

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
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 Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

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

Présenté par :

CHOTT Hanane

DJELOULI Tourkia

Thème

**Etude de quelques propriétés biologiques in vitro des
caroténoïdes et alcaloïdes des jeunes cladodes du figuier de
barbarie (*Opuntia ficus-indica*)**

Soutenu publiquement le 06/07/2019

Jury:

Président:

BOUFARESE K.

Grade

M.A.A.

Encadreur:

MOUSSAOUI B.

M.A.A.

Co-encadreur:

REGHIOUI B.

INGENIEUR

Examineur 1:

SOUALEMI N

M.C.B.

PROMOTION : 2018/2019

Remerciement

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le Courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci D'avoir éclairé mon chemin de la réussite.

Nos remerciements sont formulés aussi à nos parents de nous avoir élevé, instruit, pour tous leurs sacrifices,...les mots s'épuisent sans doute, mais vous comprendrez que tout un univers de paroles ne pourrait suffire pour vous dire merci.

Nous tenons à remercier notre promoteur M. Moussaoui Badreddine et notre co-promoteur M. Reghioui Bachir pour avoir confié ce sujet, pour leur aide précieuse, mais aussi pour leur suivi, leurs conseils judicieux et leur soutien.

Nous remercions aussi tous les laborantins pour leur aide et leur gentillesse au quotidien.

Nous remercions les plus sincères sont adressés au Dr Boufarese qui nous a fait honneur en acceptant de présider ce jury et au Dr Soualemi pour le plaisir qui nous a accordé en consacrant de son temps pour examiner notre travail.

Une pensée pleine de reconnaissance à tous les enseignants du Département de Sciences de nature et de vie, qui ont contribué à notre formation pendant toute la durée de nos études, afin d'acquérir ce modeste savoir.

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

❖ *A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

❖ *A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma Vie; ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, Courage et sécurité.*

❖ *A mes sœurs*

❖ *A mon frère*

❖ *A toute la famille*

❖ *A mes amis*

DJELOULI Tourkia

Dédicace

Je dédie ce travail à :

 *Mes parents*

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçoit à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit.

 *Mon frère et mes sœurs*

Qui n'ont cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité. Je me permets aujourd'hui de vous présenter ma grande reconnaissance.

Tous mes amis

Tous ceux ou celles qui me sont chers.

Tous mes enseignants tout au long de mes études.

Tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	
DEDICACE	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	

INTRODUCTION GENERALE

ETUDE THEORIQUE

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LE FIGUIER DE BARBARIE

I.1. Définition et répartition géographique	04
I.2. Caractéristique morphologique	04
I.3. Caractéristique Physiologie	05
I.4. Utilisations	07
I.4.1. Utilisations Alimentation et cosmétiques	07
I.4.2. Vertus pharmaceutiques	08
I.4.3. Autres utilisations	08

CHAPITRE II. LES CAROTENOÏDES ET LES ALCALOÏDES.

II.1. Alcaloïdes :	09
II.1.1. Définition des alcaloïdes :	09
II.1.2. Classification	09
II.1.3. Biosynthèse	11
II.1.4. Propriétés physico-chimique	11
II.1.5. Localisation et répartition des alcaloïdes	13
II.1.6. Rôle des alcaloïdes	14
II.1.7.action pharmacologique et emplois	14
II.2. Les caroténoïdes :	15
II.2.1. Définition et structures chimique :	15
II.2.2. Classification des caroténoïdes :	16
II.2.3. Biosynthèse de Caroténoïdes	18
II.2.4. Propriétés physico-chimiques des caroténoïdes :	18
II.2.5. Source et distribution des caroténoïdes :	21
II.2.6. Rôle et bienfaisance des Caroténoïdes :	21

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III. MATERIEL ET METHODES

III.1. Objectifs	22
III.2. Lieux et période d'étude	22
III.3. Matériel	22
III.3.1. Matériel végétale	22
III.3.2. Matériel de laboratoire	23
III.4. Protocole expérimental	24
III.4.1. Extraction et quantification des alcaloïdes	25
III.4.2. Extraction et quantification des caroténoïdes	25
III.5. L'activité anti-oxydante	27
III.5.1. Test DPPH:	27
III.5.2. Dosage du pouvoir réducteur « FRAP »:	28
III.5.3. Test de blanchissement de la β -carotène:	29
III.6. Activité anti-inflammatoire	29
III.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines:	29
III.6.2. Inhibition de l'effet hémolytique sur les globules rouges:.....	30
<i>a. Prélèvement du sang humain Préparation de la suspension des globules rouges humains:</i>	30
<i>b. Evaluation de l'extrait sur la stabilisation de la membrane des globules rouges :</i>	31
III.7. Analyse statistique	31

CHAPITRE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Rendement d'extraction	32
IV.2. Activité antioxydant	33
IV.2.1. Test DPPH :	33
IV.2.2. Test de FRAP.....	35
IV.2.3. Blanchissement de β -carotène :	37
IV.3. Activité anti-inflammatoire	38
IV.3.1. Effet sur la dénaturation des protéines :.....	38
IV.3.2. Teste d'inhibition de l'hémolyse :	39

CONCLUSION GENERALE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs	: Absorbance
AINS	: Anti-inflammatoire non stéroïdiens
AIS	: Les anti-inflammatoires stéroïdiens
C₂H₄Cl₂	: Dichloromethane
C₄₀H₅₆	: B-carotène
DPPH·	: Radical 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl
FeCl₃	: Chlorure de fer
FRAP	: Ferric reducing antioxidant power
IC₅₀	: Concentration permettant d'inhiber 50
MeOH	: Méthanol.
ONG	: Organisation Non Gouvernementale
pH	: Potentiel d'hydrogène.
R	: Coefficient de détermination.
RMAP	: Rapport du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche maritime.
SBA	: Sérum Bovine Albumin
UV	: Ultra-Violet.
UV/VIS	: Radiation ultraviolette/ Visible
UVA	: Radiations ultra-violettes

LISTE DES FIGURES

Figure.1. Figuier de barbarie et ses parties (cladode, épine, fleur, fruit et grains)	06
Figure.2. Photosynthèse de type CAM.....	06
Figure.3. Quelques exemples des alcaloïdes	10
Figure.4. Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes.....	12
Figure 5 : Structure des caroténoïdes	15
Figure 6 : Structure des caroténoïdes communs	17
Figure 7 : Stade proposés pour la caroténogénèse.....	19
Figure 8 : Voie détaillée de biosynthèse des caroténoïdes dans les plantes	19
Figure 9 : Jeune cladode Opuntia de Theniet el-Had – Tissemsilt	22
Figure 10. Montage d'extraction	23
Figure 11 : Protocole expérimental	24
Figure 12. Extraction des alcaloïdes de jeune cladode.....	26
Figure 13. Extraction des caroténoïdes de jeune cladode.....	26
Figure 14. Structure chimique de DPPH	27
Figure 15. Extrait brut d'Opuntia ficus indica.....	33
Figure 16. Inhibition caroténoïde en fonction de concentration.	34
Figure 17. Inhibition d'alcaloïde en fonction de concentration.	34
Figure 18. Inhibition d'acide ascorbique en fonction de concentration.	34
Figure 19. Evaluation de l'activité antioxydant des extraits par méthode de FRAP.	36
Figure 20. Absorbance des deux extraits et l'acide ascorbique et méthanol en fonction de temps.....	37
Figure 21. Taux d'inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits et diclofénac.....	39
Figure 22. Taux d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges par les extraits et diclofénac.....	40

