protéique (Gerlt, 2017). Ces molécules permettent l'accélération des réactions biochimiques dans les organismes vivants (Robinson, 2015) elles présentent une spécificité en ce qu'elles catalysent (le substrat) et ce qu'elles forment comme molécules (produit) (Almonacid *et al.*, 2011).

Lors de la réaction catalytique enzymatique, l'enzyme (E) se lie au substrat (S) au site de liaison du substrat (également appelé site actif ou site catalytique) (Figure 2), formant un complexe enzyme-substrat ES (Einav *et al.*, 2016; Bisswanger, 2017).

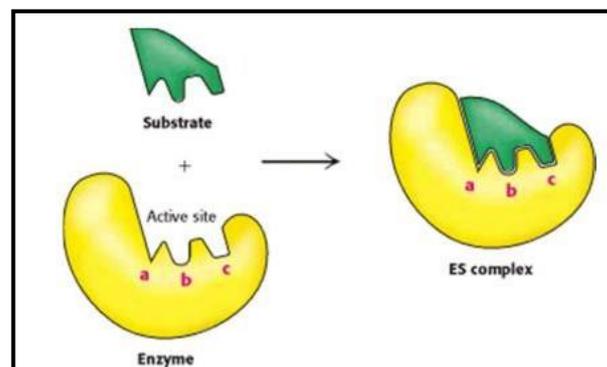


Figure2 : Représentation de la liaison du substrat au site actif d'une molécule d'enzyme selon He *et al.*, (2020).

La formation d'un complexe enzyme-substrat ES, conduit à la formation d'un produit (P) comme montré dans la réaction suivante



L'enzyme converti alors le substrat en produit P (réaction 4) qui est ensuite retiré du système et ne peut pas revenir à son état d'origine tant que substrat (Cornish, 2013).

Les enzymes peuvent provenir des différents organismes vivants et elles peuvent être récupérées à partir des microorganismes, des animaux et des végétaux (Niehaus *et al.*, 1999).

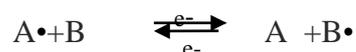
Les propriétés catalytiques des enzymes leur confèrent un rôle principal dans le maintien de l'homéostasie cellulaire par diverses voies métaboliques cellulaires (Prouteau *et al.*, 2018), telles que la synthèse de l'ADN et de l'ARN (par exemple l'ADN polymérase et ARN polymérase) et la synthèse des protéines par le ribosome (Bonderoff *et al.*, 2010). Elles participent aussi dans la régulation coordonnée du métabolisme énergétique, et de la sensibilité des tissus en réponse à de nombreux signaux métaboliques et hormonaux (Foretz *et al.*, 2006).

Les enzymes participent, aussi, dans la régulation métabolique, par exemple, elles sont responsables de l'inhibition de la synthèse des cholestérols et des acides gras (Foretz *et al.*, 2005) et réduit la teneur en graisse (Abu-Elheiga *et al.*, 2003), elles participent également dans la régulation du métabolisme glucidique (Bergeron *et al.*, 2001) et dans la voie de la glycolyse qui permet la génération de l'ATP (Park et Horton, 2019).

Ces propriétés catalytiques des enzymes, leur confèrent la capacité d'être utilisées dans plusieurs domaines d'applications (Cabrera *et al.*, 2018), comme le domaine pharmaceutique (Galanie *et al.*, 2015), le domaine de l'environnement (Tournier *et al.*, 2020) et le domaine de l'agroalimentaire (Khan et Selamoglu, 2020). Par contre, les enzymes peuvent être dénaturées progressivement en fonction de la température et du pH ce qui conduit à une perte d'activité enzymatique, cette perte d'activité est liée à la perte de leurs structures. (Fernandes, 2010).

Selon les propriétés des réactions catalysées par les enzymes, le système de numérotation de la Commission des Enzymes (CE ou EC en anglais) de l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (IUBMB) a classé et nommé les enzymes en six classes (Chou, 2005), puis une 7^{ème} (EC7), a été ajoutée en 2018 (Tao *et al.*, 2020; Gagler *et al.*, 2022).

EC1 : cette classe regroupe les oxydoréductases, qui catalysent les réactions d'oxydoréduction en transférant les ions H⁺ et des électrons (McCord *et al.*, 1969) d'un élément à un autre selon la réaction suivante



Exemples : les peroxydases (Nicell *et al.*, 1993), les catalases (Bonnichsen *et al.*, 1947) et les superoxydes dismutases (Sheng *et al.*, 2014).

EC2 : cette classe regroupe les transférases, qui catalysent le transfert d'un groupement fonctionnel d'un composé à un autre (Habig et Jakoby, 1974) selon la réaction suivante



Exemples : les méthyl transférases (Lam *et al.*, 2007), phosphatransférases (Tchieu *et al.*, 2001) et les glycosyl transférases (Vander *et al.*, 2000).

EC3 : cette classe regroupe les hydrolases, qui catalysent l'hydrolyse de diverses liaisons chimiques (Sousa et Fernandes, 2015) selon la réaction suivante



Exemples : les nucléases (Carroll, 2011), les phosphorylases (Fischer et Krebs, 1955), les amylases (Sundarram *et al.*, 2014) et les ATPases (Venugopal *et al.*, 2005).

EC4 : cette classe regroupe les lyases, qui rompent des liaisons mais en produisent de nouvelles simultanément (Zhu et Yin, 2015) selon la réaction suivante



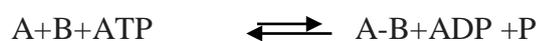
Exemples : l'adénylatecyclase (Simonds *et al.*, 1999), l'aldolase (Font *et al.*, 2008) et la décarboxylase (Pegg *et al.*, 2006).

EC5 : cette classe regroupe les isomérases, qui catalysent des réarrangements des groupements fonctionnels d'une molécule pour former des isomères (Flaumenhaft et Furie, 2016) selon la réaction suivante



Exemples : les topoisomérases (Hooper *et al.*, 1998) et la L-arabinose isomérase (Xu *et al.*, 2018).

EC6 : cette classe regroupe des ligases, qui catalysent l'union de deux molécules couplées à l'hydrolyse d'une liaison pyrophosphate dans l'ATP ou un triphosphate similaire (Mazia *et al.*, 1963) selon la réaction suivante



Exemples : les aminoacyl ARNt-synthétases (Pelchat *et al.*, 1999) et les ADN ligases (Monteny, 1987).

EC7 : cette classe regroupe les translocases, qui catalysent le mouvement des molécules ou des ions à travers les membranes cellulaires en général (McDonald *et al.*, 2021) selon la réaction suivante



Exemples : translocase carnitine-acylcarnitine (CACT) (Vitoria *et al.*, 2014) et translocase ADP/ATP (ANT) (Greub *et al.*, 2003).

I.4 Les propriétés biologiques

Outre ces propriétés biologiques mentionnées précédemment, il existe d'autres activités biologiques, comme des activités vasculoprotectrices, des activités anti hépatotoxiques, des activités antiallergiques, anticancéreuses, des activités antifongiques, des activités antibactériennes (Shah *et al.*, 2017; Lamarre, 2004) et des activités anti-hyperglycémiantes (Yili *et al.*, 2014).

La résistance aux antimicrobiens est une grave menace pour la santé humaine dans le monde entier (Chassagne *et al.*, 2021) et par conséquent, les maladies infectieuses (causées par les microorganismes) représentent une cause importante de morbidité et de mortalité dans la population (Silva et Fernandes, 2010). Dans ce cas, l'activité antimicrobienne a toute son importance et elle est considérée comme une solution potentielle (Magallón et Hilu, 2009) pour lutter contre ces maladies infectieuses (Magallón et Hilu, 2009; Yakhlef *et al.*, 2011).

Les molécules naturelles exercent une large gamme d'effets et elles peuvent agir comme des antimicrobiens (Teoh, 2016). Les agents antimicrobiens sont isolés à partir de différents organismes vivants comme par exemple la pénicilline, qui a été isolé à partir du champignon (Peyrat *et al.*, 2019) et les molécules phytoalexines isolée à partir des plantes (Letcher *et al.*, 1973; Arditti *et al.*, 2013).

De même, les maladies allergiques sont, aussi, des problèmes de santé courants dans le monde (Dierick *et al.*, 2020) pouvant entrainer de saffections potentiellement mortelles (metzger *et al.*, 1999; mak *et al.*, 2005). Les taux de prévalence des maladies allergiques ont augmenté en raison de facteurs héréditaires, de la pollution de l'environnement, de l'augmentation des niveaux d'allergènes et des changements dans les modes de vie (Kim *et al.*, 2019). Par exemple, environ 6 à 30% des individus souffrent de conjonctivite allergique et 30 à 70% d'entre eux souffrent d'autres maladies allergiques (Thong, 2017). Les maladies allergiques peuvent survenir à tout âge, des nouveau-nés ou des personnes âgées (Wallace *et*

al., 2017) et face à la forte incidence des maladies allergiques, les produits naturels ont une efficacité modérée, une faible toxicité, et constituent, donc, une source importante pour une large gamme d'agents anti-allergiques potentiels (Gao *et al.*, 2018), comme par exemple les flavonoïdes et les métabolites polyphénoliques qui possèdent des effets anti-allergiques prometteurs (Kawai *et al.*, 2007).

I.5 Importance des propriétés biologiques

La connaissance de ces propriétés permet de les utiliser en tant que matières premières de base, indispensables dans la technologie de nouveaux produits (Olivera *et al.*, 2017) dans plusieurs secteurs tels que les secteurs pharmaceutiques par exemple la production des médicaments (Davies, 2006), le secteur médical comme par exemple des applications thérapeutiques (Seca et Pinto, 2019), le secteur alimentaire comme par exemple des suppléments dans les régimes alimentaires (Pereira *et al.*, 2021).

Les enzymes ont acquis une reconnaissance mondiale pour leurs utilisations généralisées dans divers secteurs industriels (Liese *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2015), par exemple le secteur de l'alimentation, des enzymes telles que les lipases, les protéases, les estérases et les lactases sont impliquées dans l'amélioration de la production et des composants alimentaires, tels que la saveur, l'arôme, la couleur, la texture, l'apparence et la valeur nutritive (Neidleman, 1984). Dans le secteur médical, par exemple, les enzymes protéolytiques sont utilisées pour l'élimination de la peau morte et les brûlures (Cho *et al.*, 2010), la protéase acide, la dextranase et la rhodanase peuvent être utilisées pour traiter la dyspepsie alimentaire, la carie dentaire et l'empoisonnement au cyanure (Singh *et al.*, 2018). Dans le secteur pharmaceutique, par exemple les galactosidases et les protéases sont utilisées comme molécules thérapeutiques contre les problèmes de santé associés à une déficience enzymatique et aux troubles digestifs (McGrath et Walsh, 2005), dans le secteur cosmétique sont utilisées par exemple la superoxyde dismutase (Babizhayev, 2006) et les protéases (Cho *et al.*, 2010) pour contrôler les dommages cutanés causés par la pollution de l'air, de l'eau et des microorganismes (Cho *et al.*, 2010).

De même, les antioxydants ont leurs importances dans des utilisations dans divers secteurs industriels (Pastre *et al.*, 2007), par exemple dans le secteur de l'industrie alimentaire, les antioxydants peuvent jouer un rôle important dans le maintien de la qualité globale des produits, par exemple, l'un des processus de détérioration courant est la peroxydation des lipides (Jayaprakashae *et al.*, 2001) ce qui conduit à une diminution de la

durée de conservation et de la valeur nutritionnelle des produits alimentaires (Saad *et al.*, 2007). Dans le secteur pharmaceutique, les antioxydants peuvent avoir un rôle préventif dans diverses maladies telles que le diabète (Marcelino *et al.*, 2020), les maladies intestinales humaines (Scarano *et al.*, 2020) et le cancer (Talib *et al.*, 2020). Dans le secteur cosmétique, les antioxydants ont un effet positif sur l'apparence de la peau et ils réparent les dommages cutanés, l'érythème dû à une exposition aux UV (Arct *et al.*, 2008).

Aussi, l'activité anti-inflammatoire a été utilisée dans différents secteurs industriels (Bian *et al.*, 2021), par exemple dans le secteur cosmétique, les anti-inflammatoires sont utilisées pour renforcer le système de défense naturel de la peau et pour supprimer la production de mélanine, corrigeant ainsi l'hyperpigmentation (Taofiq *et al.*, 2016). Dans le secteur pharmaceutique les anti-inflammatoires sont largement utilisés comme médicament pour traiter de nombreuses maladies inflammatoires (Dinarello, 2010).

Aussi les autres propriétés biologiques qu'on a citées précédemment, possèdent une grande importance pour leurs utilisations dans divers secteurs industriels comme par exemple, les anti-infectieux sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique comme médicaments contre les maladies infectieuses (Smith *et al.*, 2016), les propriétés anti-hyperglycémiants sont utilisées dans le secteur médical à des fins thérapeutiques pour le traitement général du diabète (Huh *et al.*, 2020) et les propriétés anticancéreuses sont, aussi, utilisées dans le secteur médical pour le traitement du cancer (Naz *et al.*, 2019). Ces propriétés biologiques peuvent être aussi utilisées dans d'autres secteurs, comme par exemple les propriétés antimicrobiennes qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments (Drider et Rebuffat, 2011).

1.6 Les différentes sources des propriétés biologiques

Ces propriétés biologiques peuvent provenir de différents produits naturels provenant de diverses sources, telles que les plantes, les animaux, les organismes marins et les microorganismes (Chin *et al.*, 2006). Les composés naturels ont été étudiés pour leur puissance pharmacologique, leur innocuité et leur capacité à atténuer les symptômes de nombreuses maladies (Mok *et al.*, 2020).

Les microorganismes se sont révélés d'être des réservoirs puissants et précieux de métabolites anticancéreux, antifongiques, antiviraux et antioxydants naturels (Abdelghani *et al.*, 2021) qui leur permet d'être utilisés dans l'industrie médicale, pharmacologique et cosmétique (Kamarud *et al.*, 2015). Les actinomycètes, par exemple, sont la source la

plus prometteuse de produits chimio thérapeutiques anticancéreux (Sudha, 2012), les *Streptomyces* qui sont des bactéries produisent des composés inhibiteurs de l'angiogenèse, et des composés antifongiques, antiparasitaires, antiviraux, antioxydants, anti-inflammatoires, immuno-suppresseurs (Law *et al.*, 2017), aussi les champignons telles que *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* trouvent lentement leur place dans l'industrie cosmétique, sous forme de crèmes et de lotions (Taofiq *et al.*, 2016) et les microorganismes endophytes comprennent des alcaloïdes, des benzopyranones, des chinones, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des quinones, des stéroïdes (Pimentel *et al.*, 2011), ces métabolites bioactifs peuvent agir comme antibiotiques, antimycosiques, immuno-suppresseurs (Zhang et An, 2007).

Les animaux et les produits dérivés de leurs différents organes sont utilisés comme sources médicinales depuis l'Antiquité (Lev, 2003; Alves *et al.*, 2007), du fait qu'ils présentent un large éventail d'activités biologiques jouant un rôle important ce qui leur permet d'être utilisées dans de nombreuses pratiques thérapeutiques (Mahawar et Jaroli, 2006; Alves *et al.*, 2011) comme par exemple les mollusques qui contiennent des composés bioactifs aux propriétés antimicrobiennes (Dolashka *et al.*, 2016), anticancéreuses (Esmaelian *et al.*, 2018), anti-inflammatoire (Ahmad *et al.*, 2018) et antispasmodique (Pons *et al.*, 1998) ce qui leurs confèrent la possibilité d'être utilisés dans l'industrie pharmacologique (McGivern, 2007). De même divers vertébrés terrestres en particulier les amphibiens et les reptiles, ont suscité un grand intérêt dans les études pharmacologiques pour développer des médicaments anti-angiotensine et antitumorale (Ferreira *et al.*, 2010), par exemple, le cobra contient des activités anticancéreuses qui provoquent une cytotoxicité dans les cellules du carcinome (Debnath *et al.*, 2007). Un autre exemple, des poissons zèbre qui contiennent la phosvitine, un agent antioxydant utilisé dans l'industrie alimentaire (Hu *et al.*, 2015). Les asticots, qui possèdent une activité anti-infectieuses ont utilisées pour traiter divers types de plaies infectées, telles que celles des pieds des diabétiques (Ratcliffe *et al.*, 2011). Les animaux ont aussi une grande importance dans la production des différentes enzymes comme par exemple la halogénase dérivés d'éponge marine (Smith *et al.*, 2017), et les α -amylases isolées d'anémones de mer (Sarianet *et al.*, 2017). Aussi, les dérivés du règne animal présentent une grande importance, par exemple l'huile de poisson et le miel des abeilles sont largement utilisés dans l'industrie cosmétique pour leurs activités antioxydants (Poisson *et al.*, 2002; Burlando et Cornara, 2013).

Le milieu marin et les organismes marins peuvent être aussi une source importante de métabolites secondaires structurellement divers et biologiquement actifs (Pereira *et al.*, 2016)

qui peuvent être utilisés pour le développement de nouveaux médicaments (Pereira *et al.*, 2018). Par exemple les stérols d'organismes marins ont plusieurs bienfaits pour la santé, notamment les activités anticancéreuses, anti-obésité, anti-diabète, anti-âge et anti-Alzheimer, en raison des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes qu'elles contiennent (Rahman *et al.*, 2021), par exemple les algues contiennent une abondance de phytostérols, comme le fucostérol, avec des avantages pharmacologiques importants (Reis *et al.*, 2022).

Comme c'est le cas des microorganismes et les animaux, les plantes sont utilisées dans diverses applications à des fins médicinales (Lietava, 1992), cosmétiques (Taofiq *et al.*, 2017) pharmaceutiques (Thomford *et al.*, 2018) et alimentaires (Lourenço *et al.*, 2019).

Il existe plusieurs types des plantes aintérêt alimentaires, aromatiques, condimentaires et médicinales (Hmamouchi *et al.*, 1997).

Les plantes médicinales ont toujours joué un rôle important dans l'histoire de la santé humaine pour traiter ou prévenir les maladies (Ming *et al.*, 2003). Jusqu'à présent, environ 35000 espèces de plantes ont été documentées comme étant utilisées comme plantes médicinales (Xia *et al.*, 2022), du fait qu'elles possèdent de nombreuses molécules pour parer aux agressions environnementales (Weng *et al.*, 2012), ces mêmes molécules possèdent plusieurs activités biologiques comme des activités antioxydants, anti-inflammatoires et anti-biofilm (Mohammed *et al.*, 2022).

Les antioxydants naturels issus des plantes peuvent être classés en trois classes principales : les composés phénoliques, les vitamines et les caroténoïdes (Sikora *et al.*, 2008; Freitas *et al.*, 2015; Fierascu *et al.*, 2018), parmi les plantes qui contiennent les composants antioxydants les *Rosaceae*, les *Empetraceae*, les *Ericaceae* et les *Zingiberaceae* (Lourenço *et al.*, 2019).

D'autres espèces des plantes présentent des activités antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires, comme *Salvia miltiorrhiza* et *Rhodiola sacra* et *Prunus persica* qui sont utilisées dans l'industrie médicinale et pharmacologique (Li *et al.*, 2014).

Les espèces de *Hypericum perforatum* et *Coleus forskohlii* et *Taxus baccata* possèdent des propriétés antivirales, antifongiques, antibactériennes, cicatrisantes, antidépressives et antioxydantes, (Greeson *et al.*, 2001; You *et al.*, 2015) et qui sont

largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique (Zhou et Wu, 2006; Karuppusamy *et al.*, 2009).

D'autres espèces possèdent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Dreger et Wielgus, 2013) comme *Rubia tinctorum*, thymus, *Citrullus colocynthis* (Chandran *et al.*, 2020) qui sont utilisées dans les industries du cosmétique et de l'alimentaire (Soto-Vaca *et al.*, 2012).

Les dérivés des plantes présentent aussi des propriétés importantes, par exemple, les huiles essentielles qui sont des composés volatiles, les sous-produits des processus métaboliques secondaires des plantes (Meena *et al.*, 2017) et qui peuvent être synthétisées par les différents organes végétaux tels que les feuilles, les bourgeons, les tiges de fleurs, les fruits, les graines, le bois ou l'écorce et les racines, possèdent différentes activités biologiques (Raut et Karuppayil, 2014; Chandran *et al.*, 2020). Comme l'huile essentielle du genre *Ferula* (Prakash *et al.*, 2015; Barupal *et al.*, 2019) qui contient plusieurs composés phytochimiques aux activités anticancéreuses (Asemani *et al.*, 2018; Hosseinzadeh *et al.*, 2020), antiprolifératif (Verma *et al.*, 2019), anti-hyperglycémique (Yusufoglu *et al.*, 2015) et activité anti-protozoaire (Amin *et al.*, 2016). Ces huiles essentielles sont utilisées dans différentes industries, telles que les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (Chandran *et al.*, 2020).

Les extraits naturels sont aussi une source de nombreuses substances qui présentent plusieurs activités biologiques (Flieger et Flieger, 2021). Par exemple, il a été rapporté la détection de glycosides stéroïdiens et alcaloïdiens dans l'extrait de *Physalis alkekengi* qui possèdent une activité fongicide (Lee *et al.*, 2007), d'autres extraits comme celui de *Pythium aphanidermatum* et de *Pythium myriotylum* et l'extrait de feuilles de *Cymbopogon citratus* présentent des activités antimicrobiennes qui sont largement utilisées dans l'industrie médicinale (Savchuk et Dilantha, 2004; Hada et Sharma, 2018).

Les différentes parties des plantes telles que les feuilles, les tiges, les écorces, les racines, les fruits et les graines, sont des sources précieuses de composés (Zerbo *et al.*, 2011; Guinnin *et al.*, 2015) avec des activités biologiques comme les activités antiallergiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes (Teoh, 2016; Maury *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2021). Par exemple une étude a approuvé que les écorces des *Mangifera* sont une source riche d'antioxydants, notamment de l'acide ascorbique, des caroténoïdes et des

composés phénoliques (Rocha *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2020). Aussi, les fleurs des *Nerium oleander* et des *Tecoma stans* sont largement connue par leurs propriétés antibactériennes et antifongiques (Sangeetha *et al.*, 2015). De même, le jus de tige de *Brassica oleracea var.Italica* pouvait être utilisé comme source potentielle d'antioxydants (Saavedra-Leos *et al.*, 2021).

Aussi, les gousses des plantes sont souvent utilisées en médecine traditionnelle comme analgésique, anticonstipation, antiabsorptif du glucose, dans la propulsion gastro-intestinale et les activités antidiarrhéiques (Rtibi *et al.*, 2017 in Ben Ayache *et al.*, 2020). L'objectif de notre étude est de rechercher des activités biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire et enzymatique) au niveau des gousses de *Ceratonia siliqua* (caroube). *Ceratonia siliqua* L. Est une plante médicinale méditerranéenne traditionnellement cultivée pour ses propriétés ethnopharmacologiques, telles que les propriétés antidiarrhéiques, antidiabétiques, antioxydantes, anti-athérosclérotiques et anti-neurodégénératifs (Abidar *et al.*, 2020). La grande valeur de *Ceratonia siliqua* est connue grâce à ses gousses, en raison de leur richesse en glucides, fibres alimentaires, tanins et composés phénoliques (Hariri *et al.*, 2009; Farag *et al.*, 2017).

II. La plante *Ceratonia siliqua*

Ceratonia siliqua (*C.siliqua*) ou la caroube, le nom du genre *Ceratonia* dérivé du grec *keras*, se référant aux textures dures en forme de corne des graines (Şahin et Taşlıgil, 2016). Le nom d'espèce *siliqua* vient du latin désignant une cosse de pois (Miličević *et al.*, 2018).

Ceratonia siliqua L. est un arbre populaire dans la région méditerranéenne (Batlle,1997). Elle appartient à la famille des légumineuses (*Fabaceae*) comme été mentionné dans le (Tableau 1) (Benmansour *et al.*, 2022), cultivé naturellement dans les régions arides (Vekariet *et al.*, 2011), en raison de sa résistante à la salinité et à la sécheresse (El Hajaji *et al.*, 2010), et à ses faibles besoins en intrants agronomiques par rapport aux autres espèces fruitières (Tous *et al.*, 2013 in Kyrtzis *et al.*, 2021).

Tableau 1: Classification taxonomique de *Ceratonia siliqua* (Batlle, 1997).

Régne	Végétal
Sous-régne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Sous-famille	<i>Caesalpinioideae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i>
Espèce	<i>Ceratoniasiliqua</i> L.

II.1 Les caractéristiques de la plante et des gousses de *Ceratonia siliqua*

La plante *C. Siliqua* à des feuilles persistantes mesurant 12 à 30cm de long. Cette plante peut atteindre une hauteur de 10 à 17m et peut avoir un tronc de 85cm de diamètre (Batlle *et al.*, 1997) (Figure 3A). La caroube entière ou bien c'est parties (les feuilles, les fleurs, les fruits, le bois, l'écorce et les racines) sont très demandées et donc fortement exploitées (Lahssini *et al.*, 2015). Le fruit de la caroube est appelé gousse et est composé de deux parties : les graines (10%) et la pulpe (90%). La pulpe se compose de deux parties : une couche externe coriace (péricarpe) et une zone interne plus molle (mésocarpe) qui contiennent les graines (Fidan *et al.*, 2020). Cette gousse est non craquelée, longue et aplatie, droite ou recourbée, épaissie au niveau des sutures, de 10 à 30cm de long, de 1,5 à 3,5cm de large, d'environ 1cm d'épaisseur (Figure 3B) (Batlle *et Tous*, 1997).



