

الجمهورية الجزائرية
الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Ibn Khaldoun-Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de
la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité : "Génétique Moléculaire et Amélioration Des
Plantes "

Thème

**Etude de quelques propriétés biologiques des bétalaïnes et
anthocyanes des jeunes cladodes de la variété inerme de figuier
de barbarie (*Opuntia ficus indica*) Nopal.**

Présenté et soutenu publiquement par :

- ABBAS Yamina
- ALOUACHE Soumia

Devant le Jury:

- **Président** : Mme. SOUALMI. N
- **Examineur** : M. BOUBEKEUR. A.M
- **Promoteur** : M. MOUSSAOUI. B
- **Co-promoteur** : M. REGHIOUI. B

Grade :

- MCB
- MAA
- MAA
- Ingénieur d'état

Année universitaire : 2018 - 2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements



Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience de le réaliser.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs d'abord à notre promoteur M. MOUSSAOUI Badredine qui nous a fait l'honneur de nous inspirer ce sujet et nous guider tout au long de son élaboration, nous lui sommes très reconnaissantes, pour ses conseils, sa disponibilité, et surtout sa patience.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury; Dr. SOUALMI. N qui nous fait honneur par sa présence en qualité de président de jury et Dr. BOUBEKEUR. M. A qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de leur temps pour son évaluation.

Nous tenons à remercier toutes les laborantins et à leurs têtes notre co-promoteur M. REGHVOUI Bachir pour leur aide, leur gentillesse au quotidien et leur soutien dans les moments difficiles.

Nous remercions également notre ami TALAH Mohammed qui nous a beaucoup aidés et a toujours été un grand partisan.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci beaucoup.



Dédicaces

C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie :

A ma chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence et la source de tendresse. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A mon cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon époux Abdelhakim et sa famille

A mes frères et sœurs :

Farid, Mohamed, Khaled, Fatima, Nawal, Hanane, Asma et Nassima.

A mes neveux et nièces : Farouk, Rayane, Alaa, Islam, Amar, Oussama, Siradj, Younes, Sirine, Adem, Loudjaine, Lokman, Yamane.

A mes chères amies Amina ma coéquipière dans ce travail, Soumia et Zahira.

A tous les personnes qui portent le nom de famille ALOUACHE et GUELILIA petits et Grands.

ALOUACHE Soumia.



Dédicace

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père

ABBAS DJOBBAR,

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

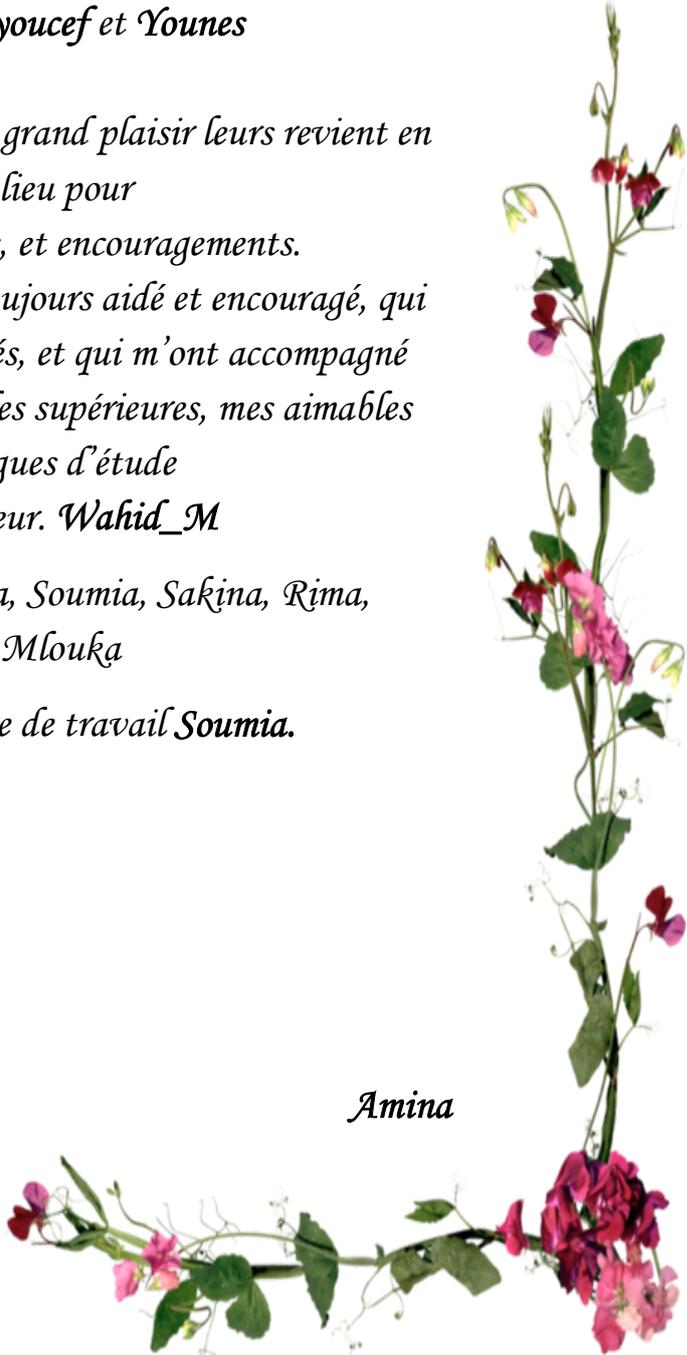
Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et mes sœurs, khaoula, hala youcef et Younes

et je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude et frères de cœur. Wahid_M

et Zahira, Habiba, Hiba, Soumia, Sakina, Rima, Rania ,Mlouka

et ma chère collègue de travail Soumia.



Amina

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction(1)

Partie bibliographique

I. Le figuier de Barbarie et ses cladode

I.1.figuier de barbarie:(2)

I.1.1 Définition et classification:(2)

I.1.2. Description morphologique:.....(2)

I.1.3.Intérêts:(3)

I.2. Les cladodes du figuier de Barbarie:(4)

I.2.1. Morphologie et histologie:(4)

I.2.2. Composition chimique:(5)

I.2.2.a) Glucides:(6)

I.2.2.b) Protéines:(6)

I.2.2.c) Acides gras:(6)

I.2.2.d) Minéraux:(7)

I.2.2.e) Acides organiques :(7)

I.2.2.f) Vitamines, caroténoïdes et chlorophylles:(7)

I.2.2.g) Composants phénoliques:(7)

I.2.2.h) Mucilage:(8)

I.2.3. Applications et bienfaits(8)

II:Les anthocyanes et les bétalaines

II.1. Les anthocyane(10)

II.1.1.Définition et structure:(10)

II.1.2. Source et localisation(12)

II.1.3. Fonctions des anthocyanes:(12)

II.1.4. Facteurs influençant les anthocyanes :.....(12)

II.1.4.1) Le PH :.....(12)

II.1.4.2) La température:.....(13)

II.1.4.3) Lumière:.....(13)

II.1.4.4) Oxygène:.....(13)

II.1.5. Vertus et utilisations :(13)

II.2. Les bétalaines :.....(15)

II.2.1. Définition:.....(15)

II.2.2. Structure moléculaire et classification:(15)

II.2.3. Biosynthèse:.....(17)

II.2.4. Localisation et sources végétales de bétalaines:(19)

II.2.5. Facteurs influençant les bétalaines:(19)

II.2.5.1) Le pH :.....(19)

II.2.5.2) La température:(19)

II.2.5.3) Lumière:	(19)
II.2.5.4) Oxygène:.....	(19)
II.2.5.5) L'activité de l'eau:	(20)
II.2.6. Importance des bétalains:	(20)

III: L'oxydation et l'inflammation

III.1. L'oxydation:	(21)
III.1.1. Les radicaux libres et le stress oxydatif:	(21)
III.1.2.Origines et sources:	(21)
III.1.3. Les effets du stress oxydatif:	(22)
III.1.4. les antioxydants:	(23)
III.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques:	(24)
III.1.4.2. Les antioxydants non enzymatiques:	(25)
III.1.4.2.a)Les antioxydants non-enzymatiques endogènes:.....	(25)
III.1.4.2.b)Les antioxydants non-enzymatiques exogènes:	(25)
III.2. L'inflammation:	(26)
III.2.1. L'inflammation et ses causes :	(26)
III.2.2. Les types de la réponse inflammatoire:	(26)
III.2.2.1. La réponse aiguë:.....	(26)
III.2.2.2. La réponse chronique:	(27)
III.2.3. Médiateurs de l'inflammation:.....	(27)
III.2.3.1. Médiateurs solubles:.....	(27)
III.2.3.2. Médiateurs cellulaires.....	(27)
III.2.4. Les anti-inflammatoires :.....	(30)
III.2.4.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens AINS:	(30)
III.2.4.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens (Glucocorticoïdes) AIS:	(30)
III.2.4.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale:	(30)

Partie expérimentale

IV. Matériel et méthodes

IV. 1. Objectif:.....	(32)
IV.2.Lieu et durée d'étude:	(32)
IV.3. Matériel:	(32)
IV.3.1. Matériel végétal:	(32)
IV.3.2. Matériel du laboratoire:	(33)
IV.4. Méthodes:	(34)
IV.4.1. Protocole expérimental:.....	(34)
IV.4.2. Préparation et caractérisation de l'extrait des jeunes cladodes d' <i>Opuntia ficus indica</i> :	(36)
IV.4.2.1. Préparation de la poudre:.....	(36)
IV.4.2.2. Extraction et dosage des anthocyanes :	(36)
IV.4.2.3. Extraction et quantification des bétalaines :.....	(36)

IV.4.3. L'activité anti-oxydante :	(37)
IV.4.3.1. Test DPPH:	(37)
IV.4.3.2. Dosage du pouvoir réducteur « FRAP »:.....	(38)
IV.4.3.3. Test de blanchissement de la β -carotène:	(39)
IV.4.4. Activité anti-inflammatoire :	(40)
IV.4.4.1. Inhibition de la dénaturation des protéines:.....	(40)
IV.4.4.2. inhibition de l'effet hémolytique sur les globules rouges:	(41)
IV.5. Analyse statistique :	(42)

V. Résultats et discussion

V.1. Quantification des pigments:	(43)
V.2. L'activité antioxydante:	(44)
V.2.1. Test anti-radicalaire (Test DPPH):	(44)
V.2.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP:FerricReducing Antioxydant Power):	(46)
V.2.3. Test de blanchissement de la β -carotène:	(49)
V.3. L'activité anti inflammatoire in vitro:	(51)
V.3.1. Activité sur la dénaturation des protéines:.....	(51)
V.3.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique:	(52)
Conclusion.....	(55)
Références bibliographiques.	
Résumé.	

Liste des figures

Figure 01: Opuntia ficus indica (variété inerme)	(2)
Figure 02: Schéma illustrant les différentes parties de figuier de barbarie	(3)
Figure 03: Les cladodes du figuier de Barbarie.....	(5)
Figure 04 : Structure générale des anthocyanes (Le cation flavylum)	(10)
Figure 05: Effet du PH sur la structure des anthocyanes.....	(14)
Figure06 : Structure de base des bétacyanines et des bétaxanthines et de leur bloc constitutif.....	(15)
Figure 07: Structures représentatives de la bétalaine	(16)
Figure 08: La voie de biosynthèse de bétalaines	(18)
Figure 09: Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires	(24)
Figure 10 : Formation du transsudat et d'exsudat	(29)
Figure 11 : processus de migration des neutrophiles a travers les vaisseaux sanguins.....	(29)
Figure 12 : mécanisme d'action des AINS.....	(31)
Figure 13: Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	(31)
Figure 14 : Lieu d'échantillonnage (Theniet el had – Tissemsilt)	(33)
Figure 15: diagramme du protocole expérimental	(35)
Figure 16 : évaporation de l'extrait des anthocyanes par un rotavapeur	(44)
Figure 17 : La courbe de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des anthocyanes (A) et bétalaines (B) des jeunes cladodes d'Opuntia et de l'acide ascorbique	(45)
Figure 18 : Comparaison des CI50 des pigments des cladodes et de l'acide ascorbique.....	(46)
Figure 19 : Evaluation de l'activité antioxydante d'extraits et d'acide ascorbique par la méthode FRAP	(48)
Figure 20 : les tubes à essai durant l'expérience de FRAP	(48)
Figure 21 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence de l'extrait de bétalaines, d'anthocyanes, de contrôle négatif et de l'acide ascorbique (contrôle +).....	(50)
Figure 22 : les tubes à essai du test de blanchissement de β -carotène	(50)
Figure 23 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA.....	(51)
Figure 24 : La comparaison entre effet de l'extrait de bétalaines, l'extrait d'anthocyanes et diclofénac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges	(53)

Liste des tableaux

Tableau 01: Principaux composants des cladodes du figuier de Barbarie	6
Tableau 02: Composition en polyphénols des cladodes de l'Opuntia ficus-indica	8
Tableau 03 : Les principaux anthocyanes des végétaux.....	11
Tableau 04: Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire.....	27
Tableau 05 : teneurs des bétalaines et des anthocyanes dans les jeunes cladodes d'opuntia	43

Liste des abréviations

- Aa** : activité anti oxydante
- ADN** : acide désoxyribonucléique
- AINS**: Anti-inflammatoire non stéroïdiens
- AIS** : Anti-inflammatoire stéroïdiens
- BC** : bétalaine concentration
- BSA** : Bovine sérum albumine.
- CAM** : molécule d'adhésion cellulaire
- Cdopa5GT**: Cyclo-dopa 5-o-glucosyltransferase
- CI50** : Concentration inhibitrice 50 %.
- D.O**: densité optique.
- DF** : facteur de dilution
- DODA** : Dioctadecyldimethylammonium chloride
- DOPA** : DihydroxyPhénylAlanine
- DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
- ERO** : espèces réactives oxygénées
- FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.
- LDL**: low density lipoprotein
- LOH**: lipide polyinsaturé alcool
- LOOH** : lipide polyinsaturé peroxydé
- nm** : nanomètre
- PBS** : La solution phosphate buffer saline.
- pH** : potentiel d'hydrogène
- Redox** : oxydoréduction
- ROS** : Reactive oxygen species = Espèces réactifs de l'oxygène.
- rpm** : Rotation par minute.
- SBA**: Serum Bovine Albumin.
- SEM** : standard écart moyen
- SOD** : superoxide dismutase
- ssp** : sous-espèce
- TAC** : concentration totale anthocyanes
- UV** : Ultraviolet.
- V/V** : Volume par volume.
- VIS** : visible



Introduction

Introduction

L'*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Communément appelée figuier de Barbarie ou nopal cactus, est une plante grasse appartenant à la famille des cactées; des véritables survivants à la sécheresse et aux conditions drastiques des climats arides et semi-arides, grâce à leurs capacités adaptatives étonnantes incluant des mutations morphologiques jumelées à des métamorphoses physiologiques et métaboliques. (ABBAS. Y , ALOUACHE. S , 2019)

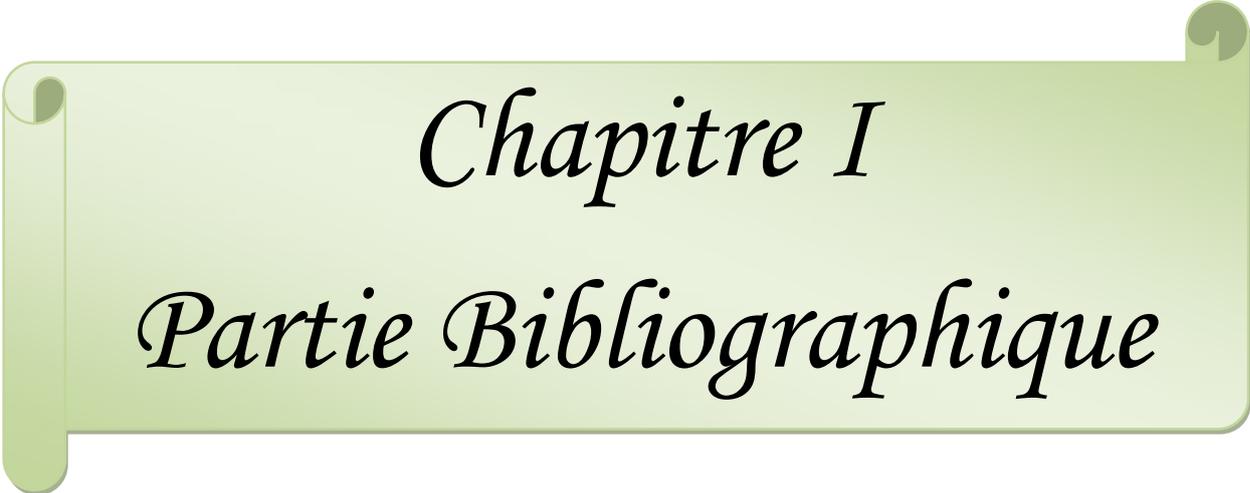
A l'instar de ses fruits délicieux, les autres parties végétales à l'image des raquettes commencent à attirer l'intention de tous les secteurs sans exceptions; un intérêt fortement justifié par ses qualités fonctionnelles et ses richesses phytochimiques. (ABBAS. Y , ALOUACHE. S , 2019)

Dès lors, cette fortune végétale encore délaissée suite aux attitudes d'ignorance dont la communauté connaisseuse y participe d'une grande part, mérite tout d'abord d'être réhabilitée scientifiquement comme mesure urgente, laissant ainsi de la place aux arguments analytiques pour plaider son importance éco-sociologique et médico-pharmaceutique. (ABBAS. Y , ALOUACHE. S , 2019)

Les jeunes cladodes en spécial et vu leur utilisation antique comme légume de valeur nutritive similaire aux légumes feuilles "les épinards et la laitue", sont exploités dans cette étude comme source de colorants naturels présumés, par plusieurs recherches, d'être des antioxydants et anti-inflammatoires efficaces. (ABBAS. Y , ALOUACHE. S , 2019)

Nous envisageons de procéder dans ce travail à:

- Une collecte de données théoriques sur l'*Opuntia* et ses cladodes, les pigments en question "les anthocyanes et les bétalaines" et les phénomènes d'oxydation et d'inflammation.
- Une extraction chimique et une quantification spectrophotométrique de ces teintes végétales; anthocyanes et bétalaines
- Une évaluation de l'efficacité antioxydante et anti-inflammatoire des pigments par des tests variés, dans le cadre d'une tentative de mettre en évidence les mécanismes existants probables cachés derrière ces activités thérapeutiques.



Chapitre I

Partie Bibliographique

Chapitre I: Le figuier de Barbarie et ses cladodes:

I.1. Fiquier de Barbarie:

I.1.1. Définition et classification:

Les scientifiques décrivent le genre *Opuntia* comme des angiospermes dicotylédones, appartenant à la famille des cactacées originaire des régions arides et semi-aride du Mexique, qui a été introduit en Afrique du nord vers le 16ème siècle (Wallace et Gibson, 2002; El Kossori *et al.*, 2008).

Le nom mexicain d'origine aztèque de la plante; Nopal, varie différemment selon l'idiome local: de (*Nopallito*, *Tuna*, *Higos de pala*), (*Ficode india*) et (*Barbaryfig*, *Devil tongue*) en Espagne, Italie et Angleterre; à (*Chardon des indes*, *figuier de francs*) chez les grecs, alors que la baptismation des arabes est (*Karrous en N'sarra*, *El-tin-el-choki*) (Schweizer, 1997).



Figure 1: *Opuntia ficus indica* (variété inerme) (Benattia, 2013).

I.1.2. Description morphologique:

Le figuier de barbarie est une plante arborescente qui peut atteindre de 3 à 5 mètres de haut, avec une organisation particulière en cladodes, couramment appelés « raquettes ». Ces cladodes sont des tiges modifiées de forme aplatie, de 30 à 40 cm de long, qui remplacent les feuilles dans leur fonction photosynthétique et dont la surface est parsemée d'alvéoles (Schweizer, 1997; Stintzing *et al.*, 2005 ; Feugang *et al.*, 2006).

L'appareil racinaire est superficiel, se concentre dans les 30 premiers centimètres du sol, mais en revanche très étendu (Mulas et Mulas, 2004).

Les fleurs sont à ovaire infère, avec de grandes corolles latérales jaunes, orange ou rouges. Un cladode fertile peut porter jusqu'à une trentaine de fleurs et ce nombre varie selon la position du cladode sur la plante et les facteurs physiologiques (Schweizer, 1997 ; Reyes-aguero *et al.*, 2006).

Ces fleurs donnent naissance aux fruits; une grosse baie (100 à 150g) ovale ou allongée et charnue, avec une pulpe juteuse, en générale contenant de nombreuses graines (polysémique). La couleur et la forme du fruit sont variables selon les variétés : jaune, rouge, blanche (Schweizer, 1997 ; Piga, 2004 ; Feugang *et al.*, 2006 ; Reyes-aguero *et al.*, 2006).