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: La solubilité des alcaloïdes	13
Tableau 02: Appareillages et verreries utilisés.....	23
Tableau 03: Rendement d'extraction des caroténoïdes et alcaloïdes des jeunes cladodes d'opuntia	32
Tableau 04: Valeurs des IC50 trouvées pour les deux extraits et acide ascorbique	35

Introduction générale

Introduction générale

L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique, que la recherche médicale moderne redécouvre aujourd'hui, avec un intérêt grandissant dans différents domaines (**El Hachimi F., 2017**).

De nombreuses plantes exploitées dont l'Algérie en présente un territoire riche et vierge toujours méconnu et mal exploité, sont de plus en plus utilisées pour leurs principes actifs amenant vers des activités médico-pharmaco-cosmétiques diversifiées; anti-inflammatoires, antioxydants, cicatrisantes, amincissantes et antiseptiques (**El Hachimi F., 2017**).

Le figuier de Barbarie (*L'Opuntia ficus indica*) et toutes ses parties, est un exemple incontestable de ces plantes à potentiel thérapeutique localement marginalisées, alors qu'il présente l'objet des projets de développement agricole et des programmes d'aménagement rural dans d'autres pays (**Walali., 1997 ; Arba et al., 2000**).

L'intensification et la vulgarisation de son usage chez nous, paraissent comme un passage inévitable, pour l'extension de ses rôles socio-économiques et environnementaux dans les zones à faible pluviométrie et à hauts risques climatiques (**Walali., 1997 ; Arba et al., 2000**).

Les extraits bruts d'*Opuntia ficus indica* commencent à gagner en importance comme source potentielle de molécules naturelles bioactives; ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses, comme anti-inflammatoires et anti-analgésiques, ou même pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Sohal R. S., 2002**).

C'est dans ce sens que s'inscrit notre objectif expérimental, où nous nous visons à extraire deux substances actives à partir des jeunes cladodes de la variété inerme du figuier de barbarie issus de la région de Theniet Elhad (Tissemsilt), avant de s'engager dans des tests d'évaluation des effets antioxydants et anti-inflammatoires *in vitro*.

Le recueil théorique sur ce cactus et sur ces métabolites secondaires, présente le contenu des deux premiers chapitres bibliographiques.

La partie pratique, quant à elle, englobe les expériences menées sur l'extraction et le dosage des métabolites d'intérêt, ainsi que les méthodes d'examination des effets biologiques antioxydant et anti-inflammatoire. Les résultats obtenus sont analysés et discutés pour dégager une conclusion générale récapitulant l'essentiel à retenir et les perspectives à prévoir.

Etude théorique

Chapitre I
Généralités sur le figuier de barbarie
(Opuntia ficus Indica).

Chapitre I: L'*Opuntia ficus indica*.

I.1. Définition et répartition géographique *Opuntia ficus indica*

L'*Opuntia ficus indica* est un cactacée de l'ordre de Caryophyllacées communément connue sous le nom de poire de cactus, une plante Angiosperme Dicotylédone originaire du Mexique, largement représenté dans le paysage rural algérien, en plantation plus ou moins régulières, aussi bien dans les régions côtières que dans les régions continentales (**Wallace et Dickie., 1997; Guzman et al., 2003; Araba et al., 2000; Habibi, 2004; De Wit., 2010**)

Ce cactus produit un fruit comestible appelé figue de Barbarie et s'adapte aux conditions climatiques tropicales, semi-aride à aride suite à sa capacité remarquable de résister à des périodes de sécheresse prolongées. (**Habibi., 2004 ; Lydakis et al., 2005; Al-Juhaimi., 2012**)

I.2. Caractéristiques morphologiques:

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente vivace, caractérisée par des tiges en forme de raquettes plates charnues et ovales pouvant atteindre 3 à 4 mètres de haut et un système racinaire charnu, superficiel et à dispersion horizontale (**Scheinvar., 1995; Fournier., 2011**).

a) Les cladodes (la tige):

Les raquettes de couleur verte, appelées cladodes, mesurent 30 à 40 centimètres de long, sur 15 à 25 cm de large et 1,5 à 3 cm d'épaisseur, elles sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration de la plante et la protège tout en assurant la fonction chlorophyllienne à la place des feuilles (**Scheinvar., 1995; Fournier., 2011**).

Ces cladodes s'unissent les unes aux autres, en formant des sortes de branches charnues ou ligneuses, dans le temps où les cladodes de la base, en vieillissant, finissent par se lignifier pour former un véritable tronc (**Scheinvar., 1995; Fournier., 2011**).

b) La feuille:

Les feuilles des espèces d'*Opuntia* sont réduites en épines et il est parfois difficile de les identifier ou de retrouver leurs cicatrices. Les aréoles qui sont de petite protubérance à la surface des cactées d'où émergent les aiguillons ou les soies, portent des épines et des poils

spéciaux appelés les glochcides. Ces épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées, avec une longueur de 1 à 2 cm, mais il existe des variétés inermes (sans épines) (**Sudzuki., 1995; Fournier., 2011**). C'est à partir des tissus méristématiques des aréoles que se développent les nouvelles cladodes, racines et fleurs (**Sudzuki., 1995**).

c) La fleur:

Le figuier de Barbarie donne des fleurs et des fruits en abondance. Les fleurs sont hermaphrodites, solitaires, larges de 4 à 10 cm et de couleur jaune, orange ou rouge, elles apparaissent sur le dessus des raquettes en avril,-mai dans les climats tempérés. Leurs sépales, pétales et étamines sont en nombre indéfini et en disposition spiralée, alors que leur gynécée est formé par un ovaire inféré constitué de 5 carpelles soudées qui se transforme à maturité en un fruit comestible (**Nerd et al., 1991; Sudzuki., 1995; Fournier., 2011**).

d) Le fruit

Appelé figue de Barbarie, ce fruit ornée de petites épines se présente sous la forme d'une grosse baie ovoïde et charnue, dont la peau varie du jaune clair au rouge violacé; et dont le goût se révèle délicieux et subtil. Les fruits sont cueillis fin juillet à septembre, dès qu'ils deviennent un peu mous, mais dans certaines contrées arides et chaudes, la plante peut donner des fruits deux fois par an (**Fournier., 2011**).

e) La graine:

Les graines, riches en vitamines et en oligoéléments, confèrent de nombreuses propriétés et c'est à partir d'elles que l'on obtient une huile très recherchée (**Fournie ., 2011**).