(A)



(B)

Figure 3 : Photos de l'arbre (A) et des gousses (B) de *Ceratonia siliqua* (Hadi *et al.*, 2017; Bouaziz *et al.*, 2020)

II.2 Compositions et propriétés biologiques de *Ceratonia siliqua* et de ses différentes parties

C. siliqua est une plante avec une large gamme de composés biologiquement actifs, notamment des fibres alimentaires, des polyphénols et des cyclitols (Avallone *et al.*, 1997; Zhu *et al.*, 2019), des vitamines A et B (Vekiari *et al.*, 2011). Ces groupes de composés bioactifs ont été associés aux effets bénéfiques de *C.Siliqua* sur la santé dans différents domaines thérapeutiques (Gruendel *et al.*, 2007).

Cette plante est constituée de 46% de sucre, de 7% de protéines et de petites quantités de nombreux minéraux (Batlle, 1997) et elle a une faible teneur en matières grasses (Avallone *et al.*, 1997; Zhu *et al.*, 2019).

Dans la caroube, le D-pinitol (un agent anti-diabétique) est considéré comme un composé bioactif important ayant une activité anti-diabétique (Goulas *et al.*, 2016), aussi les extraits de feuilles de caroube ont montré une activité antibactérienne contre *Listeria monocytogenes* et *Pectobacterium atro-septicum* (Meziani *et al.*, 2015).

La plante de *Ceratonia siliqua* possèdent plusieurs fonctions thérapeutiques intéressantes, telles que des propriétés hypolipémiantes (Zunf *et al.*, 2001 in Darwish *et al.*, 2021), anti-prolifératives, anti-cardiovasculaires (Corsi *et al.*, 2002). De plus, *Ceratonia siliqua* a montré des activités pharmacologiques importantes dans le tube digestif, notamment des actions antidiarrhéiques, antibactériennes, anti-ulcéreuses et anti-inflammatoires, et possède un effet laxatif sur la propulsion gastro-intestinale (Rtibi *et al.*, 2017 in Darwish *et al.*, 2021).

Aussi, en raison de sa composition chimique, *Ceratonia siliqua* et son extrait éthanolique ont une forte activité antioxydante due à la présence de composés comme la catéchine, l'épicatéchine, l'épigallocatechine, ainsi que de composés phénoliques plus simples, tels que le phloroglucinol, le pyrogallol, le catéchol et l'acide gallique (El Hajaji *et al.*, 2011).

Il a été montré que tous les composants de la plante *C.siliqua* (les gousses, la pulpe, les graines et la gomme de *C.siliqua*) sont bénéfiques pour la santé humaine (Dakia *et al.*, 2007; Bengoechea *et al.*, 2008; Fidan *et al.*, 2020) et deviennent le centre d'intérêt des chercheurs (Owen *et al.*, 2003 in Ouahioune *et al.*, 2022).

La graine de *C.siliqua*, est plus précisément son endosperme, est utilisé pour la production de la gomme de *C.Siliqua* (Batlle, 1997), cette gomme est dotée d'une activité antihyperlipidique (Evans *et al.*, 1992).

Des études ont montré que d'autres parties de l'arbre de *C.siliqua* telles que les feuilles (Custódio *et al.*, 2007) et l'écorce (El Hajaji *et al.*, 2010) sont riches en composés phénoliques qui offrent des possibilités schimio-préventives intéressantes contre certains cancers, en particulier ceux de la partie gastro-intestinale (El Hajaji *et al.*, 2011).

De plus les feuilles de *C.siliqua* ont une activité antibactérienne (Kivcak *et al.*, 2002) sur différentes souches *d'Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, ainsi, les glyconutriments contenus dans *C.siliqua* agissent comme des prébiotiques, ce qui en fait un traitement naturel antidiarrhéique (Kivcak *et al.*, 2002; El Hajaji *et al.*, 2010), aussi les extraits de feuilles ont des effets anxiolytiques et sédatifs potentiels (Avallone *et al.*, 2002) et sont riches en polyphénols et en flavonoïdes avec une forte activité antioxydante (Rtibi *et al.*, 2015).

De même, les pulpes de *C.siliqua* ont des activités antioxydantes (Makris et Kefalas, 2004), antiprolifératives (Corsi *et al.*, 2002) et antimicrobiennes (Kivcak *et al.*, 2002) ont été utilisées chez les nourrissons pour le traitement de la diarrhée d'origine bactérienne et virale (Nelson *et al.*, 2000).

Les gousses de *Ceratonia siliqua* sont considérées comme la partie la plus importante dans cette plante (karim et Azlan *et al.*, 2012). De nombreuses études ont fait des découvertes intéressantes concernant la bioactivité des constituants des gousses de *Ceratonia siliqua* (Goulas *et al.*, 2016). En effet, il a été rapporté que les composants présents dans ces gousses exerçaient plusieurs propriétés biologiques (Roseiro *et al.*, 2013; Rtibi *et al.*, 2016). Parmi

ces composants : les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, qui sont présents dans les gousses de *Ceratonia siliqua*, et qui leur ont été attribuées des activités anticancéreuses et anti-diarrhéiques (Goulas *et al.*, 2016). Des études ont démontré que les fibres alimentaires de la gousses de *C.siliqua* réduisent de manière significative les niveaux de cholestérol total et de LDL-c après six semaines de consommation (Martinez *et al.*, 2013). Aussi les polyphénols et les fibress ont souvent signalés comme inhibiteurs du cancer, en particulier colorectal (O'Keefe, 2016; Haber et Hausmanns, 2006). Par conséquent, les fibres de la caroube sont des agents puissants dans la prévention des cancers (Corsi *et al.*, 2002).

Plusieurs études ont révélé que l'extrait des gousses de *C.siliqua* présente des effets anxiolytiques-sédatifs et agissait comme un agent chimiopréventif, cet extrait a également des effets antidépresseurs (Agrawal *et al.*, 2011 in Al-Olayanet *al.*, 2016). D'autres études, ont montré que l'extrait des gousses de *C. Siliqua* peut exercer des effets antiprolifératifs avec une activité antitumorale (Corsi *et al.*, 2002).

Aussi, les gousses de *C.siliqua* ont des effets protecteurs chez les patients présentant une hépatotoxicité due à l'inflammation et au stress oxydatif (Rtibi *et al.*, 2016). Aussi l'extrait des gousses est capable d'induire l'apoptose dans la lignée cellulaire de carcinome hépato cellulaire (Corsi *et al.*, 2002). D'autres études ont montré que l'extrait de *C.siliqua* présente de puissantes activités antioxydantes et génoprotectrices, qui pourraient être attribuées à des composés tels que les flavonoïdes et les phénols (Sassi *et al.*, 2016; Santonocito *et al.*, 2020). De plus, leur activité antimicrobienne a été récemment démontrée contre différentes bactéries (Fidan *et al.*, 2019; Goulas *et al.*, 2019).

***M**atériels et méthodes*

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biochimie de l'Université Belhadj Bouchaib-Ain Témouchent (UBBAT), durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2021/2022. Ce travail est dans le but de rechercher des activités biologiques dans les gousses de *Ceratonia siliqua*.

1. Récolte du matériel végétal

Afin de rechercher les propriétés biologiques dans cette étude, les gousses de *Ceratonia siliqua* (Caroube) (Figure 4), achetées au commerce de la ville d'Ain Témouchent, ont été broyées après être séchées pendant quelques jours à l'air libre. La poudre obtenue (Figure 4) a été utilisée pour la récupération de l'extrait brut.



Figure 4 : Matériels biologiques utilisés, (A) les gousses de *Ceratonia siliqua*, (B) la poudre des gousses de *Ceratonia siliqua*.

2. Préparation de l'extrait de *Ceratonia siliqua*

Afin de rechercher des activités biologiques dans les gousses de *Ceratonia siliqua*, 2g de la poudre obtenue, sont dissoutes dans 10mL de l'eau distillée pour obtenir une solution à 200mg/mL et laissée pendant 1h30 à 2h sous agitation. La solution obtenue est centrifugée à 6000rpm/min pendant 4min. L'extrait obtenu est récupéré et conservé à 4°C.

3. Détermination du pH de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

Le pH de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été déterminé en utilisant des bandelettes de mesure du pH.

4. Dosage des protéines selon la méthode de Bradford (1976)

Cette méthode est utilisée pour définir la quantité des protéines dans les échantillons biologiques. Afin de déterminer la quantité des protéines dans la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon $DO = f([\text{hémoglobine}])$ a été préparée à partir d'une gamme de solution étalon (5, 10, 25, 50mg/mL) en utilisant une solution mère d'hémoglobine à 50mg/mL (Tableau 2). Ensuite, 0.2mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0.8mL à chacune des solutions d'Hémoglobine préparée. La DO est, ensuite, mesurée à 595nm.

Après, pour déterminer la concentration des protéines dans l'extrait de *Ceratonia siliqua*, 0.2mL du réactif de Bradford sont ajoutés à 0.8mL de cet extrait et la DO est ensuite, mesurée à 595nm.

Tableau2 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine

Concentrations (mg/mL)	0	5	10	25	50
Volume (mL) de la solution mère d'hémoglobine à 50mg/mL	0	0.1	0.2	0.5	1
Volume (mL) H ₂ O	1	0.9	0.8	0.5	0

5. Recherche de l'activité antioxydante chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

5.1 Test de l'activité catalasique dans la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

La recherche de l'activité catalasique dans la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été effectuée par la méthode qui permet l'évaluation de la capacité du piégeage du H₂O₂, par mesure de l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV (Mittler et Zilinskas, 1991).

Les catalases sont des enzymes qui permettent la dégradation de l'H₂O₂ en molécule d'H₂O et en O₂ (Zhang et Simpson, 2018), comme montré dans la réaction suivant



Le milieu réactionnel est constitué de 0,750mL d'H₂O₂ et 1mL de tampon phosphate à pH 7 et à 50mM, aux quelles 0,250mL de l'extrait de *Ceratonia siliqua* a été ajouté. La disparition de l'H₂O₂ sera suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 240nm.

Afin de déterminer la quantité d'H₂O₂ dégradée par les catalases de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon DO = f ([H₂O₂]) a été préparée à partir d'une gamme de solution de l'étalon (5, 10, 20, 30, 40, 50mM) en utilisant une solution mère d'H₂O₂ à 50mM (Tableau 3). Ensuite la DO est mesurée à 240nm.

Tableau 3: Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'H₂O₂

Concentrations (mM)	0	5	10	20	30	40	50
Volume (mL)de la solutionmère d'H ₂ O ₂ à50mM	0	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6	2
Volume (mL)d'H ₂ O	2	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0

5.2 Test de l'activité anti-radicalaire chez les gousses de *Ceratonia siliqua* par la méthode de piégeage du DPPH

La méthode de dosage du DPPH a été développée par Blois en 1958 (Brand-Williamset *al.*, 1995) a été largement utilisée pour estimer la capacité antioxydante des produits chimiques ainsi que de nombreux produits d'origine naturelle (Flieger *et al.*, 2020).

Le DPPH 2,2-DiPhényl Picryl Hydrazyl est utilisé en raison de sa stabilité et son potentiel redox suffisamment élevé pour oxyder les antioxydants naturels les plus courants (Flieger *et al.*, 2020).

La réaction permettant la détection des capacités antioxydantes des produits d'origine naturelle en présence du DPPH, est caractérisée par un changement de couleur, qui vire du violet (DPPH• ou DPPH-R) au jaune (DPPH-H). La mesure de la disparition de la couleur violette (significatif de la présence d'une activité

antioxydante) est réalisée par un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde 517nm (Yamaguchi *et al.*, 1998). La réaction peut être résumée par l'équation suivante



AH : Composant antioxydant donneur de proton.

A• : Radical libre.

Ce dosage de disparition du DPPH est considéré comme une méthode valide, précise, facile et économique pour évaluer l'activité de piégeage des radicaux par les antioxydants (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Dans notre travail, cette méthode de piégeage du DPPH a été utilisée pour rechercher des activités antioxydantes dans les solutions des gousses de *Ceratonia siliqua* à différentes concentrations (10, 25, 50, 100 et 200mg/mL).

Une solution de DPPH à 0,1 mM a été préparée dans de l'éthanol pur et utilisée comme substrat. Le mélange réactionnel contient 0.5mL de cette solution du DPPH et 0.5mL de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* à différentes concentrations (10, 25, 50, 100 et 200mg/mL). La lecture de l'absorbance du mélange réactionnel est effectuée à 517nm après 0 et 30 min d'incubation.

Afin de déterminer la quantité de DPPH dégradée par l'extrait de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon $DO = f([DPPH])$ a été préparé à partir d'une gamme de solution étalon (0,025, 0,05 et 0,1mM) en utilisant une solution mère de DPPH à 0.1mM (Tableau 4). Ensuite la DO est mesurée à 517nm.

Tableau 4 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de DPPH

Concentrations (mg/mL)	0	0.025	0.05	0.1
Volume (mL)de la solution mère de DPPHà0,1mM	0	0.25	0.5	1
Volume (mL) d'H ₂ O	1	0.75	0.5	0

L'acide ascorbique à différentes concentrations (200, 600, 800 et 1000mg/mL) a été utilisé comme un antioxydant standard (Flieger *et al.*, 2020) afin de comparer son activité de piégeage du DPPH avec celle de la solution de les gousses *Ceratonia siliqua*.

6. Recherche de l'activité anti-inflammatoire chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

La dénaturation des protéines tissulaires est bien connue comme étant l'une des conséquences des maladies inflammatoires (Williams *et al.*, 2008) et l'action d'inhibition de la dénaturation de l'albumine a été étudiée comme un mécanisme d'action anti-inflammatoire potentiel (Henneh *et al.*, 2018). Pour cela, afin de rechercher l'activité anti-inflammatoire chez les gousses de *Ceratonia siliqua*, la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine a été utilisée (Lavanya *et al.*, 2010).

Le mélange réactionnel est constitué de 50µL d'albumine humaine à 200mg/mL, de 700µL de tampon phosphate (0.1M et pH 6.4) et 500µL d'extrait de *Ceratonia siliqua* (50 et 100mg/mL). Le Protocole de Dharmadeva, (2018), avec une légère modification a été utilisé pour suivre l'inhibition de la dénaturation de l'albumine, le mélange réactionnel est incubé à 37°C pendant 15min puis traité au bain-marie à 70°C pendant 15min, ensuite la DO a été mesuré à une longueur d'onde de 660nm.

Le même test a été effectué avec l'ovalbumine (albumine d'œuf) qui a été préparée, en mélangeant un blanc d'œuf avec 200mL d'eau distillée puis déposée au bain-marie à 70°C. La solution obtenue est centrifugée à 6000trs/min pendant 5min.

Le même milieu réactionnel a été préparé sauf que l'albumine humaine a été remplacée par l'ovalbumine. Le milieu réactionnel est incubé à 37°C pendant 15min puis traité au bain-marie à 70°C pendant 5min. Ensuite la DO est mesuré à 660nm (Fetni *et al.*, 2020).

Afin de déterminer la quantité de l'albumine protégée du traitement thermique, 2 courbes étalons $DO = f([\text{albumine humaine}])$ et $DO = f([\text{ovalbumine}])$ ont été préparées par une gamme étalon à partir d'une solution mère de 200mg/mL, respectivement, de l'albumine humaine et de l'ovalbumine, (Tableau 5). Ensuite la DO est mesurée à 660nm.

Tableau 5 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'albumine

Concentrations(μg /mL)	0	2	4	6	8	10
Volume (mL) des solutions mères d'albumine humaine ou de l'ovalbumine à 200mg/mL	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
Volume (mL) d'H ₂ O	2	1.98	1.96	1.94	1.92	1.9

L'acide acétylsalicylique à différentes concentrations (50,100 et 200mg/mL) a été utilisé comme un anti-inflammatoire standard (Sene *et al.*, 2016), afin de comparer son activité de protection de l'albumine humaine et de l'ovalbumine, par le traitement thermique, avec celle des gousses de *Ceratonia siliqua*.

7. Recherche de l'activité enzymatique chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

7.1 Détermination de l'activité amylasique chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

L'amylase est une enzyme qui convertit ou décompose l'amidon en glucose (Eisenthale et Danson, 2002), selon la réaction suivante



L'activité de l'amylase est affectée par de nombreux facteurs tels que la température, le pH, la concentration en enzyme et la concentration du substrat (Dutta *et al.*, 2006; Fatema *et al.*, 2017).

Afin de doser l'activité de l'amylase dans l'extrait de *Ceratonia siliqua* la méthode de Caraway Somogyi iode/potassiumio dure (IKI) (1959) a été utilisée.

L'amidon est dosé à différents temps d'incubation suivant la méthode d'Oteng-Gyang (1979). La préparation de la solution du substrat consiste à ajouter 40mL d'une solution d'amidon à 1%, à 50mL d'eau distillée en ébullition. Après agitation et refroidissement de

cette solution d'amidon, un volume d'eau distillée est ajouté pour compléter la solution à 100mL.

Ensuite, un volume de cette solution est dilué 10 fois, dans du l'eau distillée, pour être utilisé comme substrat.

Le milieu réactionnel est constitué de 0,1mL de la solution d'amidon préparée, 0,750mL de tampon phosphate à 0,1M et à pH 7 et de 0,4mL de l'extrait de *Ceratonia siliqua*. Le mélange réactionnel est incubé à 30°C à différents temps pour déterminer le temps d'incubation optimal, permettant la disparition de l'amidon.

Après incubation, 0,750mL de Lugols ont été ajoutés au milieu réactionnel.

La réaction est ensuite arrêtée par l'ajout de 1,5mL d'HCl à 10% et l'absorbance est mesurée à 620nm (Kéléké *et al.*, 1995).

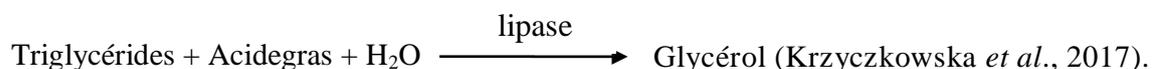
Afin de déterminer la quantité d'amidon dégradée par l'extrait de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon $DO = f([\text{amidon}])$ a été préparé à partir d'une gamme de solution étalon (0,20, 40, 60, 80, et 100µg) en utilisant une solution mère d'amidon à 400µg (Tableau 6). Ensuite la DO est mesuré à 620nm.

Tableau 6 : Gamme d'étalon utilisée pour la préparation de courbe étalon de l'amidon.

Concentrations (µg/mL)	0	20	40	60	80	100
Volume (mL) de la solution mère d'amidon 400µg/mL	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
Volume (mL) H ₂ O	1	0.95	0.9	0.85	0.8	0.75

7.2 Détermination de l'activité lipasique chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

Les lipases sont des enzymes qui catalysent la dégradation des graisses et des huiles avec la libération subséquente d'acides gras libres (Joseph *et al.*, 2008), selon la réaction suivante



Afin d'évaluer l'activité lipasique des gousses de *Ceratonia siliqua*, la méthode de titration acido-basique a été utilisée (Soumanou *et al.*, 2005). La réaction est effectuée en utilisant l'huile d'olive comme substrat (Krzyczkowska *et al.*, 2017).

Le milieu réactionnel est constitué de 0,750mL d'huile d'olive (substrat), 0,650mL d'eau distillée et 0,25mL de solution tampon phosphate à 0,2M et pH 7,2. Ensuite, 0,25mL d'extrait de *Ceratonia siliqua* ont été ajoutés. Le mélange réactionnel est incubé à 30°C à différents temps pour déterminer le temps d'incubation optimal, permettant l'apparition des acides gras libérés par l'activité lipasique. La réaction est ensuite arrêtée par l'ajout de 0,750mL d'éthanol (95%) (Li *et al.*, 2019).

Puis, 4 gouttes de phénophtaléine ont été ajoutées, la quantité des acides gras libérés est effectuée par l'ajout du NaOH à 300mM, jusqu'à virage de couleur (apparition de couleur rose). L'ajout du NaOH à 300mM permet de calculer la concentration [C] des acides gras libérés.

Le blanc a été préparé dans la même condition que le test sauf que l'extrait de *Ceratonia siliqua* a été ajouté après que la réaction enzymatique soit arrêtée par l'éthanol.

Le calcul de la concentration [C] des acides gras libérés est effectué par l'équation suivante

$$Ca.Va = Cb.Vb$$

Ca : la concentration des acides gras, Va : le volume de milieu réactionnel, Cb : la concentration du NaOH, Vb : le volume du (NaOH) ajouté.

7.3 Détermination de l'activité gélatinase chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

La gélatinase est une enzyme qui hydrolyse la gélatine en polypeptides qui se sont transformés en acides aminés, selon la réaction suivante (Leboffe et Pierce, 2015).



Afin de déterminer l'activité gélatinisique dans la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, le test de l'hydrolyse de la gélatine est effectué par l'utilisation d'un milieu réactionnel préparé dans un tube à essai et constitué de tampon phosphate à 0.2M et pH 7, gélatinisé à 15%. La gélatine sert à la fois comme agent solidifiant et un substrat pour l'activité gélatinisique (Kanemitsu *et al.*, 2001).

Ensuite, 1mL de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* est ajouté à ce milieu gélatinisé et incubé à 30°C pendant 30 minutes, contre un blanc incubé dans les mêmes conditions sauf les 1mL de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* seront remplacés par 1mL d'eau distillée.

8. L'influence du pH sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

L'influence du pH sur l'activité des enzymes de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été déterminée par remplacement du tampon phosphate à pH 7 (neutre), du milieu réactionnel décrit précédemment, avec du tampon phosphate à pH 5,5 (acide) et du tampon glycine-NaOH à pH 8,5 (basique).

9. L'influence de la température sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

L'influence de la température sur l'activité des enzymes de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été déterminée par incubation du milieu réactionnel à différentes températures 20, 30, 40 et 50°C.

10. L'influence du traitement thermique et du pH sur la stabilité des 3 enzymes testées des gousses de *Ceratonia siliqua*

10.1 L'influence du traitement thermique sur la stabilité des 3 enzymes

La stabilité thermique des 3 enzymes a été testée par traitement thermique de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* à une température de 90 °C pendant 1h et 2h.

10.2 L'influence du traitement pH sur la stabilité des 3 enzymes

La stabilité au pH des 3 enzymes a été testée par traitement thermique de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* en présence du HCl et du NaOH à 1M pendant 1h et 2h.

Matériels et méthodes

Après ces 2 traitements (thermique et pH), l'activité résiduelle des 3 enzymes est mesurée en suivant les mêmes protocoles utilisés précédemment, sauf que la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* non traitée est remplacée par la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* traitée.

Résultats et discussion

1. Collecte du matériel végétal

Afin de rechercher les propriétés biologiques antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques dans cette étude, les gousses de *Ceratonia siliqua* (Caroube) ont été utilisées comme matériel biologique, elles ont été achetées au commerce de la ville d'Ain Témouchent.

2. Détermination du pH de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

La mesure du pH des gousses de *C.siliqua* a été effectuée par l'utilisation des bandelettes de mesure du pH. Le résultat de cette mesure, montre que notre solution des gousses de *C.siliqua* à un pH de 6 (Figure 5).

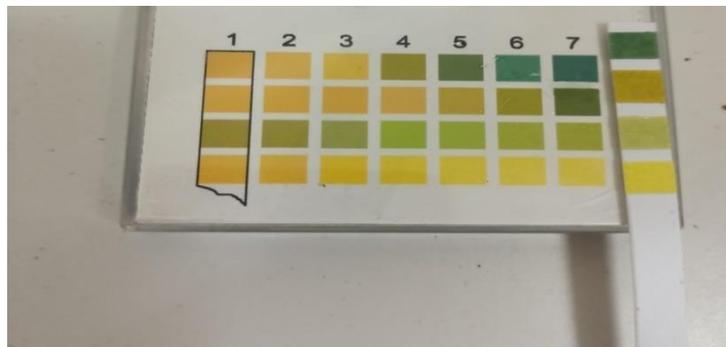


Figure 5 : Mesure du pH de la solution des gousses de *C.siliqua*.

3. Dosage des protéines chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

Afin de déterminer la quantité des protéines dans la solution des gousses de *C.siliqua*, une courbe étalon DO = f([Hémoglobine]) (Figure 6) a été préparée.

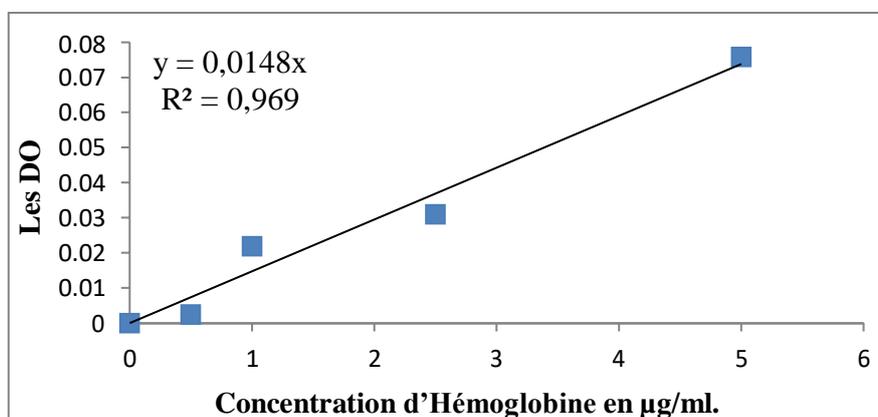


Figure 6 : Courbe d'étalon de d'Hémoglobine.