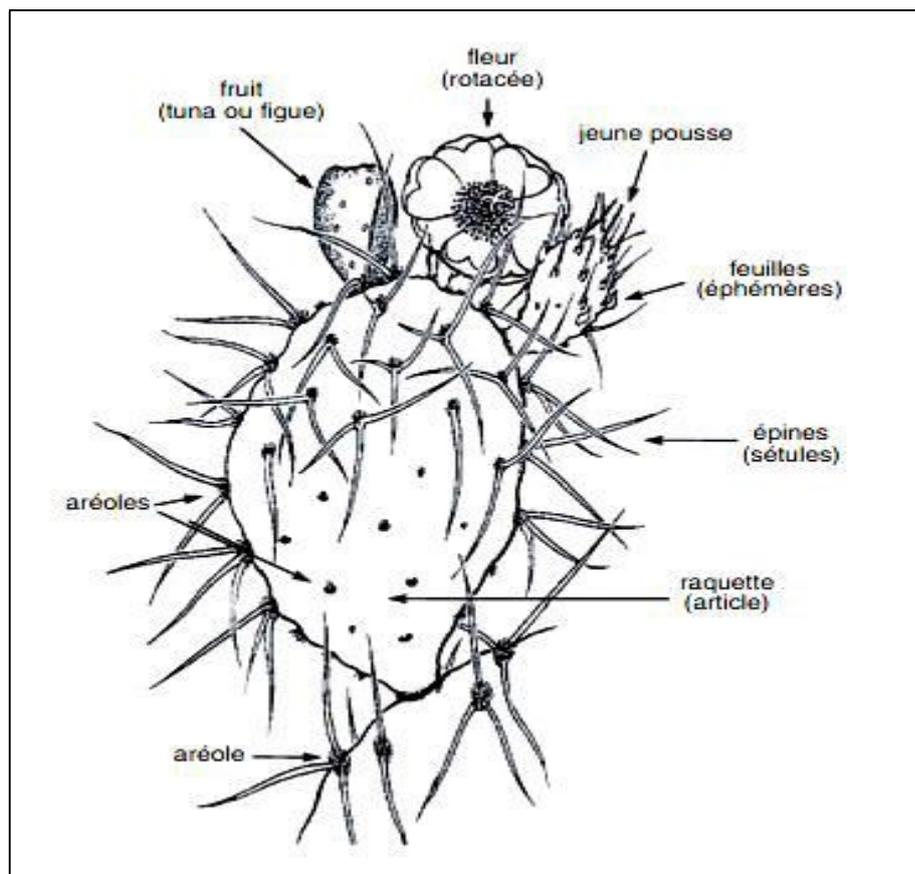


Figure 2: Schéma illustrant les différentes parties du figuier de Barbarie (Schweizer, 1999).

I.1.3. Intérêts:

Les différentes composantes du figuier de barbarie (fleurs, raquettes, fruits) présentent de multiples intérêts économiques, écologiques et médico-cosmétologiques.

Le figuier de barbarie est utilisé pour lutter contre l'érosion hydrique et éolienne comme il constitue des haies vives qui permettent la fixation des terrains ravinés par les pluies et stabilisent les terres sablonneuses. Il est ainsi infranchissable aux animaux sauvages, il résiste au feu et peut être utilisé comme obstacle à la propagation des incendies (Araba *et al.*, 2000). Par sa présence,

l'Opuntia aide à la régénération des sols épuisés par l'agriculture intensive, et chaque partie de la plante constitue un excellent fertilisant (**Schweizer, 1997**).

Ses fruits comestibles riches en sucre, minéraux et vitamines, sont commercialisés à l'état frais ou transformé : séchés, congelés, sous forme de confit, de jus et d'alcool (**Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**). Les fruits de couleur rouge ou pourpre contiennent de la bétalaine, un pigment utilisé principalement comme colorant d'aliments qui ne requièrent pas de traitement thermique tels que les glaces alimentaires, les yaourts et les friandises (**Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**). En plus, l'huile polyinsaturée extraite de ces graines est intéressante en raison de ses particularités cosmétiques recherchées, conférées par sa teneur en acide gras insaturé, en stérols et tocophérols. Cette caractéristique explique son exploitation comme crème dermique contre le vieillissement de la peau, vu ses effets bénéfiques sur l'élasticité et la restauration de la structure cutanée (**Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**).

Cette plante peut servir par ailleurs à une source d'additifs en gélules ou capsules pour le traitement de l'obésité, de l'hypercholestérolémie, de la constipation et des coliques (**Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**).

En apiculture, la floraison abondante de l'Opuntia peut s'étendre de 3 à 6 mois selon la région et la variété, ce qui attire les abeilles en masses par leurs grandes fleurs de couleur jaune, leur pollen abondant et leur nectar, et assure leur activité pour une bonne période de l'année (**Arba, 2009**).

I.2. Les cladodes du figuier de Barbarie:

I.2.1. Morphologie et histologie:

Les raquettes de cactus ou cladodes, synonymes de « Nopales », sont des tiges modifiées ayant une couleur verte mate, et une forme ovoïde aplatis d'une longueur entre 15 et 25 cm et une largeur entre 9 et 13 cm. Elles sont recouvertes d'épines (feuilles modifiées) et de poils ou trichomes multicellulaires formant l'aréole qui est considéré comme une caractéristique des membres de la famille des cactacées (**Anderson, 2001**).

Les épines mesurent 1 à 3 cm de longueur et forment 8,4% du poids total de la cladode. Leurs fonctions comprennent la protection mécanique face aux herbivores, la réflexion de la lumière, l'ombre pour la tige, mais elles permettent essentiellement la réduction de la perte en eau et que la condensation du brouillard (**Anderson, 2001**).



Figure 03 : Les cladodes du figuier de Barbarie (Benattia, 2013).

I.2.2. Composition chimique:

La composition chimique des cladodes varie en fonction des facteurs édaphiques, l'endroit de la culture, la saison et l'âge de la plante. Par conséquent, les teneurs en éléments nutritifs respectifs varient à la fois entre les espèces et les variétés et ils ne devraient pas être pris comme des valeurs absolues (Tableau 01) (Stintzing et Carle, 2005).

Tableau 01: Principaux composants des cladodes du figuier de Barbarie (Stintzing et Carle, 2005).

Composants	Matière sèche (g/100g)	Poids frais (g/100g)
Eau	-	88-95
Glucides	64-71	3-7
Cendres	19-23	1-2
Fibres	18	1-2
Protéines	4-10	0,5-1
Lipides	1-4	0,2

I.2.2.b) Glucides:

La teneur en glucides est comprise entre 64 et 71 g /100 g par rapport au poids sec. Des variations peuvent dues aux facteurs agronomiques et environnementaux ainsi qu'à l'âge de la cladode dont les jeunes sont plus riches en glucides (**Ginestra et al., 2009**).

La teneur moyenne de la cellulose, l'hémicellulose et la lignine dans les cladodes par rapport à la matière sèche est de 11%, 8% et 3,9% respectivement, alors que celle de l'amidon fluctue en fonction des saisons et atteint une moyenne de 85 à 171 mg/ g de poids sec (**Retamal et al., 1987; Ben-Thlija, 2002**).

I.2.2.c) Protéines:

La teneur en protéine est estimée de 0,5 g/100g de poids sec par **Teles et al, (1997)**, alors qu'elle varie entre 77-112 mg/ g de poids sec en fonction du mois de récolte pour **Retamal et al., (1987)**. Les principaux acides aminés des cladodes du figuier de Barbarie dénombré de 18 sont la glutamine, suivie par la leucine, la lysine, la valine, l'arginine, la phénylalanine et l'isoleucine (**Bruckner et al., 2003; El-Mostafa et al., 2014**).

I.2.2.d) Acides gras:

La fraction lipidique des cladodes d'opuntia est dominée à 90% par quatre acides gras: l'acide linoléique (C18: 2) 34,87%, l'acide linoléique (C18: 3) 32,83%, l'acide palmitique (C16: 0)13,87% et l'acide oléique (C18: 1) 11,16%. Les deux premiers constituent les principaux acides gras polyinsaturés (67,7%) (**Abidi et al., 2009**).

I.2.2.e) Minéraux:

Le potassium est le principal minéral puisqu'il occupe 60% de la teneur totale en cendres, suivie par le calcium, sodium et le fer (166mg, 93mg, 2mg et 1,6mg /100 g de poids frais respectivement) (**Munoz de chaves et al., 1995**). Encore une fois, ces valeurs doivent être considérées comme approximatives puisque elles varient avec les espèces, le site de culture et l'état physiologique du tissu de cladode (**Stintzing et Carle, 2005**).

I.2.2.f) Acides organiques;

On rencontre principalement l'acide malique (95 à 985 mg/100 g poids frais), à côté de l'acide malonique et l'acide citrique qui représentent respectivement 36 et 178 mg /100g de poids frais. Cependant les deux acides phorbique et piscidique caractérisant les plantes au métabolisme acide succulent (CAM) sont aussi présents (**Teles et al., 1984; Stintzing et Carle, 2005**).

I.2.2.g) Vitamines, caroténoïdes et chlorophylles:

La teneur des principales vitamines présentes dans 100 g de matière fraîche de cladode est de l'ordre de 22 mg pour la Vitamine C (acide ascorbique et déhydroascorbique), et elle atteint 53,5µg, 0,14mg, 0,6mg et 0,46mg pour le b-carotène, la thiamine, la riboflavine et la niacine (Stintzing et Carle, 2005). En ce qui concerne le profil des caroténoïdes, il y'a présence d'α-cryptoxanthine (20%), du β-carotène (36%) et de la lutéine (44%) sachant que le tout englobe une somme de 229 µg/ g de poids sec total (Jaramillo-Flores et al., 2003).

La Chlorophylle totale dans les cladodes est estimée à 12,5 mg/ 100g de poids frais, sachant que la teneur en chlorophylle (a) est de 9,5 mg dépassant la chlorophylle (b) avec 3,0 mg (Guevara et al., 2001).

I.2.2.h) Composants phénoliques:

La teneur en polyphénols totaux dans les cladodes mexicains représentent 8 à 9 mg/ 100 g de poids frais (Rodrigues-Felix, 2002).

Les acides phénoliques détectés dans les raquettes sont (acide ferulique, acide p-Coumarique, acide 4-Hydroxybenzoïque, acide caféique, acide salicylique, acide gallique), quant aux flavonoïdes présents, on cite (rutine, iso-quercitrine, nicotiflorine, narcissine) (Guevara Figueroa et al., 2010).

Les acides phénoliques détectés dans les raquettes sont (acide ferulique, acide p-Coumarique, acide 4-Hydroxybenzoïque, acide caféique, acide salicylique, acide gallique), quant aux flavonoïdes présents, on cite (rutine, iso-quercitrine, nicotiflorine, narcissine) (Guevara Figueroa et al., 2010).

Tableau 02 : Composition en polyphénols des cladodes de *Opuntia ficus-indica* (El-Mostafa et al., 2014).

Polyphénols	Matière sèche (mg / 100 mg)
Acide gallique	0,64-2,37
Coumarique	14,08-16,18
3,4- dihydroxybenzoïque	0,06-5,02
4-hydroxybenzoïque	0,5-4,72
Acide ferulique	0.56-34,77
Isoquercetine	2,29-39,67
Isorhamnetin-3-O-glucoside	4,59-32,21
Nicotiflorine	2,89-146,5
Rutine	2,36-26,17
Narcissine	14,69-137,1

I.2.2.i) Mucilage:

C'est une substance polymérique complexe de nature glucidique, avec une structure fortement ramifiée, produite dans les cellules du chlorenchyme (partie externe verte de la cladode) et du parenchyme (partie interne blanche de la cladode) et aide le cactus à retenir l'eau avec une capacité de stockage qui atteint 50% de leur poids total. (Sutton *et al.*, 1981; Sáenz *et al.*, 2004; Sepúlveda *et al.*, 2007). Cette matière épaisse et gommeuse, occupent 36% du volume total de la cladode, est composée de 42% d'arabinose, 22% de xylose, 21% de galactose, 8% d'acide galactose turonique et 7% de rhamnose (Sáenz *et al.*, 2004)

I.2.3. Applications et bienfaits:

Les jeunes cladodes ou « Napolitos », tendres et fibreuses et offrant une valeur nutritive similaire à celle d'un grand nombre de légumes par leur richesse en eau, en hydrates de carbone, en protéines, en vitamine C et β -carotène; sont consommées l'état frais ou après cuisson en tant que légume vert, ou même en dérivé de transformation comme étant une confiture, cornichon, cladodes confits ou frites, au vinaigre ou en saumure. (Stintzing *et Carle*, 2005; Arba, 2009)

Traditionnellement, les cladodes de cactus contribuaient considérablement et servent jusqu'à présent comme des agents thérapeutiques en médecine populaire. Elles sont utilisées pour le traitement de la gastrite, de la fatigue, de la dyspnée et des maladies du foie suite à l'abus d'alcool (Stintzing *et Carle*, 2005). Les cladodes chauffées ont été utilisées pour traiter le rhumatisme, les érythèmes et les infections chroniques de la peau, mais aussi pour améliorer la digestion et améliorer le processus général de désintoxication (Munoz de Chavez *et al.*, 1995). Récemment, des effets positifs des cladodes ont été démontrés sur l'hyperglycémie, l'hypercholestérolémie, l'acidose et l'artériosclérose (Gebhardt, 2003; Stintzing *et Carle*, 2005; Arba, 2009).

Les raquettes sont, en outre, exploitées en cosmétologie, dans la fabrication de shampoings, assouplissants pour cheveux, de crèmes et de laits hydratants pour le visage (Fernandez *et al.*, 1990; Arba *et al.*, 2000; Eshun *et al.*, 2004).

L'utilisation de ces raquettes s'étale à la l'alimentation de bétails sous forme de réserve fourragère pour les périodes de transition (automne) et lors des années de sécheresse, et elle représente également sa deuxième importance économique (Habibi, 2004; Stintzing *et Carle*, 2005).

Cependant, la production du colorant très recherché; le rouge carmin (acide carminique), par intensification d'élevage des cochenilles sur les raquettes d'Opuntia, et la production du biogaz par fermentation naturelle de ces dernières, restent des utilisations courantes d'une longue liste non

exhaustive des exploitation de cette partie de cactus (**Araba et al., 2000; Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime, 2010**).

Chapitre II

Les anthocyanes et les bétalains

Chapitre II: Les anthocyanes et les bétalaïnes

II.1. Les anthocyanes:

II.1.1. Définition et structure:

Les anthocyanes; du grec (*anthos*) fleur et *Kuanos* (bleu violet) sont des pigments naturels responsables des colorations oranges, roses, rouges, violettes et bleues brillantes des fleurs et des fruits de nombreuses plantes. Ce groupe appartenant à la famille des flavonoïdes, est probablement le plus important des pigments végétaux visibles en plus de la chlorophylle. (Turker et al., 2004; Bessas et al., 2007; Jin et al., 2008; Valls et al., 2009).

Ces molécules sont principalement des glycosides de dérivés polyhydroxy et polyméthoxy de la structure de base "2-phénylbenzopyrylium" ou de sels de flavylum (Jin et al., 2008). Ce noyau central "aglycone" joue le rôle du chromophore, et il subit une glycosylation par des différents oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose) ou hétérosides pour donner plus de 400 anthocyanes recensés récemment dans la nature, et subdivisés en six classes principales: les cyanidines, les pélagonidines, les delphinidines, les malvidines, les péonidines et les pétunidines. (Jin et al., 2008; Samouelian et al., 2009).

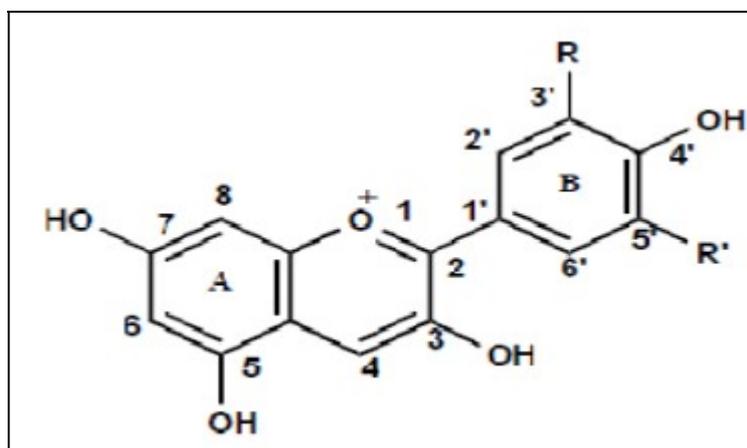
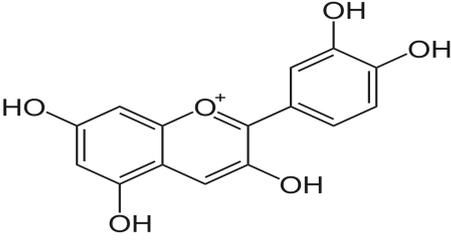
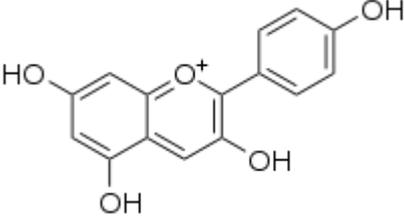
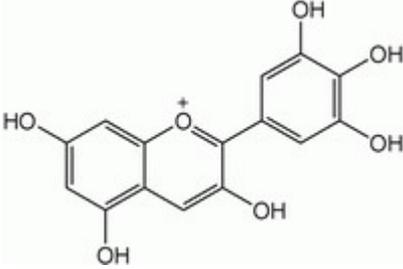
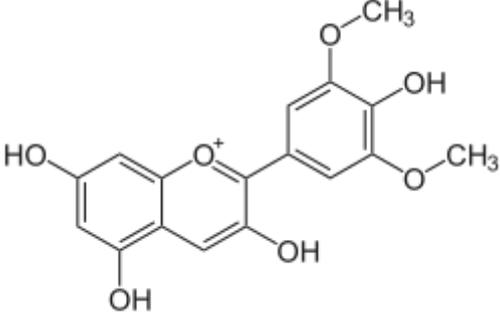
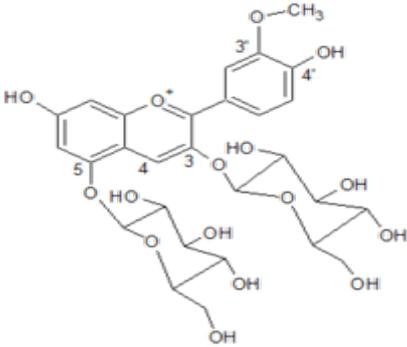
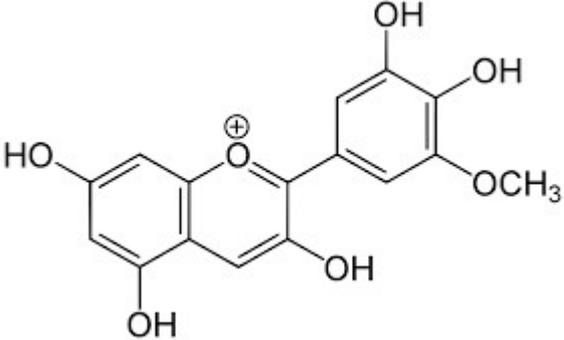


Figure 04 : Structure générale des anthocyanes (Le cation flavylum) (Kanoun, 2007)

Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule (Tableau 03). Ces variations aboutissent à une modulation de couleur entre ses molécules (Stintzing et Carle, 2004; Bessas et al., 2007).

Tableau 03: Les principaux anthocyanes des végétaux (Corrales Moreno, 2008; Yahlaoui, 2012).

	
Cyanidine (R1=R2=H) rouge	Pélargonidine (R1=R2=H) Orange_rouge
	
Delphinidine (R1=R2=OH) Bleue_violette	Malvidoine (R1=R2=OCH3) mauve
	
Péonidine (R1=OCH3.R2=H) Rose	Pétunidine (R1=OCH3.R2=OH) violette

II.1.2. Source et localisation:

Les anthocynes sont présents en abondance dans les fruits et les baies, et en moindre quantité dans les autres parties de la plante (tige, feuille, racine, bois et graines). Ils sont le plus grand et le plus divers groupe de colorants hydrosolubles des plantes. Ils se transfèrent après glycosylation dans les vacuoles des cellules les plus externes (épidermes et hypodermes) par des mécanismes de transport actif et s'accumulent sous forme de structures sphériques pigmentés appelées anthocyanoplastes. (Gould *et al.*, 2004; Kuti, 2004; Bessas *et al.*, 2007; Gould *et al.*, 2009; Kopjar *et al.*, 2009; Oren-Shamir, 2009)

II.1.4. Fonctions des anthocyanes:

Les anthocyanes sont des composés phénoliques, qui constituent la fraction la plus importante du métabolisme secondaire des plantes. En plus de leur rôle essentiel de pigmentation, ils sont diversement impliqués dans la physiologie végétale et les interactions plantes- environnement (Cavalcanti *et al.*, 2011).

Ils agissent comme attracteurs des pollinisateurs, des protecteurs thermiques contre le gel et les hautes températures et des agents de résistance à la prédation. Par ailleurs, ils participent dans la gestion du métabolisme énergétique, dans la lutte contre le stress physico-chimique et hydrique suite à leur activité osmotique qui améliore l'état hydrique des plantes. Quant à l'effet photoprotecteur, , elles réduisent la photoinhibition et la photo-oxydation en absorbant les UV et protéger l'ADN et les composants cellulaires (Lee et Lowry, 1980; Burger et Edwards, 1996; Chalker-Scott, 1999; Samouelian *et al.*, 2003; Valls *et al.*, 2009; Shipp *et al.*, 2010; Cavalcanti *et al.*, 2011).