I.3. Physiologie :

Le figuier de Barbarie est une plante qui a une photosynthèse de type CAM (Crassulacean Acide Metbolism), dont la particularité est de fixer et stocker le CO₂ pendant la nuit, car les stomates s'ouvrent uniquement à ce moment où la température est plus basse que durant la journée et le taux d'humidité est plus élevé. Une telle stratégie permet d'éviter les pertes en eau par évapotranspiration qui peuvent avoir lieu le jour et d'optimiser ainsi l'utilisation d'eau (**Stintzing et al., 2005**).



Figure 01: Le figuier de barbarie et ses parties (cladode, épine, fleur, fruit et graines)
(Habibi., 2004)

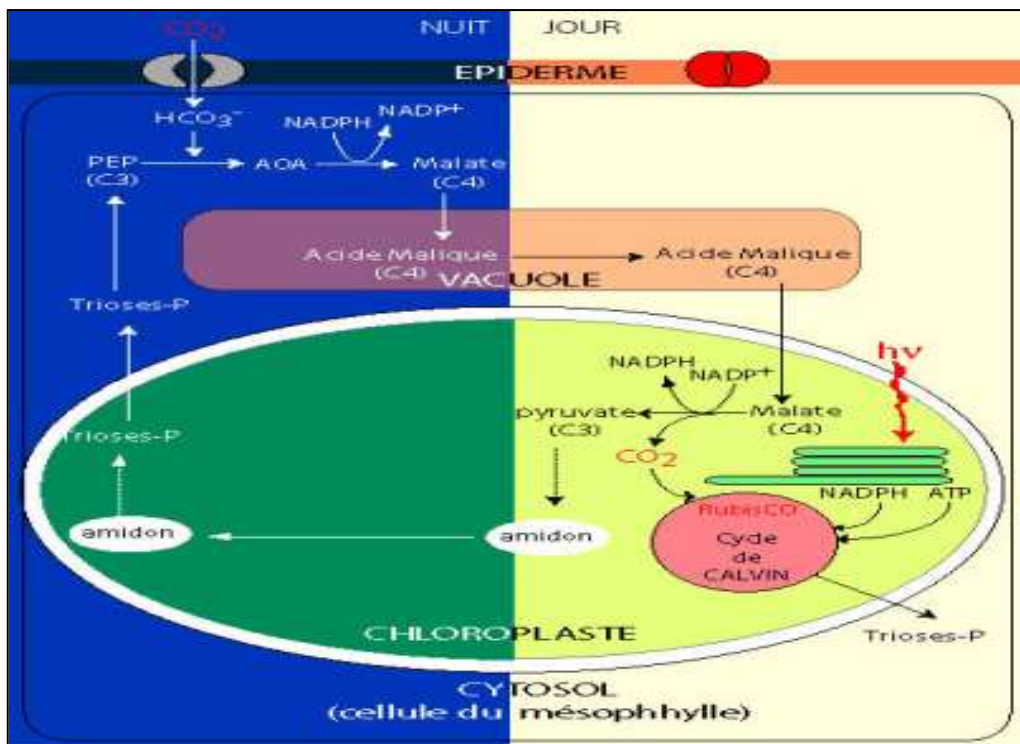


Figure 2: Photosynthèse de type CAM (Goldestien et al , 1991)

Cette fixation est réalisée par la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEP) provenant de la dégradation de l'amidon et du saccharose produit dans le chloroplaste le jour, elle permet de former de l'oxaloacétate, qui sera immédiatement réduit en malate, puis stocké dans une vacuole sous forme d'acide malique, d'où le nom de plante à métabolisme acide (**Goldstein et al., 1991**).

Autrement dit, durant la nuit, le figuier de Barbarie fait "le plein" de CO₂ sous forme d'acide malique, mais il ne peut pas le transformer en sucre que durant le jour puisqu'il a besoin de l'énergie lumineuse pour compléter le cycle de Calvin et accomplir la photosynthèse en entier (**Goldstein et al., 1991**).

I.4. Utilisations :

I.4.1. Utilisation alimentaire et cosmétique:

- **Fruit** : connus par leurs teneurs élevées en sucre, minéraux et vitamines, ils sont produits et vendus à l'état frais ou transformé : séchés, congelés, en confit, en jus concentré, vinaigre de jus, en conserve, en miel et alcool (**Arba., 2009; RMAP., 2010**).
- **Cladode** : Les jeunes cladodes tendres et fibreuses sont consommées à l'état frais, après cuisson en tant que légume vert, confiture, cornichon ou confits, leur valeur nutritive est similaire à celle d'un grand nombre de légumes et feuilles (**Stintzing et Carle., 2005; Arba., 2009**). On trouve aussi les cladodes en conserves, les cladodes au vinaigre, les cladodes en saumure et les frites de cladodes (**Arba., 2009**).
Le mucilage des cladodes est utilisé dans la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux, des crèmes dermiques et des laits hydratants (**Fernandez et al., 1990**).
- **Huile des graines**: sa particularité réside dans sa richesse en acides gras insaturés, stérols et tocophérols. Elle prévient le vieillissement de la peau et sert alors pour la préparation de crème à usage dermique (**RMAP., 2010**).
- **Production de colorants** : Les deux colorants extraits à partir de la figue de barbarie sont le rouge carmin (acide carminique) produit par l'élevage des Cochenilles *Dactylopius coccus* et *Dactylopius opuntia* qui sont des insectes hôtes de cette plante, et la bétalaine issue de ses fruits rouges ou pourpres (**Arba., 2009; RMAP., 2010**).

I.4.2. Vertus pharmaceutiques :

La poudre de nopal et le mucilage ont un effet sur le contrôle du sucre et du cholestérol dans le sang et un rôle amincissant (**Frati et al., 1988; Fernandez et al., 1990**).

Les fleurs sont des remèdes aux maux des reins, au dysfonctionnement de la prostate, aux douleurs gastro-intestinales et aux coups de soleil, en addition à leur activité de régulateurs diurétiques (**Fernandez et al., 1990**)

Les parties végétales du figuier de barbarie sont à l'origine de certains alicaments sous forme de gélules ou capsules, pour le traitement de l'obésité, de la constipation et des coliques et la régulation du cholestérol et du transit de l'intestin (**RMAP., 2010**).

I.4.3. Autres utilisations

En tenant compte du caractère invasif de cette plante, elle constitue des haies vives qui permettent la fixation des terrains ravinés par les pluies et stabilisent les terres sablonneuses et sont infranchissables aux animaux sauvages (**Fournier., 2011**).