Les résultats obtenus de ce dosage (Figure 6) montrent que la quantité de protéines dans la solution des gousses de *C.siliquea* est de 65.13mg/mL ce qui représente 32,56% de protéines au niveau de ces gousses, ce qui proche des études de Fidan *et al.*, (2020) qui ont montré que le pourcentage de protéines dans les gousses de *Ceratonia siliqua* est égale à 25,7%. Par contre, cette quantité de protéines trouvées est supérieure à ce qui a été trouvé par Youssef *et al.*, en 2013, qui ont montré que le pourcentage de protéines dans les gousses de *Ceratonia siliqua* est égale à 6.34%. La différence des quantités des protéines peut être influencé par différents facteurs comme la région, le types de sol, la texture ou la température (Mateille *et al.*, 1995).

4. Recherche de l'activité antioxydante chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

4.1 Test de l'activité catalasique dans la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

Afin de déterminer la quantité d' H_2O_2 dégradée par les catalases de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon $DO = f([H_2O_2])$ (Figure 7) a été préparée.

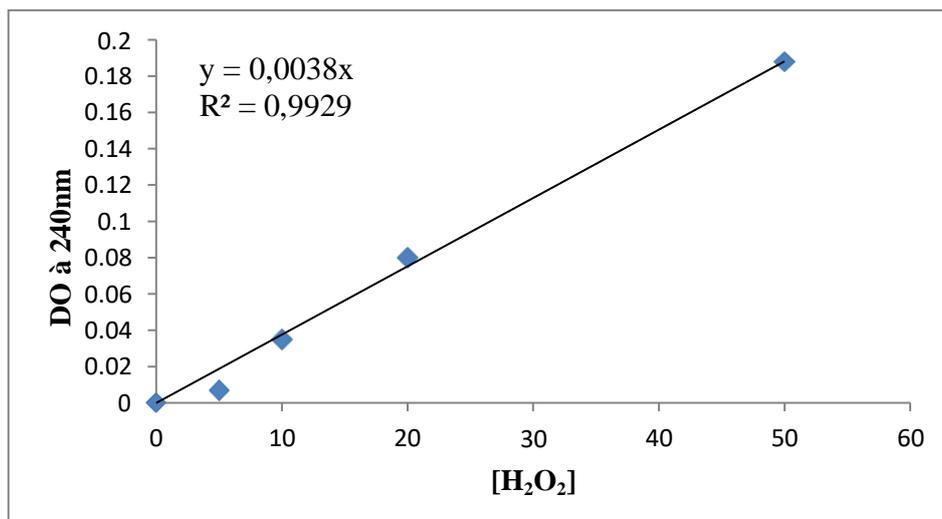


Figure 7 : Courbe d'étalon d' H_2O_2 .

Les solutions des gousses de *Ceratonia siliqua* à 200mg/mL, a permis de faire disparaître, entre 0 et 1 min 30 sec 6.58mM d' H_2O_2 (Figure 8), ce qui correspond à 65.79% d' H_2O_2 (Figure 8). Ces résultats montrent que la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* présentent une activité catalasique et donc une activité antioxydante, ce qui est en accord avec l'étude de Ben Ayache *et al.*, (2020) qui ont montré que les gousses de *Ceratonia siliqua* ont une activité antioxydante. De plus, les études de Al-Olayan *et al.*, (2016) ont montré que l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* est capable de faire disparaître l' H_2O_2 . Aussi, les études de Biju *et al.*, (2007) ont montré que les gousses de *Dregea volubilis* sont capables de

faire disparaître l'H₂O₂.

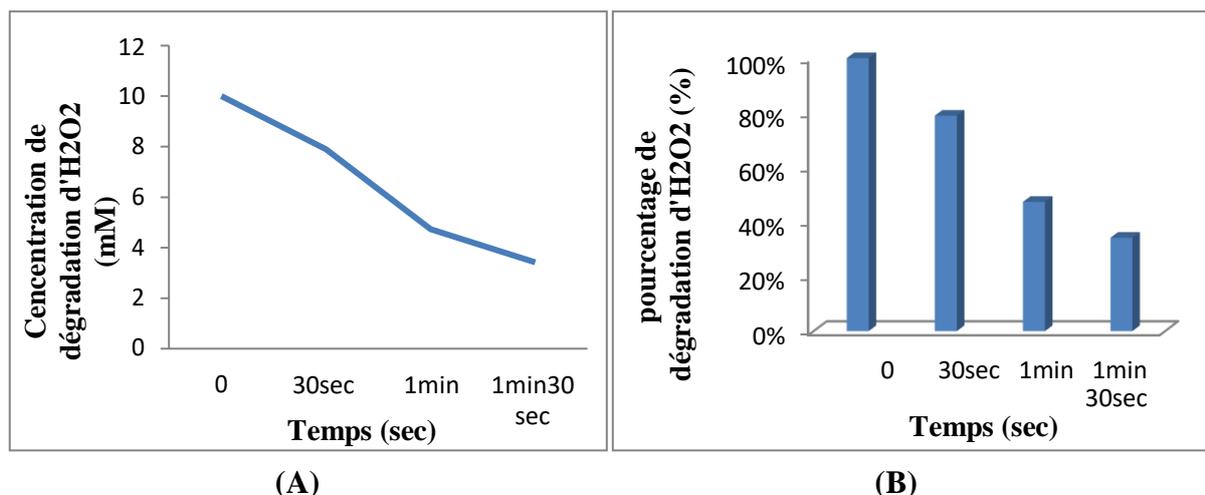


Figure 8 : Capacité de dégradation de l'H₂O₂ par la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, (A) la cinétique de la dégradation de l'H₂O₂, (B) pourcentage de dégradation de l'H₂O₂ en fonction du temps.

4.2 Test de l'activité anti-radicalaire chez les gousses de *Ceratonia siliqua* par la méthode de piégeage du DPPH

En plus de la recherche des catalases, la capacité de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* à piéger le DPPH (2,2-DiPhénylPicrylHydrazyl) ont été aussi déterminée pour évaluer les propriétés antioxydantes de ces gousses.

Afin de déterminer la quantité de DPPH dégradée par la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, une courbe étalon DO = f ([DPPH]) a été préparée (Figure 9).

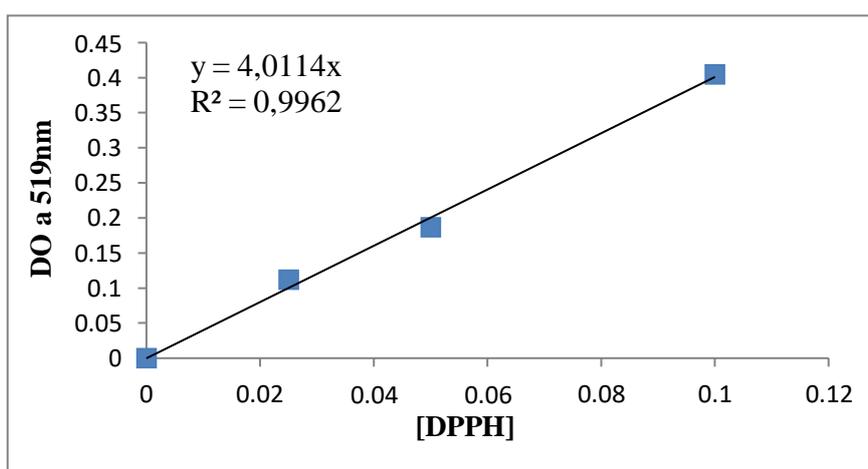


Figure 9 : Courbe d'étalon du DPPH.

Les résultats obtenus montrent que la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*, présente une activité antioxydante due à sa capacité à piéger le DPPH (Figure 9), ce qui est en accord avec l'étude de Rico *et al.*, (2019) qui ont montré que les gousses de *Ceratonia siliqua* ont une capacité de piégeage du DPPH.

Les résultats obtenus montrent que les concentrations de 10, 25, 50 et 100mg/mL de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* influencent d'une façon proportionnelle sur les capacités de disparition du DPPH (Figure 10). Cette capacité arrive à son maximum au bout de 15min puis elle reste plus ou moins stable.

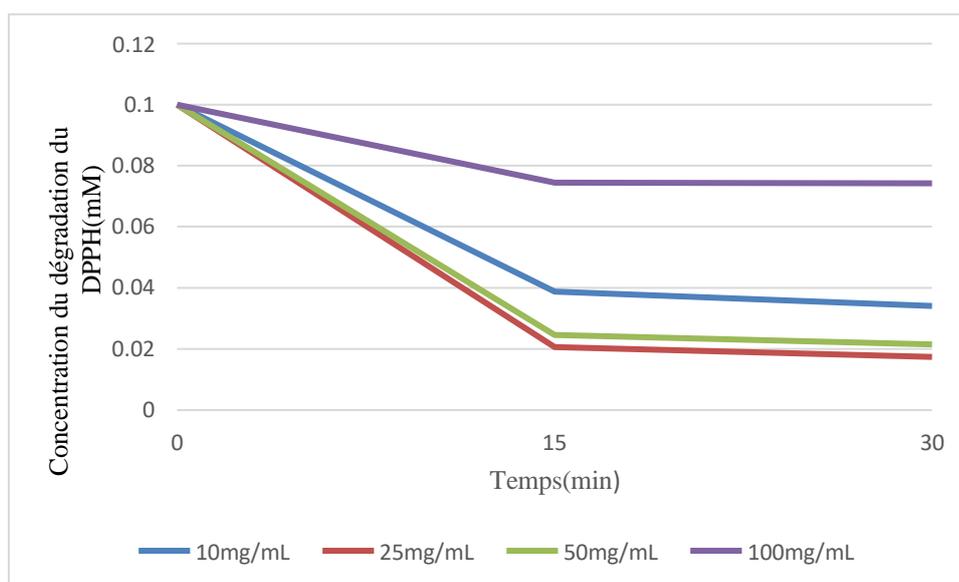


Figure 10 : Cinétique de dégradation du DPPH.

Les résultats du calcul des pourcentages de dégradation du DPPH montrent qu'il y a une relation entre la concentration de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* et le pourcentage du DPPH dégradée (Figure 10). Plus la concentration de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* augmente, et plus la quantité du DPPH dégradé augmente, ce qui est en accord avec les études de Ben Ayache *et al.*, (2020), sur les capacités de piégeage du DPPH par les gousses de *Ceratonia siliqua*, et qui ont montré que la capacité de piégeage du DPPH est en fonction de la concentration des extraits de *Ceratonia siliqua*.

Cette augmentation des pourcentages de piégeage du DPPH (2.5%, 20.8%, 65.42% et 81.9%) est proportionnelle à l'augmentation des concentrations de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* (10, 25, 50 et 100mg/mL) (Figure 11).

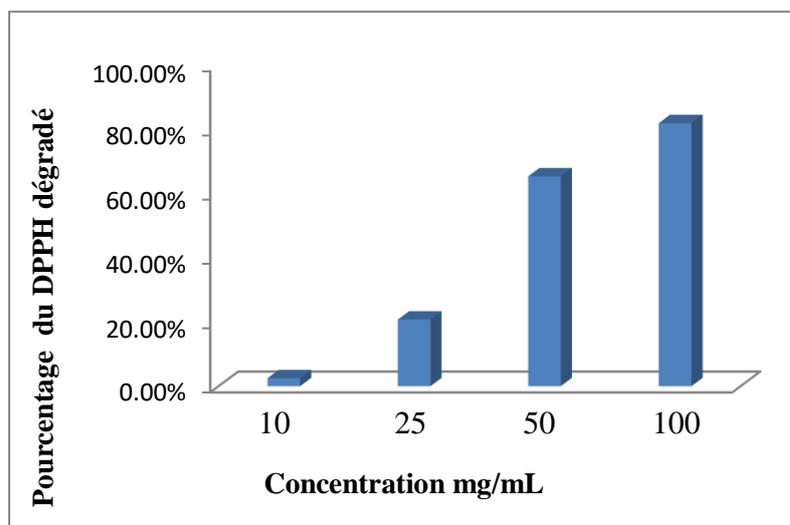


Figure 11 : Pourcentage du DPPH dégradé par la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* à différentes concentrations.

La capacité de piégeage du DPPH peut être évaluée par la détermination de la valeur de l'IC₅₀, cette valeur correspond à la quantité d'échantillon nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres (Elzaawely *et al.*, 2007). Des valeurs plus élevées d'IC₅₀ indiquent une efficacité moindre, donc une activité plus élevée possède un IC₅₀ plus faible (Ben Ayache *et al.*, 2020).

Dans notre étude, l'IC₅₀ a été calculé par le logiciel AAT Bioquest. Les résultats obtenus montrent que l'IC₅₀ de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* est de 35.0576mg/mL (Figure 12). Par contre, les études d'Abidar *et al.*, (2020) ont montré que l'activité anti-DPPH chez les gousses de *Ceratonia siliqua* est plus élevée avec un IC₅₀ de 0,116mg/mL.

Afin de comparer les capacités de dégradation du DPPH par la solutions des gousses de *Ceratonia siliqua*, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard. Les résultats montrent que l'acide ascorbique à un IC₅₀ de 5510.80mg/mL (5.5g/mL) ce qui signifie une activité de piégeage du DPPH très faible, ceci révèle une perte de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique qu'on a utilisé, potentiellement due à ses conditions de conservation ou à son oxydation.

Les études de Alali *et al.*, (2007) ont montré que les extraits aqueux et éthanoliques de *C.siliqua* étaient capables de piéger les radicaux libres, l'extrait éthanolique a présenté une activité de piégeage de radicaux DPPH, avec un IC₅₀ de 1,7833mg/mL. Ces IC₅₀ supérieurs à

l'IC₅₀ de notre échantillon (35,057mg/mL), montrent que notre échantillon a une activité antioxydante inférieure à celle de ces deux études.

La capacité antioxydante des gousses de *Ceratonia siliqua* est liée à la présence des composés phénoliques (Kyriacou *et al.*, 2021). Ces composés sont d'excellents donneurs d'électrons et pourraient mettre fin à la réaction radicalaire en chaîne en convertissant les radicaux libres en produits plus stables (Ben Ayache *et al.*, 2020), Ainsi, l'activité antioxydante de *Ceratonia siliqua* peut ainsi être attribuée à la présence d'acide gallique, protocatéchuique, catéchine, p-hydroxybenzoïque et vanillique (Sroka et Cisowski, 2003; Darwish *et al.*, 2021). Ce qui peut être expliquer la présence d'activité antioxydante dans notre échantillon.

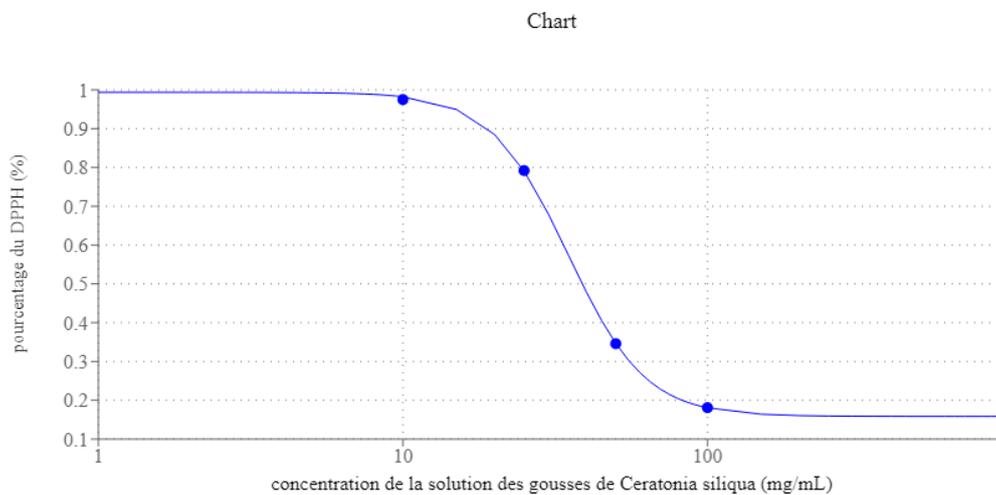


Figure 12 : Dégradation du DPPH et détermination de l'IC₅₀ de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*.

5. Recherche de l'activité anti-inflammatoire chez les gousses de *C.siliqua*

5.1 Dosage de l'albumine humain et de l'ovalbumine

Afin de déterminer la quantité de l'albumine humain et de l'ovalbumine protégée du traitement thermique, 2 courbes d'étalon $DO = f([\text{Albumine}])$ (Figure 13A) et $DO = f([\text{ovalbumine}])$ (Figure 13B) respectivement ont été préparées.

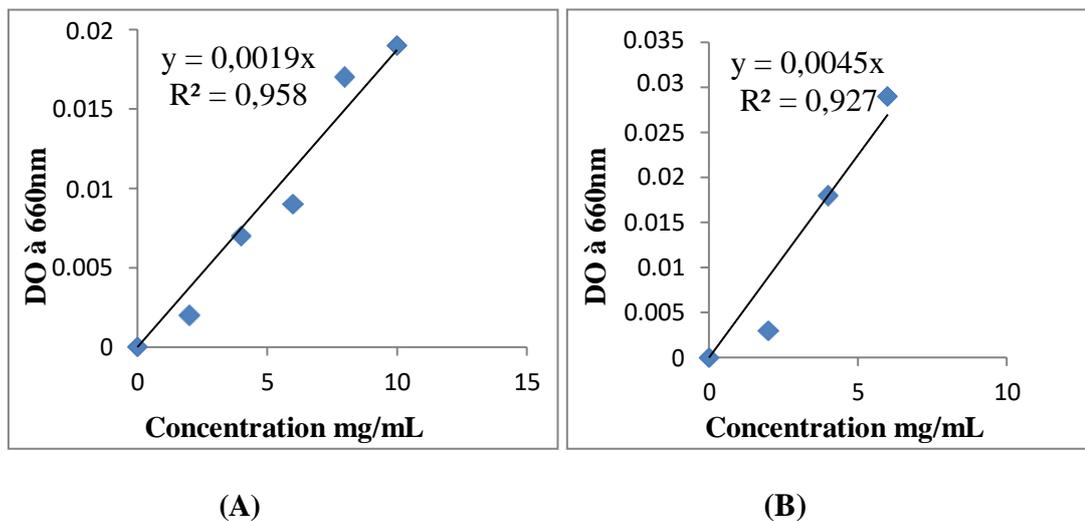
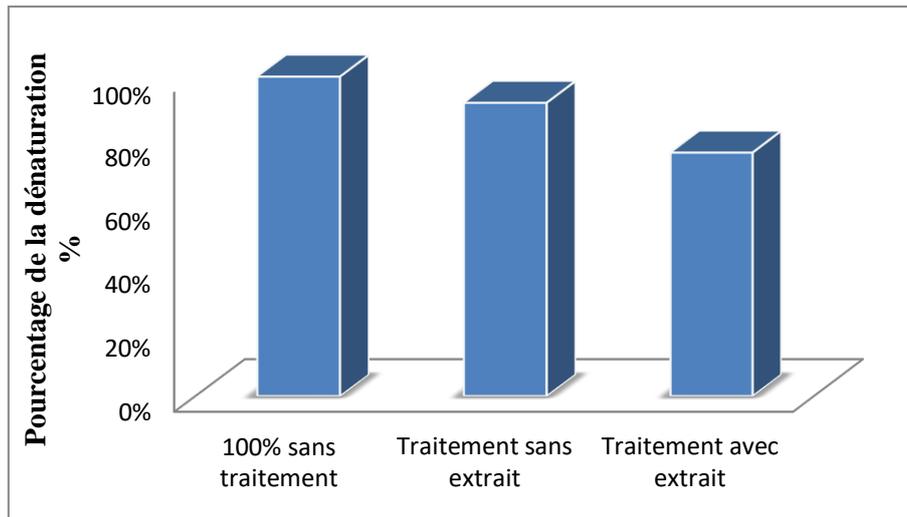
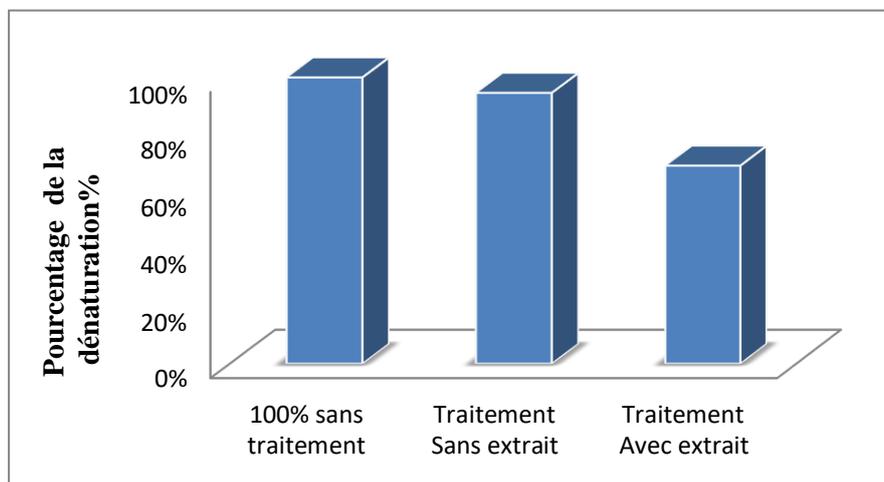


Figure 13 : Courbes d'étalon de l'albumine humain (A) et de l'ovalbumine (B).

Afin de déterminer les capacités de protection par la solution des gousses de *C.siliqua* contre la dénaturation de l'albumine par le traitement thermique, l'albumine humaine pure a été traitée à 70°C pendant 15min en présence des concentrations de 50 et 100mg/mL. Les résultats obtenus montrent que le traitement thermique dénature l'albumine humaine (Figure 14). Par contre, on remarque que la dénaturation de cette protéine, diminue en présence de la solution des gousses de *C.siliqua*. Aussi, plus la concentration de la solution des gousses de *C.siliqua* augmente et plus l'inhibition de la dégradation de l'albumine humaine augmente (Figure 14), conduisant à une inhibition de la dénaturation de l'albumine humaine de 10.92% et de 22.42%, respectivement, en présence des concentrations de 50 (Figure 14A) et 100mg/mL (Figure 14B) de la solution des gousse de *C.siliqua*.



(A)

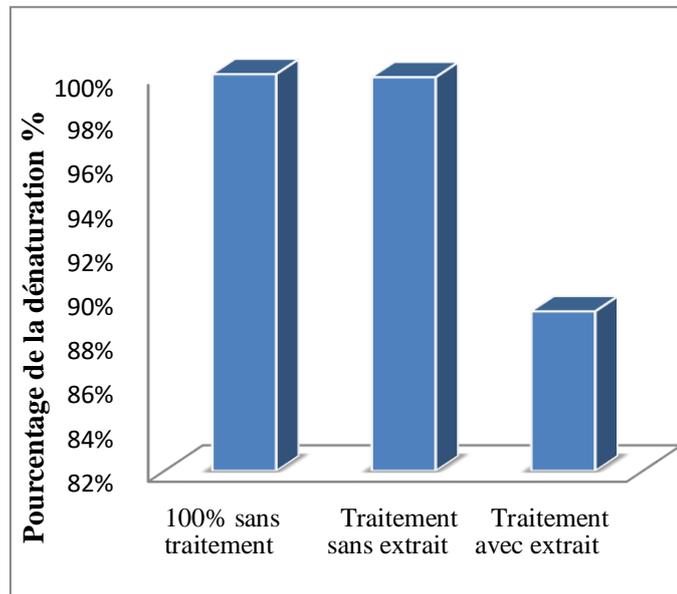


(B)

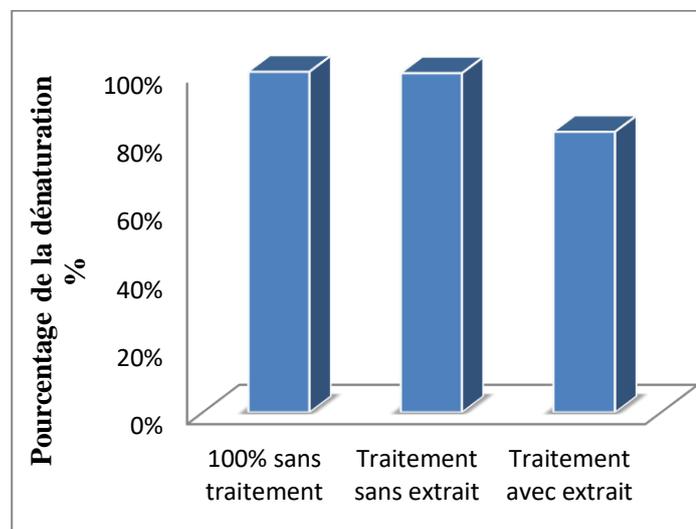
Figure 14 : Pourcentage de la dénaturation de l’albumine humaine par le traitement thermique en présence des concentrations des gousses de 50 (A) et 100mg/mL (B) de la solution des gousses de *C.siliqua*.