II.1.5. Facteurs influençant les anthocyanes:

II.1.5.1) Le pH:

La coloration des anthocyanes est très tributaire de l'acidité du milieu : elle est rouge en milieu acide, bleue en milieu neutre ou alcalin mais incolore en milieu très alcalin (Malien-Aubert *et al.*, 2001; Yahlaoui, 2012)

Ces changements de couleur sont dus à des réactions d'équilibre entre différentes formes structurales, en fonction du pH (figure 4); à pH=1, le cation flavylium (couleur rouge) est l'espèce prédominante et contribue aux couleurs pourpres et rouges. Les espèces bleues sont prédominantes à des valeurs de pH comprises entre 2 et 4, alors qu'à des valeurs de pH entre 5 et 6, on observe des espèces incolores. Pour un pH > 7, les anthocyanes sont dégradés selon leurs groupes de substituants (Neill, 2002; Cavalcanti *et al.*, 2011).

II.1.5.2) La température :

La stabilité d'anthocyanes est affectée par la température, et leur taux de dégradation augmente parallèlement à son élévation. La hausse de la température à des valeurs de pH 2-4 induit la perte des parties glycosyliques des anthocyanes, ce qui aboutit à l'apparition des aglycones et à la perte de couleur des anthocyanes (**Rein, 2005**).

II.1.5.3) Lumière:

La lumière affecte paradoxalement les anthocyanes de deux manières différentes : elle est essentielle pour leur biosynthèse, mais elle accélère également leur dégradation. Leur stabilité pendant le stockage est affectée par la lumière et particulièrement en présence de sucre d'où la nécessité d'assurer les conditions d'obscurité durant leur conservation (**Cavalcanti et al., 2011**).

II.1.5.4) Oxygène:

L'oxygène est un effecteur majeur dans les processus de dégradation des anthocyanes, par le biais d'un mécanisme d'oxydation directe ou par l'action d'enzymes oxydants qui réagissent avec les anthocyanes pour donner des produits incolores ou bruns (**Cavalcanti et al., 2011**).

II.1.6. Vertus et utilisations:

La fonction la plus importante des anthocyanes est leur capacité à donner de la couleur aux végétaux où ils se produisent. Elles jouent un rôle certain dans l'attraction des animaux pour la pollinisation et la dispersion des graines et donc ils ont une valeur considérable dans la coévolution de ces interactions plantes-animaux (**Kong et al., 2003**). Les anthocyanes sont largement reconnus pour leur pouvoir chimio-protecteur attribué à l'activité antioxydante proportionnelle au nombre d'hydroxyles libres, qui est parfois supérieure à celle de la vitamine E (**Macheix et al., 2006**).

En plus de leurs fonctions dans le déclin cognitif et la dysfonction neuronale, ils protègent l'ADN contre les dommages oxydatifs par co-pigmentation (**Kong et al., 2003**). D'après **Giusti et Wrolstad, (2003)** et **de Rosso et Mercadante, (2007)**; les anthocyanes possèdent un effet contre la fragilité capillaire, voir vaso-protecteur et antiinflammatoire où ils maintiennent la perméabilité vasculaire à l'état normal et inhibent l'agrégation des plaquettes.

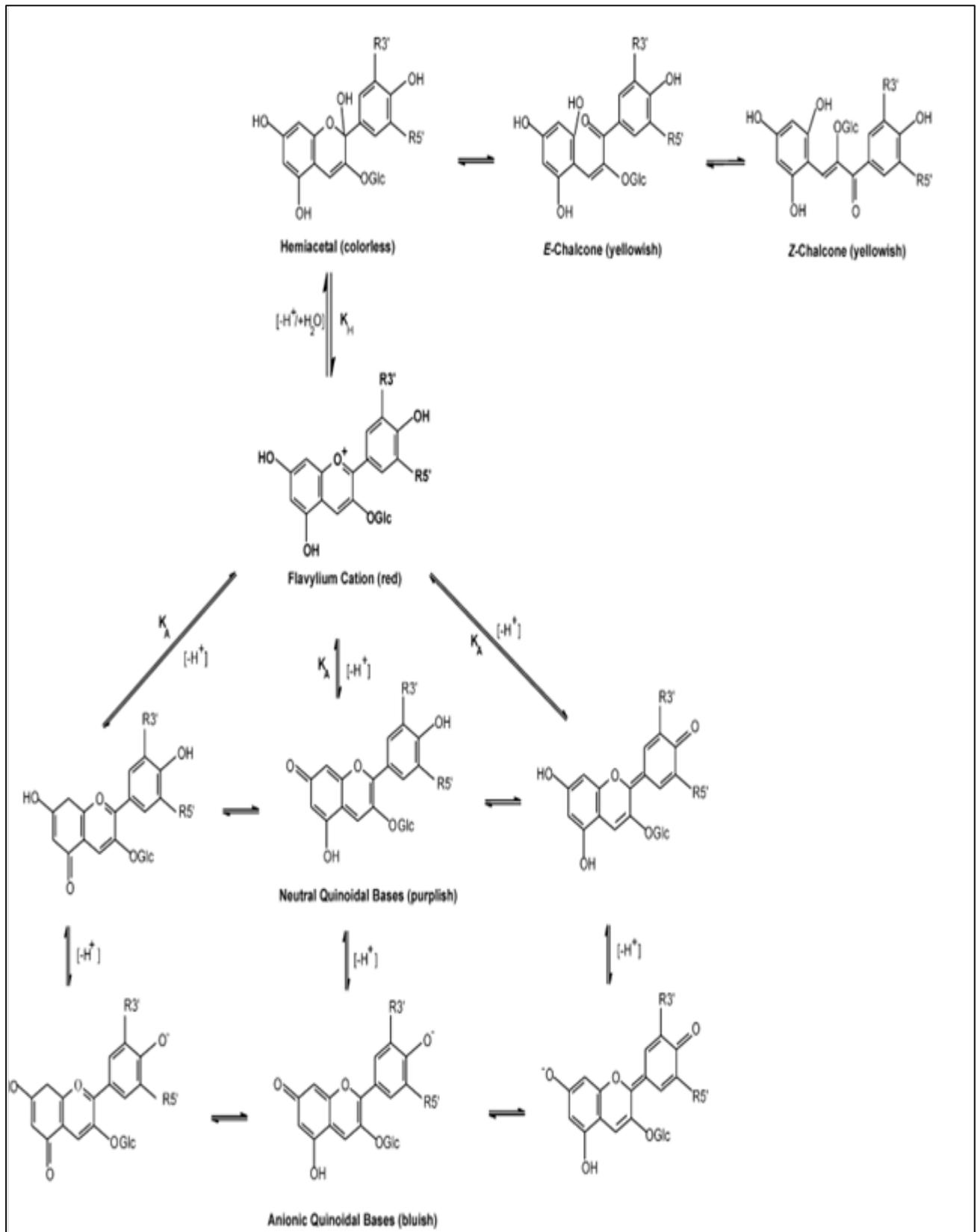


Figure 05: Effet du pH sur la structure des anthocyanes (Stintzing et Carle, 2004).

II.2. Les bétalaïnes:

II.2.1. Définition:

Les bétalaïnes sont des pigments hydrosolubles contenant de l'azote, et contrairement aux autres classes de pigments "anthocyanine et caroténoïde" omniprésentes, elles sont assez rares dans la nature et sont limités à un seul ordre de plante, à savoir, Caryophyllales. Les betalains portent souvent le nom de l'espèce à partir de laquelle ils ont été isolés.

(Heuer et *al.*, 1994; Strack et *al.*, 2003; Cai et *al.*, 2005; Tanaka et *al.*, 2008; Gandia-Herrero et *al.*, 2010a; Polturak et Aharoni, 2018).

II.2.2. Structure moléculaire et classification:

Toutes les betalains sont basés sur un édifice unitaire commun: l'acide betalamique; un chromophore dérivé de la tyrosine, et qui par condensation avec des dérivés DOPA-cyclique, ou avec divers acides aminés et autres amines, forme les bétacyanines ou les bétaxanthines respectivement (Polturak et Aharoni, 2018).

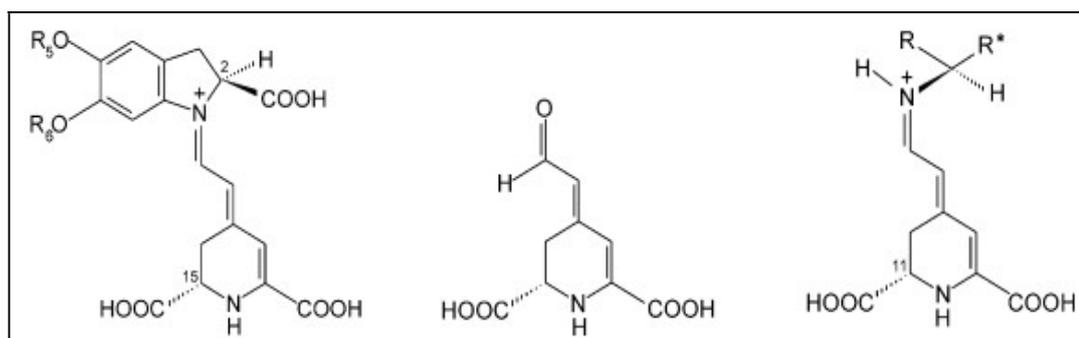


Figure 06: Structure de base des bétacyanines (à gauche) et des bétaxanthines (à droite) et de leur bloc constitutif, l'acide bétalamique (au centre) (Stintzing et Carle, 2004)

Sur la base de leurs caractéristiques structurelles provenant des réactions de glucosylation, d'acylation, de décarboxylation et d'isomérisation, et des propriétés de l'absorption de la lumière, les bétalaïnes sont généralement classés en deux groupes; les bétacyanines (rouge- violet) ayant une absorption maximale à 535–538 nm, et les bétaxanthines (jaunes) montrant généralement un maximum d'absorption à 460–480 nm (Steglich et Strack, 1990; Stintzing et Carle, 2004; Khan et Giridhar, 2015; Polturak et Aharoni, 2018).

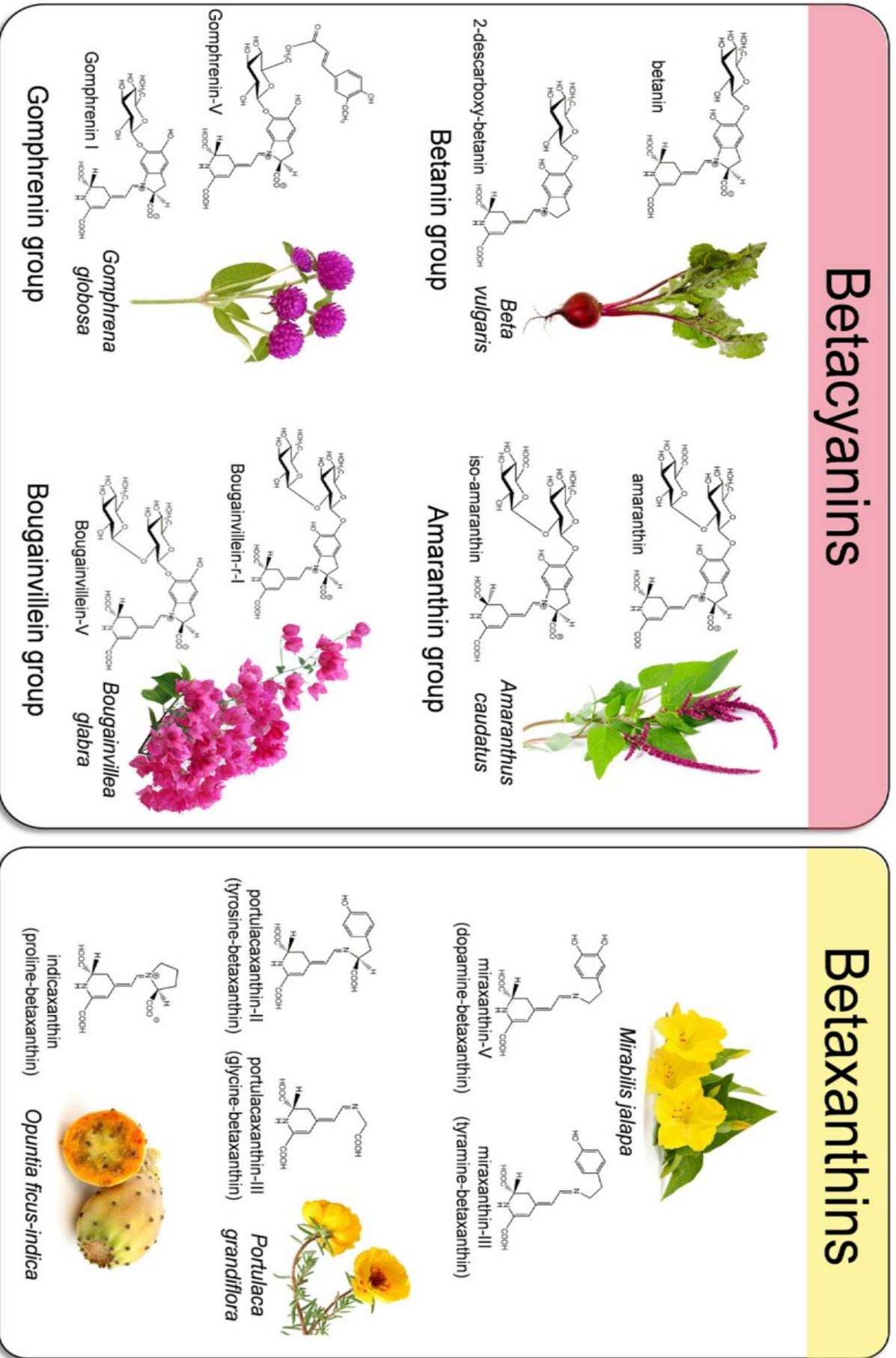


Figure 07: Structures représentatives de la bétalaine "betanin (betanidin 5-O-b-glucoside), gomphrenin (betanidin 6-O-b-glucoside), amaranthin (5-O-b-glucuronosylglucoside), and bougainvillein (betanidin 5-O-b-sophoroside or betanidin 6-O-b-sophoroside)" (Polturak et Aharoni, 2018).

La classe des bétaxanthines comporte un seul groupe, alors que la catégorie des bétacyanines contient peut être subdivisée en quatre groupes comprenant les bétanines, gomphrénines, amaranthines et bougainvilleines (**Figure 07**) (**Steglich et Strack, 1990**).

A ce jour, 75 structures de betalains ont été identifiés sans ambiguïté sur 17 familles différentes de plantes, et ce nombre est en augmentation constante en raison de l'introduction de nouvelles technologies analytiques et du développement de meilleures méthodologies en chromatographie liquide et en spectrométrie de masse (**Sekiguchi et al., 2013; Khan et Giridhar, 2015**)

II.2.3. Biosynthèse:

La biosynthèse de la bétalaïne se compose de plusieurs réactions chimiques catalysées enzymatiquement (**Polturak et al., 2018**):

- Elle commence par une réaction catalysée par la tyrosine hydroxylase transformant la tyrosine en L-3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA), qui à son tour, via la 4,5-DOPA dioxygénase (DODA), produit l'acide bétalamique. Sous l'effet de ces hydroxylases, la L-DOPA peut conduire aussi à la synthèse des cyclo-DOPA (**Hatlestad et al., 2012; Herrero et Carmona, 2012; Polturak et al., 2016; Sunnadeniya et al., 2016**);
- La L-DOPA peut également produire de la DOPA-quinone sous l'oxydation du polyphénol oxydase, et puis rétrécissent pour former la cyclo-DOPA, qui est le substrat universel pour la production de bétalaïnes (**Sullivan, 2014**);
- Les B5GT et B6GT convertissent la bétanidine en bétanine tandis que les cDOPA5GT catalysent la glycosylation de cyclo-DOPA (**Vogt et al., 1997; Vogt et al., 1999; Sasaki et al., 2005**);
- La formation de la bétaxanthine nécessite la liaison spontanée d'acide bétalamique et d'amines d'acides aminés, tandis que la bétacyanine est formé par l'acétylation de la bétanine provenant elle-même de la glycosilation de la bétanidine issue de la liaison entre la cyclo-DOPA et l'acide bétalamique (**Schliemann et al., 1999; Strack et al., 2003**);
- Cependant, chez certaines plantes de Caryophyllaceae, le cyclo-DOPA-5-O-glucoside peut également se lier directement à l'acide bétalamique pour former de la bétanine spontanément (**Sasaki et al., 2004; Sasaki et al., 2005**).

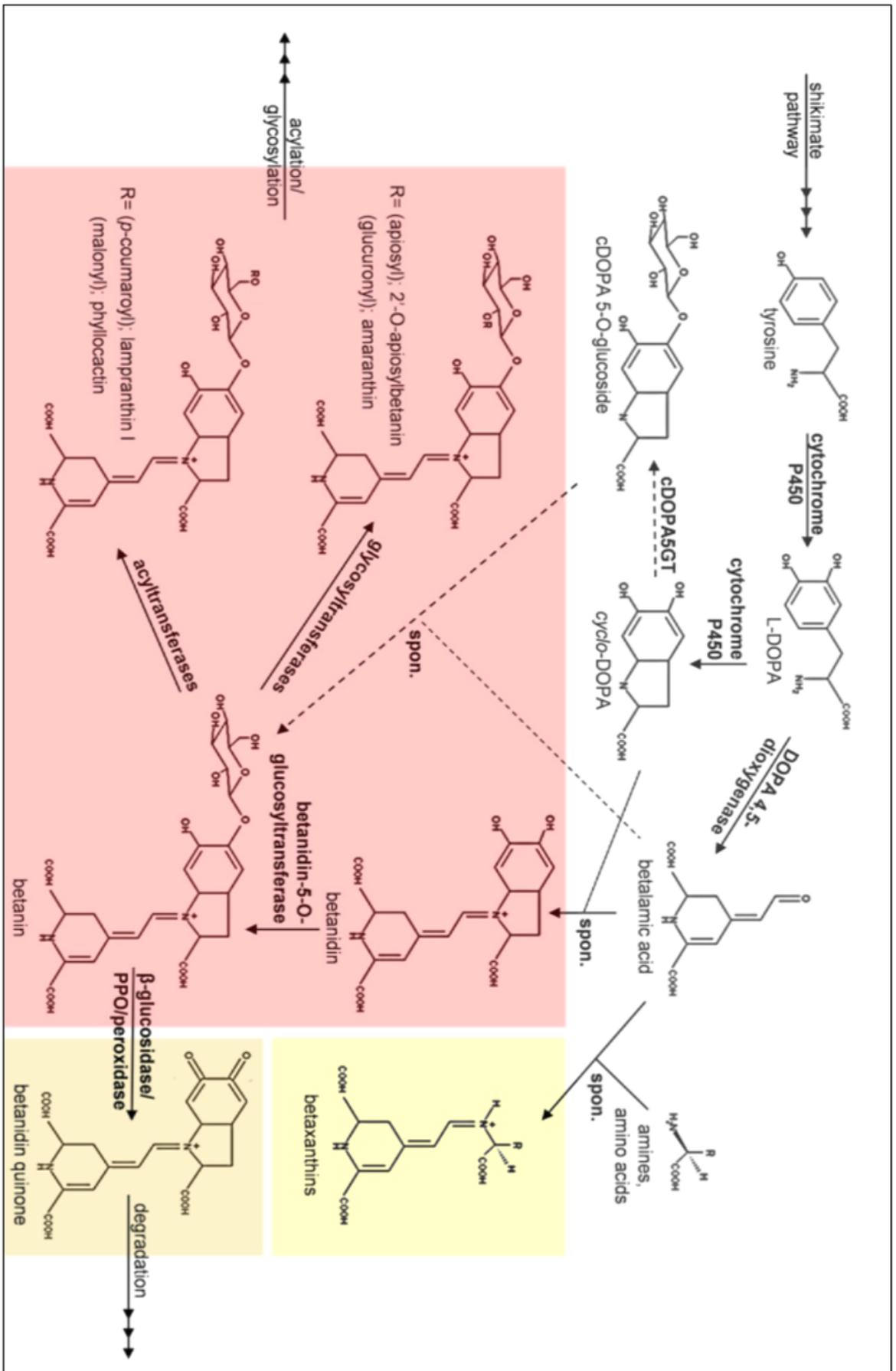


Figure 08: La voie de biosynthèse de la bétalaine (Polturak et Aharoni, 2018).

II.2.4. Localisation et sources végétales de bétalaïnes:

Les bétalaïnes se trouvent non seulement dans les parties comestibles des plantes, mais également dans les feuilles, les fleurs, les tiges et les bractées (**Heuer et al., 1994; Schliemann et al., 1996; Wang et al., 2007; Ganda-Herrero et al., 2009b**).

Les sources comestibles connues pour les bétalaïnes sont les betteraves rouges et jaunes (*Beta vulgaris* L. ssp. *Vulgaris*), bette à carde colorée (*Beta vulgaris* L. ssp. *Cicla*), amarante à grains ou à feuilles (*Amaranthus* sp.), en plus des fruits de cactus, tels que ceux des genres *Opuntia ficus indica* et *Hylocereus polyrhizus* L'indicaxanthine de poire des espèces jaunes d'*Opuntia* a été le premier pigment jaune structurellement caractérisées (**Cai et al., 1998; Stintzing et al., 2002b; Kugler et al., 2004; Vaillant et al., 2005**).