Outre, elle fournit un excellent bois de chauffage et une flamme éclairante et ses résidus constituent un excellent fertilisant (**Fournier., 2011**).

Chapitre II
Les caroténoïdes et les alcaloïdes.

Chapitre II: Les métabolites secondaires: Alcaloïdes et caroténoïdes.

Dans le monde végétal, les molécules naturellement synthétisées peuvent être classifiées en deux grandes catégories; les métabolites primaires ou les composés qui sont produits dans toutes cellules de l'organisme d'une plante et qui ont un caractère nécessaire et vital à leurs survie (les glucides, les lipides, les aminoacides et les acides nucléiques), et les molécules qui peuvent être parfois caractéristiques de certaines familles et/ou espèces végétales et qui ne sont pas indispensables à la survie de la plante; les métabolites secondaires **(Badiaga Mamadou., 2011; Michel., 2011).**

Ces derniers peuvent être classés en plusieurs grands groupes, parmi lesquels, les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et les stéroïdes sont les plus importants **(Michel., 2011).**

II.1. Les alcaloïdes

II.1.1. Définition:

Le terme alcaloïdes provient de «**Alkaly-like**»; **Alcaly** signifiant soude, **like** signifiant apparence **(Bruneton., 1987)**. La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par **(Winterstein et Trier., 1910)**: "*Un alcaloïde est un composé organique naturel, le plus souvent d'origine végétale, hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose*" **(Bruneton J., 1999)**.

On peut définir l'alcaloïde de manière simple comme une substance organique d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe, leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. **(Badiaga Mamadou., 2011).**

II.1.2. Classification:

Les scientifiques se confrontent à des difficultés pour classer les alcaloïdes, bien que la distinction théorique semble pertinente et se fait en trois genres majeurs; en alcaloïdes vrai, en proto et pseudo-alcaloïdes, dans la pratique elle n'est pas toujours facile à appliquer. **(Badiaga Mamadou., 2011).**

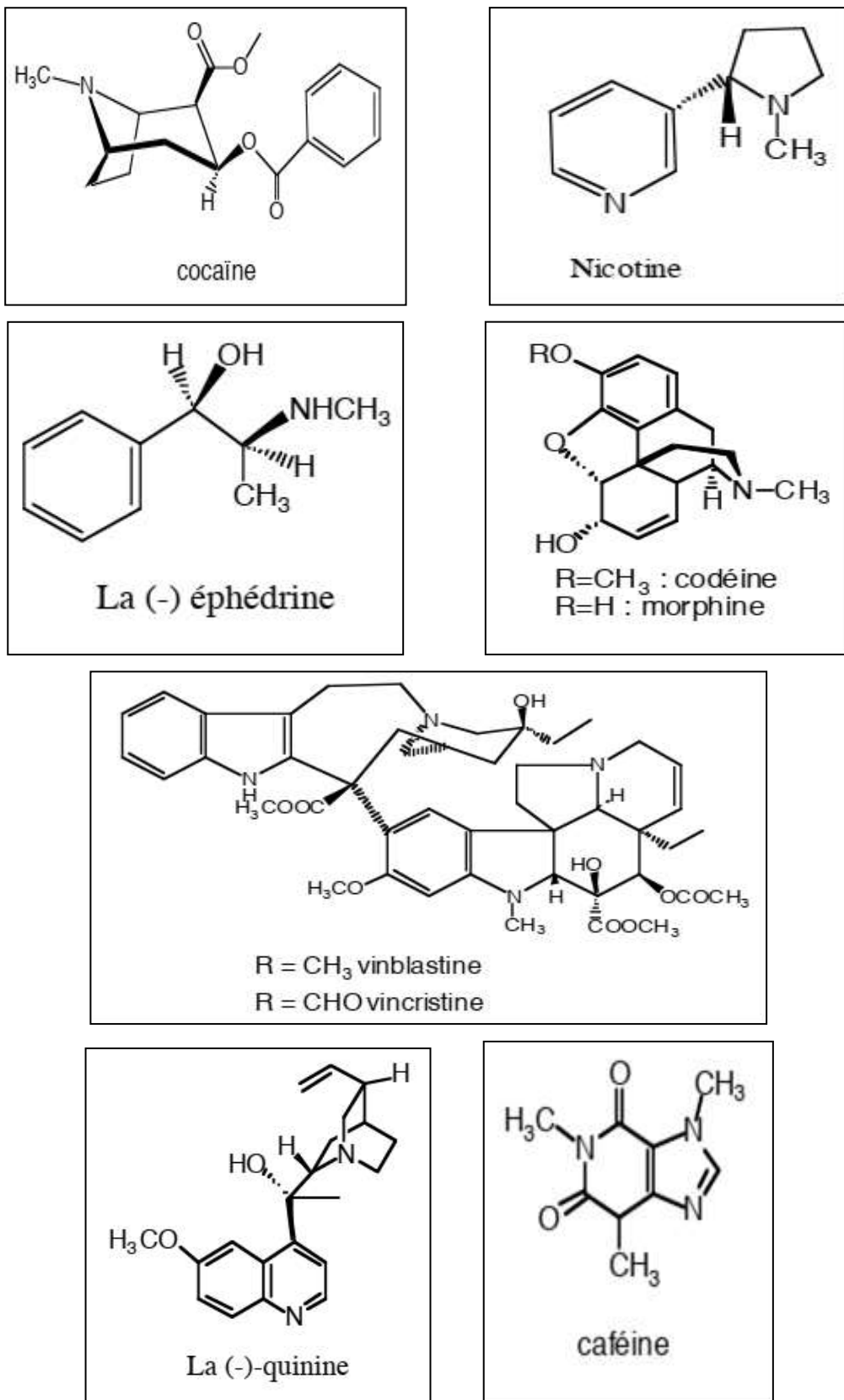


Figure03 : quelques exemples des alcaloïdes (Krief., 2003)

Les alcaloïdes sont classés en fonction de leur origine biosynthétique en:

1. Alcaloïdes vrais:

Sont des substances d'origine naturelle, de distribution restreinte, de structure souvent complexe, azotée (atome d'azote inclus dans un hétérocycle) et de caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative (**Bruneton., 2009**).

2. Proto-alcaloïdes:

Sont des alcaloïdes qui ne possèdent pas un atome d'azote intra cyclique, ils ont une structure simple proche des amines (**Guignard., 2000**).

3. Pseudo- Alcaloïdes:

Présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas, d'alcaloïdes terpéniques (**Bruneton., 1999**). Les alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentants de cette classe Ex : aconitine (diterpénique) (**Badiaga Mamadou., 2011**).

Cependant, (les amines simples ; peptides, acides aminés, porphyrines alkyl amines et aryl alkyl amines) ne sont pas considérées comme alcaloïdes (**Bruneton., 1987**).