Ces résultats ont montré que la solution des gousses de *C.siliqua* possède une activité anti-inflammatoire du fait qu’elle a protégé l’albumine humaine de la dénaturation par le traitement thermique. En effet, les travaux de Rtibi *et al.*, (2016) et Abulyazid *et al.*, (2017), ont montré que la présence d’une activité anti-inflammatoire dans un échantillon protégerait l’albumine humaine contre la dénaturation par un traitement thermique

Afin de déterminer les capacités de protection par la solution des gousses de *C.siliqua* contre la dénaturation de l'albumine par le traitement thermique, l'ovalbumine a été traitée à 70°C pendant 15min en présence des concentrations de 50 et 100mg/mL. Les résultats obtenus montrent que le traitement thermique dénature l'ovalbumine (Figure 15). Par contre, on remarque que la dénaturation de cette protéine, diminue en présence de la solution des gousses de *C.siliqua*. Aussi, plus la concentration de la solution des gousses de *C.siliqua* augmente et plus l'inhibition de la dégradation de l'ovalbumine augmente (Figure15), conduisant à une inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine de 10.63% et de 17.22%, respectivement, en présence des concentrations de 50 (Figure 15A) et 100 (Figure 15B) mg/mL de la solution des gousse de *C.siliqua*.



(A)



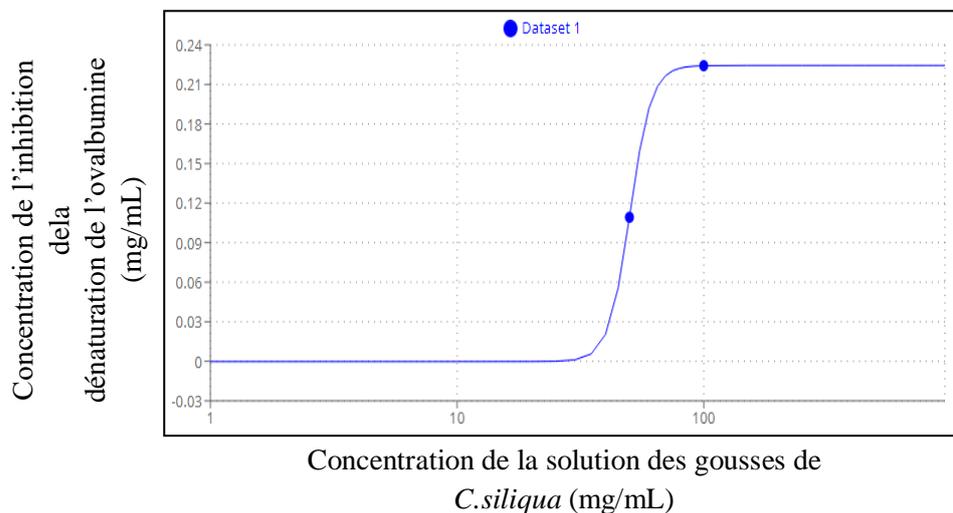
(B)

Figure 15 : Pourcentage de la dénaturation de l'ovalbumine par le traitement thermique en présence des concentrations des gousses de 50 (A) et 100mg/mL (B) de *C.siliqua*.

Ces résultats ont montré que la solution des gousses de *C.siliqua* contiennent une activité anti-inflammatoire du fait qu'elle a protégé l'ovalbumine de la dénaturation par le traitement thermique. En effet, les travaux de Ahmed et Cevher, (2019); Mazurek et al., (2008) ont montré que la présence d'une activité anti-inflammatoire dans un échantillon protégerait l'ovalbumine contre la dénaturation par un traitement thermique.

Dans notre étude l'IC₅₀ a été calculé par le logiciel AAT Bioquest comme mentionné précédemment. Les résultats obtenus montrent que la solution des gousses de *Ceratonia siliquaa* a une capacité de protéger l'albumine humain (Figure 16A) et de l'ovalbumine (Figure 16B) d'une valeur de l'IC₅₀ de 50.2578g/mL et de 47.4939mg/mL, respectivement.

Les propriétés anti-inflammatoires de notre solution semblent être faible, en effet, les travaux sur les activités anti-inflammatoires d'un extrait aqueux de *Polygala Cyparissias* par le test de l'ovalbumine ont montré que l'IC₅₀ de cet extrait est de 0.5mg/mL (El Sayah *et al.*, 1999) et ce lui de l'extrait de *Ficus racemosa* est de 3.69197mg/mL (Dharmadeva *et al.*, 2018), ces deux IC₅₀ sont inférieurs à ce qu'on a obtenu dans notre étude, ce qui signifie leur activité anti-inflammatoire est supérieure à celle de notre solution.



(A)

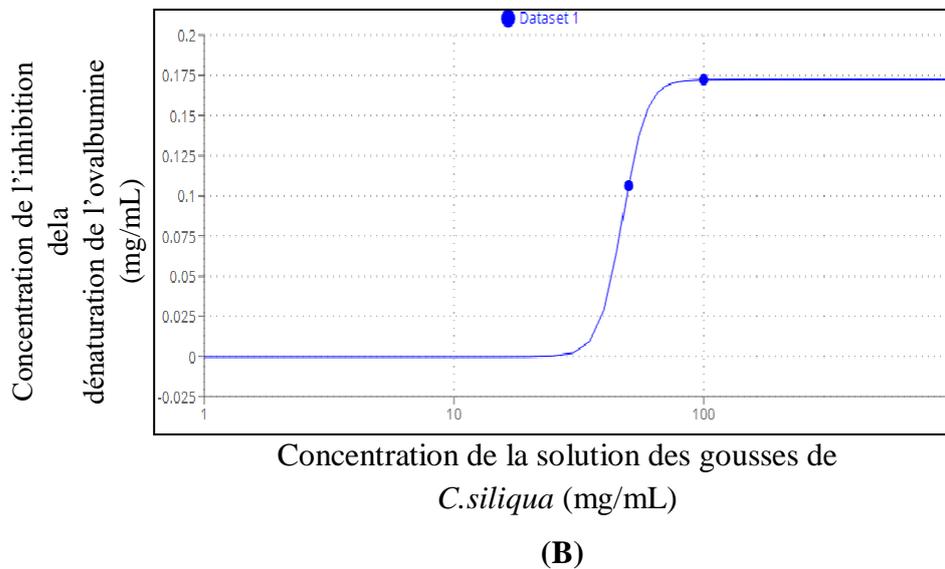
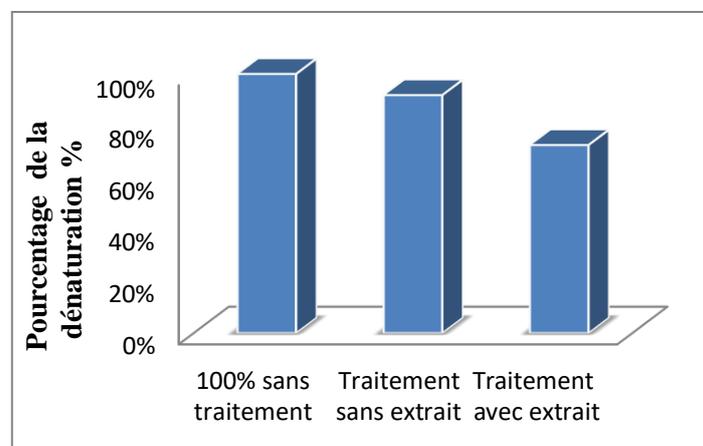
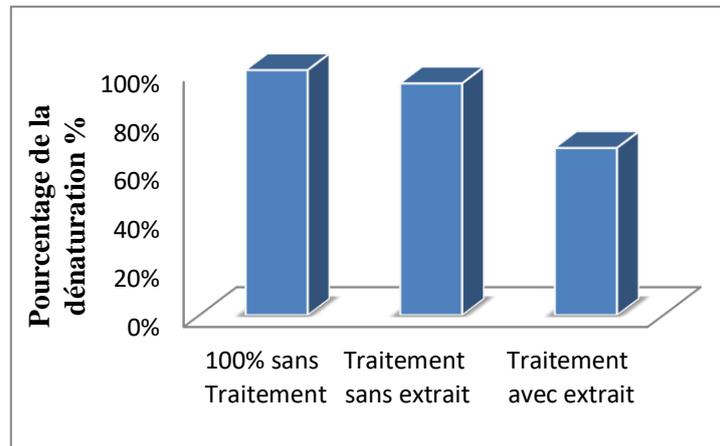


Figure 16 : Inhibition de la dénaturation de l’albumine humaine (A) et de l’ovalbumine (B) en présence des gousses de *C.silique*.

Afin de comparer les capacités de protection de l’albumine humaine et de l’ovalbumine contre la dénaturation par le traitement thermique, l’acide acétylsalicylique a été utilisé comme anti-inflammatoire standard (Ndiaye *et al.*, 2006).

Comme c’est le cas de la solution des gousses de *C.silique*, les résultats obtenus montrent la présence d’une relation entre la concentration de l’acide acétylsalicylique et la protection de l’albumine humaine. En effet, plus la concentration de l’acide acétylsalicylique augmente et plus l’inhibition de la dégradation de l’albumine humaine augmente, conduisant à une inhibition de la dénaturation de l’albumine humaine de 14.67% et 23.28%, respectivement, en présence des concentrations de 50 (Figure 17A) et 100mg/mL (Figure 17B) de l’acide acétylsalicylique.

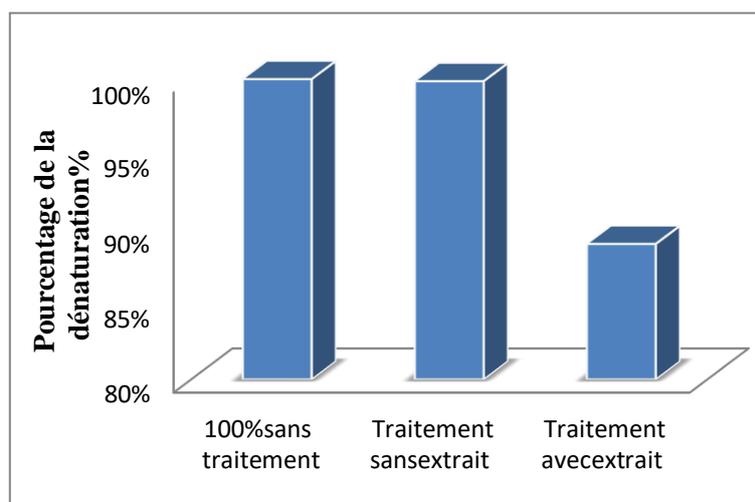




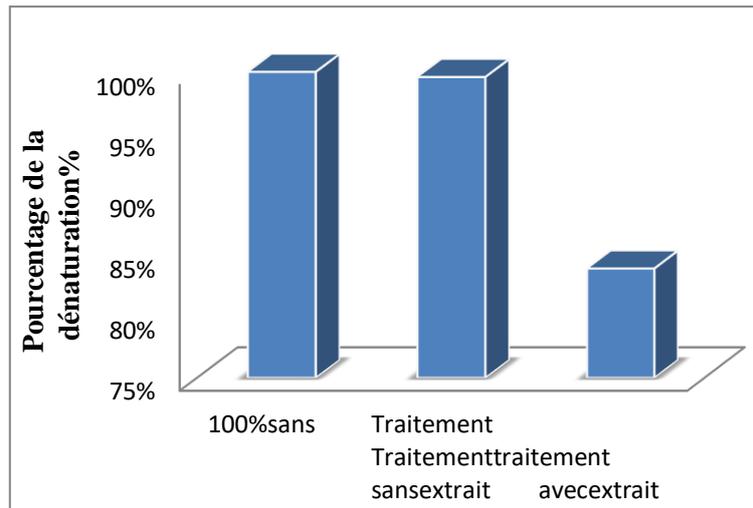
(B)

Figure 17 : Pourcentage de la dénaturation de l’albumine humaine par le traitement thermique en présence des concentrations des gousses de 50 (A) et 100mg/mL (B) de l’acide acétylsalicylique.

Pour le test avec l’ovalbumine, les résultats obtenus montrent la présence d’une relation entre la concentration de l’acide acétylsalicylique et la protection de l’ovalbumine. En effet, plus la concentration de l’acide acétylsalicylique augmente et plus l’inhibition de la dégradation de l’ovalbumine augmente, conduisant à une inhibition de la dénaturation de l’ovalbumine de 10.83% et de 15.63%, respectivement, en présence des concentrations de 50 (Figure 18A) et 100mg/mL (Figure 18B) de l’acide acétylsalicylique.



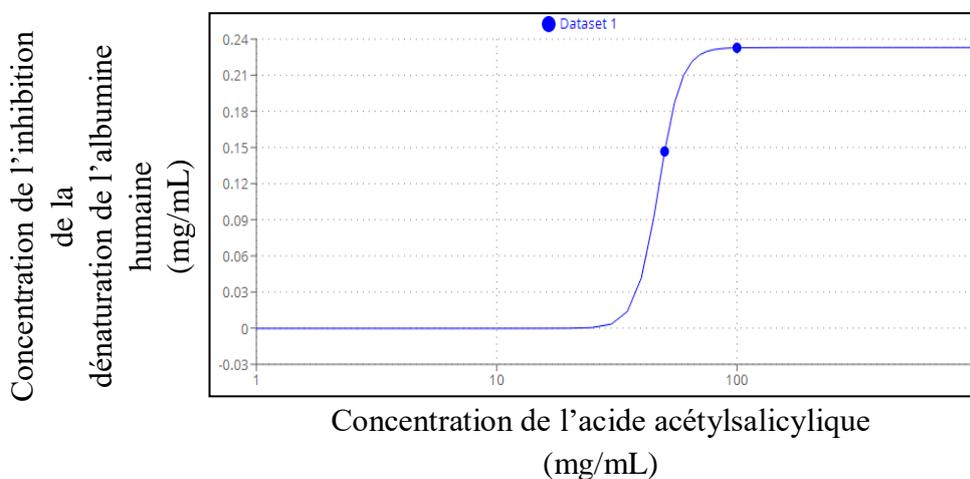
(A)



(B)

Figure 18 : Pourcentage de la dénaturation de l'ovalbumine par le traitement thermique en présence des concentrations de 50 (A) et 100 mg/mL (B) de l'acide acétylsalicylique.

L'acide acétylsalicylique utilisé comme un anti-inflammatoire de référence dans cette étude a montré une activité anti-inflammatoire avec un IC_{50} de 47.1919 et un IC_{50} de 45.5914 mg/mL, respectivement, pour l'albumine humaine (Figure 18A) et l'ovalbumine (Figure 18B), tandis que la solution des gousses de *C.siliqua* a montré une activité anti-inflammatoire avec un IC_{50} de 50.2578 et un IC_{50} de 47.4939 mg/mL, respectivement, pour l'albumine humaine (Figure 19A) et l'ovalbumine (Figure 19B). L' IC_{50} de la solution des gousses de *C.siliqua* est supérieur à ce qui a été obtenu pour l'acide acétylsalicylique, un anti-inflammatoire standard, ce qui signifie que l'acide acétylsalicylique possède une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de la solution des gousses de *C.siliqua*.



(A)

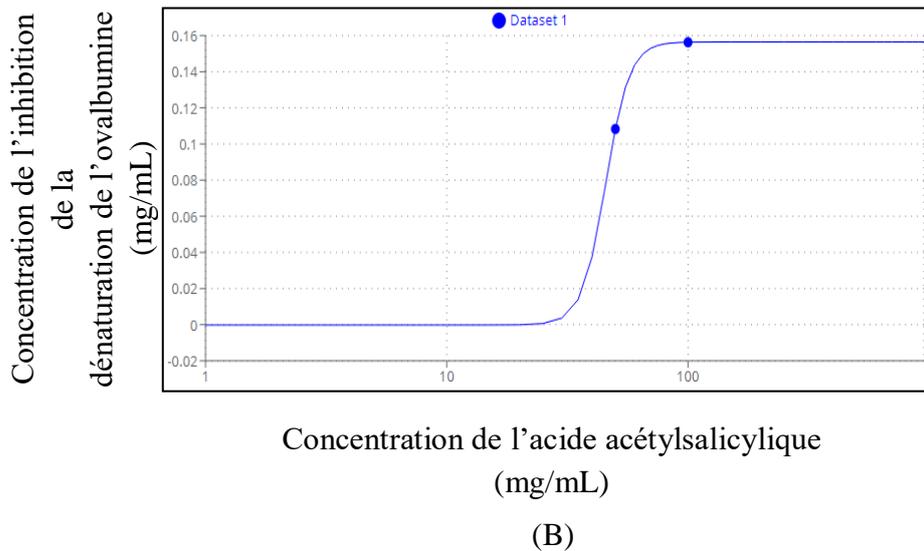


Figure 19 : Inhibition de la dénaturation de l'albumine humaine (A) et de l'ovalbumine (B) en présence de l'acide acétylsalicylique.

La capacité anti-inflammatoire des gousses de *C.siliqua* peut être liée à la présence de principes biologiquement actifs, des flavonoïdes, des tanins, des composés phénoliques et des phytostérols (Ghazi *et al.*, 2022). Il a été suggéré que ces constituants sont responsables de la production des effets analgésiques et anti-inflammatoires (Yeo *et al.*, 2011; Dharmadeva *et al.*, 2018). La présence de ces composés comme les tanins et les flavonoïdes contribuent à aux effets anti-inflammatoire chez les gousses de *C.siliqua*. Ces composés ont le pouvoir d'inhiber la production de médiateurs pro-inflammatoires (Lachkar *et al.*, 2016) Ce qui peut être expliqué la présence d'activité anti-inflammatoire dans notre échantillon.

6. Recherche et caractérisation de l'activité enzymatique amylasique, lipasique et gélatinasiq ue chez les gousses de *Ceratonia siliqua*

La recherche et la caractérisation des activités lipasique, amylasique et gélatinasiq ue des gousses de *C.siliqua* a été effectuée par l'étude de l'influence de la température et des pHs sur l'activité et la stabilité de ces 3 enzymes.

La recherche d'activité amylasique a été effectuée par suivi de la capacité à dégrader l'amidon par les amylases de la solution des gousses de *C.siliqua*. Cette dégradation de l'amidon est suivie à une longueur d'onde de 620nm.

Afin de déterminer la quantité de l'amidon dégradée par l'activité amylasique de la solution des gousses de *C.siliqua*, courbe étalon de l'amidon $DO = f([Amidon])$ (Figure 20) a été préparée.

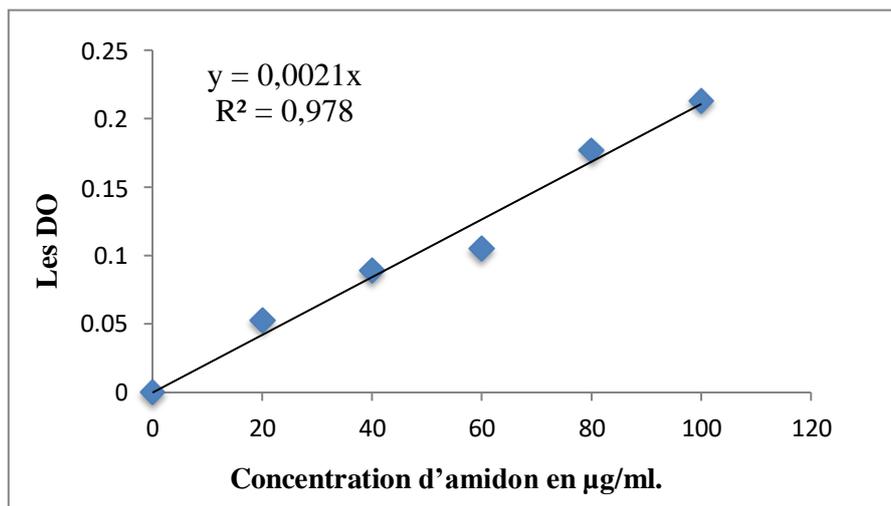


Figure 20 : Courbe d'étalon de l'amidon.

Les résultats obtenus de ce test de recherche d'activité amylasique à un pH 7 et à la température d'incubation de 30°C, montrent la présence d'une activité amylasique dans la solution des gousses de *C.Siliqua* (Figure 21), qui se traduit par une dégradation et une diminution de la quantité de l'amidon présent dans le milieu réactionnel.

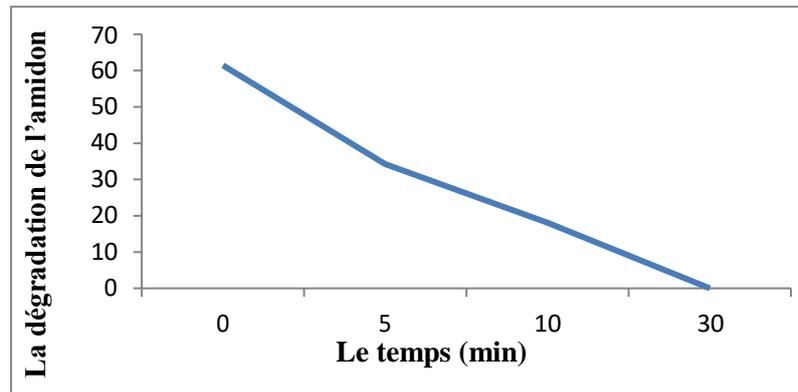


Figure 21 : Courbe de la cinétique de la dégradation de l'amidon, par la solution des gousses de *C.Siliqua*, en fonction du temps.

Cette capacité à dégrader l'amidon (activité amylasique) par la solution des gousses de *C.siliqua* a été évaluée à différents temps à (0min, 5min, 10min et 30min) (Figure 21), les résultats obtenus montrent que cette activité amylasique augmente en fonction du temps, on remarque une très bonne dégradation à 10min d'incubation pour arriver à son maximum au bout de 30min d'incubation. La présence d'activité amylasique au niveau des gousses a été déjà montrée, comme par exemple, celle au niveau des gousses de *Canavalia gladiata* (Vadivel et Janardhanan, 2004). Les amylases jouent un rôle très important au niveau des plantes et permettent par exemple, la dégradation de l'amidon stocké lors de la germination des graines en libérant des sucres pour la bonne croissance des plantes (Xie *et al.*, 2007 in Posoongnoen et Thummvongsa, 2020).

La recherche de l'activité lipasique dans la solution des gousses de *C.siliqua* a été effectuée par la méthode de titration acido-basique en utilisant le NaOH qui agit sur les acides gras libérés par l'action des lipases ce qui conduit à un virage de la couleur vers le rose.

Les résultats obtenus de ce test (Figure 22) montrent la présence d'une activité lipasique dans la solution des gousses de *C.siliqua*, qui se traduit par la libération des acides gras.

Cette capacité à libérer des acides gras (activité lipasique) par la solution des gousses de *C.siliqua* a été évaluée à différents temps (0min, 5min, 10min) (Figure 22), les résultats obtenus montrent que cette activité lipasique augmente en fonction du temps, avec une très bonne activité après 10min d'incubation.

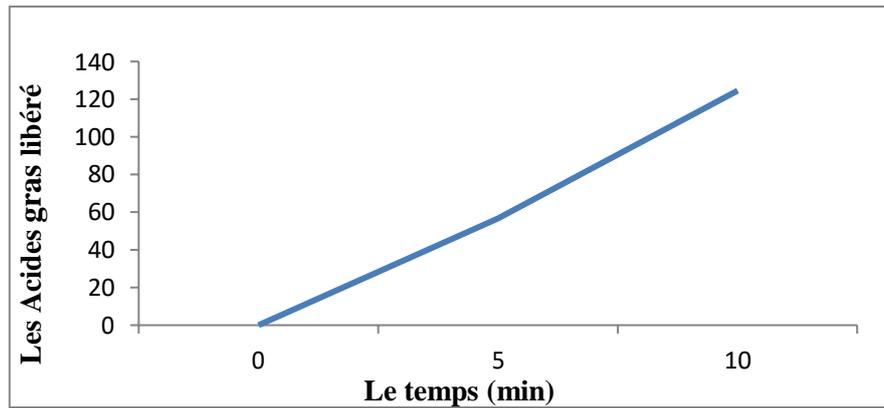


Figure 22 : Courbe de la cinétique de libération des acides gras, par la solution des gousses de *C.Siliqua*, en fonction du temps.

La présence d'activité lipasique au niveau des gousses a été déjà montrée, comme par exemple, celle au niveau des gousses d'*Oroxylum indicum* (Hengpratom *et al.*, 2018).

Les lipases ont un rôle important chez les plantes et permettent par exemple l'hydrolyse des triglycérides en acides gras dont le rôle est de fournir l'énergie nécessaire à la germination de la graine et au développement de la jeune plante (Adlercreutz *et al.*, 1997 in Fickers et Thonart, 2008).

Concernant les gélatinases, la détection de l'activité gélatinasiq ue a été effectuée par la recherche des capacités de la solution des gousses de *C.siliqua* à dégrader le milieu gélatiné, ce qui se traduit par la fusion de ce milieu solide.