II.2.5. Facteurs influençant les bétalaïnes:

II.2.5.1) Le pH:

Bien que modifiant leur charge lors des changements de pH, les bétalaïnes ne sont pas aussi sensibles au clivage hydrolytique comme les anthocyanes, et elles sont relativement stables sur une large plage de pH de 3 à 7 (**Jackman et Smith, 1996**).

II.2.5.2) La température :

Plusieurs études ont démontré que la hausse des températures augmente le taux de dégradation des bétalaïnes, et la placent comme le facteur le plus important sur leur stabilité (**Saguy et al., 1978; Havliková et al., 1983; Garcia Barrera et al., 1998**).

II.2.5.3) Lumière:

La stabilité de la bétalaïne serait altérée par l'exposition à la lumière, mais la dégradation induite dépend de l'oxygène, car elle est négligeable dans des conditions anaérobies (**Von Elbe et al., 1974; Huang et von Elbe, 1986; Attoe et von Elbe, 1981; Cai et al., 1998**).

II.2.5.4) Oxygène:

Les bétalaïnes réagissent avec l'oxygène moléculaire, et leur stabilité a été meilleure en présence d'antioxydants ou dans une atmosphère d'azote (**Attoe et von Elbe, 1982; Attoe et von Elbe, 1985; Altamirano et al., 1992; Han et al., 1998; Drunkler et al., 2006**).

II.2.5.5) L'activité de l'eau a_w :

La stabilité de la bétalaïne est affectée de manière exponentielle par a_w , un effet attribué à la mobilité des réactifs ou à solubilité de l'oxygène (**Saguy et al., 1984; Delgado-Vargas et al., 2000; Herbach et al., 2006b**).

II.2.6. Importance des bétalaïnes:

Les Bétalains assument de nombreux rôles dans la plante comme les anthocyanes; tout en procurant l'avantage de stabilité de leur couleur et son indépendance au pH. Elles sont capables de doter un large éventail de tissus végétaux, notamment les feuilles, la tige, les fruits, fleurs, racines et graines de couleur rouge-violet et jaune-orange (**Jain et Gould, 2015. Herrero et Carmona, 2013**).

Elles jouent également un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs et des frugivores pour la fertilisation et la dispersion des graines. Aditionellement, Les bétalaïnes sont susceptibles de participer à la défense des plantes contre divers stress biotiques (bactéries, champignons..) et abiotiques (rayons UV, lumière, salinité, sécheresse...) (**Kishima et al., 1995; Tanaka et al., 2008; Polturak et al., 2017**);

Or, les pigments de bétalaïne ont été étudiés pour leurs activités antioxydantes et antiradicalaires et pour la chimioprévention du cancer (**Escribano et al., 1998; Nowacki et al., 2015**)

Chapitre III

L'oxydation et l'inflammation

Chapitre III: L'oxydation et l'inflammation:

III.1. L'oxydation:

III.1.1. Les radicaux libres et le stress oxydatif:

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre transitoire rend ces espèces radicalaires très instables et très réactives, et doit être comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Gutteridge, 1993; Delattre *et al.*, 2005; Afonso *et al.*, 2007).

Ces radicaux sont produits en continuité au sein de notre organisme par de nombreux phénomènes biologiques à l'image de la respiration cellulaire, qui transforme l'oxygène moléculaire en diverses substances oxygénées communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (ERO), les **Reactive Oxygen Species (ROS)** en anglais (Gutteridge, 1993; Lesgards, 2000; Bonnefont *et al.*, 2003).

La famille des **ROS** regroupe les radicaux libres oxygénés [anion superoxyde ($O_2\bullet^-$), radical hydroxyle ($HO\bullet$), monoxyde d'azote ($NO\bullet$) ...] et les dérivés non radicalaires dont la toxicité est importante [anion peroxyde (O_2^{2-}), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite ($ONOO^-$)] (Novelli, 1997)

Dans certaines situations, cette production augmente excessivement, entraînant un déséquilibre entre la production et la destruction de ces espèces; c'est le **stress oxydatif** (Gutteridge, 1993).

III.1.2. Origines et sources:

Le stress oxydant peut être la conséquence d'un ensemble de facteurs, tel la surproduction endogène de ces réactifs stimulée par des conditions particulières ou pathologiques (l'exercice excessif, l'inflammation, le tabagisme et l'alcoolisme), ou suite à l'exposition à des facteurs environnementaux pro-oxydants; dont on peut citer la pollution de l'air, de l'eau et des aliments, les médicaments et les rayons gamma et ultraviolets (Favier, 2003; Valko *et al.*, 2007).

A l'échelle cellulaire, les voies principales de production des radicaux libres sont les chaînes de transport d'électron, les peroxysomes et le système de cytochrome P-450 (Favier, 2003)

Quant aux systèmes de défenses antioxydants, dont une partie est dépendante de l'alimentation, ils peuvent être insuffisants pour redresser l'état de déséquilibre de ce stress oxydatif et présente par ailleurs, un deuxième facteur majeur dans son installation au sein de l'organisme (**Favier, 2003; Valko et al., 2007**).

Belyagoubi, (2011) a identifié dans son étude un certain nombre de mécanismes accusés dans le processus de production de radicaux libres à l'exemple des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, des réactions inflammatoires provoquées par les cellules phagocytaires activées, de l'activation du système xanthine déshydrogénase/oxydase au cours de l'ischémie/perfusion, sans oublier les agressions de l'environnement (les agents infectieux, la pollution, les UV et la fumée de cigarette).

III.1.3. Les effets du stress oxydatif:

A des concentrations élevées, les ROS peuvent être d'importants médiateurs de dommages aux structures cellulaires, lipides, protéines et acides nucléiques (**Peltier et al., 2004; Valko et al., 2006**):

- Les dommages oxydatifs du matériel génétique représente la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogenèse et le vieillissement (**Valko et al., 2007**)
- La peroxydation des doubles liaisons lipidiques membranaires par les radicaux libres aboutit à la désorganisation complète de la membrane et altère de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (**Koechlin Ramonatxo, 2006**).
- Les modifications oxydatives des protéines englobe des coupures des liaisons peptidiques et des modifications de la chaîne peptidique, ce qui mène à une perte de la fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (**Valko et al., 2007**).

En raison de cette capacité à endommager les cellules, les tissus et les organes, ces ERO sont impliquées dans un grand nombre de pathologies, tant aiguës que chroniques comme l'athérosclérose, le diabète, les rhumatismes, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (**Gutteridge, 1993; Favier, 2003**).

III.1.4. les antioxydants:

Les antioxydants sont des molécules ou des micro-constituants capables d'interférer avec les radicaux libres en les neutralisant ou réduisant les dommages causés à l'organisme, et permettent ainsi de les maintenir concentrations cellulaires non toxiques (**Favier, 2003; Valko et al., 2006**).

Selon **Valko et al., (2006)**, un bon antioxydant doit respecter les critères suivants:

- ✓ Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres;
- ✓ Chélater les ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^{2+}) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton;
- ✓ Interagir avec d'autres antioxydants et dans la mesure du possible, les régénérer;
- ✓ Avoir un effet positif sur l'expression génétique.
- ✓ Être rapidement absorbé.

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**). On peut classer les antioxydants en deux catégories:

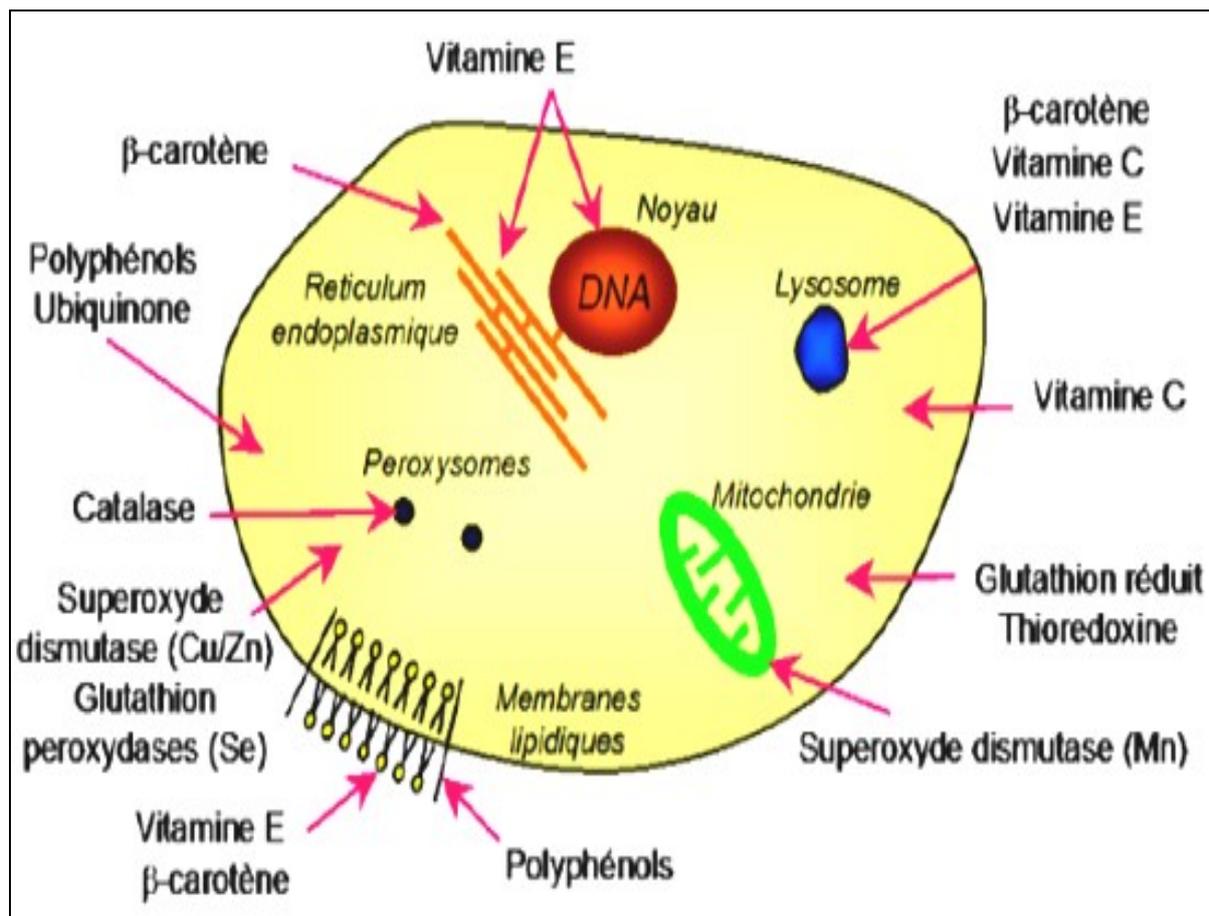


Figure 09 : Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires (Virot, 2004).

III.1.4.1. Les antioxydants enzymatiques:

Les antioxydants enzymatiques constituent la première barrière de cette défense antioxydante, qui est constituée de trois métallo-enzymes essentielles: *les supers oxydes dismutases* et *la catalase*; responsables de la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène, à côté des *glutathions peroxydases* assurant la transformation des hydroperoxydes lipidiques de type LOOH en LOH (Cano *et al.*, 2007; Valko *et al.*, 2007; Ferradji, 2011).

Leurs activités et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires (Cano *et al.*, 2007).

III.1.4.2. Les antioxydants non enzymatiques

A) Les antioxydants non-enzymatiques endogènes:

Cette classe qui regroupe des composés endogènes de faible poids moléculaire qui peuvent être soit des produit de synthèse (glutathion **et acide lipoïque**) ou issus du métabolisme cellulaire (acide urique), est capable de réagir in vivo avec les radicaux libres, de désactiver catalytiquement des métaux (le fer et le cuivre), et de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (**Packer et al., 2001; Kohen et Nyska, 2002; Delattre et al., 2005**).

Des protéines telles que la ferritine, la ceruloplasmine et l'albumine contribuent à leur tour dans la défense antioxydante secondaire en chélatant les métaux de transition permettant ainsi de prévenir la formation du radical hydroxyle (**Martinez-Cayuela, 1995**)

B) Les antioxydants non-enzymatiques exogènes:

Ils sont apportés par l'alimentation avec les produits végétaux riches en vitamines E et C, caroténoïdes et composés phénoliques (**Rock, 2003 ; Pincemail et Defraïque, 2004**):

- ***La vitamine E:*** inhibe la propagation de la peroxydation lipidique en réduisant le radical RO^{2-} par l'hydrogène de son noyau phénolique (**Yoshida et al., 1993; Singh et al., 2005**).
- ***La vitamine C:*** Elle empêche l'oxydation des LDL et des membranes (**Retsky et al., 1999; Singh et al., 2005**)
- ***Les caroténoïdes :*** ces pigments neutralisent notamment l'oxygène singulet par simple addition électrophile et transfert d'électrons (**Valko et al., 2006**)
- ***Les composés phénoliques:***
Leur propriété antioxydante la mieux décrite est la capacité de piégeage des radicaux libres (**Ghedira, 2005; Leopoldini et al., 2011**).
- ***Sélénium:*** c'est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant capital dans la détoxification des radicaux (**Chia-Fung et al., 1995**).
- ***Zinc:*** Ce cofacteur essentiel de la SOD protège les groupements thiols des protéines, et inhibe partiellement les réaction de formation des ROS induites par le fer ou le cuivre (**Parma et al., 2004**)

III.2. L'inflammation:

III.2.1. L'inflammation et ses causes

L'inflammation est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression par une infection pathogène ou un traumatisme, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires (**Rankin, 2004**). En cas de persistance de l'agent pathogène dans le siège de l'inflammation et en présence d'anomalies de régulation du processus inflammatoire, elle peut devenir néfaste (**Ashley et al., 2012**).

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé (**Bianchi, 2007; Barton, 2008**).

L'inflammation peut être déclenchée par plusieurs causes (**Ashhurst, 1883**):

- Traumatisme physique et violence mécanique: coups, blessures, fractures des os, luxation, ou lacération, broiement et écrasement des membres ou des organes internes
- Action chimique irritante ou destructive: la chaleur sous toutes ses formes, les brûlures et les eschares formées par acides énergique ou les alcalis caustique, l'action du froid, etc.....
- Infection toxique: venin des insectes et des serpents, virus comme celui de la morve ou de la syphilis, miasmes dus à diffusion infinie des microorganismes ou de leurs germes.

III.2.2. Les types de la réponse inflammatoire:

III.2.2.1. La réponse aigue:

C'est une réponse immédiate à l'agent agresseur qui dure quelques jours à quelques semaines et dont l'installation est souvent brutale et caractérisée par des phénomènes vasculo-exsudatifs intenses. Elle se guérit spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante (**Charles et al., 2010**). L'inflammation aigue se constitue en trois phases :

A- Phase vasculaire:

Caractérisée par la douleur suite à l'excitabilité des terminaisons nerveuses par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine; cette étape est une vasoconstriction artériolaire très brève de quelques secondes, succédée par une vasodilatation augmentant la perméabilité des capillaires, ce qui explique en partie la constitution de la chaleur, de la rougeur et la création de l'œdème (**Ferradji, 2011**).

B- Phase cellulaire (recrutement des leucocytes):

Elle permet l'arrivée des leucocytes au foyer inflammatoire par un phénomène vasculo-exsudatif. Les polynucléaires sont les premiers arrivés qui seront progressivement remplacés par les monocytes; dont les macrophages phagocytaires, et les lymphocytes et plasmocytes impliqués à la réponse spécifique de l'antigène (**Nathan, 2002**).

C- Phase de résolution:

Cette phase de réparation dépend du degré des lésions tissulaires. Dans les conditions les plus favorables, les agresseurs sont éliminés, les débris cellulaires de dégradation sont phagocytés et la cicatrisation et la régénération tissulaire sont induites, mais si l'atteinte est plus sérieuse par destruction du tissu, le phénomène de l'angiogenèse s'installe, puis remis au repos pour éteindre la réaction inflammatoire (**Weill et al., 2003**)

III.2.2.2. La réponse chronique:

L'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages et plasmocytes dans les tissus. Elle est causée par l'engagement persistant des réponses de l'immunité innée et acquise, et peut persister pendant de longues périodes allant de plusieurs mois à plusieurs années (exp: la polyarthrite rhumatoïde, rejet de l'allogreffe chronique, la béryllose, l'inflammation granulomateuse) (**Charles et al., 2010**).

III.2.3. Médiateurs de l'inflammation:

III.2.3.1. Médiateurs solubles:

Ces médiateurs sont synthétisés ou libérés à partir de différentes populations cellulaires, et parfois existent sous forme inactive avant de s'activer par la lésion tissulaire. Leurs actions sont multiples, souvent redondantes et intègrent les voies de la coagulation, de l'immunité innée, de l'hématopoïèse et du système nerveux (**Kumar et al., 2007; Charles et al., 2010**).

III.2.3.2. Médiateurs cellulaires:

Plusieurs types cellulaires interviennent dans la réaction inflammatoire, où elles sont attirées par la présence des médiateurs précoces, et établissent probablement des interactions avec les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins (**Kumar et al., 2007**). Les principaux médiateurs de l'inflammation, ainsi que leurs origines et effets sont résumés ci-dessous:

Tableau 04: Origines cellulaires et effets des principaux médiateurs impliqués dans le développement de la réaction inflammatoire (**Rankin, 2004**).

Médiateurs	Origine cellulaire	Effets
Histamine	Mastocytes, basophiles, éosinophiles et plaquettes.	Assure la vasodilatation, augmente la perméabilité vasculaire, induit l'expression des molécules d'adhésion sur l'endothélium vasculaire.
Sérotonine	Mastocytes et plaquettes.	Augmente la perméabilité vasculaire, dilate les capillaires et stimule la contraction des muscles lisses.
Platelet activating factor (PAF)	Plaquette, neutrophiles, monocytes et cellules endothéliales.	Vasodilatation, augmente l'adhésivité de la paroi vasculaire, stimule la bronchoconstriction, l'aggrégation des plaquettes et la libération des médiateurs qu'elles renferment, induit la production des ROS et la libération des enzymes lysosomiales par les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages.
Kalicroïne	Présente dans le plasma	Transforme et active le système des Kinines
Plasmine	Présente dans le plasma	Clive le composant du complément C ₃ pour générer le C3a et le C3b
Leucotriènes : -LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité des micro- vaisseaux.
-LTB ₄	Essentiellement par les leucocytes	Augmente la perméabilité vasculaire et le flux sanguin local, induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS et attire et active les cellules inflammatoires.
Prostaglandines	Essentiellement par les leucocytes	Provoquent la vasodilatation, renforce l'action de l'histamine, de la bradykinine et des leucotriènes, augmente la sensibilité des neurones et est responsable de la douleur.
Bradykinine	Présente dans le plasma sous forme de kininogènes.	Accroît la vasodilatation, la perméabilité vasculaire et stimule la contraction des muscles lisses.
Facteur de Hagman (XII)	Présent dans le plasma et est activé par l'adhésion des plaquettes.	Impliqué dans la cascade de coagulation.
Thrombine	Présente dans le plasma	Catalyse la transformation du fibrinogène en fibrine et induit la libération de la sérotonine des plaquette.
Fibrine	Présente dans le plasma, formée à partir du finbrinogène	Intervient dans la formation du caillot sanguin.
L'IL-8	Monocytes, macrophages, plaquettes et lymphocytes.	Chimiotactisme des neutrophiles, des monocytes et des macrophages. Induit la libération des enzymes lysosomiales et la production des ROS. Intervient dans la réparation tissulaire
C3a	Fraction C3 du complément inactif.	Provoque la dégranulation des mastocytes.
C5a	Fraction C5 du complément inactif	Provoque la dégranulation des mastocytes et des neutrophile, exerce un effet chimiotactique en vers les phagocytes et stimule la contraction du muscle lisse.

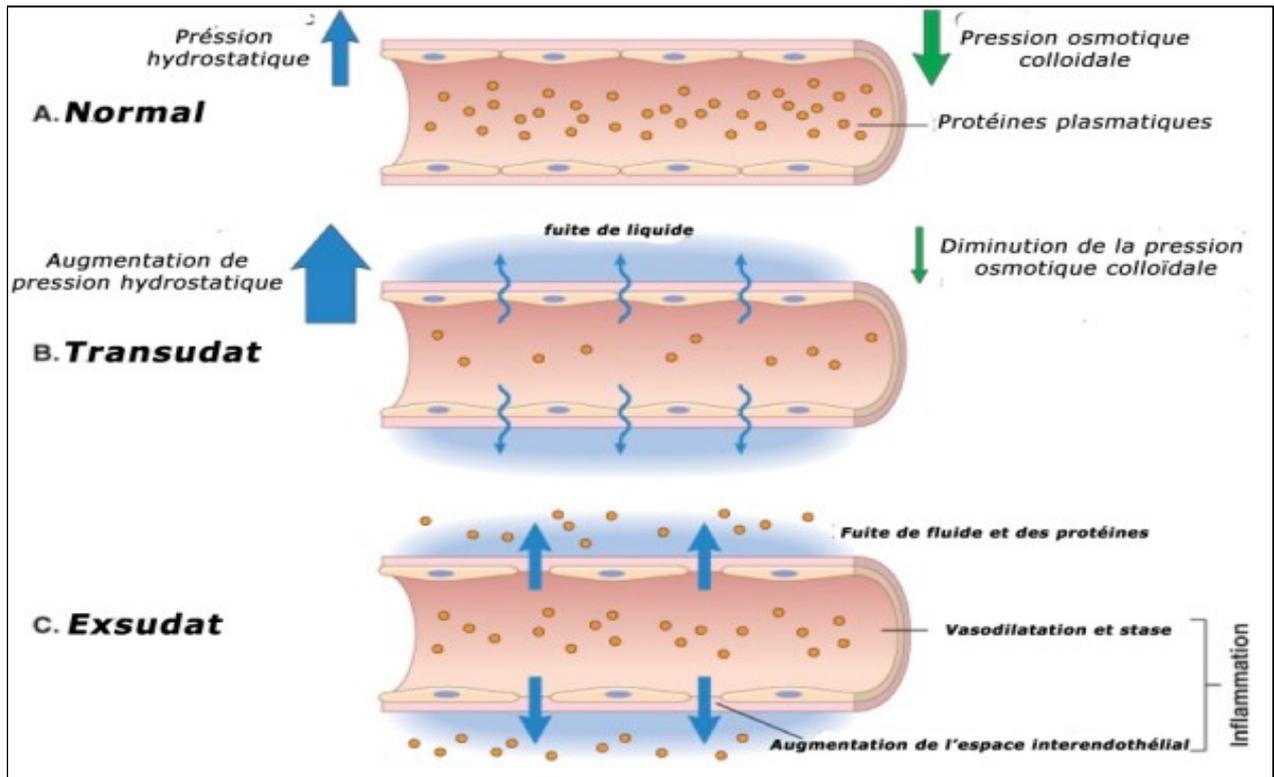


Figure 10: Formation du transsudat et d'exsudat (Kumar *et al.*, 2007).