II.1.3. Biosynthèse:

Les alcaloïdes dérivent d'acides aminés : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique (**Figure 04**) (**Vercauteren., 2011**).

Leur teneur peut donc être fortement influencée au sein de la plante suivant les sous-espèces, la partie de la plante, le climat, l'origine, le stade de développement ou encore la méthodologie employée pour obtenir ces molécules d'intérêt (**BERKOV et al., 2005; IRANBAKSH et al., 2006; Michel, 2011; RICARD et al., 2012**).

II.1.4. Propriétés physico-chimiques :

Les alcaloïdes sont des corps de masses moléculaires faibles variables de 100 à 900g/mol, dotés de pouvoir rotatoire et de fonction basique. Cette dernière est un facteur d'instabilité pour ces molécules qui à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène (**Bruneton., 1999; Facchini et Pierre., 2005; Bruneton., 2009**).

Les alcaloïdes non oxygénés (nicotine), sont des liquides huileux volatils, fréquemment odorants, par contre les alcaloïdes oxygénés sont en général solides, cristallisés, inodores et de saveur amère (**Ghedjati., 2014**).

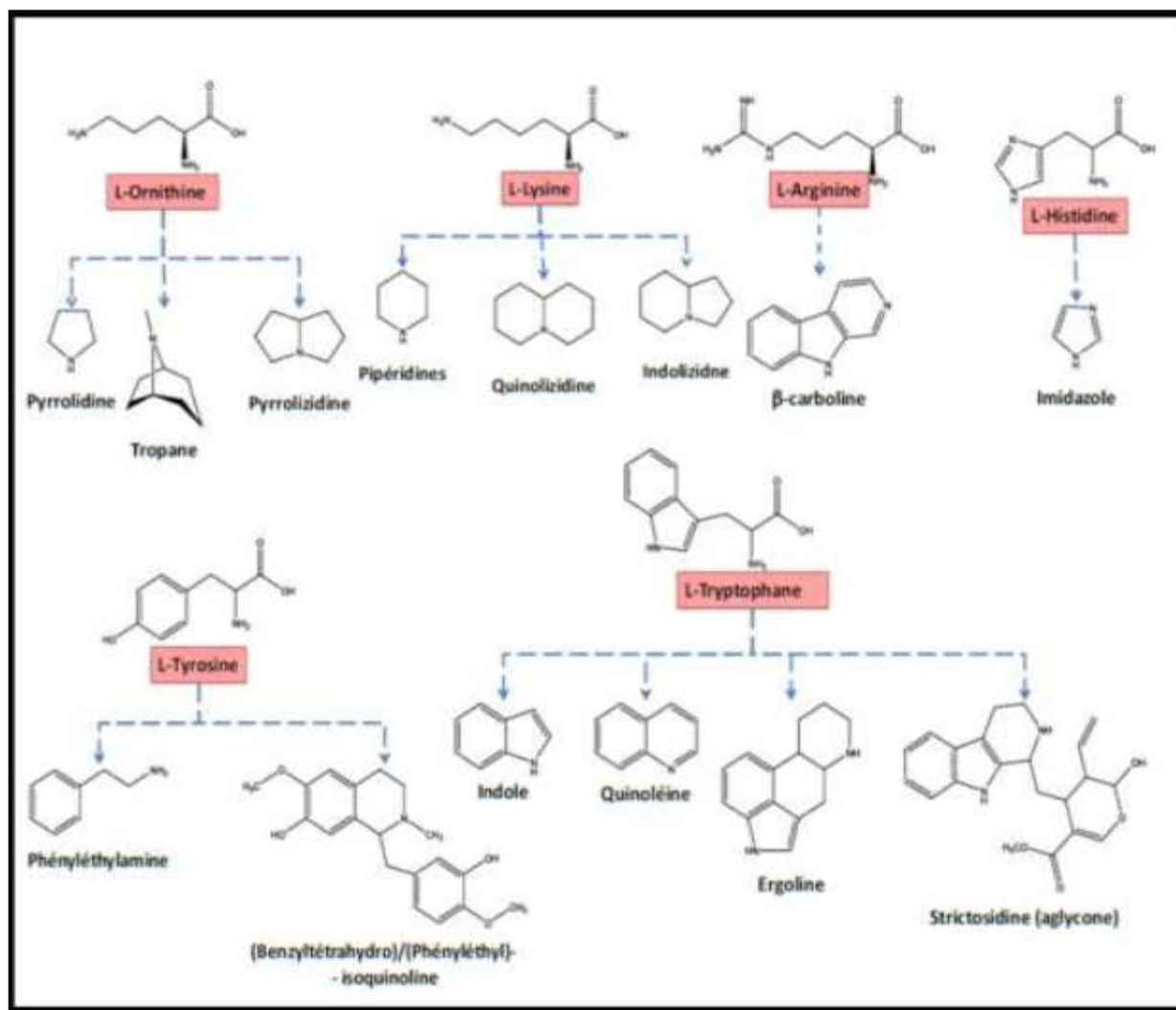


Figure 04 : Origine biosynthétique de différentes classes d'alcaloïdes (Nacoulma., 2012).

Ils peuvent être fixés sur certains agents adsorbants tels que les charbons actifs ou les argiles du type bentonite. En outre, ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (Fabre et Truhaut., 1961; Badiaga., 2012).

La connaissance de la solubilité des alcaloïdes et de leurs sels est d'une importance pharmaceutique considérable. De même, les procédés d'extraction des alcaloïdes sont basés sur la solubilité différentielle dans divers solvants: Les alcaloïdes bases sont solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires (l'éther, le benzène et le chloroforme) et les alcools de titres élevés, mais insolubles ou très peu solubles dans l'eau. Les alcaloïdes sels au contraire sont solubles dans l'eau et les solvants organiques polaires ainsi que dans les alcools de titre élevé, tandis qu'ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires (Bruneton., 1999; Awa., 2003; Bruneton., 2009; Merghem., 2009).

Tableau 01: La solubilité des alcaloïdes (Vercauteren., 2011)

Solvants Milieux	Solvants organiques peu polaires (benzène, éther, dichlorométhane)	Solvants organiques polaires (alcools)	Eau
Milieu basique	+++	+	---
Milieu acide	---	+/-	+++

+++ : Solubles ; --- : insolubles ; +/- : peu solubles

Selon (Ghedjati., 2014), les alcaloïdes précipitent avec certains réactifs spécifiques appelés « réactifs des alcaloïdes », dont les plus importants sont les réactifs iodés tels que:

1. Solution neutre de mercuriiodure de potassium ou réactif de Mayer (précipité blanc jaunâtre).
2. Solution acide d'iodobismuthite de potassium ou réactif de Dragendorff (précipité rouge orangé).
3. Solution d'iodure de potassium iodé ou réactif de Bouchardat (précipité brun) (Paris et Hurabielle., 1981).