Les résultats obtenus (Figure 23) montrent une absence de dégradation de la gélatine (absence de fusion), ce qui signifié une absence de l'activité gélatinasiq ue dans la solution des gousses de *C.siliqua*. Par ce unique test, on ne peut conclure sur la présence d'activité protéasiq ue au niveau des gousses de *C.siliqua*. D'autres substrats protéiques, tels que la caseine, l'azocaseine, ou l'azocoll doivent être utilisés pour conclure sur la présence ou l'absence d'activités protéasiq ues au niveau des gousses de *C.siliqua*.

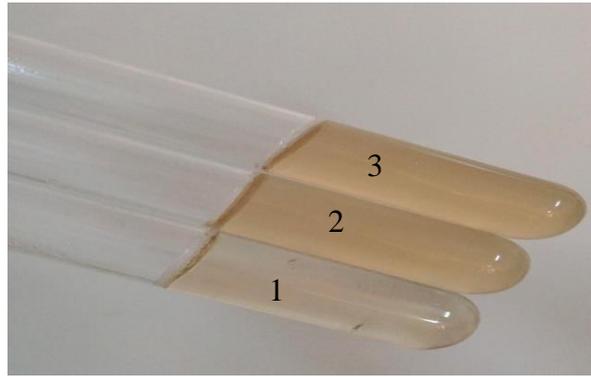


Figure 23 : Résultats de test d'activité gélatinasiq

1 : tube contrôle, **2 :** tube de réaction incubé pendant 30min, **3 :** tube de réaction incubé pendant 1h.

Une fois les 2 enzymes, amylases et lipases ont été détectées dans la solution des gousses de *C.siliqua*, leur activité et leur stabilité ont été caractérisées en fonction du pH et de la température.

6.1 Influence du pH et de la température sur l'activité des 3 enzymes testées, de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*

L'influence du pH et de la température sur l'activité amylasique de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été testé à pH 5.5, pH 7 et pH 8.5 (Figure 24A) et par incubation du mélange réactionnel à différentes températures 20°C, 30°C, 40°C et 50°C (Figure 24B).

Les résultats obtenus montrent que chez les gousses de *C.siliqua*, les pHs et les températures d'incubation, influencent sur leur activité amylasique (Figure 25). L'activité amylasique des gousses de *C.siliqua* possède un pH optimal de 5.5 (pH acide), et des activités plus faibles, respectivement, à pH 7 (pH neutre) et à pH 8.5 (pH basique) (Figure 25A).

Des amylases avec des activités optimales à pH acide a été déjà montré, les études de Keregero *et al.*, (1989) ont montré que l'activité amylasique chez les gousses de soja ont un pH optimal d'activité est égale à 4.5. De même que, les études de Thivend *et al.*, (1965) ont montré que la dégradation de l'amidon, chez les gousses de manioc, arrivait à son maximum à pH 4.6.

Aussi, les études de Singh *et al.*, (2017) ont montré aussi que le pH optimal pour l'hydrolyse de l'amidon chez *Vicia faba* qui appartient de la même famille de *Ceratonia siliqua* (*Fabaceae*), est un pH acide (pH 6).

Concernant la température d'incubation, les amylases des gousses de *C.siliqua*, atteignent leur activité optimale à 40°C, contrairement à la température 30°C où leur activité est la plus faible, suivi respectivement des températures 50°C et 20°C (Figure 25B).

Des amylases avec une température optimale élevée a été déjà montré, Les études de Keregero *et al.*, (1989) ont montré que les gousses de soja atteignent leur activité maximale à 50°. Aussi, les travaux de Mohamed *et al.*, (2014) ont montré aussi que la température optimale des amylases de la racine de Miswak *Salvadora persica* est de 40°C.

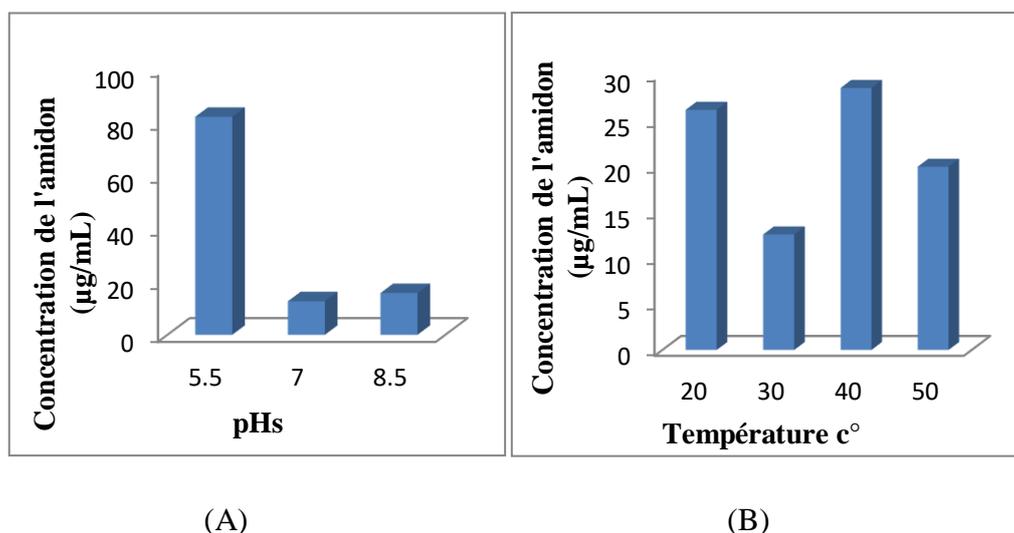


Figure 25 : Influence du pH (A) et de la température (B) sur l'activité amylasique des gousses de *C.siliqua*.

L'influence du pH et de la température sur l'activité lipasique de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été testé à pH 5.5, pH 7 et pH 8.5 (Figure 26A) et par incubation du mélange réactionnel à différentes températures 20°C, 30°C, 40°C et 50°C (Figure 26B).

Les résultats obtenus montrent que chez les gousses de *C.siliqua*, les pHs et les températures d'incubation, influencent sur leur activité lipasique (Figure 26).

L'activité lipasique des gousses de *C.siliqua* possède deux pHs optimaux de 7 (pH neutre) et de 8.5 (pH basique), et une activité plus faible à un pH de 5.5 (pH acide) (Figure 26A). Concernant la température d'incubation, les lipases des gousses de *C.siliqua*, atteignent leur activité optimale à 30°C et des activités plus faibles mais similaires aux températures d'incubation de 20°C, 40°C et 50°C (Figure 26B).

Des lipases avec des activités optimales à pH neutre a été déjà montré, les études de El bashir *et al.*, 2018 ont montré que l'activité lipasique chez les gousses de *Acacia nilotica* L. qui appartient de la même famille de *Ceratonia siliqua* (*Fabaceae*), possède un pH optimal à pH 7.4. De même que les études de Ado *et al.*, (2013) ont montré aussi que l'activité lipasique atteignent son activité optimale à pH 6,89 chez les *Gynura procumbens*.

Concernant le pH optimal à 8.5, les études de McDougall *et al.*, (2009) ont montré que les gousses de baies ont une activité lipasique qui atteint son optimale à pH 8.2. De même les études de Belguith *et al.*, (2013) ont montré que les gousses de *Cocos nucifera linn* possèdent une activité lipasique avec un optimum d'activité aux pH 7.5 et 8.5.

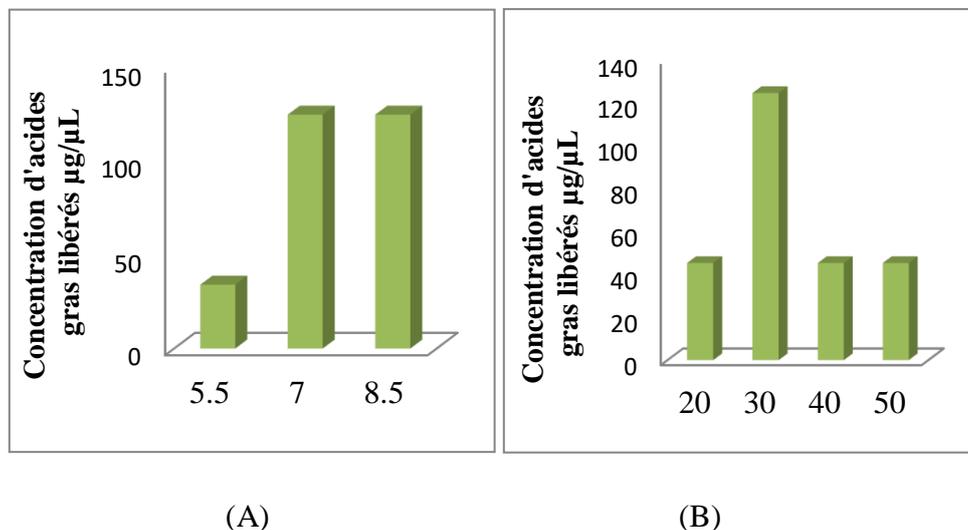


Figure 26 : Influence du pH (A) et de la température (B) sur l'activité lipasique chez les gousses de *C.siliqua*.

L'influence du pH et de la température sur l'activité gélatinase de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua* a été testé à pH 5.5, pH 7 et pH 8.5 et par incubation du mélange réactionnel à différentes températures 20°C, 30°C, 40°C et 50°C.

Les résultats obtenus ont montré qu'il n'y a pas de fusion de gélatine aux différentes conditions testées, (absence de fusion), ce qui signifie qu'il y a une absence de dégradation de la gélatine et donc une absence d'activité gélatinasique dans la solution des gousses de *C.siliqua*.

Comme on vient de le voir, l'activité enzymatique peut être influencée par la température et le pH. Les enzymes fonctionnent mieux dans des gammes de températures et de pH spécifiques (Zhang *et al.*, 2014). La température à laquelle la dénaturation d'enzymes devient importante varie d'une enzyme à l'autre et chaque enzyme possède un pH optimal caractéristique auquel la vitesse de la réaction catalysée est maximale (Robinson, 2015). L'effet du pH et de la température sur l'activité enzymatique résulte des modifications structurales pouvant amener l'enzyme dans un état conformationnel optimal ou au contraire, peut entraîner la perte de l'aptitude à la fixation du substrat et l'inhibition de la réaction (Drapron, 1985).

Afin d'étudier la thermo-stabilité et la stabilité au pH des amylases et des lipases des gousses de *Ceratonia siliqua*, des traitements, de 1h, de la solution des gousses de *C. siliqua* ont été effectués, respectivement, à une température de 90°C et en présence du NaOH et du HCl à 1M (Figure 27).

Pour le traitement thermique à 90°C, les résultats obtenus montrent que l'activité résiduelle des amylases des gousses *C. siliqua* après leur traitement de 1h, ont retenu 94.87% de leurs activités initiales.

Les résultats de l'étude de Mar *et al.*, (2003), ont montré que les amylases des gousses de *Vigna angulari* sont conservé 50% de leurs activités initiales après traitement de 30min à 80°C. Aussi, les études de Jakupović *et al.*, (2021), ont montré que les amylases de *Medicago lupulina* qui appartiennent à la même famille de *Ceratonia siliqua* (*Fabaceae*), ont conservé 10% de leurs activités initiales après un traitement de 1h à 80°C. Les amylases de notre échantillon semblent être plus stables (94.87% d'activité retenue après traitement) que les amylases des gousses de *Vigna angularis* et de *Medicago lupulina*.

Les études de *Posoongnoen et Thummavongsa, (2020)* sur les amylases des graines du haricot sabre (*Canavalia gladiata*), qui appartiennent à la même famille de *Ceratonia siliqua* (*Fabaceae*), ont conservé 80,31% de leurs activités résiduelles après traitement de 1h à 90°C. Une stabilité proche des résultats obtenus dans notre étude.

Pour le traitement acide, les résultats obtenus montrent que l'activité résiduelle des amylases des gousses de *C.siliqua*, après leur traitement de 1h avec l'HCl à 1M, ont retenu 61.53% de leurs activités initiales (Figure 27).

Les résultats de l'étude d'Elarbi et al (2009), ont montré que les amylases des graines *Carthamus tinctoriu* sont conservé plus de 60% de leurs activités d'origines après 1h de traitement à un pH acide. Ces résultats sur la stabilité des amylases suite à un traitement acide semblent être très proches des résultats qu'on a trouvé sur les amylases des gousses de *C.siliqua*. Par contre, les résultats de l'étude de Tungmunthum *et al.*, (2021), ont montré que les amylases des *C.cajan* ont conservé que 24.7% de leurs activités d'origines après 1h de traitement en présence de HCl à 1M. Les amylases de notre échantillon semblent être plus stables par rapport aux amylases des *C.cajan*.

Pour le traitement alcalin, les résultats obtenus montrent que l'activité résiduelle des amylases des gousses de *C. siliqua*, après leur traitement de 1h avec de NaOH à 1M, ont retenu 48.71% de leurs activités initiales.

Les résultats de l'étude de Tormo *et al.*, (2004), ont montré que les amylases des gousses de haricots blancs (*Phaseolus vulgaris*), ont conservé 94% de leurs activités initiales après un traitement de 2h en présence de NaOH à 1M. Les amylases de notre échantillon semblent être moins stables (48.71% d'activité retenue après traitement) que les amylases des gousses de *Phaseolus vulgaris*.

Les résultats de l'étude de Mohamed *et al.*, (2009) ont montré que les amylases des gousses *Triticum aestivum* ont conservé 20% de leurs activités initiales après seulement 15min de traitement à un pH alcalin. Les amylases de notre échantillon semblent être plus stables (48.71% d'activité retenue après traitement) que les amylases des gousses de *Triticum aestivum*.

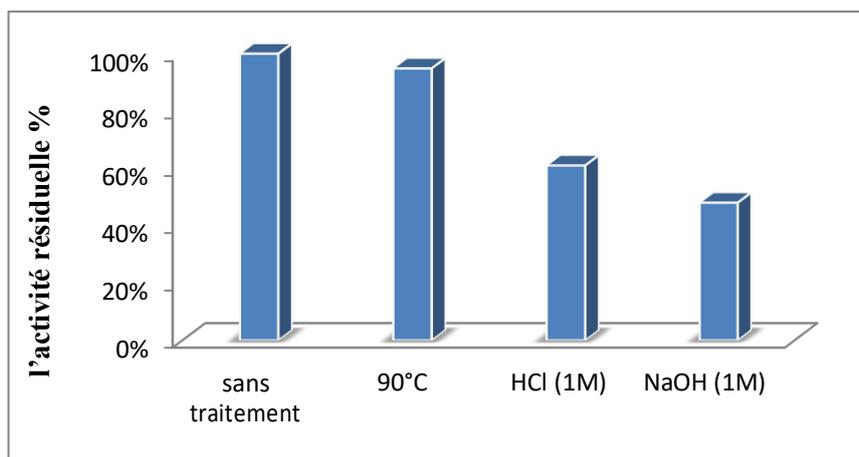


Figure 27 : Influence du traitement thermique et pH sur la stabilité des amylases présentes dans les gousses de *C. siliqua*.

Concernant les lipases des gousses de *C.siliqua*, les résultats du traitement thermique à 90°C, montrent que l'activité résiduelle de ces enzymes, après leur traitement de 1h, ont retenu 36.35% de leurs activités initiales (Figure 28).

Les résultats de l'étude de Kawiński *et al.*, (2021), ont montré que les lipases des gousses de *Simmondsia chinensis* (jojoba), ont conservé 30% de leurs activités initiales après traitement thermique de 1h à 90°C. Une stabilité proche des résultats obtenus dans notre étude. Aussi selon les études de Vahidi *et al.*, (2020), ont montré que les lipases de *Fenugrec*, ont conservé 40% de leurs activités initiales après traitement thermique de 1h à seulement 65°C.

Pour le traitement acide, les résultats obtenus montrent que l'activité résiduelle des lipases des gousses de *C. siliqua*, après leur traitement de 1h avec l'HCl à 1M, ont retenu 54.53% de leurs activités initiales (Figure 28).

Les résultats de l'étude de Lee *et al.*, (2015), ont montré que les lipases des gousses de *Vigna unguiculata*, ont conservé 20% de leurs activités initiales après traitement de 1h en présence de 1% d'HCl. Les lipases de notre échantillon semblent être plus stables (54.53% d'activité retenue après traitement) que les lipases des gousses de *Vigna unguiculata*.

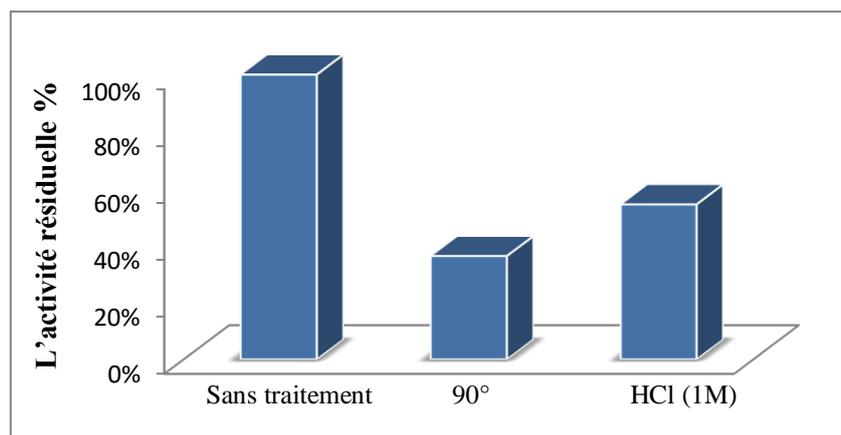


Figure 28 : Influence du traitement thermique et pH sur la stabilité des lipases présent dans les gousses de *C. siliqua*.

La stabilité enzymatique peut être influencée par plusieurs facteurs, en effet, des études ont montré que les températures et les pHs peuvent influencer sur cette stabilité (Shahid *et al.*, 2019). Les protéines peuvent avoir la capacité à maintenir leurs structures Native et leurs fonctions normales dans une certaine gamme de conditions et sur une certaine période de temps (Backmann *et al.*, 1998). A des températures élevées, les interactions non covalentes des protéines se perturbent comme les interactions hydrophobes et de Van der Waals et donc les protéines se déploient (Li *et al.*, 1998 in Vieille *et al.*, 2001). De même, des changements de pHs peuvent avoir un effet sur la structure et la fonction des protéines, par influence sur les interactions électrostatiques et donc des changements conformationnels seront réalisés, et par conséquent les protéines se déplient et leurs structures deviennent inactives (Kumar *et al.*, 2004; Littlechild, 2017).

Les amylases et les lipases sont des extrêmozymes peuvent fonctionner dans des conditions fortement alcalines (alcalozymes), conditions extrêmes d'acidité (acidozymes), (Lowe *et al.*, 1993), et ont une stabilité accrue à des températures élevées (thermozymes) (Zeikus *et al.*, 1990). Ces enzymes sont capables de résister à des conditions difficiles c'est pour cela sont largement utilisés comme biocatalyseurs dans différents secteurs industriels (Satyanarayana *et al.*, 2013; Węgrzyn *et al.*, 2014).

Les résultats de la caractérisation de l'activité enzymatique et de la stabilité des amylases, des lipases et des gousses de *Ceratonia siliqua* (tableau 7) ont montré que le pH optimal des amylases des gousses de *Ceratonia siliqua* est 5.5 et leur température optimale est de 40°C. les lipases montrent 2 pH optimaux de 7 et 8.5 et une température optimale de 30°C.

Les résultats de la caractérisation de l'activité résiduelle suite à un traitement thermique de 1h à 90°C, des amylases et les lipases des gousses de *C. siliqua*, ont montré que ces enzymes ont retenu, respectivement, 94.87% et 36.35% de leurs activités initiales.

Les résultats de la caractérisation de l'activité résiduelle suite à un traitement acide de 1h avec de l'HCl à 1M, les amylases et les lipases des gousses de *C.siliqua*, ont montré que ces enzymes ont retenu, respectivement, 61.53% et les lipases ont retenu 54.53% de leurs activités initiales.

Les résultats de la caractérisation de l'activité résiduelle suite à un traitement alcalin de 1h avec du NaOH à 1M, des amylases des gousses de *C. siliqua* ont retenu 48.71% de leurs activités initiales. Le tableau ci-dessous récapitule les résultats obtenus dans cette étude sur les amylases, les lipases et les gélatinase des gousses de *Ceratonia siliqua*.

Tableau 8 : Tableau récapitulatif de la caractérisation de l'activité enzymatique et de la stabilité des amylases, des lipases et des gélatinases des gousses de *Ceratonia siliqua*.

Enzymes	Activité enzymatique		Stabilité enzymatique (activité résiduelle)		
	pH optimal	Température optimale	Stabilité à 90°C	Stabilité à pH acide (HCl à 1M)	Stabilité à pH alcalin (NaOH à 1M)
Amylases	5.5	40°	Forte	Forte	Faible
Lipases	7et 8.5	30°	Faible	Forte	
Gélatinases	Absence d'activité		Stabilité enzymatique ne peut être étudiée du fait qu'aucune activité gélatinasiq ue n'a été détectée.		

Les résultats obtenus dans cette étude, montrent que les gousses de *C.siliqua* contiennent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques.

Les plantes disposent un large éventail de mécanismes de défense pour contrer les stress physiques, chimiques et biologiques tels que la sécheresse, le froid, les métaux lourds, les polluants et les attaques d'agents pathogènes (Stintzi *et al.*, 1993; Sels *et al.*, 2008).

L'espèce *Ceratonia siliqua* est une plante médicinale d'une importance considérable pour plusieurs industries agro-alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Durazzo *et al.*, 2014 in Ben Ayache *et al.*, 2020). Diverses études ont montré que *Ceratonia siliqua* est dotée de plusieurs propriétés biologiques, notamment antioxydantes, antitumorales et antibactériennes (Meziani *et al.*, 2015) car elle est excellente source de composés bioactifs tels que les fibres alimentaires, les polyphénols et les cyclitols (Goulas *et al.*, 2016).

Selon nos résultats obtenus, la solution des gousses de *C.siliqua* présentent des propriétés biologiques antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques.

La présence de ces propriétés au niveau des gousses de *C.siliqua* peut être due à la libération de métabolites secondaires comme le sphytoalexines, les tanins et les composés polyphénoliques qui interviennent dans des activités antioxydantes (Saboki et Singh, 2011; Sinha *et al.*, 2014) et contribuent à l'équilibre de la production accrue d'EAO, car leur déséquilibre peut conduire à des dommages importants des molécules de l'ADN, aux protéines, et aux lipides (Ames *et al.*, 1993). Selon nos résultats obtenus, la solution des gousses de *C.siliqua* présentent une activité antioxydante de dégradation de l'H₂O₂ et de piégeage du DPPH.

Aussi les composés phénoliques. Possèdent une activité anti-inflammatoires ciblant la réponse inflammatoire peuvent constituer des stratégies thérapeutiques prometteuses (Merecz *et al.*, 2020). Nos résultats montrent que la solution des gousses de *C.siliqua* possède une activité anti-inflammatoire due à ses capacités à protéger l'albumine humaine et l'ovalbumine contre la dénaturation par le traitement thermique.

En plus de ces 2 propriétés biologiques, nos résultats ont montré que la solution des gousses de *C.siliqua* est aussi dotée d'activités enzymatiques (amylasique et lipasique).

Les enzymes participent, aussi, dans plusieurs régulations métaboliques (Foretz *et al.*, 2006), comme les amylases et les lipases qui sont l'une des familles d'enzymes les plus répandues (Simon et Cravatt, 2010) et qui existent de manière omniprésente dans la nature et peuvent être obtenues à partir de microorganismes, d'animaux et de plantes (Khannous *et al.*, 2014). Les amylases et les lipases sont utilisées dans plusieurs domaines d'applications (Cabrera *et al.*, 2018), pharmaceutique (Galanie *et al.*, 2016), de l'environnement (Tournier *et al.*, 2020) et de l'agroalimentaire (Khan *et al.*, 2020).

***C**onclusion et perspectives*

Dans ce travail, des propriétés biologiques antioxydantes (catalasiques et anti-radicalaires), anti-inflammatoires (inhibition de la dénaturation de l'albumine humaine et de l'ovalbumine) et enzymatique (activités et stabilités des amylases, des lipases et des gélatinases) ont été recherchées et caractérisées au niveau des gousses de *C.siliqua*.

Les résultats obtenus montrent la présence d'une activité antioxydante dans la solution des gousses de *C.siliqua* à 200mg/mL, avec une activité de dégradation de 6.58mM d'H₂O₂ entre 0 et 1 min 30 sec ce qui correspond à 65.79% d'H₂O₂ dégradés, et une activité anti-radicalaire (dégradation du DPPH) avec un IC₅₀ de 35.0576mg/mL.

Aussi, les résultats obtenus montrent que la solution des gousses de *C.siliqua* est dotée de propriétés anti-inflammatoires qui permettent de protéger l'albumine humaine et de l'ovalbumine d'une valeur de l'IC₅₀, respectivement, de 50.2578g/mL et de 47.4939mg/mL.

Concernant l'activité enzymatique, les résultats de l'étude de l'influence des températures et des pHs sur l'activité des 3 enzymes ont montré que la température optimale de l'activité amylasique est de 40°C et le pH optimal est de 5.5 et la température optimale de l'activité lipasique est de 30°C et le pH optimal de est 7 et 8.5. Par contre, aucune activité gélatinasique n'a été détectée dans notre échantillon.