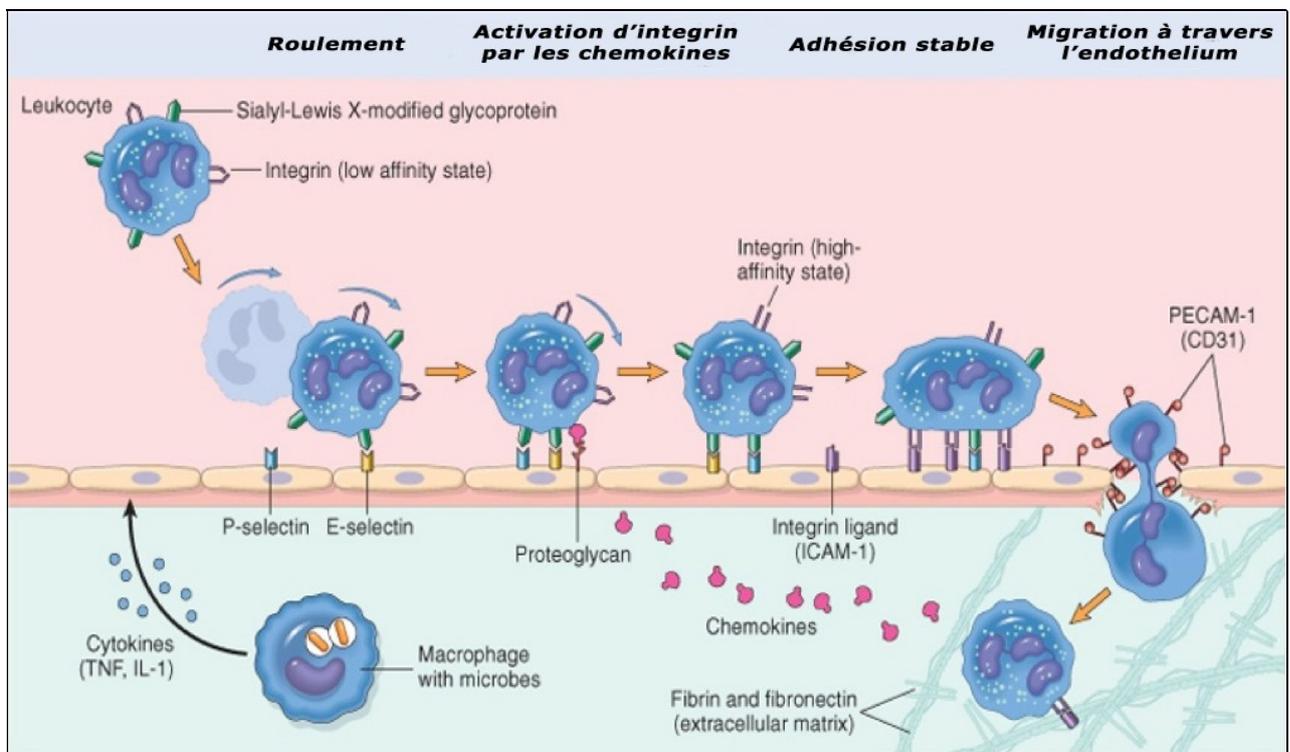


Figure 11: Processus de migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins (Kumar *et al.*, 2007).

III.2.5. Les anti-inflammatoires :

III.2.5.1. Anti-inflammatoire non stéroïdiens AINS :

Cette classe thérapeutique offre en plus des propriétés anti-inflammatoires, des effets anti-pyrétiques et antalgiques. Ils inhibent compétitivement, réversiblement ou non, "la cyclooxygénase" et bloquent alors la production du médiateur inflammatoire; la prostaglandine (**Ferradji, 2011**).

La production basale de ce dernier permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique....), mais c'est sa production exagérée en situation pathologique qui participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs).

Le rôle ubiquitaire des prostaglandines dans les fonctions physiologiques explique les effets secondaires délétères des AINS qui accompagnent leurs effets favorables (**Blain et al., 2000; Nicolas et al., 2001**).

III.2.5.2. Anti-inflammatoire stéroïdiens (Glucocorticoïdes) AIS:

Cette vaste famille de dérivés du principal glucocorticoïde surrénalien; le cortisol, représente le traitement le plus efficace utilisé pour les maladies inflammatoires chroniques tel que l'arthrite rhumatoïde et les maladies auto-immune (**Kessel et al., 2014**).

Ils se fixent et activent leurs récepteurs dans des tissus cibles pour empêcher la transcription des gènes- immuns cibles (**Barnes, 1998**).

Quoique, leur fonctionnement ne différencie pas entre les gènes immuns "voulus" et "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires, et présentent à leur tour des effets secondaires tels que l'hypertension artérielle et l'ulcères gastroduodénaux (**Henzen, 2003 ; Chung, 2014**).

III.2.5.3. Anti-inflammatoires d'origine végétale:

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains d'entre eux ont des propriétés anti inflammatoire, et sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipoxygénase à côté des autres mécanismes d'actions.

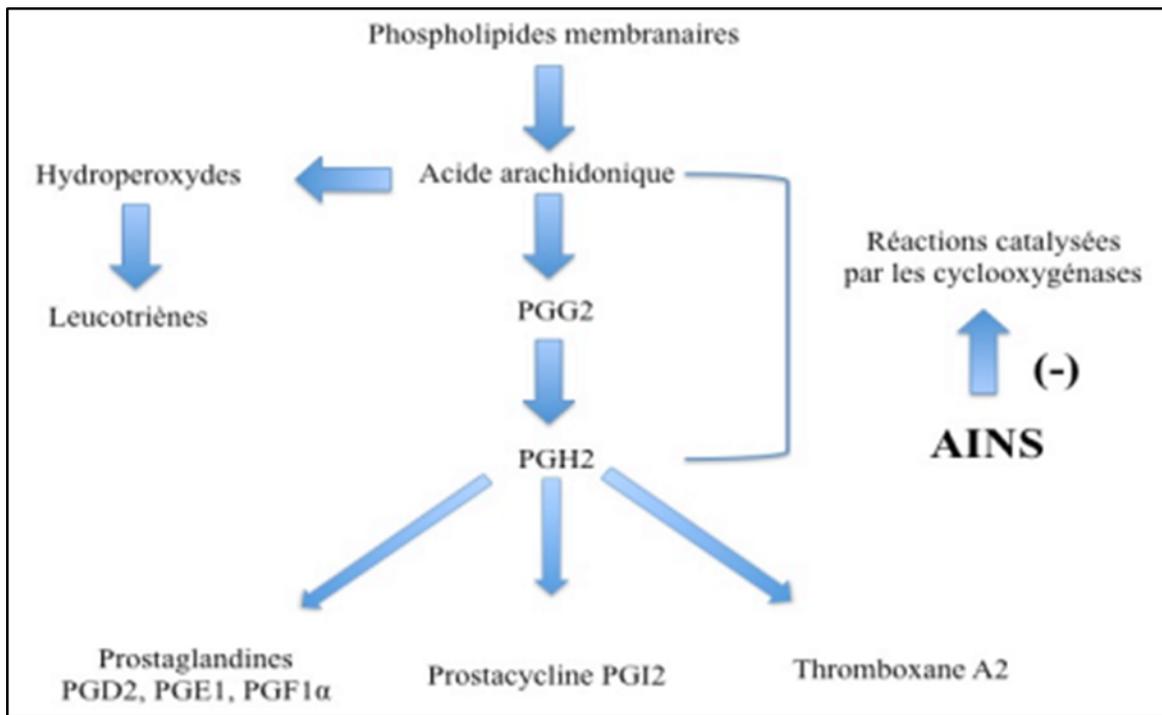


Figure 12: mécanisme d'action des AINS (Nicolas, 2001).

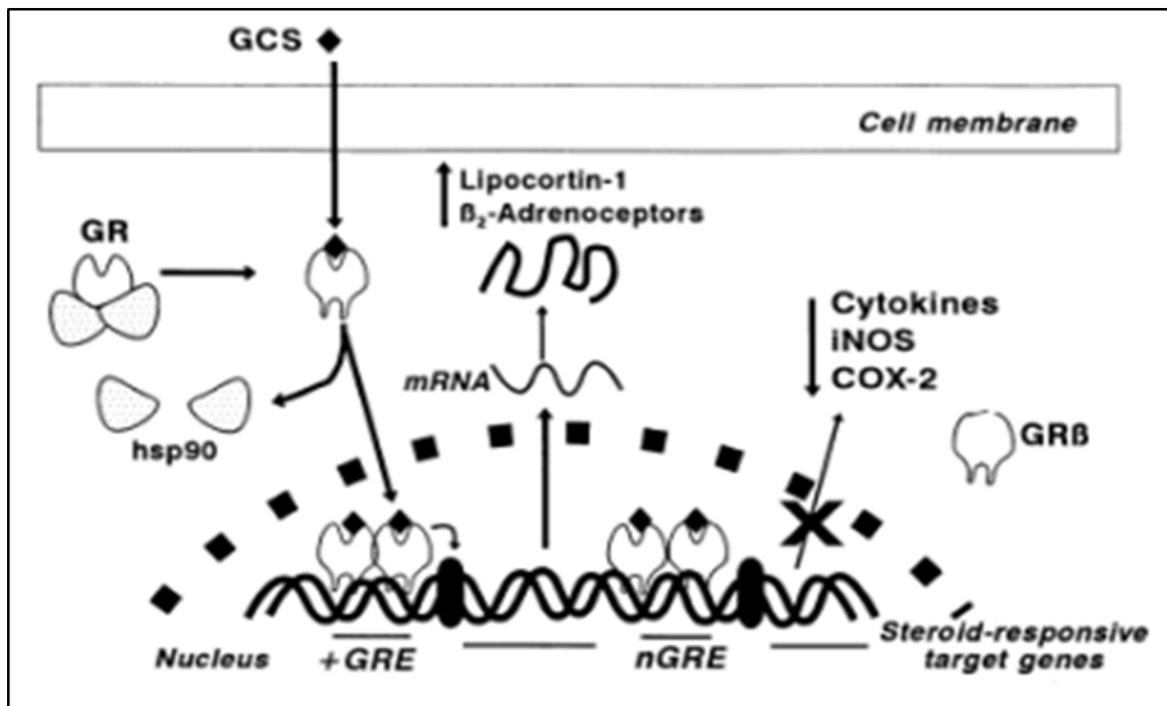


Figure 13 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998)



Chapitre IV
Partie expérimentale



Matériel et Méthode

IV. Matériel et méthodes:

IV.1. L'objectif :

Cette étude vise à :

- Extraire les pigments "anthocyanes et bétalaines" des jeunes cladodes du Figuier de barbarie de la région de Theniet el had – Tissemsilt.
- Evaluer les capacités anti-oxydantes et anti-inflammatoires de ces pigments in vitro.

IV.2. Lieu et durée d'étude:

La partie expérimentale de notre étude a été effectuée aux laboratoires de "Biochimie" et de "Technologie alimentaire" de la faculté des Sciences de la nature et de la vie au sein de l'université IBN KHALDOUN de Tiaret, durant une période s'étalant 18/02/2019 au 02/05/2019.

IV.3. Matériel:

IV.3.1. Matériel végétal:

Les jeunes cladodes de moins de 03 mois, reconnus par leurs dimensions; 12 - 20 cm de longueur et 6 – 9 cm de largeur, étaient prélevés aléatoirement le 06/01/2019 , à partir de plusieurs sujets vivants de la variété inerme de figuiers de barbarie de la région de **Theniet el had - Tissemsilet**.

Ces raquettes subissent ensuite une étape de préparation à l'extraction contenant un nettoyage et une élimination des épines, succédés par une désinfection à l'eau salée 10%, un lavage à l'eau distillée et un séchage. La congélation est choisie pour leur conservation jusqu'à leur utilisation.



Figure 14 : Lieu d'échantillonnage (Theniet el had – Tissemsilet) (1962-carte Michelin-teniet-el-Haad)

IV.3.2. Matériel du laboratoire:

IV.3.2.A) Appareillage:

Balance de précision, bain marie, étuve, agitateur magnétique, rotavapeur, centrifugeuse, spectrophotomètre UV-VIS, micro pipette (50 μ l).

IV.3.2.B) Produits:

✓ Réactifs:

Acide linoléique, β -carotène, DPPH, Tween 40, SBA (sérum bovine albumine), acide ascorbique, diclofénac.

✓ Produits chimiques:

Ethanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), méthanol (CH_3OH), chloroforme (CHCl_3), Acide trichloracétique ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$), iodate de potassium (KI), chlorure d'aluminium (AlCl_3), carbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure de fer (FeCl_3), acide chlorhydrique (HCl), chlorure de sodium (NaCl), potassium hexacyanoferrate ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), tampon citrate-phosphate (ph =1.0; 4.5; 6.3; 6.6; 6.5 et 7.4), eau physiologie, eau saturée en oxygène.

IV.4. Méthodes:

IV.4.1. Protocole expérimental:

L'ensemble des expériences réalisées du protocole expérimental de ce travail, sont récapitulées dans le diagramme illustré par la **Figure 15**. Elles sont scindées en trois parties majeures:

- Une extraction suivie d'une quantification spectrophotométrique des anthocyanes et des bétalaines à issus des jeunes cladodes du figuier de barbarie.
- Une appréciation de l'activité antioxydante de ces pigments par différentes analyses (DPPH, FRAP, blanchissement du b-carotène).
- Une évaluation de leur effet antiinflammatoire en utilisant deux tests variés (dénaturation des protéines et stabilisation des membranes)

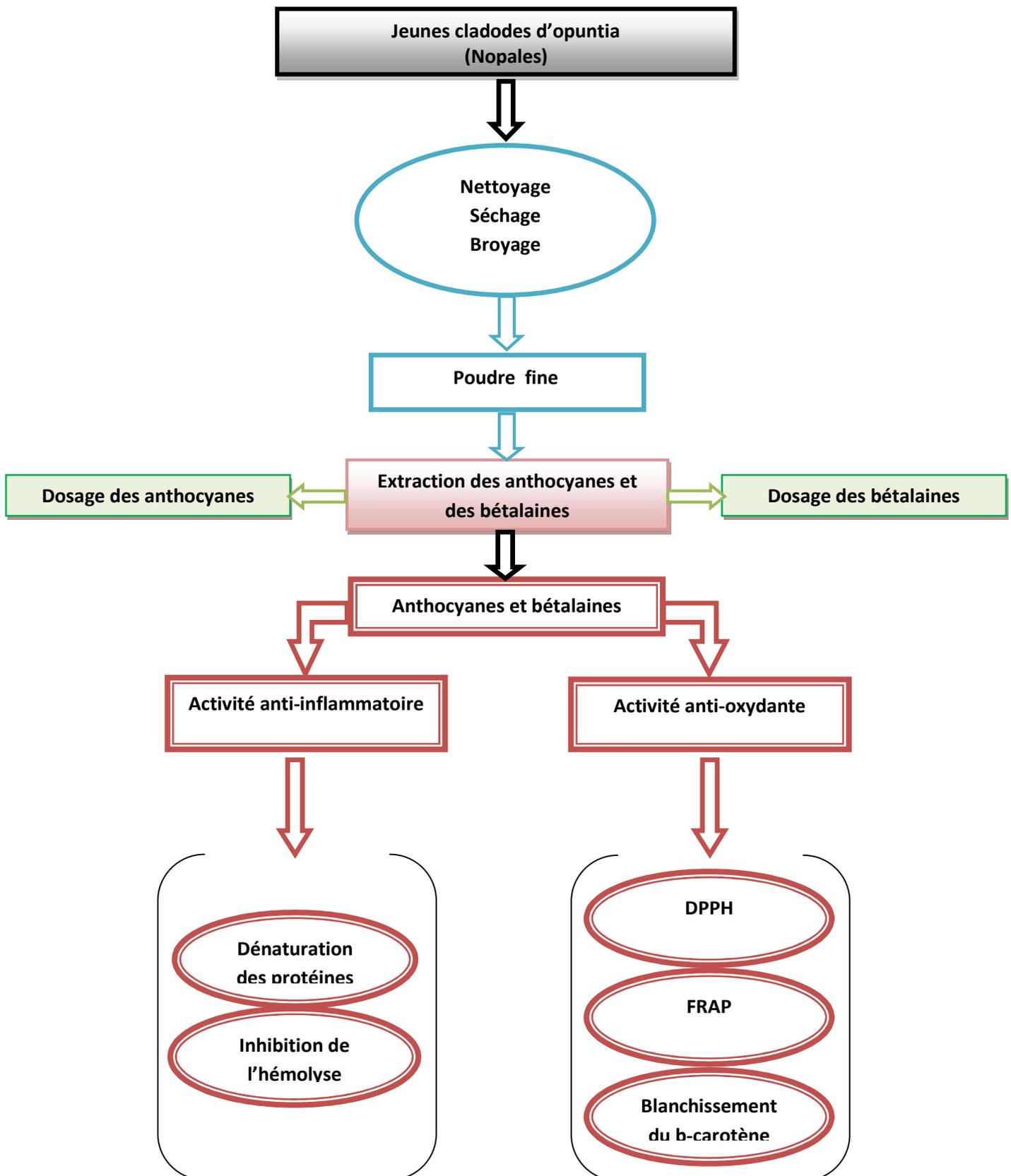


Figure 15: diagramme du protocole expérimental

IV.4.2. Préparation et caractérisation des pigments des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica*:

IV.4.2.1. Préparation de la poudre:

Les jeunes cladodes conservés sont étuvés à 45°C pendant 6 jours, puis rendus en poudre fine homogène par un broyage/tamisage afin conformément aux besoins des procédés d'extraction qui suivent.

IV.4.2.2. Extraction et dosage des anthocyanes:

L'extraction des anthocyanes a été réalisée selon la méthode décrite par **Longo et al, (2007)**, par une macération de 2,5 g de la poudre dans 12,5 ml d'une solution d'HCl/méthanol (v/v) à 0,1% pendant 20 h à une température ambiante. Après filtration, le résidu ainsi obtenu est lavé avec 12.5 ml de la même solution d'extraction, puis évaporé à sec par un rotavapeur type Buchi R-200 à 30°C. Le résidu sec est repris par 3 ml de méthanol.

La quantité totale d'anthocyanine (TAC) a été déterminée en utilisant un procédé de différence de pH par spectrophotomètre et une cuvette de 1 cm de longueur de trajet pour les mesures spectrales à 210 et 750 nm (**Fuleki et Francis, 1968**):

$$\text{Teneur en anthocyanine (TAC)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 1000)}{(\epsilon \times l)} \quad (\text{mg/l})$$

Avec:

L'absorbance des échantillons (A):

$$A = (\text{Absorbance } \lambda \text{ vis.max - A750}) \text{ pH 1,0} - (\text{Absorbance } \lambda \text{ vis.max - A750}) \text{ pH 4,5}$$

MW: Poids moléculaire de l'anthocyane (cyd-3-glu) = 449; **DF**=facteur de dilution; **Coefficient d'extinction (ϵ)** = 29 600.