Bien qu'ils ont en plus la capacité de se transformer facilement de bases en sels en jouant sur le pH, les alcaloïdes bases en solution sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène.

(Guignard., 2009)

II.1.5. Localisation et répartition des alcaloïdes:

Les alcaloïdes se rencontrent surtout chez les angiospermes; mais les monocotylédones, à l'exception des liliacées, sont pauvres en alcaloïdes et ils sont très répandus chez les dicotylédones (Guignard et al., 1985). Ils sont exceptionnels chez les bactéries et assez rares chez les champignons et il existe des structures alcaloïdiques chez les animaux (Bruneton., 1999).

La partie dans laquelle les alcaloïdes s'accumulent n'est pas forcément celle où ils sont synthétisés, dans le tabac par exemple, la nicotine est produite dans les racines mais transférée ensuite vers les feuilles où elle est stockée (Harborne et al., 1995). La répartition des alcaloïdes dans les plantes, ce fait différemment suivant les espèces; par exemple: racine (Ipéca), feuille (Coca), fruit (Pavot), écorce (Quinquinas), graine (Colchique) ...etc. (Paris et Hurabielle., 1981).

Les alcaloïdes se rencontrent surtout au niveau des épidermes, des laticifères et de façon générale dans tous les tissus en voie de croissance et ils s'accumulent surtout dans les vacuoles. Concernant leur synthèse, celle-ci se fait au niveau du réticulum endoplasmique **(Guignard et al., 1985)**.

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins **(Ziegler et Facchini., 2008)**.

II.1.6. Rôle des alcaloïdes :

A cause de l'amertume et de la toxicité des alcaloïdes, ils pourraient jouer un rôle de protection vis-à-vis des prédateurs et des herbivores **(Guignard., 2000; Chintapakorn et Hamill., 2007)**.

Comme d'autres fonctions, ils pourraient être des produits d'excrétion du métabolisme azoté; les alcaloïdes jouant chez les plantes le rôle de l'urée ou de l'acide urique chez les animaux et pourraient servir de réserves d'azote **(Merghem., 2009)**.

II.1.7. Actions pharmacologiques et emplois:

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes **(Hess., 2002)**.

Ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme, anti tumoraux (taxol), spasmolytiques (papaverine), antalgiques (morphine), vasodilatateurs (vincamine), émétiques (émétine) et anti arythmiques (quinidine) **(Kone., 2009)**.

II.2. Caroténoïdes :

II.2.1. Définition et structure chimique

Les caroténoïdes sont des pigments naturels liposolubles, synthétisés par les végétaux et les microorganismes. Ils sont responsables de la coloration rouge, orange et jaune des plantes, des fleurs et des fruits (Jean *et al.*, 2003).

Ce sont en général des tetraterpénoïdes composés de huit unités isoprénoïdes (C₅) liées tête-à-queue, dont l'ordre de liaison est inversé au centre de la molécule "queue-à-queue", ce qui donne à certains caroténoïdes une symétrie moléculaire (Figure 05) (Goodwin., 1980).

Leur structure chimique comporte alors un système conjugué de doubles liaisons (chaîne polyène) alternées avec des liaisons simples, formant la partie centrale de la molécule qui constitue le chromophore responsable de l'absorption de la lumière (entre 400 et 550 nm). Les électrons de ce système conjugué sont délocalisés tout le long de la chaîne polyène, ce qui confère aux caroténoïdes leur couleur et leur réactivité chimique (Britton., 1995; Nicol et Maudet., 2000)).

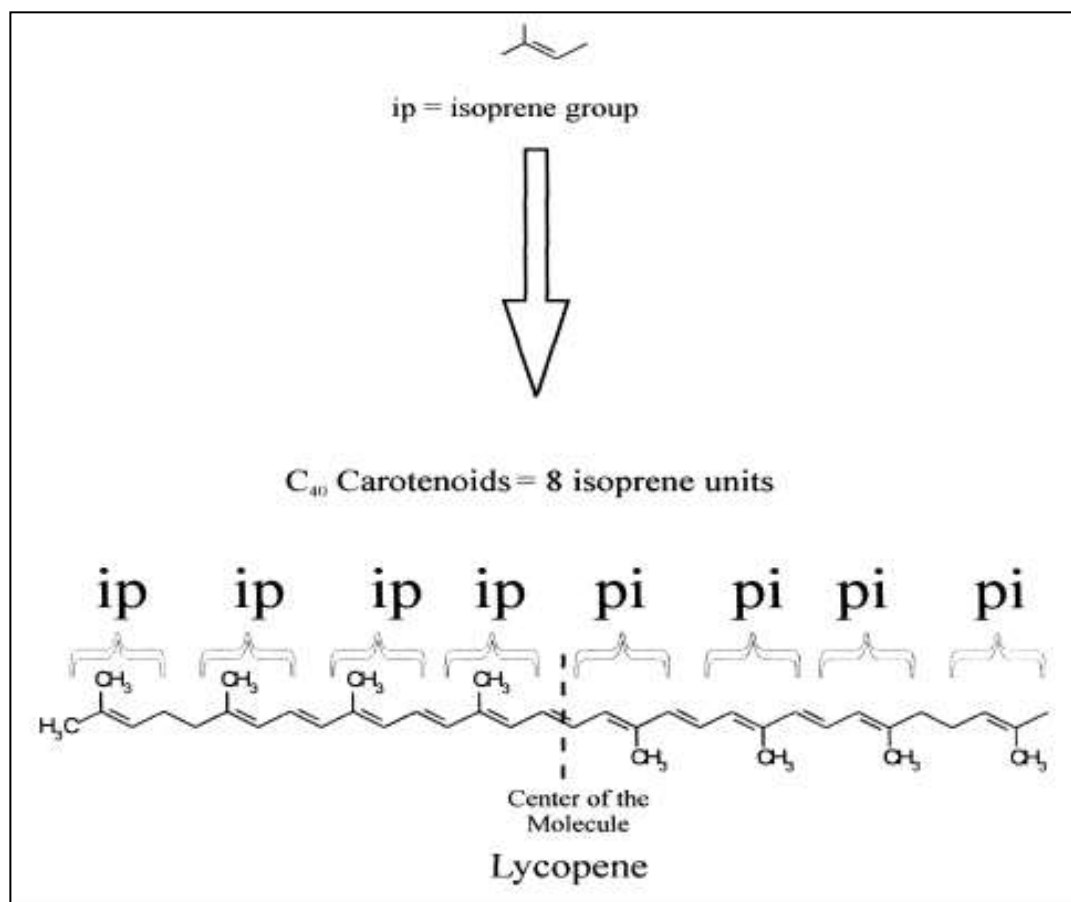


Figure 05: Structure des caroténoïdes (Goodwin., 1980).