Ensuite, la stabilité de ces 2 enzymes suite à un traitement thermique (90°C) et à des pHs extrêmes (1M HCl et 1M NaOH) a été évaluée. Les résultats du traitement thermique montrent qu'après 1h à 90°C, les amylases ont retenu 94.87% de leurs activités initiales et les lipases ont retenu 36.35% de leurs activités initiales.

Les résultats des traitements pHs ont montré qu'après 1h de traitement, les amylases renaient 61.53% et 48.71%, respectivement, avec 1M d'HCl et 1M de NaOH et les lipases ont retenu 54.53% de leurs activités initiales après un traitement HCl à 1M.

Les résultats de traitement obtenus révèlent que les amylases et les lipases possèdent une certaine stabilité face aux conditions extrêmes de température et de pH.

D'après les résultats de notre étude, la solution des gousses de *C.siliqua* possède des propriétés biologiques importantes, et c'est nécessaire d'identifier plus de propriétés que l'on retrouve dans notre échantillon comme par exemple antimicrobienne, anticancéreuse, antibactérienne et antifongique.

Ces tests peuvent également être effectués avec d'autres extraits comme l'extrait éthanologique.

Ensuite, les molécules responsables de ces activités biologiques peuvent être identifiées pour être purifiées par la suite.

Références bibliographiques

- Abdelghani, Z., Hourani, N., Zaidan, Z., Dbaiibo, G., Mrad, M., & Hage-Sleiman, R. (2021).** Therapeutic applications and biological activities of bacterial bioactive extracts. *Archives of Microbiology*, 203(8), 4755-4776.
- Abedinzadeh, Z., Gardes-Albert, M., & Ferradini, C. (1989).** Kinetic study of the oxidation mechanism of glutathione by hydrogen peroxide in neutral aqueous medium. *Canadian journal of chemistry*, 67(7), 1247-1255
- Abidar, S., Boiangiu, RS, Dumitru, G., Todirascu-Ciornea, E., Amakran, A., Cioanca, O., Hritcu, L., & Nhiri, M. (2020).** The aqueous leaf extract of *Ceratonia siliqua* protects against 6-hydroxydopamine in zebrafish: understanding the underlying mechanism. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(4), 304.
- Abu-Elheiga, L., Oh, W., Kordari, P., & Wakil, S. J. (2003).** Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(18), 10207-10212.
- Abulyazid, I., Abd Elhalim, S. A., Sharada, H. M., Aboulthana, W. M., & Abd Elhalim, S. T. (2017).** Hepatoprotective effect of carob pods extract (*Ceratonia siliqua* L.) against cyclophosphamide induced alterations in rats. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, 8(2), 149-162.
- Adlercreutz, P., Gitlesen, T., Ncube, I., & Read, J. S. (1997).** [12] Vernonia lipase: A plant lipase with strong fatty acid selectivity. In *Methods in Enzymology* (Vol. 284, pp. 220-232). Academic Press.
- Ado, M. A., Abas, F., Mohammed, A. S., & Ghazali, H. M. (2013).** Anti-and pro-lipase activity of selected medicinal, herbal and aquatic plants, and structure elucidation of an anti-lipase compound. *Molecules*, 18(12), 14651-14669.
- Afiukwa, C. A., Ibiam, U. A., Edeogu, C. O., Nweke, F. N., & Chukwu, U. E. (2009).** Determination of amylase activity of crude extract from partially germinated mango seeds (*Mangifera oraphila*) T. *African Journal of Biotechnology*, 8(14).
- Aggarwal, B. B., Van Kuiken, M. E., Iyer, L. H., Harikumar, K. B., & Sung, B. (2009).** Molecular targets of nutraceuticals derived from dietary spices: potential role in suppression of inflammation and tumorigenesis. *Experimental Biology and Medicine*, 234(8), 825-849.
- Agrawal, A., Mohan, M., Kasture, S., Foddiss, C., Frau, M. A., Loi, M. C., & Maxia, A. (2011).** Antidepressant activity of *Ceratonia siliqua* L. fruit extract, a source of polyphenols. *Natural product research*, 25(4), 450-456.
- Ahmad, T. B., Liu, L., Kotiw, M., & Benkendorff, K. (2018).** Review of anti-inflammatory, immune-modulatory and wound healing properties of molluscs. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 156-178.

Ahmed, A. F., & Cevher, S. C. (2019). The preventive effect of thymoquinone and *Ceratonia siliqua* L. in experimental asthmatic pregnant rats: histologically and immunohistochemically evaluation. *Hittite Journal of Science and Engineering*, 6(3), 215-222.

Ahmed, M. M. (2010). Biochemical studies on nephroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) growing in Egypt. *Nature and Science*, 8(3), 41-47.

Alali, F. Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., ... & Oberlies, N. H. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG project. *Natural Product Research*, 21(12), 1121-1131.

Almonacid, D. E., & Babbitt, P. C. (2011). Toward mechanistic classification of enzyme functions. *Current opinion in chemical biology*, 15(3), 435-442.

Al-Olayan, EM, El-Khadragy, MF, Alajmi, RA, Othman, MS, Bauomy, AA, Ibrahim, SR et Abdel Moneim, AE (2016). *Ceratonia siliqua* pod extract improves liver fibrosis and oxidative stress induced by *Schistosoma mansoni*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 434.

Alves, R. R. (2010). Topical anti-inflammatory activity of body fat from the lizard *Tupinambis merianae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(3), 514-520.

Alves, R. R. N., Neta, R. O. D. S., Trovão, D. M. D. B., Barbosa, J. E. D. L., Barros, A. T., & Dias, T. L. P. (2012). Traditional uses of medicinal animals in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8(1), 1-7.

Alves, R. R., Neto, N. A. L., Brooks, S. E., & Albuquerque, U. P. (2009). Commercialization of animal-derived remedies as complementary medicine in the semi-arid region of Northeastern Brazil. *Journal of ethnopharmacology*, 124(3), 600-608.

Alves, R., & Alves, H. N. (2011). The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 7(1), 1-43.

Alves, R., Santana, G., Almeida, W., Neto, N. L., & Vieira, W. (2009). Reptiles used for medicinal and magic religious purposes in Brazil. *Applied Herpetology*, 6(3), 257-274.

Alves, Rômulo R N, and Ierecê M L Rosa. "Biodiversity, traditional medicine and public health: where do they meet?." *Journal of ethnobiology and ethnomedicine* vol. 3 14. 21 Mar. 2007, doi:10.1186/1746-4269-3-14

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.

Arct, J., & Pytkowska, K. (2008). Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. *Clinics in dermatology*, 26(4), 347-357.

Arditti, J., & Pridgeon, A. M. (Eds.). (2013). *Orchid biology: Reviews and perspectives, VII.* Springer Science & Business Media.

Arulsevan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.

Asemani, Y., Azadmehr, A., Hajiaghaee, R., & Amirghofran, Z. (2018). Anticancer potential of *Ferula hezarlalehzarica* Y. Ajani fraction in Raji lymphoma cell line: induction of apoptosis, cell cycle arrest, and changes in mitochondrial membrane potential. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26(2), 143-154.

Avallone, R., Cosenza, F., Farina, F., Baraldi, C., & Baraldi, M. (2002). Extraction and purification from *Ceratonia siliqua* of compounds acting on central and peripheral benzodiazepine receptors. *Fitoterapia*, 73(5), 390-396.

Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., & Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10(2), 166-172.

Babizhayev, M. A. (2006). Biological activities of the natural imidazole-containing peptidomimetics n-acetylcarnosine, carcinine and L-carnosine in ophthalmic and skin care products. *Life sciences*, 78(20), 2343-2357.

Backmann, J., Schäfer, G., Wyns, L., & Bönisch, H. (1998). Thermodynamics and kinetics of unfolding of the thermostable trimeric adenylate kinase from the archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. *Journal of molecular biology*, 284(3), 817-833.

Barupal, T., Meena, M. et Sharma, K. (2019). Inhibitory effects of *Lawsonia inermis* leaf extract on *Curvularia lunata* and characterization of new inhibitory compounds by GC-MS analysis. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, 23, e00335

Battle, I. (1997). *Carob tree: Ceratonia siliqua L.-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.* 17 (Vol. 17). Bioversity International.

- Battle, I., & Tous, J. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua*, 92.
- Beckman, K. B., & Ames, B. N. (1997).** Oxidative decay of DNA. *Journal of Biological Chemistry*, 272(32), 19633-19636.
- Belguith, H., Fattouch, S., Jridi, T., & Ben, H. J. (2013).** Immunopurification and characterization of a rape (*Brassica napus* L.) seedling lipase. *African Journal of Biotechnology*, 12(21).
- Ben Ayache, S., Behija Saafi, E., Emhemmed, F., Flamini, G., Achour, L., & Muller, CD (2020).** Biological activities of aqueous extracts of carob (*Ceratonia siliqua* L.) by evaluation of antioxidant, analgesic and proapoptotic properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25 (14), 3120.
- Benmansour, N., Cherif, H., El Hanballi, F., & Akssira, M. (2020).** Study of the biological activities of the seeds of the plant *Ceratonia siliqua* L. recovered in the Bejaia region. *Medical Technologies Journal*, 4(1), 520-521.
- Bensakhria, A. (2018).** Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
- Bergeron, R., Previs, S. F., Cline, G. W., Perret, P., Russell III, R. R., Young, L. H., & Shulman, G. I. (2001).** Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -d-ribofuranoside infusion on in vivo glucose and lipid metabolism in lean and obese Zucker rats. *Diabetes*, 50(5), 1076-1082.
- Bian, M., Ma, Q. Q., Wu, Y., Du, H. H., & Guo-Hua, G. (2021).** Small molecule compounds with good anti-inflammatory activity reported in the literature from 01/2009 to 05/2021: a review. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 36(1), 2139-2159.
- Biju, P. G., Devi, V. G., Lija, Y., & Abraham, A. (2007).** Protection against selenite cataract in rat lens by drevogenin D, a triterpenoid aglycone from *Dregea volubilis*. *Journal of medicinal food*, 10(2), 308-315.
- Bisswanger, H. (2017).** *Enzyme kinetics: principles and methods*. John Wiley & Sons.
- Bonderoff, Jennifer M, and Richard E Lloyd.** "Time-dependent increase in ribosome processivity." *Nucleic acids research* vol. 38,20 (2010): 7054-67. doi:10.1093/nar/gkq566
- Bonnichsen, R. K., Chance, B., & Theorell, H. (1947).** Catalase activity. *Acta chem. scand*, 1, 685-709.
- Bouaziz, A., Zidi, I., & Mnif, W.** La gomme de caroube: trésor industriel 2020
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), 14.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Burlando, B., & Cornara, L. (2013). Honey in dermatology and skin care: a review. *Journal of cosmetic dermatology*, 12(4), 306-313

Cabrera, M. Á., & Blamey, J. M. (2018). Biotechnological applications of archaeal enzymes from extreme environments. *Biological research*, 51.

Cabrera, M. Á., & Blamey, JM (2018). Applications biotechnologiques des enzymes archées des environnements extrêmes. *Recherche biologique*, 51 (1), 37

Calixto, J. B., Otuki, M. F., & Santos, A. R. (2003). Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor κ B (NF- κ B). *Planta medica*, 69(11), 973-983.

Carrière A, Galinier A, Fernandez Y, et al. Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Med Sci (Paris)* 2006

Carroll, D. (2011). Genome engineering with zinc-finger nucleases. *Genetics*, 188(4), 773-782.

Chandran, H., Meena, M., Barupal, T. et Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual source for the production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, 26, e00450

Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., ... & Quave, C. L. (2021). A systematic review of plants with antibacterial activities: a taxonomic and phylogenetic perspective. *Frontiers in pharmacology*, 2069.

Chin, Y. W., Balunas, M. J., Chai, H. B., & Kinghorn, A. D. (2006). Drug discovery from natural sources. *The AAPS journal*, 8(2), E239-E253.

Cho, Y. H., Song, J. Y., Kim, K. M., Kim, M. K., Lee, I. Y., Kim, S. B., ... & Kim, B. S. (2010). Production of nattokinase by batch and fed-batch culture of *Bacillus subtilis*. *New Biotechnology*, 27(4), 341-346.

Choi, J. M., Han, S. S., & Kim, H. S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology advances*, 33(7), 1443-1454.

Chou, K. C. (2005). Using amphiphilic pseudo amino acid composition to predict enzyme subfamily classes. *Bioinformatics*, 21(1), 10-19.

Cornish-Bowden, A. (2013). *Fundamentals of enzyme kinetics*. John Wiley & Sons.

Corsi, L., Avallone, R., Cosenza, F., Farina, F., Baraldi, C., & Baraldi, M. (2002). Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell

line. *Fitoterapia*, 73(7-8), 674-684.

Costa-Neto, E. M. (2005). Animal-based medicines: biological prospection and the sustainable use of zootherapeutic resources. *Anais da Academia Brasileira de ciências*, 77, 33-43

Custódio, L., Fernandes, E., Escapa, A. L., López-Avilés, S., Fajardo, A., Aligué, R., ... & Romano, A. (2009). Antioxidant activity and in vitro inhibition of tumor cell growth by leaf extracts from the carob tree (*Ceratonia siliqua*). *Pharmaceutical biology*, 47(8), 721-728.

Dakia, P. A., Blecker, C., Robert, C., Wathelet, B., & Paquot, M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food hydrocolloids*, 22(5), 807-818.

Danowski, R. (1991). Inflammation en rhumatologie. In *Annales de Kinésithérapie* (Vol. 18, pp. 233-240).

Dar RA, Shahnawaz M., Endophytes fongiques Qazi PH : Un aperçu. Éditions académiques LAP LAMBERT ; Beau Bassin, Maurice : 2017. pp. 40–42.

Darwish, W. S., Khadr, A. E. S., Kamel, M. A. E. N., Abd Eldaim, M. A., El Sayed, I. E. T., Abdel-Bary, H. M., ... & Ghareeb, D. A. (2021). Phytochemical Characterization and Evaluation of Biological Activities of Egyptian Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.) Aqueous Extract: In Vitro Study. *Plants*, 10(12), 2626.

Davies, J. (2006). Are antibiotics naturally antibiotics?. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33(7), 496-499.

Debnath, A., Chatterjee, U., Das, M., Vedasiromoni, J. R., & Gomes, A. (2007). Venom of Indian monocellate cobra and Russell's viper show anticancer activity in experimental models. *Journal of ethnopharmacology*, 111(3), 681-684.

Dharmadeva, S., Galgamuwa, L. S., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *Ayu*, 39(4), 239.

Dierick, B. J., van der Molen, T., Flokstra-de Blok, B. M., Muraro, A., Postma, M. J., Kocks, J. W., & van Boven, J. F. (2020). Burden and socioeconomics of asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergy. *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research*, 20(5), 437-453

Dinarello, C. A. (2010). Anti-inflammatory agents: present and future. *Cell*, 140(6), 935-950.

Dolashka, P., Dolashki, A., Beeumen, J. V., Floetenmeyer, M., Velkova, L., Stevanovic, S., & Voelter, W. (2016). Antimicrobial activity of molluscan hemocyanins from *Helix* and *Rapana* snails. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(3), 263-270.

Drapron, R. (1985). Enzyme activity as a function of water activity. In *Properties of water in*

foods (pp. 171-190). Springer, Dordrecht.

Dreger, M., & Wielgus, K. (2013). Application of essential oils as natural cosmetic preservatives. *Herba polonica*, 59(4).

Drider, D., & Rebuffat, S. (Eds.). (2011). *Prokaryotic antimicrobial peptides: from genes to applications*. Springer Science & Business Media.

Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., & Carcea, M. (2014). Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food chemistry*, 153, 109-113.

Durazzo, A., Turfani, V., Narducci, V., Azzini, E., Maiani, G., & Carcea, M. (2014). Nutritional characterisation and bioactive components of commercial carobs flours. *Food chemistry*, 153, 109-113.

Dutta, T. K., Jana, M., PAHARI, P. R., & Bhattacharya, T. (2006). The effect of temperature, pH, and salt on amylase in *Heliodiaptomus viduus* (Gurney)(Crustacea: Copepoda: Calanoida). *Turkish journal of Zoology*, 30(2), 187-195

Eaves-Pyles, T., Allen, C. A., Taormina, J., Swidsinski, A., Tutt, C. B., Jezek, G. E., ... & Torres, A. G. (2008). *Escherichia coli* isolated from a Crohn's disease patient adheres, invades, and induces inflammatory responses in polarized intestinal epithelial cells. *International Journal of Medical Microbiology*, 298(5-6), 397-409.

Einav, T., Mazutis, L., & Phillips, R. (2016). Statistical Mechanics of Allosteric Enzymes. *The journal of physical chemistry. B*, 120(26), 6021–6037.

Eisenthal, R., & Danson, M. J. (Eds.). (2002). *Enzyme assays: a practical approach* (Vol. 257). Practical Approach.

El Hajaji, H., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., ... & Lachkar, M. (2010). Antioxidant properties and total phenolic content of three varieties of carob tree leaves from Morocco. *Records of Natural Products*, 4(4), 193.

El Hajaji, H., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., ... & Lachkar, M. (2011). Antioxidant activity, phytochemical screening, and total phenolic content of extracts from three genders of carob tree barks growing in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*, 4(3), 321-324.

El Sayah, M., Cechinel-Filho, V., Pinheiro, T. R., Yunes, R. A., & Calixto, J. B. (1999). In vitro effect of the extract and the 1, 7-dihydroxy-2, 3-dimethoxy xanthone from *Polygala cyparissias* on the contractions induced by inflammatory mediators and ovalbumin in

Normal and actively sensitised trachea from guinea pig. *Inflammation research*, 48(4), 218-223.

- Elarbi, MB, Khemiri, H., Jridi, T. et Hamida, JB (2009).** Purification et caractérisation de l' α -amylase de graines en germination de carthame (*Carthamus tinctorius* L.). *Comptes Rendus Biologies*, 332 (5), 426-432.
- Elbashir, S. M. I., Devkota, H. P., Wada, M., Kishimoto, N., Moriuchi, M., Shuto, T., ... & Watanabe, T. (2018).** Free radical scavenging, α -glucosidase inhibitory and lipase inhibitory activities of eighteen Sudanese medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-12.
- Elston, T., Wang, H., & Oster, G. (1998).** Energy transduction in ATP synthase. *Nature*, 391(6666), 510-513.
- Elzaawely, A. A., Xuan, T. D., & Tawata, S. (2007).** Essential oils, kava pyrones and phenolic compounds from leaves and rhizomes of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt. & RM Sm. and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 103(2), 486-494.
- Esmaelian, B., Benkendorff, K., Le Leu, R. K., & Abbott, C. A. (2018).** Simultaneous assessment of the efficacy and toxicity of marine mollusc-derived brominated indoles in an in vivo model for early stage colon cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 17(2), 248-262.
- Evans, A. J., Hood, R. L., Oakenfull, D. G., & Sidhu, G. S. (1992).** Relationship between structure and function of dietary fibre: a comparative study of the effects of three galactomannans on cholesterol metabolism in the rat. *British Journal of Nutrition*, 68(1), 217-229.
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001).** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*, 109(suppl 1), 69-75.
- Fain, O. (2009).** Prescribing and monitoring nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids anti-inflammatory drugs. *La Revue du praticien*, 59(4), 559-572.
- Farag, M. A., & El-Kersh, D. M. (2017).** Volatiles profiling in *Ceratonia siliqua* (Carob bean) from Egypt and in response to roasting as analyzed via solid-phase microextraction coupled to chemometrics. *Journal of advanced research*, 8(4), 379-385.
- Fatema, F., Khan, Z. H., Khan, N. D., & Mular, S. M. (2017).** Determination of amylase activity from germinated *Syzygium cumini* seed (jamun). *International Journal of Applied Research*, 3(1), 573-575.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Fernandes, P. (2010).** Enzymes in food processing: a condensed overview on strategies for better biocatalysts. *Enzyme research*, 2010.

- Ferreira, F. S., Brito, S. V., Saraiva, R. A., Araruna, M. K., Menezes, I. R., Costa, J. G., ... & Alves, R. R. (2010).** Topical anti-inflammatory activity of body fat from the lizard *Tupinambis merianae*. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(3), 514-520.
- Fetni, S., & Bertella, N. (2020).** Etude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L
- Fickers, P., Destain, J., & Thonart, P. (2008).** Les lipases sont des hydrolases atypiques: principales caractéristiques et applications. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 12(2), 119-130.
- Fidan, H., Mihaylova, D., Petkova, N., Sapoundzhieva, T., Slavov, A., & Krastev, L. (2019).** Determination of chemical composition, antibacterial and antioxidant properties of products obtained from carob and honey locust. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44(3), 316-322.
- Fidan, H., Stankov, S., Petkova, N., Petkova, Z., Iliev, A., Stoyanova, M., ... & Ercisli, S. (2020).** Evaluation of chemical composition, antioxidant potential and functional properties of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 57(7), 2404-2413.
- Fierascu, R. C., Ortan, A., Fierascu, I. C., & Fierascu, I. (2018).** In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, 24, 1-8.
- Finkel, T. (2000).** Redox-dependent signal transduction. *FEBS letters*, 476
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000).** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247.
- Fischer, E. H., & Krebs, E. G. (1955).** Conversion of phosphorylase b to phosphorylase a in muscle extracts. *Journal of Biological Chemistry*, 216(1), 121-132.
- Flaumenhaft, R., & Furie, B. (2016).** Vascular thiol isomerases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 128(7), 893-901
- Flieger, J., & Flieger, M. (2020).** The [DPPH•/DPPH-H]-HPLC-DAD method for monitoring the antioxidant activity of pure antioxidants and hydroalcoholic extracts of Goutweed (*Aegopodium podagraria* L.). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25 (24), 6005.
- Font, D., Sayalero, S., Bastero, A., Jimeno, C., & Pericas, M. A. (2008).** Toward an artificial aldolase. *Organic letters*, 10(2), 337-340.
- Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, et al.** Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes* 2005 ;

Foretz, M., Taleux, N., Guigas, B., Horman, S., Beauloye, C., Andreelli, F., ... & Viollet, B. (2006). Régulation du métabolisme énergétique par l'AMPK-Une nouvelle voie thérapeutique pour le traitement des maladies métaboliques et cardiaques. *médecine/sciences*, 22(4), 381-388.

Freitas, A., Moldão-Martins, M., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Valente, A., & Sanches-Silva, A. (2015).Effect of UV-C radiation on bioactive compounds of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 44-52

Gagler, D. C., Karas, B., Kempes, C. P., Malloy, J., Mierzejewski, V., Goldman, A. D., ... & Walker, S. I. (2022). Scaling laws in enzyme function reveal a new kind of biochemical universality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(9), e2106655119.

Gao, Y. Y., Jiang, Y., Chen, G. C., Li, S. S., Yang, F., & Ma, Q. (2018). A sensitive and rapid UPLC-MS/MS method for determination of monosaccharides and anti-allergic effect of the polysaccharides extracted from *Saposhnikovia* radix. *Molecules*, 23(8), 1924.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003).Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

Gerlt, J. A. (2017). Genomic enzymology: web tools for leveraging protein family sequence–function space and genome context to discover novel functions. *Biochemistry*, 56(33), 4293-4308.

Ghazi, I et al. “Corrosion Inhibition of Carob Pod Pulp (*Ceratonia siliqua* L.) on Carbon Steel Surface C38 in Hydrochloric Acid.” *Journal of bio- and tribo-corrosion* vol. 8,1 (2022): 31. doi:10.

Ghlichloo, I., & Gerriets, V. (2019). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

Goulas, V., Hadjivasileiou, L., Primikyri, A., Michael, C., Botsaris, G., Tzakos, A. G., & Gerothanassis, I. P. (2019). Valorization of carob fruit residues for the preparation of novel bi-functional polyphenolic coating for food packaging applications. *Molecules*, 24(17), 3162.

Goulas, V., Stylos, E., Chatziathanasiadou, M. V., Mavromoustakos, T., & Tzakos, A. G. (2016).Functional components of carob fruit: Linking the chemical and biological space. *International journal of molecular sciences*, 17(11), 1875.

Goulas, V., Stylos, E., Chatziathanasiadou, MV, Mavromoustakos, T., & Tzakos, AG (2016). Composants fonctionnels du fruit de la caroube : relier l'espace chimique et biologique. *Journal international des sciences moléculaires* , 17 (11), 1875

Greeson, J. M., Sanford, B., & Monti, D. A. (2001). St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153(4), 402-414.

Greub, G., & Raoult, D. (2003). History of the ADP/ATP-translocase-encoding gene, a parasitism gene transferred from a Chlamydiales ancestor to plants 1 billion years ago. *Applied and environmental microbiology*, 69(9), 5530-5535.

Gruendel, S., Otto, B., Garcia, A. L., Wagner, K., Mueller, C., Weickert, M. O., ... & Koebnick, C. (2007). Carob pulp preparation rich in insoluble dietary fibre and polyphenols increases plasma glucose and serum insulin responses in combination with a glucose load in humans. *British Journal of Nutrition*, 98(1), 101-105.