IV.4.2.3. Extraction et quantification des bétalaines :

L'extraction des bétalaines consistent a agité un mélange de (100 mg) de poudre de cladodes et 20 ml du tampon citrate-phosphate (pH 6,5) à l'obscurité pendant 10 min. le mélange est ensuite centrifugé à 12 000 × g à 15 °C pendant 15 min et le surnageant récupéré est filtré sur un filtre en nylon de 0,45 µm. *La teneur en bétalaines (BC)* a été calculée comme décrit par **Stintzing et al. (2003)**:

$$\text{BC (mg / L)} = \frac{A * DF * MW * 1000}{\xi \times l}$$

Où:

A est la valeur d'absorption, DF le facteur de dilution et l la longueur du trajet (1 cm) de la cuvette. Pour la quantification des bétacyanines et des bétaxanthines; le poids moléculaire (MW) et le coefficient d'extinction molaire sont respectivement:

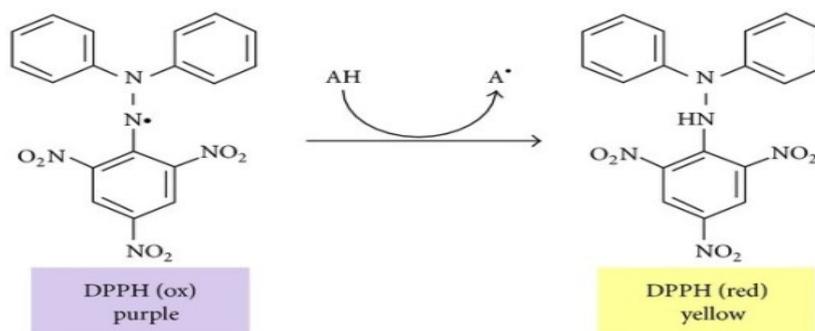
- Pour la bétanine (MW = 550 g / mol; $\epsilon = 60\,000$ L / mol.cm; $\lambda = 538$ nm)
- Pour l'indaxanthine (MW = 308 g / mol; $\epsilon = 48\,000$ L / mol.cm; $\lambda = 480$ nm).

IV.4.3. L'activité anti-oxydante :

Avant d'entreprendre les analyses, nous établissons une série de dilutions des deux extraits mères vers 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de la concentration initiale.

IV.4.3.1. Test DPPH:

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) est réalisé par la méthode décrite par (Ammar et al., 2009) qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺ selon la réaction ci-dessous:



A. Mode opératoire

1ml de chaque concentration des deux extraits est mélangé dans un tube à essai avec 1ml de la solution éthanolique de 0,06 mM de DPPH. Les mélanges sont incubés 30 min à l'abri de la lumière à température ambiante et les absorbances sont lues à 517 nm contre un blanc (control négatif) qui contient de l'éthanol pur. Les mêmes opérations sont appliquées pour l'acide ascorbique (control positif).

B. Expression des résultats

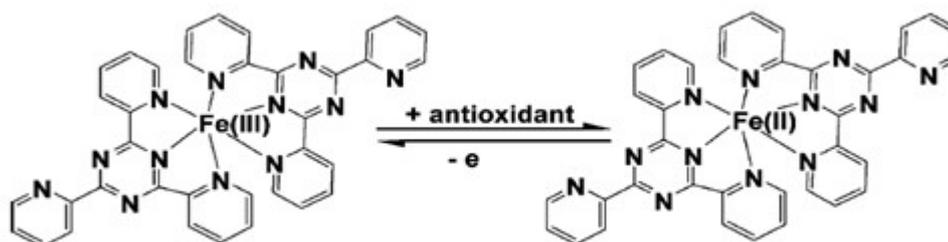
Toutes les opérations sont réalisées en triplicata, dont l'évaluation de l'activité anti-oxydante est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Abs Control} - \text{Abs Extrait})}{\text{Abs Extrait}}$$

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite, par la valeur de la CI50; la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH, autrement dit, la concentration inhibitrice à 50%. Sa valeur est calculée par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = $f(\text{concentrations})$].

IV.4.3.2. Dosage du pouvoir réducteur « FRAP »:

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) et évalue donc, le pouvoir réducteur des composés (Ou *et al.*, 2001).



La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleue cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002).

En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz *et al.*, 2004).

A. Méthode de dosage

Le protocole utilisé est celui décrit par Oyaizu (1986) dans lequel un tube à essai contenant 200 μl de solution d'échantillon à différentes concentrations, 500 μl de tampon phosphate (0,2M : pH 6,6) et 500 μl de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 1% dans l'eau distillée, est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes.

Un volume de 500 μl d'acide trichloracétique (10%) est ajouté au mélange qui est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote de 500 μl de surnageant est transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 500 μl d'eau distillée et 100 μl de FeCl_3 1% fraîchement préparé dans de l'eau distillée.

B. Expression des résultats

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

Le contrôle positif est mesuré par l'acide ascorbique dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

IV.4.3.3. Test de blanchissement de la β -carotène:

Dans ce test, la capacité anti-oxydante de l'extrait est déterminée en mesurant l'inhibition de la décoloration du β -carotène, résultat de sa dégradation oxydative par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par **Kartal et ses collaborateurs (2007)**.

A. Méthode de dosage

L'émulsion de β -carotène /acide linoléique est préparée par solubilisation de 0,5 mg de β -carotène dans 1 ml du chloroforme; 25 μ l de l'acide linoléique et 200 mg de Tween 40 sont additionnés et le chloroforme est complètement évaporé à 40°C avec le rotavapor. Par la suite, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement.

2,5 ml de l'émulsion précédente sont additionnés à un volume de 100 ou 150 μ l de solution mère de pigment, d'antioxydant de référence (acide ascorbique) à la même concentration et de méthanol (contrôle négatif). Les tubes sont chauffés à 50°C dans un bain-marie.

B. Expression des résultats

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 490 nm à des intervalles de 15 minutes pendant 2 heures, jusqu'à ce que la couleur du β -carotène disparaisse. L'activité anti-oxydante des extraits est calculée selon l'équation suivante :

$$AA = 100 \times [1 - (AE_0 - AE_{120}) / (AC_0 - AC_{120})]$$

Avec:

AE₀ : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à t = 0 min.

AE₁₂₀ : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à t = 120 min.

AC₀ : Absorbance à 490 nm du contrôle à t = 0 min.

AC₁₂₀ : Absorbance à 490 nm du contrôle à t = 120 min.

IV.4.4. Activité anti-inflammatoire

IV.4.4.1. Inhibition de la dénaturation des protéines:

A. Méthode de dosage:

L'étude de l'activité anti-inflammatoire in vitro d'extraits pigmentaires des cladodes du figuier de barbarie, effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines consiste à préparer les solutions suivantes:

- **La solution d'essai (0,5 ml)**; composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (SBA) 5 % et 0,05 ml de nos extraits mères.
- **La solution control test (0,5 ml)**; composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml d'eau distille.
- **La solution standard test (0,5 ml)**; composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 5 % et 0,05 ml de la solution de standard diclofenac sodium avec une concentration identique aux pigments.

Le pH de toutes les solutions a été ajusté à 6,3 par l'HCl (1N) avant une incubation à 37°C/20 min, qui sera augmentée et gardée à 57°C/3 min. Après refroidissement, 2,5ml de la solution phosphate buffer saline (pH=6,3) a été ajouté aux solutions ci-dessus.

B. Expression des résultats

L'absorbance est lue à 416 nm, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines se calcule comme suit:

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - \frac{\text{D.O solution d'essai} - \text{D.O control}}{\text{D.O control}} \times 100$$

D.O: la densité optique.

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées, et les résultats sont comparés avec le diclofenac sodium (250µg/ml) comme étant le contrôle positif.

IV.4.4.2. inhibition de l'effet hémolytique sur les globules rouges:

IV.4.4.2.1. Prélèvement du sang humain:

Les échantillons de sang frais (environ 6 ml) récupérés dans des tubes héparinisés, sont prélevés sur des volontaires (20-45 ans), n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires durant les deux dernières semaines.

IV.4.4.2. Préparation de la suspension des globules rouges humains:

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000 rpm/10min, pour récupérer le culot de globules rouges subissant alors trois lavages/centrifugations (3000rpm/5min) avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10 % (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.

IV.4.4.3. Evaluation de l'effet de l'extrait des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges:

L'analyse teste l'effet stabilisant des extraits de la plante étudiée sur la des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de **Gadamsetty et al.,(2013)**.

A. Méthode de dosage:

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 ml d'extrait mère des pigments ou des dilutions, est ajouté à 1.5 ml du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %); le mélange est incubé à 37°C/20 min.

Un volume de 0.5 ml de la suspension érythrocytaire (10 %) a été rajouté pour chaque tube, l'incubation suit à 56 °C/30 min, puis arrêté par l'eau froide pendant 20 min afin d'entraver la réaction. Finalement, une centrifugation à 3000 rpm/5min nous a permet de récupérer le surnageant prêt à la lecture.

B. Expression des résultats:

La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, le contrôle consiste en un mélange de 2 ml de la solution hyposaline, 2ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges et 0.5 ml d'eau physiologique.

Le diclofenac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = \frac{(Ac - At)}{Ac} \cdot 100$$

Ac : absorbance de control

At : absorbance de l'échantillon (test)

IV.5. Analyse statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues \pm l'écart moyen (SEM) [M \pm SEM], n = 3.

Le test t de Student est utilisé pour évaluer la signification des effets des différentes concentrations de l'extrait testé *in vitro*. La différence est considérée statistiquement significative au risque 5% ($p < 0.05$).

Résultats et discussions

V. Résultats et discussion :

V.1. Quantification des pigments:

Dans ce travail, la teneur en bétalaines (BC) déterminée spectrophométriquement par la méthode de **Stintzing et al, (2003)**, atteint un taux de **524 µg/l (Tableau 05)**. Une teneur constituée principalement de bétacyanines avec un pourcentage de 476 µg/l, représentant ainsi 91% du taux global, alors que les 9% restantes symbolisant 48 µg/l, sont composées de bétaxanthines.

La quantité totale d'anthocyanine déterminée par la méthode de différence de pH de **Fuleki et Francis, (1968)**, est égale à **452 µg/l**, soit **3.013 mg/100g de poids sec**.

Tableau 05: teneurs des bétalaines et les anthocyanes dans les jeunes cladodes d'opuntia

Pigments	Bétalaines		Anthocyanes
	Bétacyanines	Bétaxanthines	
Taux (µg/l)	476	48	452
	Total = 524		
Concentration (mg/100g poids sec)	95.2	9.6	3.013
	Total = 104.8		

La présence des bétalains dans l'*Opuntia* ssp est affirmée par **Chougui et al, (2013)**, ou ils désignent la bétaxanthine jaune et la bétacyanine rouge-violet comme des pigments caractéristiques. On peut dire que le taux de ces teintes végétales dans les cladodes varie considérablement en fonction de cultivar, une remarque faite par **Castellar et al., (2003)** pour les fruits mais très acceptable pour les nopales. Ces chercheurs rapportent que les bétalaines offrent différentes couleurs aux fruits de figuier de barbarie, couvrant un large spectre allant du blanc au violet avec des teneurs de **6,6 à 114 mg/100g** de pulpe de fruit.

La prédominance des bétacyanines au détriment des indicaxanthines (**95.2 mg/100g** par rapport à **9.6mg/100g**) remarquée dans notre extrait est aussi rapportée par **Trésor et al. (2004)** et **Kugler et al. (2006)** dans les italiens cultivars blancs et jaunes.

Selon **Sanchez-Gonzalez et al. (2013)**, la technique d'extraction choisie, en tenant en compte du solvant d'extraction, du ratio, de la température et du temps modifie aussi le rendement d'extraction des bétalaines.

Par ailleurs, la quantité des anthocyanes diffère selon les espèces et les conditions d'extraction (solvant, temps température et concentration en alcool); dont l'extraction hydro-alcoolique est estimée comme la méthode optimale pour les anthocyanes (**Sivasankar.V et al., 2011; Nabli et al., 2012**)



Figure 16: évaporation de l'extrait des anthocyanes par un rotavapeur

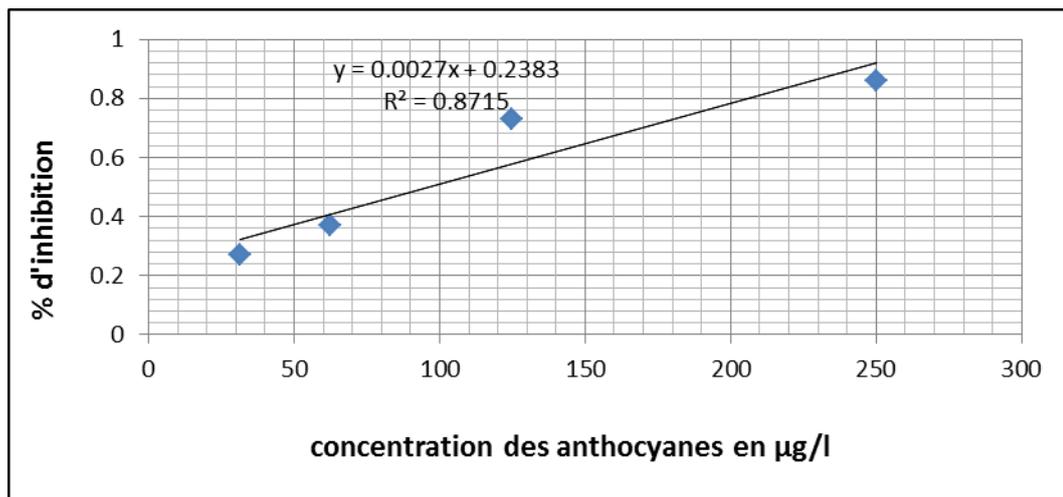
V.2. L'activité antioxydante :

V.2.1. Test anti-radicalaire (Test DPPH):

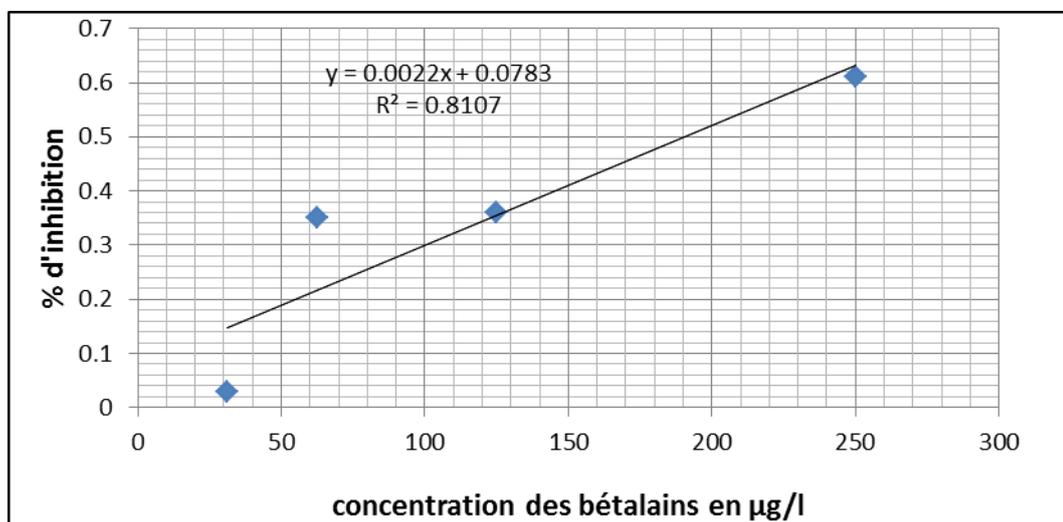
L'activité antioxydante des extraits d'anthocyane, des bétalaines et de l'acide ascorbique vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Ce radical DPPH est souvent utilisé comme un indicateur pour tester la capacité de l'extrait à donner un atome d'hydrogène ou un électron et donc l'activité antioxydante (**Tepe et al., 2005**).

Les résultats de cinétique d'inhibition de DPPH montrent que les deux pigments bétalaines et d'anthocyane, en plus de l'acide ascorbique ont une activité anti-radicalaire dose-dépendante. Ceci est en accord avec les travaux de **Chougui et al, (2013), kanoun, (2011)** et **Galati et al. (2003)**

A



B



C

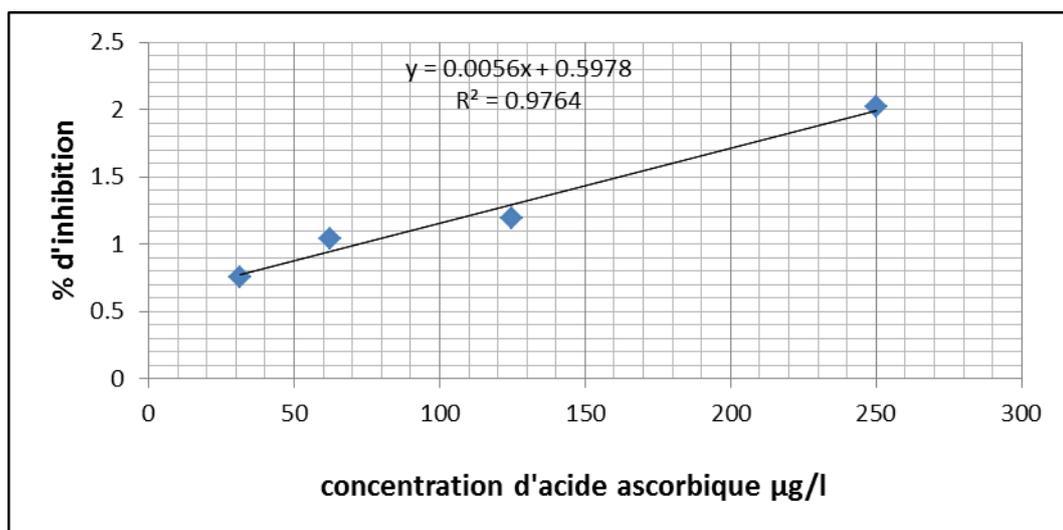


Figure 17: La courbe de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des anthocyanes (A) et bétalaines (B) des jeunes cladodes d'*Opuntia* et de l'acide ascorbique.

La capacité antioxydante de nos différents extraits est déterminée à partir de l'IC50; c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. L'IC50 et l'activité antioxydante de l'extrait testé sont inversement proportionnelles.

La **Figure 18** représente les valeurs IC50 des anthocyanes, acide ascorbique et bétalains qui sont respectivement **(18.43, 8.821 et 22.691µg/ml)**. On peut constater que l'acide ascorbique est le plus efficace dans la réduction du DPPH suivie par les anthocyanes et les bétalaines.

On peut attribuer l'effet de réduction et décoloration du DPPH par l'acide ascorbique, les bétalaines et les anthocyanes à la capacité à céder l'hydrogène; une remarque donnée par **Bougandoura et Bendimerad, (2012)**. Or, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (**Popovici et al., 2010; Rodriguez-Bernaldo et al., 2010**).

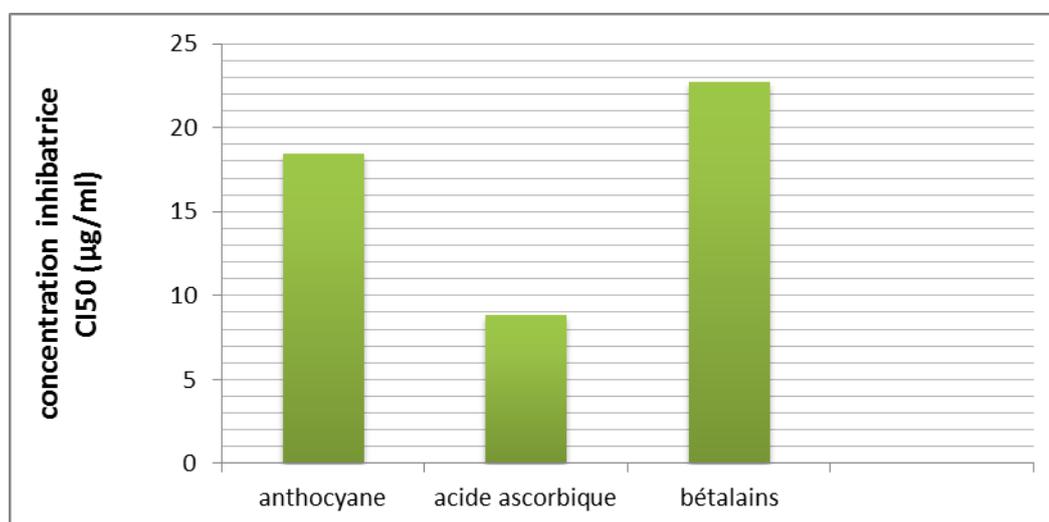


Figure 18: Comparaison des CI50 des pigments des cladodes et de l'acide ascorbique.

V.2.2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power) :

L'activité antioxydante des bétalaines et des anthocyanes de jeunes raquettes de figuier de barbarie a été évaluée autrement en utilisant la méthode de FRAP qui est un dosage de transfert d'électrons ayant l'avantage d'être simple, rapide et reproductible (**Benzie et Strain, 1996**)

La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction du Fe^{3+} /complexe ferricyanide à la forme ferreux Fe^{2+} , dont l'évaluation est mesurée en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). **Bentabet et al., (2014)** indiquent qu'il y a une

relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes.

Les chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre impliqués dans la génération de radicaux libres peuvent prévenir les oxydations (**Ferrali et al., 1997**)

A partir des résultats obtenus, on remarque qu'il y a une proportionnalité entre le pouvoir réducteur de fer par les pigments et le standard positif analysés, et l'augmentation de la concentration de ceux-ci; c'est un effet concentration-dépendant.

L'acide ascorbique est le plus efficace dans ce test avec une absorbance finale (**D.O=0.98±0.17**), devant les anthocyanes et les bétalaines (**D.O=0.35±0.03**) (**D.O=0.091±0.07**) respectivement.

Concernant les anthocyanes, et en tant que flavonoïdes, leur pouvoir réducteur est probablement dû à la présence des groupements hydroxyles qui peuvent servir comme donneurs d'électrons. C'est l'avis de **Bougandoura et Bendimerad, (2012)**, disant que ces antioxydants sont par conséquent, considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants.