Tous les caroténoïdes peuvent être considérés comme des dérivés du lycopène ($C_{40}H_{56}$) par des réactions impliquant: l'hydrogénation, la déshydrogénation, la cyclisation, l'insertion d'oxygène, la migration de la double liaison, la migration de méthyle, l'élongation de la chaîne et le raccourcissement de la chaîne (**Goodwin., 1980; Derbel et Ghedira., 2005**).

II.2.2. Classification des caroténoïdes :

La classification des quelques 700 caroténoïdes isolés et identifiés se fait suivant leurs structures chimiques : tout d'abord le nombre d'atomes de carbone qui constitue le squelette de base, variant de 30 à 50, ensuite la structure linéaire ou cyclique, enfin la présence des groupes fonctionnels insérés généralement sur les extrémités de la chaîne carbonée. (**Stahl et Sies., 2003**).

En plus, différentes configurations (*cis/trans*) (E/Z) sont possibles pour un caroténoïde suivant le nombre de doubles liaisons, mais la forme *all-trans* est largement prédominante dans la nature (**Stahl et Sies., 2003**).

Selon (**Stahl et Sies., 2003 ; Rivera et Canela-Garayoa., 2012**), on peut les répertorier suivant leur composition chimique en deux classes :

1. *Les carotènes ou les caroténoïdes hydrocarbonés* composés uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène (α -carotène, β -carotène, phytoène, lycopène, etc.) où ils sont eux-mêmes classés en carotènes acycliques et carotènes cycliques.

2. *Les xanthophylles ou les caroténoïdes oxygénés* qui contiennent en plus de la chaîne carbonée des fonctions époxy, carbonyle, hydroxyle, méthoxy ou acide carboxylique (violaxanthine, canthaxanthine, zéaxanthine, spirilloxanthine, torularhodine) Ceux-ci sont sous classés en caroténols et époxy caroténoïdes.

En outre, les caroténoïdes peuvent être classés comme primaires; requis par les plantes en photosynthèse (β -carotène, violaxanthine et néoxanthine), ou secondaires localisés dans les fruits et les fleurs (α -carotène, β -cryptoxanthine, zéaxanthine, anthéroxanthine, capsanthine, capsorubine) (**Lichtenhaler., 1987**)

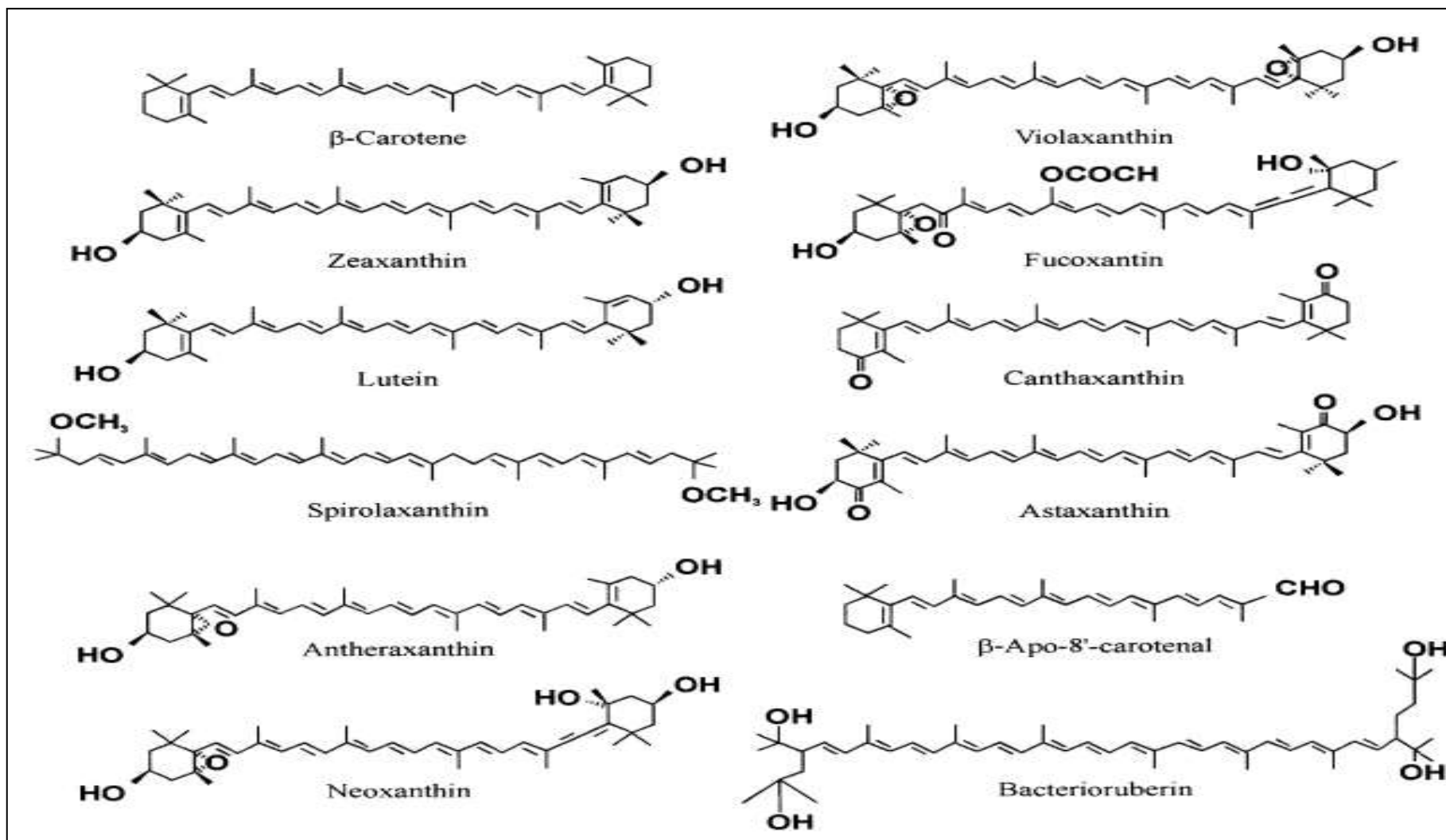


Figure 06: Structure des caroténoïdes communs. (Lichtenhaler., 1987)

II.2.3. Biosynthèse des caroténoïdes:

Leur biosynthèse dérive de la biosynthèse générale des isoprénoïdes (**Figure 07 et 08**). Quelles que soient la matrice, les premières étapes de biosynthèse sont communes. Les caroténoïdes sont biosynthétisés au niveau des plastides à partir de l'acétyl Co-A *via* L'isopentényl pyrophosphate (IPP) provenant de l'acide mévalonique (**Eldahshan et Singab., 2013**). Les mécanismes de contrôle sophistiqués doivent donc exister pour assurer la production des taux appropriés de ces composés selon la voie métabolique, le stade de développement et les conditions environnementales (**McGarvey et Croteau., 1995**).