Guinnin, F. F., Sacramento, T. I., Sezan, A., & Ategbo, J. M. (2015). Ethnobotanic study of medicinal plants used in the traditional treatment of viral hepatitis B and C in some departments of Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1354-1366.

Haber, B., Ter Meer, H. U., & Hausmanns, S. (2006). *U.S. Patent Application No. 10/521,503*.

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.

Hada, D., & Sharma, K. (2018). Isolation and characterization of chemical compounds from fruit pulp of cassia fistula and their antimicrobial activity. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(2), 15-20.

Hadi, M. Y., Hameed, I. H., & Ibraheam, I. A. (2017). *Ceratonia siliqua*: characterization, pharmaceutical products and analysis of bioactive compounds: a review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(10), 3585-3589.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA. L'année

Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F., & Bouhadi, D. (2009). Mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube. *Rev. microbiol. ind. san et environ*, 37-55

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.

He, H., Tan, W., Guo, J., Yi, M., Shy, A. N., & Xu, B. (2020).Enzymatic Noncovalent Synthesis. *Chemical reviews*, 120(18), 9994–10078.

Hengpratom, T., Lowe, G. M., Thumanu, K., Suknasang, S., Tiomyom, K., & Eumkeb, G. (2018). Oroxylum indicum (L.) Kurz extract inhibits adipogenesis and lipase activity in vitro. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 1-14.

Henneh, I. T., Akrofi, R., Ameyaw, E. O., Konja, D., Owusu, G., Abane, B., ... & Tayman, F. (2018). Stem bark extract of Sterculia setigera Delile exhibits anti-inflammatory properties through membrane stabilization, inhibition of protein denaturation and prostaglandin E2 activity. *J Pharm Res Int*, 22, 1-11.

Hmamouchi, M. (1997). Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaires, médicinales et toxiques au Maroc. *Identification of wild food and non-food plants of the Mediterranean region. Chania: CIHEAM-IAMC*, 89-108.

Hooper, D. C. (1998). Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 27(Supplement_1), S54-S63.

Hu, L., Sun, C., Luan, J., Lu, L., & Zhang, S. (2015). Zebrafish phosvitin is an antioxidant with non-cytotoxic activity. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 47(5), 349-354.

Huh, H. W., Na, Y. G., Bang, K. H., Kim, S. J., Kim, M., Kim, K. T., ... & Cho, C. W. (2020). Extended intake of mulberry leaf extract delayed metformin elimination via inhibiting the organic cation transporter 2. *Pharmaceutics*, 12(1), 49.

Humblet, M. F., & Godeau, J. M. (2005). L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 149, No. 1, pp. 20-33). *Annales Medecine Veterinaire*.

Jakupović, L., Kalvarešin, M., Bukovina, K., Poljak, V., Vujić, L., & Zovko Končić, M. (2021). Optimization of Two Eco-Friendly Extractions of Black Medick (*Medicago lupulina* L.) Phenols and Their Antioxidant, Cosmeceutical, α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Properties. *Molecules*, 26(6), 1610.

Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290.

Joseph, B., Ramteke, P. W., & Thomas, G. (2008). Cold active microbial lipases: some hot issues and recent developments. *Biotechnology advances*, 26(5), 457-470.

Kamarudzaman, A. N., Chay, T. C., Amir, A., & Talib, S. A. (2015). Biosorption of Mn (II) ions from aqueous solution by *Pleurotus spent* mushroom compost in a fixed-bed column. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 195, 2709-2716.

Kanemitsu, K., Nishino, T., Kunishima, H., Okamura, N., Takemura, H., Yamamoto, H., & Kaku, M. (2001). Quantitative determination of gelatinase activity among enterococci. *Journal of microbiological methods*, 47(1), 11-16.

Karim, A. A., & Azlan, A. (2012). Fruit pod extracts as a source of nutraceuticals and pharmaceuticals. *Molecules*, 17(10), 11931-11946.

Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by in vitro tissue, organ and cell cultures. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(13), 1222-1239.

Kawai, M., Hirano, T., Higa, S., Arimitsu, J., Maruta, M., Kuwahara, Y., ... & Tanaka, T. (2007). Flavonoids and related compounds as anti-allergic substances. *Allergology International*, 56(2), 113-123.

Kawiński, A., Miklaszewska, M., Stelter, S., Głąb, B. et Banaś, A. (2021). Les lipases des graines de jojoba en germination hydrolysent efficacement les triacylglycérols et les esters de cire et présentent une activité de synthèse des esters de cire. *Biologie végétale BMC*, 21 (1), 50.

Kéléké, S., Kimpolo-Kimfoko, L., & Brauman, A. (1995). Origine et importance de l'activité amylasique dans la fermentation lactique des racines de manioc= Origin and importance of amylase activity in cassava roots during lactic acid fermentation. *Agbor-Egbe, Tom; Brauman, Alain; Griffon, Dany; Treche, Serge (eds.). Transformation alimentaire du manioc= Cassava food processing.*

Keregero, M. M., & Kurwijila, R. L. N. (1989). Fermentation des produits de sevrage à base de céréales et de légumineuses. In *Pour améliorer l'alimentation des jeunes enfants en Afrique orientale et australe: une technologie à la portée des ménages; compte rendu d'un atelier, Nairobi, Kenya, 12-16 nov. 1987.* CRDI, Ottawa, ON, CA.

Khannous, L., Jrad, M., Dammak, M., Miladi, R., Chaaben, N., Khemakhem, B., ... & Fendri, I. (2014). Isolation of a novel amylase and lipase-producing *Pseudomonas luteola* strain: study of amylase production conditions. *Lipids in health and disease*, 13(1), 1-9.

Kim, S. I., Park, C. Y., Fordjuor, G., Lee, J. H., Lee, J. S., & Lee, J. E. (2019). Comparison of cytotoxicities and anti-allergic effects of topical ocular dual-action anti-allergic agents. *BMC ophthalmology*, 19(1), 1-9.

KIVÇAK, B., MERT, T., & ÖZTÜRK, H. T. (2002). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Cerantonia siliqua* L. extracts. *Turkish Journal of Biology*, 26(4), 197-200.

Krzyczkowska, J., & Kozłowska, M. (2017). Effect of oils extracted from plant seeds on the growth and lipolytic activity of *Yarrowia lipolytica* yeast. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(5), 661-671.

Kumar, D. P., Tiwari, A., & Bhat, R. (2004). Effect of pH on the stability and structure of yeast hexokinase A: acidic amino acid residues in the cleft region are critical for the opening and the closing of the structure. *Journal of Biological Chemistry*, 279(31), 32093-32099.

Kyrtziz, A. C., Antoniou, C., Papayiannis, L. C., Graziani, G., Roupael, Y., & Kyriacou, M. C. (2021). Pod Morphology, Primary and Secondary Metabolite Profiles in Non-grafted and Grafted Carob Germplasm Are Configured by Agro-Environmental Zone, Genotype, and Growing Season. *Frontiers in plant science*, 2199.

Kyriacou, MC, Antoniou, C., Roupael, Y., Graziani, G., & Kyrtziz, A. (2021). Kyriacou, MC, Antoniou, C., Roupael, Y., Graziani, G., & Kyrtziz, A. (2021). Mapping of primary and secondary metabolomes of carob fruit (*Ceratonia siliqua* L.) and its post-harvest antioxidant potential at critical stages of ripening. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 10(1), 57.

Lachkar, N., Al-Sobarry, M., El Hajaji, H., Lamkinsi, T., Lachkar, M., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016). Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol barks extract. *J Chem Pharm Res*, 8, 202-210.

Lahssini, S., Hajib, S., Lahloui, H., Alaoui, H. M., Khattabi, A., & d'Ingénieurs, E. N. F. (2015). Modelling spatial distribution of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in Azilal Province, Morocco. *Journal of Geography and Geology*, 7(4).

Lam, K. C., Ibrahim, R. K., Behdad, B., & Dayanandan, S. (2007). Structure, function, and evolution of plant O-methyltransferases. *Genome*, 50(11), 1001-1013.

Lamarre, C. (2004). Caractérisation des gènes CSA1 et SOD3, codant respectivement pour une protéine de la paroi cellulaire et une superoxyde dismutase à manganèse cytoplasmique, de la levure pathogène *Candida albicans*. Université Laval

Lavanya, R., Maheshwari, S. U., Harish, G., Raj, J. B., Kamali, S., Hemamalani, D., ... & Reddy, C. U. (2010). Investigation of in-vitro anti-inflammatory, anti-platelet and anti-arthritic activities in the leaves of *Anisomeles malabarica* Linn. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*, 1(4), 745-752.

Law, J. W. F., Ser, H. L., Duangjai, A., Saokaew, S., Bukhari, S. I., Khan, T. M., ... & Lee, L. H. (2017). *Streptomyces colonosans* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from Malaysia mangrove soil exhibiting antioxidative activity and cytotoxic potential against human colon cancer cell lines. *Frontiers in microbiology*, 877.

- Lawenda, B. D., Kelly, K. M., Ladas, E. J., Sagar, S. M., Vickers, A., & Blumberg, J. B. (2008).** Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy?. *Journal of the national cancer institute*, 100(11), 773-783.
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2015).** *Microbiology: laboratory theory and application*. Morton Publishing Company.
- Lee, H. S. (2007).** Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource technology*, 98(6), 1324-1328.
- Lee, SS, Mohd Esa, N., & Loh, SP (2015).** Activité inhibitrice in vitro de légumineuses sélectionnées contre la lipase pancréatique. *Tourillon de biochimie alimentaire* , 39 (4), 485-490.
- Letcher, R. M., & Nhamo, L. R. (1973).** Structure of orchinol, loroglossol, and hircinol. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1263-1265.
- Lev, E. (2003).** Traditional healing with animals (zootherapy): medieval to present-day Levantine practice. *Journal of ethnopharmacology*, 85(1), 107-118.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014).** Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020-6047.
- Li, W. T., Grayling, R. A., Sandman, K., Edmondson, S., Shriver, J. W., & Reeve, J. N. (1998).** Thermodynamic stability of archaeal histones. *Biochemistry*, 37(30), 10563-10572.
- Li, Y., Liu, TJ, Zhao, MJ, Zhang, H. et Feng, FQ (2019).** Criblage, purification et caractérisation d'une lipase extracellulaire d'*Aureobasidium pullulans* isolée à partir de vapeurs de petits pains farcis. *Journal de l'Université du Zhejiang. Science. B* , 20 (4), 332–342.
- Liebherr, R. B., Renner, M., & Gorris, H. H. (2014).** A single molecule perspective on the functional diversity of in vitro evolved β -glucuronidase. *Journal of the American Chemical Society*, 136(16), 5949-5955.
- Liese, A., Seelbach, K., & Wandrey, C. (Eds.). (2006).** *Industrial biotransformations*. John Wiley & Sons.
- Lietava, J. (1992).** Medicinal plants in a Middle Paleolithic grave Shanidar IV?. *Journal of ethnopharmacology*, 35(3), 263-266
- Lioté, F. (2011).** Physiopathologie et traitement de l'inflammation goutteuse. *Revue du rhumatisme*, 78, S122-S128.
- Littlechild, J. A. (2017).** Improving the 'tool box' for robust industrial enzymes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 44(4-5), 711-720.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.

López-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., A Giulianotti, M., Nefzi, A., A Houghten, R., & L Medina-Franco, J. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 14(6), 475-487.

Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132.

Lowe, SE, Jain, MK et Zeikus, JG (1993). Biologie, écologie et applications biotechnologiques des bactéries anaérobies adaptées aux contraintes environnementales en température, pH, salinité ou substrats. *Revue microbiologiques*, 57 (2), 451-509.

Loynes, C. A., Lee, J. A., Robertson, A. L., Steel, M. J., Ellett, F., Feng, Y., ... & Renshaw, S. A. (2018). PGE2 production at sites of tissue injury promotes an anti-inflammatory neutrophil phenotype and determines the outcome of inflammation resolution in vivo. *Science advances*, 4(9), eaar8320.

Magallón, S., & Hilu, K. W. (2009). Land plants (embryophyta). *The timetree of life*, 133-137.

Mahawar, M. M., & Jaroli, D. P. (2006). Animals and their products utilized as medicines by the inhabitants surrounding the Ranthambhore National Park, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2(1), 1-5.

Mak, T. W., & Saunders, M. E. (2005). *The immune response: basic and clinical principles*. Academic Press.

Makris, D. P., & Kefalas, P. (2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42(2), 105-108.

Mar, S. S., Mori, H., Lee, J. H., FUKUDA, K., SABURI, W., FUKUHARA, A., ... & KIMURA, A. (2003). Purification, characterization, and sequence analysis of two α -amylase isoforms from azuki bean, *Vigna angularis*, showing different affinity towards β -cyclodextrin sepharose. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 67(5), 1080-1093.

Marcelino, G., Machate, D. J., Freitas, K. D. C., Hiane, P. A., Maldonade, I. R., Pott, A., ... & Guimarães, R. D. C. A. (2020). β -Carotene: Preventive role for type 2 diabetes mellitus and obesity: A review. *Molecules*, 25(24), 5803.

Martinez-Rodriguez, R., Navarro-Alarcon, M., Rodriguez-Martinez, C., & Fonolla-Joya, J. (2013). Effects on the lipid profile in humans of a polyphenol-rich carob (*Ceratonia*

siliqua L.) extract in a dairy matrix like a functional food: a pilot study. *Nutrición Hospitalaria*, 28(6), 2107-2114.

Mateille, T., Duponnois, R., & Diop, M. T. (1995). Influence des facteurs telluriques abiotiques et de la plante hôte sur l'infection des nématodes phytoparasites du genre *Meloidogyne* par l'actinomycète parasitoïde *Pasteuria penetrans*. *Agronomie*, 15(9-10), 581-591.

Maury GL, Rodríguez DM, Hendrix S, Arranz JCE, Boix YF, Pacheco AO, Díaz JG, Morris-Quevedo HJ, Dubois AF, Aleman EI, Beenaerts N, Méndez-Santos IE, Ratón TO, Cos P, Cuypers A. Antioxidants in Plants: A Valorization Potential Emphasizing the Need for the Conservation of Plant Biodiversity in Cuba. *Antioxidants* (Basel). 2020 Oct 27;9.

Mazia, D., & Hinegardner, R. T. (1963). Enzymes of DNA synthesis in nuclei of sea urchin embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 50(1), 148.

Mazurek, J., Heginbotham, A., Schilling, M., & Chiari, G. (2008). Antibody assay to characterize binding media in paint. *ICOM Committee for Conservation*, 2, 678-685.

McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049-6055.

McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2021). Enzyme Nomenclature and Classification: the State of the Art. *The FEBS journal*.

McDougall, G. J., Kulkarni, N. N., & Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chemistry*, 115(1), 193-199.

McGivern, J. G. (2007). Ziconotide: a review of its pharmacology and use in the treatment of chronic pain. In McGrath, B. M., & Walsh, G. (Eds.). (2005). *Directory of therapeutic enzymes*. CRC Press.

Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M. K., & Upadhyay, R. S. (2017). Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(13-14), 629-648.

Merecz-Sadowska, A., Sitarek, P., Śliwiński, T., & Zajdel, R. (2020). Anti-inflammatory activity of extracts and pure compounds derived from plants via modulation of signaling pathways, especially PI3K/AKT in macrophages. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9605.

Metzger, H., Chen, H., Goldstein, B., Haleem-Smith, H., Inman, J., Peirce, M., ... & Wofsy, C. (1999). Signal transduction by FcεRI: Analysis of the early molecular events. *Allergy International*, 48(3), 161-169.

Meziani, S., Oomah, B. D., Zaidi, F., Simon-Levert, A., Bertrand, C., & Zaidi-Yahiaoui, R. (2015). Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microbial pathogenesis*, 78, 95-102.

Michaelson, L. P., Iler, C., & Ward, C. W. (2013). ROS and RNS signaling in skeletal muscle: critical signals and therapeutic targets. *Annual review of nursing research*, 31(1), 367-387.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Miličević, B., Ačkar, Đ., Babić, J., Jozinović, A., Miličević, R., Petošić, E., ... & Šubarić, D. (2018). Impact of the fermentation process with immobilized yeast cells on the aroma profile and sensory quality of distillates produced from carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Technologica Acta: Scientific/professional journal of chemistry and technology*, 11(1), 5-9.

Ming, K. J., Khang, G. N., Sai, C. L., & Fatt, C. T. (2003). Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol Sin*, 24(1), 7-21.

Mir Khan, U., & Selamoglu, Z. (2020). Use of enzymes in dairy industry: a review of current progress. *Archives of Razi Institute*, 75(1), 131.

Mittler, R., & Zilinskas, B. A. (1991). Purification and characterization of pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Plant Physiology*, 97(3), 962-968.

Mohamed, S. A., Almulaiky, Y. Q., Ahmed, Y. M., Al-Bar, O. A., & Ibrahim, I. H. (2014). Purification and characterization of α -Amylase from Miswak *Salvadora persica*. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-10.

Mohamed, S. A., Almulaiky, Y. Q., Ahmed, Y. M., Al-Bar, O. A., & Ibrahim, I. H. (2014). Purification and characterization of α -Amylase from Miswak *Salvadora persica*. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 1-10.

Mohammed, H. A., Qureshi, K. A., Ali, H. M., Al-Omar, M. S., Khan, O., & Mohammed, S. A. (2022). Bio-Evaluation of the Wound Healing Activity of *Artemisia judaica* L. as Part of the Plant's Use in Traditional Medicine; Phytochemical, Antioxidant,

Anti-Inflammatory, and Antibiofilm Properties of the Plant's Essential Oils. *Antioxidants*, 11(2), 332.

Mok, S. W. F., Wong, V. K. W., Lo, H. H., Dias, I. R. D. S. R., Leung, E. L. H., Law, B. Y. K., & Liu, L. (2020). Natural products-based polypharmacological modulation of the peripheral immune system for the treatment of neuropsychiatric disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, 208, 107480.

Monteny, N. (1987). Mise au point sur le clonage des gènes, la préparation et l'utilisation des sondes d'ADN. *Cahiers-ORSTOM. Entomologie médicale et parasitologie*, 25, 31-43.

Monzote, L., García, J., González, R., Scotti, M. T., & Setzer, W. N. (2021). Bioactive Essential Oils from Cuban Plants: An Inspiration to Drug Development. *Plants*, 10(11), 2515.

Morel, Y., & Barouki, R. (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes.

Morel, Y., & Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemical Journal*, 342(3), 481-496.

Murphy, R. C. (1996). Free radical-induced oxidation of glycerophosphocholine lipids and formation of biologically active products. *Platelet-Activating Factor and Related Lipid Mediators* 2, 51-58

Naz, S., Shamoan, M., Wang, R., Zhang, L., Zhou, J., & Chen, J. (2019). Advances in therapeutic implications of inorganic drug delivery nano-platforms for cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 965.

Ndiaye, M., Sy, G., Dièye, A., Touré, M., & Faye, B. (2006). Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'annona reticulata (annonaceae) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carragénine. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 15, 179-186.

Neidleman, S. L. (1984). Applications of biocatalysis to biotechnology. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1(1), 1-38.

Nelson, S. P., Chen, E. H., Syniar, G. M., Christoffel, K. K., & Pediatric Practice Research Group. (2000). Prevalence of symptoms of gastroesophageal reflux during childhood: a pediatric practice-based survey. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 154(2), 150-154

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*, 75(3), 311-335.

Nicell, J. A., Bewtra, J. K., Biswas, N., St. Pierre, C. C., & Taylor, K. E. (1993). Enzyme catalyzed polymerization and precipitation of aromatic compounds from aqueous solution. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 20(5), 725-735.

Niehaus, F., Bertoldo, C., Kähler, M., & Antranikian, G. (1999). Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied microbiology and biotechnology*, 51(6), 711-729.

Nunes, C. D. R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., ... & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as sources of anti-inflammatory agents. *Molecules*, 25(16), 3726.

O'keefe, S. J. (2016). Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 13(12), 691-706.

Olivera, B. M., Raghuraman, S., Schmidt, E. W., & Safavi-Hemami, H. (2017). Linking neuroethology to the chemical biology of natural products: Interactions between cone snails and their fish prey, a case study. *Journal of Comparative Physiology A*, 203(9), 717-735.

Ouahioune, L. A., Wrona, M., Becerril, R., Salafranca, J., Nerín, C., & Djenane, D. (2022). *Ceratonia siliqua* L. kibbles, seeds and leaves as a source of volatile bioactive compounds for antioxidant food biopackaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100764.

Owen, R. W., Haubner, R., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., & Haber, B. (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*, 41(12), 1727-1738.

Park, C. K., & Horton, N. C. (2019). Structures, functions, and mechanisms of filament forming enzymes: a renaissance of enzyme filamentation. *Biophysical reviews*, 11(6), 927–994.

Pastre, J., & Priymenko, N. (2007). Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de médecine vétérinaire*, 1(4), 180-189.

Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J., ... & Patil, C. R. (2019). Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: Implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4367.

Patil, R. H., Babu, R. L., Naveen Kumar, M., Kiran Kumar, K. M., Hegde, S. M., Nagesh, R., ... & Sharma, S. C. (2016). Anti-inflammatory effect of apigenin on LPS-induced pro-inflammatory mediators and AP-1 factors in human lung epithelial cells. *Inflammation*, 39(1), 138-147.

Peebles Jr, R. S. (2019). Prostaglandins in asthma and allergic diseases. *Pharmacology & therapeutics*, 193, 1-19.

Pegg, A. E. (2006). Regulation of ornithine decarboxylase. *Journal of Biological Chemistry*, 281(21), 14529-14532.

Pelchat, M., & Lapointe, J. (1999). Aminoacyl-tRNA synthetase genes of *Bacillus subtilis*: organization and regulation. *Biochemistry and cell biology*, 77(4), 343-347.

Pereira, Florbela, and Joao Aires-de-Sousa. “Computational Methodologies in the Exploration of Marine Natural Product Leads.” *Marine drugs* vol. 16,7 236. 13 Jul. 2018, doi:10.3390/md16070236

Pereira, R. B., Andrade, P. B., & Valentão, P. (2016). Chemical diversity and biological properties of secondary metabolites from sea hares of *Aplysia* genus. *Marine Drugs*, 14(2), 39.

Peyrat, L. A., Tsafantakis, N., Georgousaki, K., Ouazzani, J., Genilloud, O., Trougakos, I. P., & Fokialakis, N. (2019). Terrestrial microorganisms: cell factories of bioactive molecules with skin protecting applications. *Molecules*, 24(9), 1836

Pimentel, M. R., Molina, G., Dionísio, A. P., Maróstica Junior, M. R., & Pastore, G. M. (2011). The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnology research international*, 2011.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4(4), 6-11

Poisson, L., Devos, M., Pencreac’h, G., & Ergon, F. (2002). NUTRITION Acides gras polyinsaturés de microalgues: intérêts et développements actuels. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 9(2), 92-95.

Pons, F., Koenig, M., Michelot, R., Mayer, M., & Frossard, N. (1998). The bronchorelaxant effect of helicidine, a *Helix pomatia* extract, Involves prostaglandin E2 release. *Pharmaceutical biology*, 36(1), 13-19.

Posoongnoen, S., & Thumavongsa, T. (2020). Purification and characterization of thermostable α -amylase from germinating Sword bean (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.) seeds. *Plant Biotechnology*, 19-1209.

Posoongnoen, S., & Thumavongsa, T. (2020). Purification and characterization of thermostable α -amylase from germinating Sword bean (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.) seeds. *Plant Biotechnology*, 19-1209.

- Prakash, B., Kedia, A., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2015).** Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities–Potentials and challenges. *Food control*, 47, 381-391.
- Prost, M., Durand, P., Prost, E., Carvin, M., Lesgards, G., & Blache, D. (2002).** Test biologique de mesure du potentiel de défense antiradicalaire; application à l'évaluation de l'activité protectrice antiradicalaire de divers extraits de plantes aromatiques. *Acta Botanica Gallica*, 149(1), 114-115.
- Prouteau, M., & Loewith, R. (2018).** Regulation of cellular metabolism through phase separation of enzymes. *Biomolecules*, 8(4), 160.
- Pujols, L., Benitez, P., Alobid, I., Martinez-Anton, A., Roca-Ferrer, J., Mullol, J., & Picado, C. (2009).** Glucocorticoid therapy increases COX-2 gene expression in nasal polyps in vivo. *European Respiratory Journal*, 33(3), 502-508.
- Rahman, M., Dash, R., Sohag, A. A. M., Alam, M., Rhim, H., Ha, H., ... & Hannan, M. (2021).** Prospects of Marine Sterols against Pathobiology of Alzheimer's Disease: Pharmacological Insights and Technological Advances. *Marine drugs*, 19(3), 167.
- Ratcliffe, N. A., Mello, C. B., Garcia, E. S., Butt, T. M., & Azambuja, P. (2011).** Insect natural products and processes: new treatments for human disease. *Insect biochemistry and molecular biology*, 41(10), 747-769.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014).** A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264
- Reis, J. G., Cadamuro, R. D., Cabral, A. C., Thais da Silva, I., Rodríguez-Lázaro, D., & Fongaro, G. (2021).** Broad Spectrum Algae Compounds Against Viruses. *Frontiers in Microbiology*, 12, 809296-809296.
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011).** Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986-1000.
- Rico, D., Martín-Diana, AB, Martínez-Villaluenga, C., Aguirre, L., Silván, JM, Dueñas, M., De Luis, DA et Lasa, A. (2019).** In vitro approach for the evaluation of carob by-products as source bioactive ingredients with the potential to alleviate metabolic syndrome (MetS). *Heliyon*, 5 (1), e01175.
- Robinson, P. K. (2015).** **Enzymes: principles and biotechnological applications. Essays in biochemistry**, 59, 1.