En plus, les études menées sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence des sites essentiels de complexation des ions métalliques, dans un processus dépendant de la concentration de l'ion métallique, de l'antioxydant, de la température, du pH et de la présence d'agents complexants (**Ghedadba et al., 2015**).

A propos des bétalaines, **Escribano et al., (2017)** ont aussi démontré un effet antioxydant d'un extrait végétal contenant les betacyanines et betaxanthines simultanément. Il a été décrit une forte dépendance des bétalaines au pH à l'activité antioxydante mesurée.

Un équilibre de protonation améliore la qualité de donneurs d'électrons des bétalaines et les transforment en antioxydants plus actifs à des valeurs de pH supérieures à 6,0 (**Gliszczynskä-Swiglo et al., 2006; Gandía-Herrero et al., 2010**).

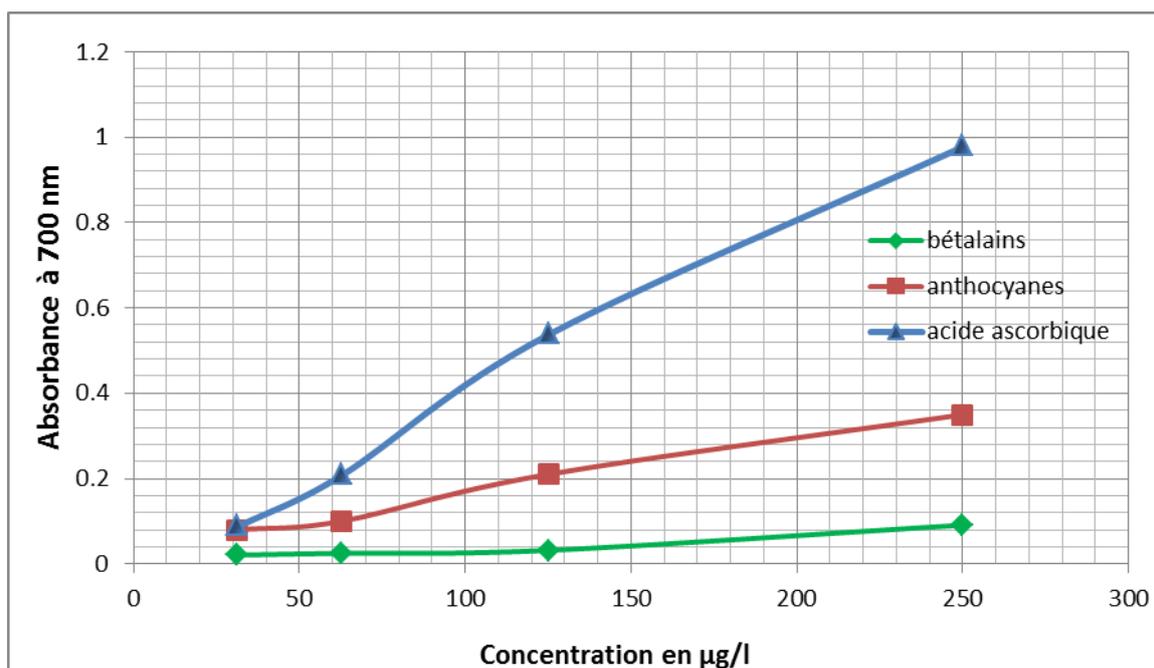


Figure 19: Evaluation de l'activité antioxydante d'extraits et acide ascorbique par la méthode FRAP.



Figure 20: les tubes à essai durant l'expérience de FRAP

V.2.3. Test de blanchissement de β -carotène :

Cette analyse appuie sur le suivi spectrophotométrique à 470 nm de la disparition de la couleur rouge du β - carotène, suite à son oxydation par les radicaux peroxydes libres issus de l'oxydation de l'acide linoléique hautement insaturé.

Le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (**Ferreria et al., 2006**).

Or, la présence d'antioxydants pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. La cinétique de blanchissement du β -carotène en présence des pigments de figuier de barbarie (anthocyanes et bétalains) et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) est comparée à celle du control négatif dans la **Figure 8**.

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (**Liyana-Pathirana et al., 2006**).

D'après nos résultats, il est évident que les deux extraits et le standard positif inhibent significativement ($p < 0.05$) la décoloration du β -carotène par rapport au contrôle négatif dont l'oxydation est totale (00 % d'inhibition). La meilleure efficacité est marquée pour les bétalains avec un taux de **46 %** d'inhibition de blanchiment du β -carotène, succédés par les anthocyanes avec **37 %** et devançant l'acide ascorbique **35 %**.

Plusieurs recherches ont déclaré que les anthocyanes présentent un effet contre la peroxydation lipidique allant même à un meilleur degré que l' α -tocopherol (**Vargas et al., 2000**). Les anthocyanes, grâce à leurs groupements hydroxyles interrompent la réaction en chaîne de la peroxydation des lipides par transformation des radicaux peroxy-lipidiques en espèces radicalaires intermédiaires peu réactives, comme ils chélatent les ions métalliques générateur des radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) (**Takahama, 1983; Ghedira, 2005 ; Chaudhuri et al., 2007 ; Mladěnka et al., 2011**).

Pour **Kanner et al., 2001**, les bétalains protègent, en concentration minimales, contre la peroxydation de l'acide linoléique provoquée par plusieurs causes.

La nature liposoluble ou hydrosoluble des antioxydants et leur concentration, jouent un rôle pivot dans l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique. Les antioxydants apolaires se placent dans l'interface lipide-eau de ce système semblable à l'émulsion des lipides dans l'eau, permettant ainsi de prévenir la formation de radicaux lipidiques et l'oxydation du

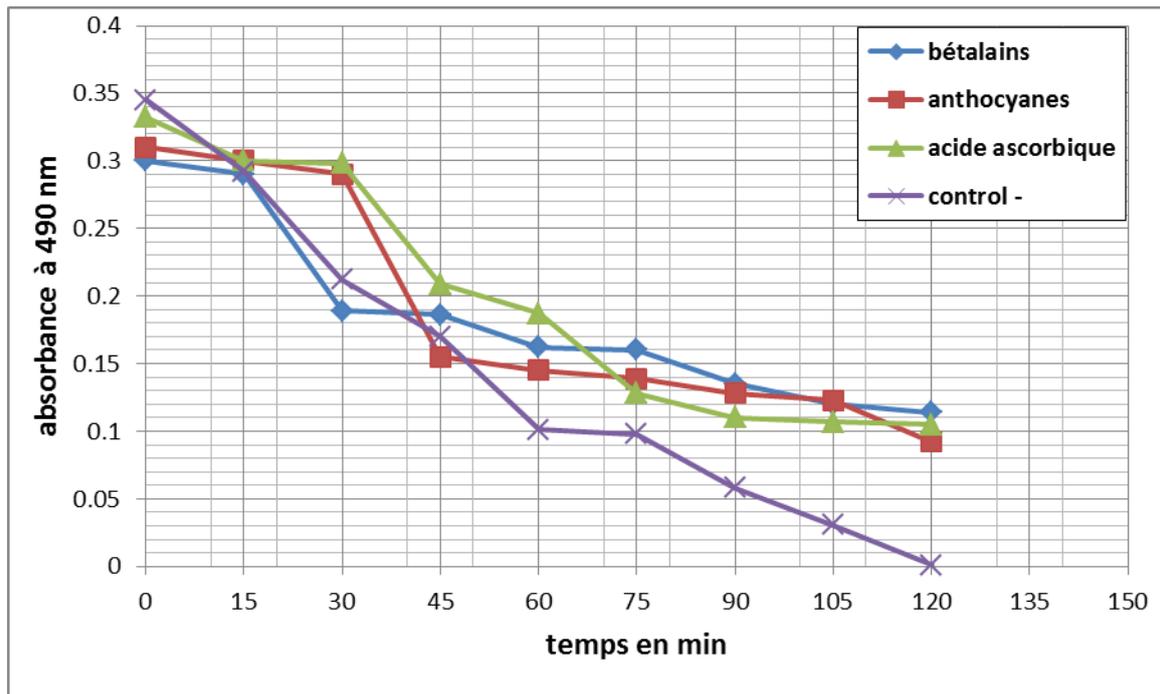


Figure 21: Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490 nm en présence de l'extrait de bétalain, d'anthocyane, contrôle -, et de l'acide ascorbique (contrôle +).



Figure 22: les tubes à essai du test de blanchissement de β -carotène.

β -carotène d'une manière plus efficace que les antioxydants polaires, dispersés dans la phase aqueuse et donc moins efficaces dans la protection des lipides (Frankel et Meyer, 2000; Haddadi, 2005)

V.2. L'activité anti-inflammatoire :

V.2.1. Activité sur la dénaturation des protéines:

L'effet anti-dénaturation des protéines des deux extraits pigmentaires de l'opuntia a été évalué in vitro par rapport au diclofénac sodium (Figure 9). De nombreuses études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro par cette méthode (Sangeetha et al., 2011; Adarsh et al., 2011).

La dénaturation des protéines peut être provoquée par l'application d'un stress externe; un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou la chaleur. C'est un processus dans lequel et suite à l'altération de leurs liaisons électrostatiques, hydrogènes, hydrophobes ou disulfures, les protéines perdent leurs structures tertiaires et secondaires ainsi que leurs fonctions biologiques; ce qui peut conduire à la production d'auto-antigènes responsables des maladies inflammatoires (Mizushima et Kobayashi, 1968; Sangeetha et al., 2011).

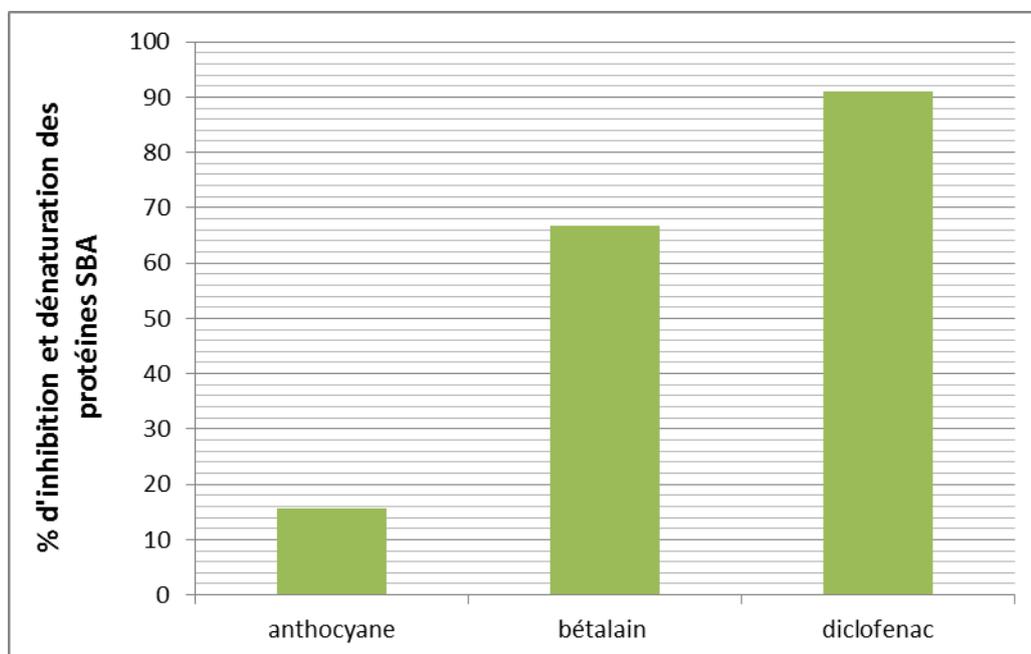


Figure 23: Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA

L'analyse des résultats dévoile une progression dans l'inhibition de la dénaturation de la BSA selon l'échantillon testé; **15.56 %** pour les anthocyanes, **66.67 %** pour les bétalains et **91.12%** pour le Diclofénac sodique utilisé comme molécule de référence.

On affiche de ce fait, un avantage pour le standard comparé aux autres phyto-molécules, mais ça n'empêche pas de signaler l'activité très intéressante des bétalaines qui dépasse les 50% et présente un résultat très prometteur dans l'activité anti-inflammatoire engendrée par les métabolites secondaires.

Les travaux de **Sangeetha et al., (2011)** ont prouvé que les anti-inflammatoires courants non stéroïdiens comme le phenylbutazone et l'indométhazine inhibent pas seulement la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines.

Plusieurs études ont montré que certains des métabolites secondaires comme les bétalains, les anthocyanes, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les saponosides possèderaient des propriétés anti-inflammatoires (**Sparg et al., 2004; Fiot et al., 2006**).

V.2.2. Evaluation de l'activité anti-hémolytique:

Le choix de ce test pour l'évaluation de l'effet anti- inflammatoire est justifié par la ressemblance de la membrane du globule rouge avec celle de lysosome. La destruction de cette dernière permet l'échappement des enzymes lysosomiales vers l'environnement extracellulaire pour participer, avec d'autres, à l'inflammation aiguë et chronique suite à l'incitation de l'endommagement des macromolécules des membranes cellulaires et la peroxydation de leurs lipides, à l'activation de protéines responsables de l'inflammation, et la production des espèces oxydatives (**Ignarro, 1974 ; Vadivu et Lakshmi, 2008 ; Reshma et al., 2014 ; Oyedapo et al., 2015**).

Le blocage de cette voie inflammatoire peut se baser alors sur la limitation de la fuite de ces enzymes hydrolytiques, qui causent la dégradation tissulaire et l'augmentation du stress oxydatif au sein des tissus et des organes via la stabilisation de la membrane lysosomiale (**Ignarro, 1974 ; Vadivu et Lakshmi, 2008 ; Oyedapo et al., 2015**).

L'examen de l'efficacité des extraits de plantes sur la stabilisation des membranes érythrocytaires exposées à une solution hypotonique et à une température élevée, présente une simulation très efficace pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro (**Reshma et al., 2014 ; Oyedapo et al., 2015**).

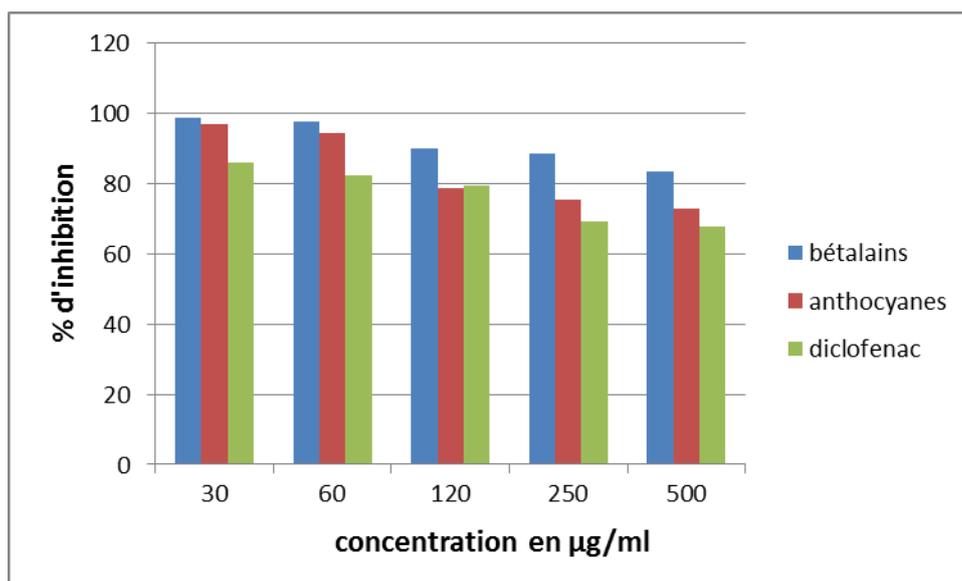


Figure 24: La comparaison entre effet de l'extrait de bétalains, l'extrait d'anthocyanes et diclofenac sur l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.

L'effet anti-hémolytique des bétalains (de 83.38 à 98.67%) est le plus prononcé, succédé par les anthocyanes (entre 72.75 et 96.67%) en deuxième rang et bien loin du diclofénac (67.77 à 85.71%). Toutefois, l'inhibition maximale est noté pour les concentrations faibles et tend à être abaisser avec leurs l'augmentation pour tous les extraits (Figure).

Aux doses utilisées, la différence au top avait atteint 19.27 (<0.05) entre les bétalains et le standard pour la concentration de 60 µg/l et 12.3 à 250 µg/l quant aux anthocyanes et standard, une différence toujours au profit des pigments. Ait Idir et Bouyoucef, en (2017) et Talah et al, (2018) ont aussi remarqué cet avantage des extraits des plantes à l'égard du diclofénac.

Les betalaines protègent les lipoprotéines de basse densité (LDL), les systèmes de modèles de membranes cellulaires et les cellules intégrales (Tesoriere et al., 2003; Tesoriere et al., 2006; Liveri et al., 2007). En plus, Kanner et al., (2001) trouvent qu'une concentration très infime (<5 µM) est suffisante pour prévenir l'oxydation membranaires

Certains bétalaines (5-25 mM) inhibent l'activation du NADPH oxidase (NOX)-1, la libération du NF-kB et des cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8, PGE2 et NO, la formation de ROS et la perte de thiols de manière dose-dépendante (Tesoriere et al., 2014)

Les anthocyanes comme (cyanidine, cyanidine-3-glucoside et cyanidine-3,5 diglucoside) ont montré des activités pour réduire réactions inflammatoires et edématisques **(Harborne et Grayer, 1988; Francis, 1989)**

Plusieurs recherches ont rapporté l'effet de quelques molécules appartenant à la famille des flavonoïdes, dont les anthocyanes, sur l'inhibition de la cyclooxygénase (COX) et la lipooxygénase (LOX), et l'inhibition de TNF- α et de NF- κ B (luteolin) **(Xagorari *et al.*, 2001 ; Hämäläinen *et al.*, 2007 ; Hwang *et al.*, 2009)**.

Ces antioxydants naturels possèdent aussi un effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse hypotonique, maintenant ainsi leur intégrité membranaire (la distribution asymétrique des phospholipides) **(Chaudhuri *et al.*, 2007)**.



Conclusion

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle dans le traitement des différentes pathologies est connue de longue date ; les effets positifs de cette phytothérapie ne sont plus à démontrer.

Cependant, l'empirisme est l'unique base derrière ces pratiques, et la mise en place d'un fond scientifique consistant est devenue un devoir envers les chercheurs, pour assurer un bon essor d'utilisation dans divers secteurs; pharmaceutique, alimentaire ou encore économique.

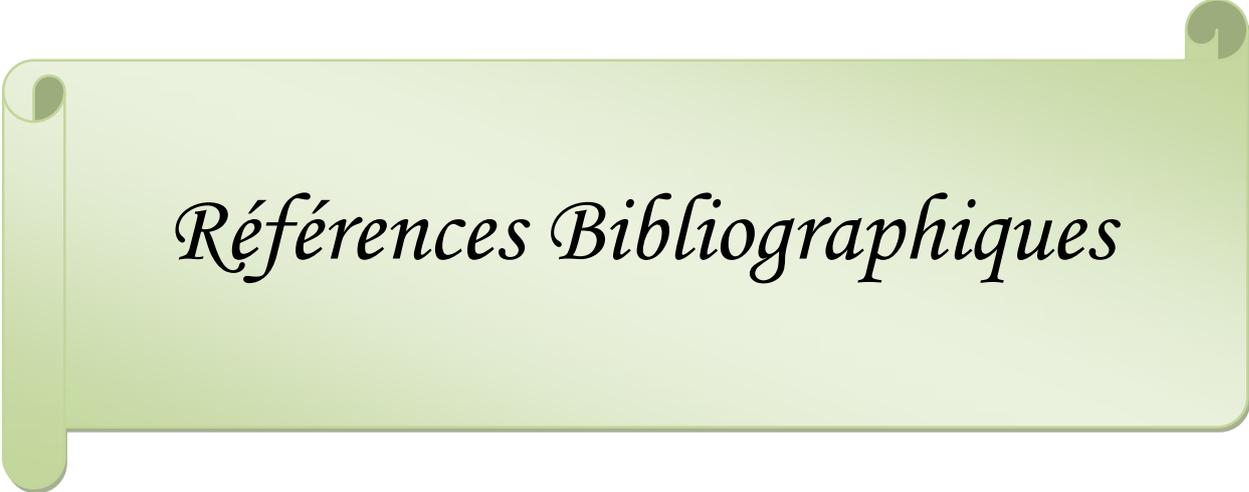
Le présent travail se découle de cette conviction, où il mise sur la recherche de biomolécules à influence curative dans les jeunes nopales de l'Opuntia Algérien. De ce fait, l'étude a mené vers la confirmation de la présence de deux pigments naturels dans ces organes végétaux, même en faible teneur, assurant probablement un rôle protecteur vis-à-vis les conditions climatiques sévères harcelant la plante mère.

L'examination de ces métabolites, bétalaines et anthocyanes, par différents essais antioxydants a révélé qu'ils agissent bien comme des piègeurs de radicaux libres et des protecteurs de l'oxydation lipidiques, mais en revanche leur capacité réductrice est restreinte.

De l'autre côté, l'inflammation en leur présence est plus ou moins freinée, notamment pour leur action anti-hémolytique auquel ont démontré une stabilisation membranaire. Outre, la dénaturation des protéines n'a pas été vraiment évitée avec ces phytopigments.

Finalement, les recommandations à mentionner comprennent:

- Une optimisation des techniques d'extraction de ces pigments, et élaboration de modalité de concentration des extraits obtenus.
- Une mise en évidence par le moyen d'une chromatographie HPLC des principaux types éventuellement présents dans les cladodes
- Une exploration de leur composition chimique et structure moléculaire en vue d'identifier de nouvelles classes spécifiques à cette plante.
- Une application d'autres méthodes et techniques, dont la finalité est d'estimer une fonctionnalité plus étendue vers d'autres domaines d'application.



Références Bibliographiques

Références bibliographiques :

- **Abidi. S, Ben salem. H, Vasta.V, Priolo. A. (2009) :** Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay. *Small Rumin. Res.*,87, 9–16.
- **Ahmed. N, HELAL1, Béchir. Ezzili. (2012) :** anthocyanin composition and extraction from grenache noir (*vitis vinifera* l.) vine leaf using an experimental design- by ethanol or sulfur dioxide. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, , 46, n°4, 295-304.
- **Altamirano. R.C, Drda. k. M , Simon.P, Smeh. k. A, Simko. P.(1992) :**Stability of red beet pigment concentrate in maize starch.*Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 595–596.
- **Amale. Boutakiout. (21 juillet 2015) :** Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie.
- **Anderson. E. F. (2001):** The Cactus Family, Timber Press, Portland, p. 15–72.
- **Arba. M (2006):** ‘Dellahia’ a cactus pear cultivar from the Mediterranean coast of Northern Morocco. *Acta Horticulturae.*, 728, 37-41.
- **Attoe. E. L, von Elbe. J. H. (1981) :** Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins.*Journal of Food Science*, 46, 1934–1937.
- **Attoe. E.L,von Elbe. J. H. (1982) :**Degradation kinetics of betanine in solutions as influenced by oxygen.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30, 708–712.
- **Attoe. E.L,von Elbe. J. H. (1985) :** Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. *Journal of Food Science*, 50, 106–110.
- **Benattia. Farah Kenza. (21/11/2017):** Analyse ET Application Des extraits de pépins de figues de barbarie, (44).
- **Bessas. A, Benmoussa.L, Kerarma. M.(2007) :** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.
- **Burger. J, Edwards.GE. (1996) :** « Photosynthetic efficiency, and photodamage by UV and visible radiation, in red versus green leaf *Coleus* varieties », *Plant Cell Physiol*, 37, p.395–399.

- **C. Gentile, a L. Tesoriere, A M. Allegra, a M. A. Livrea, P. D'alessio. (2004):** Antioxidant Betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) Inhibit Endothelial ICAM-1 Expression.
- **Cai.Y, Sun.M, Corke. H. (2003) :** Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2288–2294.
- **Cai.Y, Sun.M, Corke. H. (1998).** Colourant properties and stability of pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4491–4495.
- **Carlos.m.g, Cecilia.gouveia1, maria.c, vitorino1.luiz , c.gazarini, maria m.ribeiro, fátima peres. (2017):** bioactive compounds and morphology in *Opuntia* spp. fruits from portuguese ecotypes.
- **Cheurfa. Zineb , Azzoug. Afaf ,(2012_2013) :** Effet du la fortification de l'acide ascorbique sur la stabilité des anthocyanes et les paramètres physio_chimique du jus d'orange sanguine lors des traitement,(03_09).
- **Chougui. Nadia, Louaileche. Hayette, Mohedeb. Safia, Mouloudj. Yasmina, Hammoui. Yasmina, Tamendjari. Abderezak. (2013):** Physico-chemical characterisation and antioxidant activity of some *Opuntia ficus-indica* varieties grown in North Algeria. *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(3), pp. 299-307.
- **Delgado-vargas.F, al. Crit . (2000):** Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains -characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 173–289.
- **Drunkler. D. A, Fett. R, Bordignon. Luiz, M .T. (2006):** Avaliac, a ã o da estabilidade de betalai´nasemextrato de beterraba (*Beta vulgaris* L.) com a-, b- e c-ciclodextrinas. *Boletim Centro de Pesquisa deProcessamentode Alimentos*, 24, 259–276.
- **Elena. castellanos-santiago, elhadi. m. yahia. (2008):** Identification and Quantification of Betalains from the Fruits of 10 Mexican Prickly Pear Cultivars by High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. in *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- **Escribano. J, Pedreño.,M.A, Garcia-Carmona. F, Munoz. R.(2015).** Characterization of the antiradical activity ofbetalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochem.Anal.*1998, 9, 124–127.7. Jain, G.; Gould, K.S. Are betalain pigments the functional homologues of anthocyanins in plants *Environ. Exp. Bot*, 119, 48–53.
- **F. Delgado-Vargas, A. R. Jiménez, O. Paredes-López (2000):** Natural Pigments: Carotenoids,Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40:3, 173-289.
- **Fernando.Gand, IA-Herrero, Josefa.Escribano, Fransisco. Gaarcia-Carmona (2016):** Activities of Plant Pigments Betalains,(937_938).

- **Ferradji. Ayoub. (2010-2011)** : extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus (01_09).
- **Florian.C.stintzing, Reinhold.Carle. (2004)** :functional poperties of anthocyanins and betalains in plants,food and in human nutrition.
- **Francis. F. J. (1989)** : Food colorants: anthocyanins, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1989; 28(4): 273–314.
- **Gandia-Herrero.,F, Garcia-Carmona. F. (2013)** : Biosynthesis of betalains: Yellow and violet plant pigments.Trends Plant Sci, 18, 334–343.
- **Gandia-Herrero.F,Garcia-Carmona.F. (2012)** : Characterization of recombinant Beta vulgaris4,5-DOPA-extradiol-dioxygenase active in the biosynthesis of betalains. Planta, 236, 91–100.
- **Garcia Barrera. F. A, Reynoso. C. R, Gonza. lez de Meji´a. E. (1998)** : Estabilidad de las betalain´nasextra´dasdelgarambullo (Myrtillocactusgeometrizzans). Food Science and Technology International, 4,115–120.
- **Gonçalves. L. C. P; Marcato. A. C, Rodrigues. A. C. B, Pagano. A. P. E, Freitas.B. C, Machado.C. O, Nakashima. K. K, Esteves. L. C, Lopes. N. B, Bastos. E. L.(2014-2015)** : Betalains: from the Colors of Beetroots to the Fluorescence of Flowers.
- **Guy.Polturak, Asaph. Aharoni. (2016-2017)** :la vie en rose:biosynthesis,sources and applications of betalans pigements 8-9.
- **Habbi.Y. (2004)** : Contribution à l’etude Morphologique,ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie : les polysaccharides pariétaux caractèrisation et modification chimique. Thèse Doctorat : Marrakech : Universtè Josep Fourier., 1, pp(04-05).
- **Han. D, Kim. S.J, Kim. D.M. (1998)**: Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidant.Journal of Food Science, 63, 69–72.
- **Harborne. J. B, Grayer. R. J (1988)** : The anthocyanins. In: Harborne, J.B., Ed. The Flavonoids. London: Chapman and Hall Ltd,1-20.
- **Hatlestad. G. J, Sunnadeniya. R. M, Akhavan. N.A, Gonzalez. A, Goldman. I.L, McGrath., J.M, Lloyd. A. M. (2012)** : The beet R locus encodes a new cytochrome P450 required for red betalain production. Nat. Genet., 44,816–820.
- **Havli´kova. L, Mi´kova. K, Kyzlink. V. (1983)**: Heat stability of betacyanins.Zeitschriftfu¨rLebensmittel-Untersuchung und –Forschung, 177, 247–250.
- **Henriette. M.C.Azeredo.(2006)**: Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review.

- **Herbach. K.M, Stintzing. F.C, Carle. R. (2006)** : Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71, R41–R50.
- **Huang. A.S, von Elbe. J.H. (1986)** : Stability comparison of two betacyanine pigments – amaranthine and betanine. *Journal of Food Science*, 51, 670–674.
- **Jackman.R.L, Smith. J.L. (1996)** : Anthocyanins and betalains. In: *Natural food colourants*(edited by G.F. Hendry & J.D. Houghton).pp. 244–309. London: Blackie Academic & Professional.
- **Josefa.Escribano. (2017)** : Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties (286_287).
- **Josefa.Escribano, Juana .Cabanes, Mercedes. Jiménez-Atiénzar, Martha.Ibañez-Tremolada b, Luz. Rayda.Gómez-Pando, Francisco. García-Carmona, Fernando. Gandía-Herrero (2017)**: Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food Chemistry* 234, 285–294.
- **Joseph.Kanner, Stela. Harel, Rina.Granit (2001)**: Betalains A New Class of Dietary Cationized Antioxidants. *J. Agric. Food Chem*, 49, 5178–5185.
- **Kanoun.khadidja (2007)**: Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).
- **Khan.M.I., Giridhar. P. (2015)** : Plant betalains: chemistry and biochemistry. *Phytochemistry* 117:267–295.
- **Kishima.Y, Shimaya. A, Adachi. T. (1995)** : Evidence that blue light induces betalain pigmentation in *Portulaca oleracea*. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 43, 67–70.
- **L. Tesoriere, A. Attanzio, M. Allegra, C. Gentile, M. A. Livrea (2014)**: Indicaxanthin inhibits NADPH oxidase (NOX)-1 activation and NF- κ B-dependent release of inflammatory mediators and prevents the increase of epithelial permeability in IL-1 β -exposed Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 111, 415–423.
- **L. Tesoriere, M. Allegra, D. Butera, C. Gentile. M. A. Livrea. (2005-2006)** : Cytoprotective effects of the antioxidant phytochemical indicaxanthin in β -thalassemia red blood cells.
- **Lee. D.W, Lowry. J.B. (1980)** : « Young-leaf anthocyanin and solar ultraviolet », *Biotropica*, p. 75–76.
- **Linda.Chalker-Scott**, « Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses »,
- **Liveri. M. L. T, Sciascia. L, Lombardo. R, Tesoriere, L, Passante. E.; Livrea. M. A. (2007)**: Spectrophotometric evidence for the solubilization site of betalain pigments in membrane biomimetic systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 2836.

- marocain (*Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*), 23_ 55 .
- **Nowacki. L, Vigneron. P, Rotellini. L, Cazzola. H, Merlier. F, Prost. E, Ralanairina. R, Gadonna. J.P, Rossi. C, Vayssade. M. (1 juillet 1999) :** Betanin-Enriched Red Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extract Induces Apoptosis and Autophagic Cell Death in MCF-7 Cells. *Phytother. Res.* 2015, 29, 1964–1973. *Photochemistry and Photobiology*, vol. 70p. 1–9.
- **Omar.Khatabi, Hafida.Hanine, Driss.Elothmani, Aziz.Hasib. (2011) :** extraction and determination of polyphenols and betalains pigments in the moroccen prickly pear fruits (*opuntia ficus indica*).
- **Polturak. G, Aharoni. A. (2018) :** ‘‘La Vie en Rose’’: Biosynthesis, Sources, and Applications of Betalain Pigments. *Mol. Plant.* 11, 7–22.
- **Polturak.G, Heinig. U, Grossman. N, Battat. M, Leshkowitz. D, Malitsky. S, Rogache. I, Aharoni. A.(2018) :** Transcriptome and Metabolic Profiling Provides Insights into Betalain Biosynthesis and Evolution in *Mirabilis jalapa*. *Mol. Plant.* 11, 189–204.
- **Polturak. G, Breitel. D, Grossman. N, Sarrion-Perdigones. A, Weithorn. E, Pliner. M, Orzaez. D, Granell. A, Rogachev. I, Aharoni. A. (2016) :** Elucidation of the first committed step in betalain biosynthesis enablesthe heterologous engineering of betalain pigments in plants. *New Phytol.* 210, 269–283.
- **Polturak. G, Grossman. N, Vela-Corcia. D, Dong. Y, Nudel. A, Pliner. M, Levy. M, Rogachev. I, Aharoni. A. (2017) :** Engineered gray mold resistance, antioxidant capacity and pigmentation in betalain-producing crops andornamentals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 114, 9062–9067.
- **Remmelt.Van Der Werf. (2014) :** Evaluation du pouvoir anti-oxydant des aliments: recherche de leurs effets modulateurs sur le stress oxydant dans le cas du diabète.
- **Rim.Nabli, Sami.Achour1, Michaël. Jourdes , Pierre-Louis.Teissedre, Ahmed. N. Helal, Béchir. Ezzili. (2012) :** anthocyanin composition and extraction from grenache noir (*vitis viniferal.*) vine leaf using an experimental design i- by ethanol or sulfur dioxide.
- **Saffidine .Karima. (2015) :** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L.
- **Saguy. I, Goldman. M, Bord.A. Cohen.E. (1984) :** Effect of oxygen retained on beet powder on the stability of betanine and vulgaxanthine-I. *Journal of Food Science*, 49, 99–101.
- **Saguy. I, Kopelman. I.J, Mizrahi. S. (1978).** Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 360–362.

- **Sasaki. N, Adachi. T, Koda. T, Ozeki. Y.(2004)** : Detection of UDP-glucose:cyclo-DOPA 5-O-glucosyltransferase activity in four o'clocks (*Mirabilis jalapa*L.). *FEBS Lett.* 568, 159–162.
- **Sasaki. N, Wada. K, Koda. T, Kasahara. K, Adachi. T, Ozeki. Y (2005)** : Isolation and characterization of cDNAs encoding an enzyme with glucosyltransferase activity for cyclo-DOPA from four o'clocks and feathercockscombs. *Plant Cell Physiol.* 46, 666–670.
- **Schliemann. W, Kobayashi. N, Strack. D. (1999)** : The decisive step in betaxanthin biosynthesis is a spontaneous reaction. *Plant Physiol.* 119, 1217–1232.
- **Sekiguchi. H, Ozeki. Y, Sasaki. N. (2013)** : Biosynthesis and regulation of betalains in red beet. In *Red Beet Biotechnology*, B. Neelwarne, ed. (New York: Springer), pp. 45–54.
- **Sivasankar. V, Moorthi. A, Sarathi Kannan. D, P. Suganya devi. (2011)**: Anthocyanin, and its antioxidant properties in selected fruits. *Journal of Pharmacy Research*, 4(3), 800-806
- **Steglich. W, Strack. D. (1990)** : Betalains. *The alkaloids: Chem. Pharmacol.* 39:1–62.
- **Stintzing. F.C, Carle. R. (2004)** : Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.*, 15, 19-38.
- **Strack. D, Vogt. T, Schliemann. W. (2003)** : Recent advances in betalain research. *Phytochemistry.* 62, 247–269.
- **Sullivan. M.L. (2014)** : Beyond brown: Polyphenol oxidases as enzymes of plant specialized metabolism. *Front. Plant Sci.* 5, 783.
- **Sunnadeniya. R, Bean. A, Brown. M, Akhavan. N, Hatlestad. G , Gonzalez. A, Symonds. V.V, Lloyd. A. (2016)** : Tyrosine Hydroxylation in Betalain Pigment Biosynthesis Is Performed by Cytochrome P450 Enzymes in Beets (*Beta vulgaris*). *PLoS ONE* .11, e0149417.
- **Tanaka. Y, Sasaki. N, Ohmiya. A. (2008)** : Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54, 733–749
- **Tesoriere.L, Allegra. M, Butera. D, Gentile. C, Livrea. M. A. (2006)**: Cytoprotective effects of the antioxidant phytochemical indicaxanthin in beta-thalassemia red blood cells. *Free Radical Research*, 40, 753
- **Tesoriere. L, Butera. D. D, Arpa. D. Di, Gaudio. F, Allegra. M, Gentile. C, Livrea. M. A. (2003)**: Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Research*, 37, 689.
- **Vogt. T, Ibdah. M, Schmidt. J, Wray. V, Nimtz. M, Strack. D. (1999)** : Light-induced betacyanin and flavonol accumulation in bladder cells of *Mesembryanthemum crystallinum*. *Phytochemistry.* 52, 583–592.

- **Vogt.T, Zimmermann. E, Grimm. R, Meyer. M, Strack. D. (1997) :** Are the characteristics of betanidinglucosyltransferases from cell-suspension cultures of *Dorotheanthusbellidiformis* indicative of their phylogenetic relationship with flavonoid glucosyltransferases *Planta*, 203, 349–361.
- **Von Elbe. J.H, Maing. I, Amundson. C.H. (1974) :** Colour stability of betanin. *Journal of Food Science*, 39, 334–337.
- **Xingyuan. Xi , Yuan . Zong , Shiming. Li, Dong. Cao, Xuemei. Sun, Baolong. Liu . (2018-2019) :** Transcriptome Analysis Clarified Genes Involved in Betalain Biosynthesis in the Fruit of Red Pitayas (*Hylocereus costaricensis*).

Résumé

Cette étude s'intéresse à la remise en valeur du Figuier de barbarie Algérien, en réhabilitant ses cladodes en jeune stade de croissance, à travers l'exploitation des pigments bétalaines et anthocyanes dont ils sont la source.

La quantification spectrophotométrique des bétalaines et anthocyanes, révèle des teneurs de l'ordre de **104.8 et 3.013 mg/100g de poids sec**. Les tests antioxydants des anthocyanes et bétalaines in vitro, montrent un effet chélateur (DPPH) égal à **(18.43 et 22.691 µg/ml)** en **IC50**, un pouvoir réducteur du fer ferrique (FRAP) exprimé en absorbance de **(D.O=0.35±0.03)** à **(D.O=0.091±0.07)** et un pourcentage d'inhibition de blanchiment du β-carotène aux alentours des **37 % et 46 %**, respectivement.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire passe à travers l'estimation de l'effet protecteur de ces pigments pour les protéines SBA contre la dénaturation, et l'appréciation du taux d'empêchement d'hémolyse des hématies humaines; dont les résultats -selon le test- étaient **(15.56 % et 66.67 %)** et **(96.67% et 98.67%)** pour les anthocyanes et les bétalaines successivement.

Les nopales d'Opuntia de Theniet lhad- Tissemsilt sont dotés de potentialités pharmacologiques antioxydante et anti-inflammatoire non négligeables, d'où l'intérêt croissant par différents secteurs est plus que mérité.

Mots clés: Opuntia ficus indica, jeunes cladodes, bétalaines, anthocyanes, antioxydant, anti-inflammatoire.

Abstract

This study focuses on the rehabilitation of the Algerian Prickly Pear, through the exploitation of the pigments; betalains and anthocyanins of its young cladodes which are their source.

The spectrophotometric quantification of betalains and anthocyanins reveals levels of **104.8 and 3.013 mg / 100 g of dry weight**. The antioxidant tests of anthocyanins and betalains in vitro, show a chelating effect (DPPH) IC50 values equal to **(18.43 and 22.691 µg / ml)**, a ferric iron reducing power (FRAP) expressed as absorbance from **(OD = 0.35 ± 0.03)** to **(OD = 0.091 ± 0.07)** and a percent inhibition of β-carotene bleaching at around 37% and 46%, respectively.

The evaluation of the anti-inflammatory activity passes across the protective effect of these pigments against SBA proteins denaturation, and the rate of prevention of hemolysis of human red blood cells; the results of which - according to the test - were **(15.56% and 66.67%)** and **(96.67% and 98.67%)** for anthocyanins and betalains successively.

The nopals of Opuntia of Theniet lhad-Tissemsilt are endowed with significant pharmacological antioxidant and anti-inflammatory potentialities, from where the interest increasing by different sectors is more than deserved.

Key words: Opuntia ficus indica, young cladodes, betalains, anthocyanins, antioxidant, anti-inflammatory.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى إعادة الاعتبار للتين الشوكي الجزائري، من خلال استغلال أصباغ البيتاين والأنثوسيانين الموجودة في الفروع اليانعة لهذا الصبار.

كشف القياس الكمي الطيفي عن مستويات تتراوح بين **104.8 و 3.013 ملغم / 100 غرام من الوزن الجاف لكل من البيتاين والأنثوسيانين**، بينما أظهرت تحاليل التأثير المضاد للأكسدة المخبرية أن قدرة تكليب (DPPH) ممثلة بقسمة IC50 تساوي **18.43 و 22.691 ميكروغرام / مل** لكل من النثوسيانين والبيتاين.

و في نفس الصدد، فإن القوة الإرجاعية لعنصر الحديد في اختبار (FRAP)، معبرا عنها بالامتصاص الضوئي كانت **(OD = 0.35 ± 0.03)** و **(OD = 0.091 ± 0.07)**، في الوقت الذي كان التثبيط المنوي لتبييض للبيتاكاروتين حوالي **37 % و 46 %** للأنثوسيانين والبيتاين تواليا. في المقابل أسفرت نتائج تقييم النشاط المضاد للالتهابات لهذه الأصباغ النباتية، وبفس الترتيب، عن تأثير وقائي ضد تخرب بروتينات SBA يصل إلى **15.56 % و 66.67 %**، فيما كان معدل الوقاية من انحلال خلايا الدم الحمراء البشرية يبلغ **(96.67 % و 98.67 %)**. بينت هذه النتائج أن نبات الابونثيا المنتقى من دائرة تنية الحد بنيسمسيلت، ولتميزه بإمكانيات علاجية كبيرة كمضاد للأكسدة والالتهاب، يستحق وباقتدار، الاهتمام المتزايد به من قبل القطاعات المختلفة.

الكلمات الأساسية: التين الشوكي، الفروع اليانعة، البيتاين، الأنثوسيانين، مضاد الأكسدة، مضاد الالتهاب.