- Rocha, J. C. D., Gomes, J. A. D. C. P., & D'Elia, E. (2014).** Aqueous extracts of mango and orange peel as green inhibitors for carbon steel in hydrochloric acid solution. *Materials Research*, 17(6), 1581-1587.
- Roome, T., Dar, A., Naqvi, S., Ali, S., & Choudhary, M. I. (2008).** Aegiceras corniculatum extract suppresses initial and late phases of inflammation in rat paw and attenuates the production of eicosanoids in rat neutrophils and human platelets. *Journal of ethnopharmacology*, 120(2), 248-254.
- Roseiro, L. B., Tavares, C. S., Roseiro, J. C., & Rauter, A. P. (2013).** Antioxidants from aqueous decoction of carob pods biomass (*Ceratonia siliqua* L.): Optimisation using response surface methodology and phenolic profile by capillary electrophoresis. *Industrial crops and products*, 44, 119-126.
- Rtibi, K., Jabri, M. A., Selmi, S., Souli, A., Sebai, H., El-Benna, J., ... & Marzouki, L. (2015).** Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-8.
- Rtibi, K., Selmi, S., Grami, D., Amri, M., Eto, B., El-Benna, J., ... & Marzouki, L. (2017).** Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 522-528.
- Rtibi, K., Selmi, S., Jabri, M. A., El-Benna, J., Amri, M., Marzouki, L., & Sebai, H. (2016).** Protective effect of *Ceratonia siliqua* L. against a dextran sulfate sodium-induced alterations in liver and kidney in rat. *Journal of medicinal food*, 19(9), 882-889.
- Saad, B., Sing, Y. Y., Nawi, M. A., Hashim, N., Ali, A. S. M., Saleh, M. I., ... & Ahmad, K. (2007).** Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food chemistry*, 105(1), 389-394.
- Saavedra-Leos, M. Z., Leyva-Porras, C., Toxqui-Terán, A., & Espinosa-Solis, V. (2021).** Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Spray-Dry Broccoli (*Brassica oleracea* var *Italica*) Stalk and Floret Juice Powders. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(7).
- Saboki Ebrahim, K. U., & Singh, B. (2011).** Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. *Sci. Against Microb. Pathog*, 2, 1043-1054.
- Şahin, G., & Taşlıgil, N. (2016).** Agricultural geography analysis of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(12), 1192-1200.
- Sangeetha, M., Rajendran, S., Sathiyabama, J., Umasankareswari, T., Krishnaveni, A., & Joany, R. M. (2015).** Corrosion inhibition by flower extracts: an overview. *Int J Nano Corr Sci Eng*, 2, 14-21.

- Santonocito, D., Granata, G., Geraci, C., Panico, A., Siciliano, E. A., Raciti, G., & Puglia, C. (2020).** Carob seeds: Food waste or source of bioactive compounds?. *Pharmaceutics*, *12*(11), 1090
- Sarian, F. D., Janeček, Š., Pijning, T., Nurachman, Z., Radjasa, O. K., Dijkhuizen, L., ... & van der Maarel, M. J. (2017).** A new group of glycoside hydrolase family 13 α -amylases with an aberrant catalytic triad. *Scientific reports*, *7*(1), 1-10.
- Sassi, A., Bouhlel, I., Mustapha, N., Mokdad-Bzeouich, I., Chaabane, F., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2016).** Assessment in vitro of the genotoxicity, antigenotoxicity and antioxidant of *Ceratonia siliqua* L. extracts in murine leukaemia cells L1210 by comet assay. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *77*, 117-124.
- Satyanarayana, T., Littlechild, J., & Kawarabayasi, Y. (2013).** Thermophilic microbes in environmental and industrial biotechnology. *Biotechnol. Thermophiles*, *3*.
- Savchuk, S., & Dilantha Fernando, W. G. (2004).** Effect of timing of application and population dynamics on the degree of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by bacterial antagonists. *FEMS microbiology ecology*, *49*(3), 379-388.
- Scarano, A., Chieppa, M., & Santino, A. (2020).** Plant polyphenols-biofortified foods as a novel tool for the prevention of human gut diseases. *Antioxidants*, *9*(12), 1225
- Seca, A. M. L., & Pinto, D. C. G. A. (2019).** Biological potential and medical use of secondary metabolites. *Medicines (Basel)* *6*
- Sels, J.; Mathys, J.; De Coninck, B.M.; Cammue, B.P.; De Bolle, M.F.** Plant pathogenesis-related (pr) proteins: A focus on pr peptides. *Plant Physiol. Biochem.* **2008**, *46*, 941–950.
- Sene, M., Ndiaye, M., Barboza, F. S., Sene, M., Diatta, W., Sarr, A., ... & Sy, G. Y. (2016).** Activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles de *Elaeis guineensis* Jacq.(ARECACEAE) sur l'œdème aigu de la patte de rat induit par la carraghénine. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *10*(6), 2568-2574.
- Shah, S. A. A., Akhter, N., Auckloo, B. N., Khan, I., Lu, Y., Wang, K., ... & Guo, Y. W. (2017).** Structural diversity, biological properties and applications of natural products from cyanobacteria. A review. *Marine Drugs*, *15*(11), 354.
- Shahid, S., Ahmad, F., Hassan, M., & Islam, A. (2019).** Mixture of macromolecular crowding agents has a non-additive effect on the stability of proteins. *Applied biochemistry*
- Sheng, Y., Abreu, I. A., Cabelli, D. E., Maroney, M. J., Miller, A. F., Teixeira, M., & Valentine, J. S. (2014).** Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chemical reviews*, *114*(7), 3854-3918.

- Siben, C. (2020).** La bio-production en agroalimentaire. In *Annales des Mines-Realites industrielles* (No. 2, pp. 88-92). FFE.
- Sies, H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, 91(3), S31-S38.
- Sikora, E., Cieřlik, E., & Topolska, K. (2008).** The sources of natural antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 5-17
- Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010).** Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 16(3), 402-413.
- Simon, G. M., & Cravatt, B. F. (2010).** Activity-based proteomics of enzyme superfamilies: serine hydrolases as a case study. *Journal of Biological Chemistry*, 285(15), 11051-11055.
- Simonds, W. F. (1999).** G protein regulation of adenylate cyclase. *Trends in pharmacological sciences*, 20(2), 66-73.
- Singh, D. P., Prabha, R., Gupta, V. K., & Verma, M. K. (2018).** Metatranscriptome analysis deciphers multifunctional genes and enzymes linked with the degradation of aromatic compounds and pesticides in the wheat rhizosphere. *Frontiers in microbiology*, 9, 1331.
- Singh, K., Ahmad, F., Singh, V. K., Kayastha, K., & Kayastha, A. M. (2017).** Purification, biochemical characterization and Insilico modeling of α -amylase from *Vicia faba*. *Journal of Molecular Liquids*, 234, 133-141
- Singh, S., & Singh, R. P. (2008).** In vitro methods of assay of antioxidants: an overview. *Food reviews international*, 24(4), 392-415.
- Sinha, M., Singh, R. P., Kushwaha, G. S., Iqbal, N., Singh, A., Kaushik, S., ... & Singh, T. P. (2014).** Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Smith, D. R., Uria, A. R., Helfrich, E. J., Milbredt, D., van Pée, K. H., Piel, J., & Goss, R. J. (2017).** **An unusual flavin-dependent halogenase from the metagenome of the marine.**
- Smith, P., Benjamin, DK, Jr, Mulugeta, Y., Burckart, GJ, Cohen-Wolkowicz, M. et Gonzalez, D. (2016).** Correspondance de l'exposition des médicaments anti-infectieux pédiatriques : Examen des médicaments soumis à la Food and Drug Administration pour approbation pédiatrique. *Thérapeutique clinique*, 38 (9), 1995–2005.

Smith, W. L. (1992). Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 263(2), F181-F191.

Smith, W. L., DeWitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000). Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annual review of biochemistry*, 69(1), 145-182.

Smith, W. L., Urade, Y., & Jakobsson, P. J. (2011). Enzymes of the cyclooxygenase pathways of prostanoid biosynthesis. *Chemical reviews*, 111(10), 5821-5865.

Soto-Vaca, A., Gutierrez, A., Losso, J. N., Xu, Z., & Finley, J. W. (2012). Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(27), 6658-6677.

Souaga, K., Adou, A., Amantchi, D., & Angoh, Y. (1998). Plaidoyer pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires en odonto-stomatologie. *Odontostomatol Trop*, 21, 16-21.

Soumanou, M. M., Tchobo, F. P., Edoth, A. P., & Accrombessi, G. (2005). Valorisation des huiles végétales d'origine béninoise par alcoololyse enzymatique. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 12(4), 320-325.

Sousa, S. F., Ramos, M. J., Lim, C., & Fernandes, P. A. (2015). Relationship between enzyme/substrate properties and enzyme efficiency in hydrolases. *ACS Catalysis*, 5(10), 5877-5887.

Sroka, Z., & Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), 753-758.

Sthijns, M. M., van Blitterswijk, C. A., & LaPointe, V. L. (2018). Redox regulation in regenerative medicine and tissue engineering: The paradox of oxygen. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 12(10), 2013-2020.

Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., ... & Fritig, B. (1993). Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie*, 75(8), 687-706.

Sudha, S., & Masilamani, S. M. (2012). Characterization of cytotoxic compound from marine sediment derived actinomycete *Streptomyces avidinii* strain SU4. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 770-773.

Sundarram, A., & Murthy, T. P. K. (2014). α -amylase production and applications: a review. *Journal of applied & environmental microbiology*, 2(4), 166-175.

Talib, W. H., Al-Ataby, I. A., Mahmood, A. I., Jawarneh, S., Al Kury, L. T., & Al-Yasari, I. H. (2020). The impact of herbal infusion consumption on oxidative stress and cancer: the good, the bad, the misunderstood. *Molecules*, 25(18), 4207.

Tan, L. T. (2007). Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery.

Phytochemistry, 68(7), 954-979.

Tao, Z., Dong, B., Teng, Z., & Zhao, Y. (2020). The classification of enzymes by deep learning. *IEEE Access*, 8, 89802-89811.

Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2017). Hydroxycinnamic acids and their derivatives: Cosmeceutical significance, challenges and future perspectives, a review. *Molecules*, 22(2), 281.

Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics—A review. *Industrial Crops and Products*, 90, 38-48.

Taofiq, O., Heleno, SA, Calhella, RC, Alves, MJ, Barros, L., Barreiro, MF, González-Paramás, AM et Ferreira, IC (2016). Développement de formulations cosméceutiques à base de champignons aux propriétés anti-inflammatoires, anti-tyrosinase, antioxydantes et antibactériennes. *Molécules (Bâle,*

Taverne, Y. J., Bogers, A. J., Duncker, D. J., & Merkus, D. (2013). Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013.

Tchieu, J. H., Norris, V., Edwards, J. S., & Saier Jr, M. H. (2001). The complete phosphotransferase system in *Escherichia coli*. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 3(3), 329-346.

Teoh, E. S. (2016). Secondary metabolites of plants. In *Medicinal orchids of Asia* (pp. 59-73). Springer, Cham

Thivend, P., Mercier, C., & Guilbot, A. (1965). Dosage de l'amidon dans les milieux complexes. In *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* (Vol. 5, No. 4, pp. 513-526). EDP Sciences.

Thomford, N. E., Senthebane, D. A., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A., & Dzobo, K. (2018). Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. *International journal of molecular sciences*, 19(6), 1578.

Thong B. Y. (2017). Allergic conjunctivitis in Asia. *Asia Pacific allergy*, 7(2), 57–64.
<https://doi.org/10.5415/apallergy.2017.7.2.57>

Tormo, M. A., Gil-Exojo, I., de Tejada, A. R., & Campillo, J. E. (2004). Hypoglycaemic and anorexigenic activities of an α -amylase inhibitor from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Wistar rats. *British journal of nutrition*, 92(5), 785-790.

Tournier, V., Topham, C. M., Gilles, A., David, B., Folgoas, C., Moya-Leclair, E., ... & Marty, A. (2020). An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles. *Nature*, 580(7802), 216-219.

Tournier, V., Topham, C. M., Gilles, A., David, B., Folgoas, C., Moya-Leclair, E., ... & Marty, A. (2020). An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles. *Nature*, 580(7802), 216-219.

Tous, J., Romero, A., & Batlle, I. (2013). The Carob tree: Botany, horticulture, and genetic resources. *Horticultural Reviews* Volume 41, 385-456.

Tsouli, J. (1974). Etude comparée de l'activité enzymatique de 3 variétés d'artichauts du genre *Cinara Cardunculus* L sur la coagulation du lait. *Le lait*, 54(537), 415-421.

Tungmunnithum, D., Drouet, S., Lorenzo, J. M., & Hano, C. (2021). Effect of traditional cooking and in vitro gastrointestinal digestion of the ten most consumed beans from the fabaceae family in Thailand on their phytochemicals, antioxidant and anti-diabetic potentials. *Plants*, 11(1), 67.

Vadivel, V., & Janardhanan, K. (2004). The nutritional and antinutritional attributes of sword bean [*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.]: an under-utilized tribal pulse from south India. *International journal of food science & technology*, 39(9), 917-926.

Vahidi, M., Imanparast, S., Jahandar, H., Forootanfar, H., Mojtabavi, S., & Faramarzi, M. A. (2021). An organic solvent-tolerant lipase of *Streptomyces pratensis* MV1 with the potential application for enzymatic improvement of n6/n3 ratio in polyunsaturated fatty acids from fenugreek seed oil. *Journal of food science and technology*, 58(7), 2761-2772.

van der Veen, B. A., Uitdehaag, J. C., Dijkstra, B. W., & Dijkhuizen, L. (2000). Engineering of cyclodextrin glycosyltransferase reaction and product specificity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1543(336), 360.

Vekiari, S. A., Ouzounidou, G., Ozturk, M., & Görk, G. (2011). Variation of quality characteristics in Greek and Turkish carob pods during fruit development. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 19, 750-755.

Venugopal, J., & Ramakrishna, S. (2005). Inhibition of ATPases enzyme activities on brain disturbing normal oestrous cycle. *Neurochemical Research*, 30(3), 315-323.

Vieille, C., & Zeikus, G. J. (2001). **Hyperthermophilic enzymes: sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability.** *Microbiology and molecular biology reviews :MMBR*, 65(1), 1-43

Vitoria, I., Martín-Hernández, E., Peña-Quintana, L., Bueno, M., Quijada-Fraile, P., Dalmau, J., ... & Merinero, B. (2014). Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: experience with four cases in Spain and review of the literature. *JIMD Reports*, Volume 20, 11-20.

Wallace, D. V., Dykewicz, M. S., Oppenheimer, J., Portnoy, J. M., & Lang, D. M. (2017). Pharmacologic treatment of seasonal allergic rhinitis: synopsis of guidance from the 2017

Joint Task Force on Practice Parameters. *Annals of internal medicine*, 167(12), 876-881.

Wang, P., Luo, Y., Huang, J., Gao, S., Zhu, G., Dang, Z., Gai, J., Yang, M., Zhu, M., Zhang, H., Ye, X., Gao, A., Tan, X., Wang, S., Wu, S., Cahoon, E. B., Bai, B., Zhao, Z., Li, Q., Wei, J., ... Chen, Y. (2020). The genome evolution and domestication of tropical fruit mango. *Genome biology*, 21(1),

Wang, T., Fu, X., Chen, Q., Patra, JK, Wang, D., Wang, Z. et Gai, Z. (2019). Métabolisme de l'acide arachidonique et inflammation rénale. *Journal international des sciences moléculaires* , 20 (15), 3683.

Węgrzyn A, Zukrowski K. Biotechnological applications of archaeal extremozymes. *CHEMIK*. 2014;68:710-22.

Weng, J. K., Philippe, R. N., & Noel, J. P. (2012). The rise of chemodiversity in plants. *Science*, 336(6089), 1667-1670. Weng, J. K., Philippe, R. N., & Noel, J. P. (2012). The rise of chemodiversity in plants. *Science*, 336(6089), 1667-1670.

Williams, L. A. D., O'connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., ... & Kraus, W. (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*, 57(4).

Xia, C., Huang, Y., Qi, Y., Yang, X., Xue, T., Hu, R., ... & Yu, S. (2022). Developing long-term conservation priority planning for medicinal plants in China by combining conservation status with diversity hotspot analyses and climate change prediction. *BMC biology*, 20(1), 1-20.

Xia, C., Huang, Y., Qi, Y., Yang, X., Xue, T., Hu, R., ... & Yu, S. (2022). Developing long-term conservation priority planning for medicinal plants in China by combining conservation status with diversity hotspot analyses and climate change prediction. *BMC biology*, 20(1), 1-20.

Xiao, L., & Harrison, D. G. (2020). Inflammation in hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, 36(5), 635-647.

Xu, W., Zhang, W., Zhang, T., Jiang, B., & Mu, W. (2018). L-arabinose isomerases: characteristics, modification, and application. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 25-33.

Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.

Yamaguchi, T.ÿ; Takamura, H.; Matoba, T.; Terao, J. Méthode HPLC pour l'évaluation de l'activité de piégeage des radicaux libres des aliments à l'aide de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochimie*. **1998**, 62, 1201-1204.

Yao, D., Dong, M., Dai, C., & Wu, S. (2019). Inflammation and inflammatory cytokine contribute to the initiation and development of ulcerative colitis and its associated cancer. *Inflammatory Bowel Diseases*, 25(10), 1595-1602.

Yeo, D., Dinica, R., Yapi, H. F., Furdui, B., Praisler, M., Djaman, A. J., & N'Guessan, J. D. (2011). Evaluation of the anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Annona senegalensis* leaves. *Thérapie*, 66(1), 73-80.

Yili, A., Maksimov, V., Ma, Q. L., Gao, Y. H., Veshkurova, O., Salikhov, S., & Aisa, H. A. (2014). Antimicrobial peptides from the plants. *J. Pharm. Pharmacol*

You, Mi-Kyoung et al. “St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) stimulates human osteoblastic MG-63 cell proliferation and attenuates trabecular bone loss induced by ovariectomy.” *Nutrition research and practice* vol. 9,5 (2015): 459-65. doi:10.4162/nrp.2015.9.5.459

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 and Public Health*, 3(6), 304-308.

Yuan, C., Sidhu, R. S., Kuklev, D. V., Kado, Y., Wada, M., Song, I., & Smith, W. L. (2009). Cyclooxygenase allosterism, fatty acid-mediated cross-talk between monomers of cyclooxygenase homodimers. *Journal of Biological Chemistry*, 284(15), 10046-10055.

Zeikus, J. G., Lowe, S. E., & Saha, B. C. (1990). Biocatalysis in anaerobic extremophiles. In *Biocatalysis* (pp. 255-276). Springer, Dordrecht.

Zerbo, P., Rasolodimby, J. M., Ouedraogo, O. N., & Van Damme, P. (2011). Medicinal plants and medical practices in Burkina Faso: case of the Sanan. *Woods & Forests Of The Tropics*, 307, 41-53.

Zhang, J. M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International anesthesiology clinics*, 45(2), 27.

Zhang, Y., He, S., & Simpson, B. K. (2018). Enzymes in food bioprocessing—novel food enzymes, applications, and related techniques. *Current opinion in food science*, 19, 30-35.

Zhang, Y., Mo, L., Chen, F., Lu, M., Dong, W., Wang, Q., ... & Gu, F. (2014). Optimized production of vanillin from green vanilla pods by enzyme-assisted extraction combined with

pre-freezing and thawing. *Molecules*, 19(2), 2181-2198.

Zheng, R., Li, S., Zhang, X., & Zhao, C. (2021). Biological activities of some new secondary metabolites isolated from endophytic fungi: A review study. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 959.

Zhou, L. G., & Wu, J. Y. (2006). Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China. *Natural Product Reports*, 23(5), 789-810.

Zhu, B. J., Zayed, M. Z., Zhu, H. X., Zhao, J., & Li, S. P. (2019). Functional polysaccharides of carob fruit: a review. *Chinese medicine*, 14(1), 1-10.

Zhu, B., & Yin, H. (2015). Alginate lyase: Review of major sources and classification, properties, structure-function analysis and applications. *Bioengineered*, 6(3), 125-131.

Zunft, H. J. F., Lüder, W., Harde, A., Haber, B., Graubaum, H. J., & Gruenwald, J. (2001). Carob pulp preparation for treatment of hypercholesterolemia. *Advances in therapy*, 18(5), 230-236.

Résumé

Ceratonia siliqua, est un arbre populaire dans la région méditerranéenne appartient à la famille des légumineuses (*Fabaceae*). Ces gousses considérées comme la partie la plus importante en raison de la présence des métabolites secondaires qui exercent plusieurs propriétés biologiques importantes telles que des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Dans cette étude, des gousses de *C. siliqua*, achetées du commerce d'Ain Témouchent, ont été étudiées pour leur propriétés biologiques antioxydantes, anti-inflammatoires et enzymatiques.

Les résultats obtenus ont montré que les gousses de *C.siliqua* possèdent une activité catalasique qui permet de dégrader 6.58 mM d' H_2O_2 en 1 min 30 sec et une activité anti-radicalaire qui permet la dégradation du DPPH avec un IC₅₀ de 35.0576 mg/mL. Aussi ces gousses contiennent une activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine humaine et de l'ovalbumine (présence d'activité antiinflammatoire) d'une valeur de l'IC₅₀, respectivement, de 50.2578 mg/mL et de 47.4939 mg/mL, et elles sont dotées d'activités amylasiques et lipasiques avec, respectivement, des pHs optimaux de 5.5 et (7 et 8.5), des températures optimales de 40°C et 30°C, et une stabilité des 2 enzymes aux traitements thermique et acido-basique, l'activité gélatinase n'a pas été détectée.

Mots-clés : *Ceratonia siliqua*, gousses, propriétés antioxydantes, propriétés anti-inflammatoires, propriétés enzymatiques, enzymes.

Abstract

Ceratonia siliqua, is a popular tree in the Mediterranean region belongs to the legume family (*Fabaceae*). These pods considered to be the most important part due to the presence of the secondary metabolites which exert several important biological properties such as anticancer, antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties. In this study, *C. siliqua* pods, purchased commercially from Ain Témouchent, were studied for their antioxidant, anti-inflammatory and enzymatic biological properties.

The results obtained showed that the pods of *C.siliqua* have a catalase activity which makes it possible to degrade 6.58 mM of H_2O_2 in 1 min 30 sec and an anti-radical activity which allows the degradation of DPPH with an IC₅₀ of 35.0576 mg/mL . Also these pods contain inhibitory activity against the denaturation of human albumin and ovalbumin (presence of anti-inflammatory activity) with an IC₅₀ value of 50.2578 mg/mL and 47.4939 mg/mL, respectively. and they have amylase and lipase activities with, respectively, optimum pHs of 5.5 and (7 and 8.5), optimum temperatures of 40°C and 30°C, and stability of the 2 enzymes to thermal and acid-acid treatments. base, gelatinase activity was not detected.

Keywords : *Ceratonia siliqua*, pods, antioxidant properties, anti-inflammatory properties, enzymatic properties, enzymes.

ملخص

Ceratoniasiliqua، شجرة مشهورة في منطقة البحر الأبيض المتوسط تنتمي إلى عائلة البقوليات (فاباسي). تعتبر هذه القرون الجزء الأكثر أهمية لوجود المستقلبات الثانوية التي تمارس العديد من الخصائص البيولوجية الهامة مثل خصائص مضادة للسرطان ومضادات الأكسدة ومضادة للميكروبات ومضادة للالتهابات. في هذه الدراسة، تمت دراسة قرون *C. siliqua*، المشتراة تجارياً من عين تموشنت، لخصائصها البيولوجية المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات والأنزيمية.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن قرون *C.siliqua* لها نشاط الكاتالاز الذي يجعل من الممكن تحلل 6.58 ملي مولار من H_2O_2 في دقيقة واحدة و 30 ثانية ونشاط مضاد للجذور يسمح بتدهور DPPH باستخدام IC₅₀ من 35.0576 مجم / مل. تحتوي هذه القرون أيضاً على نشاط مثبط ضد تمسخ الزلال البشري والألبومين البيضاوي (وجود نشاط مضاد للالتهابات) بقيمة IC₅₀ تبلغ 50.2578 مجم / مل و 47.4939 مجم / مل على التوالي. ولديها أنشطة الأميليز والليباز مع، على التوالي، الأس الهيدروجيني الأمثل 5.5 و (7 و 8.5)، ودرجات الحرارة المثلى 40 درجة مئوية و 30 درجة مئوية، وثبات الإنزيمات 2 للمعاملات الحرارية والحمضية، ولم يتم الكشف عن نشاط الجيلاتيناز الأساسي.

الكلمات المفتاحية : *Ceratoniasiliqua*، القرون، خصائص مضادات الأكسدة، الخصائص المضادة للالتهابات، الخصائص الأنزيمية، الإنزيمات.