II.2.4. Propriétés physico-chimiques des caroténoïdes :

II.2.4.1. La solubilité:

Les caroténoïdes sont des molécules extrêmement hydrophobes qui présentent donc une faible solubilité dans l'eau, contre une bonne solubilité dans les solvants organiques tel que (l'acétone, l'éthanol, l'éther diéthylique, le chloroforme, et l'acétate d'éthyle). Les carotènes, qui sont de façon générale apolaires sont solubles dans l'hexane, le toluène et l'éther de pétrole. En revanche, les xanthophylles telles que la lutéine ou la zéaxanthine sont des molécules très polaires, solubles dans le méthanol et l'éthanol (**Rodriguez-Amaya., 2001; Jomova et Valko., 2013**).

La polarité des caroténoïdes varie d'un pigment à l'autre suivant le groupe fonctionnel lié aux extrémités de la chaîne polyène, ce qui influence leur interaction avec les membranes biologiques et diverses molécules (**Jomova et Valko., 2013**).

La solubilité des caroténoïdes est influencée, entre autre, par l'interaction avec les molécules environnantes comme les lipides et les protéines *In vivo*. Les caroténoïdes sont localisés dans les membranes, leur interaction avec les protéines modifie leur polarité, facilitant ainsi leur transport en milieu aqueux (**Britton., 1995**)

II.2.4.2. Stabilité et réactivité des caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont une famille de molécules thermolabiles, sensibles à l'oxygène, leurs structures chimiques insaturées les rendent peu stables et très réactives (**Knockaert et al., 2012; Colle et al., 2013; Lemmens et al., 2013**).

La chaîne polyène des caroténoïdes est sujette à l'isomérisation des *trans*-caroténoïdes en *cis*-caroténoïdes par des facteurs multiples à l'exemple de l'oxydation, la température, l'exposition à la lumière et la présence des halogènes libres et des acides, (Britton., 1995).

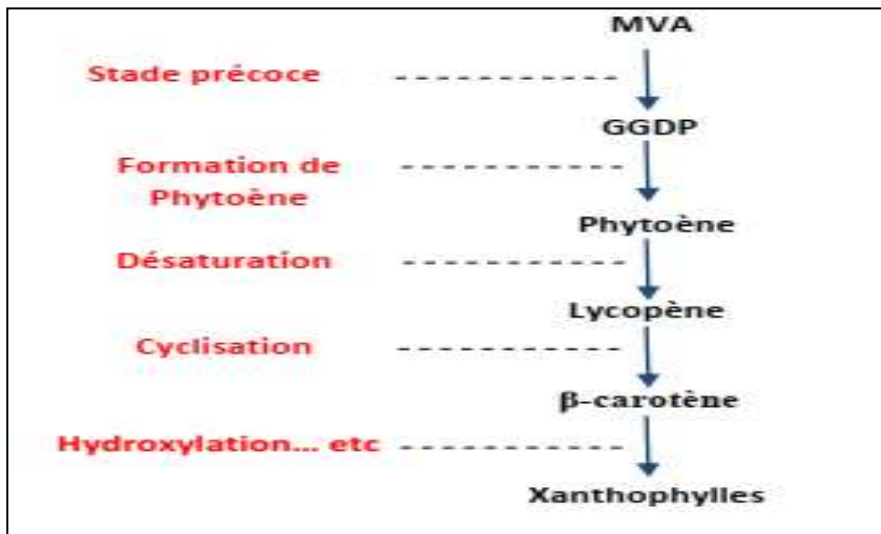


Figure 07: Stades proposés pour la caroténogénèse (Gray., 1987).

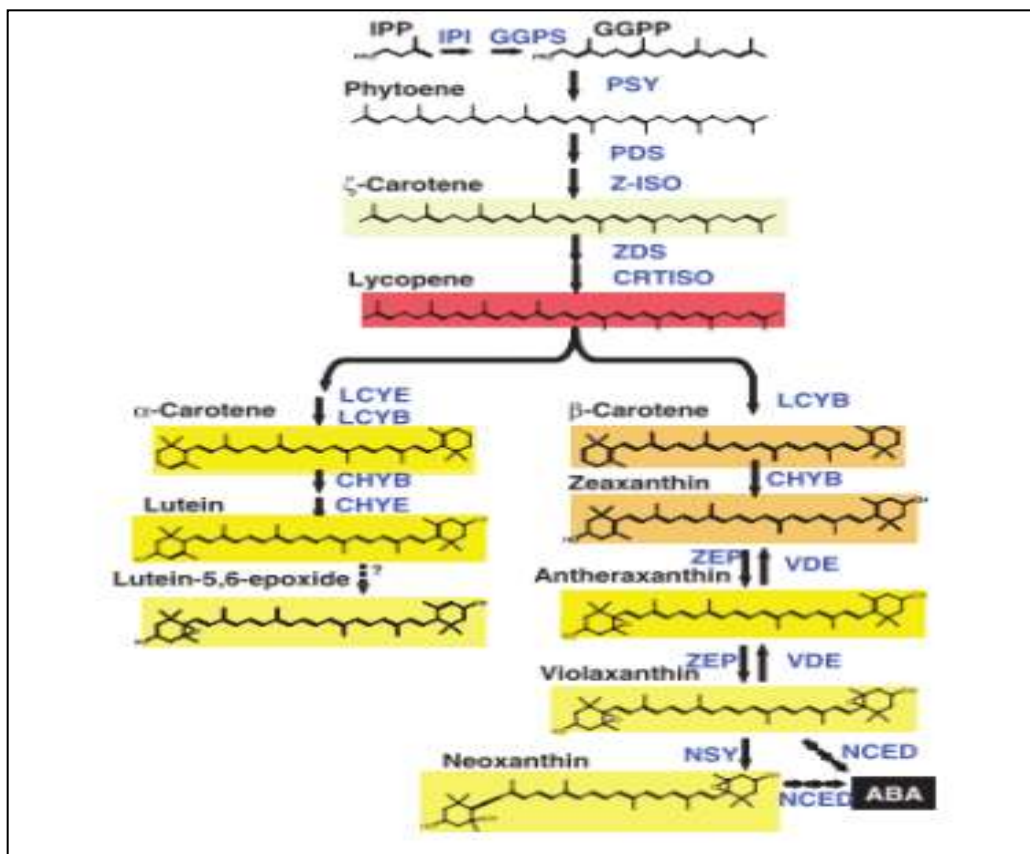


Figure 08: Voie détaillée de biosynthèse des caroténoïdes dans les plantes (Tanaka et al., 2008).

La dégradation oxydative représente; favorisée par la présence d'enzymes et de métaux, reste la cause principale d'endommagement des caroténoïdes (**Britton., 1995**).

Les cis-caroténoïdes présentent des différences substantielles; dès qu'ils sont facilement solubilisés, absorbés et transportés par rapport à la linéarité et la rigidité de la forme trans (**De Ritter et Purcell., 1981 ; Britton., 1995**).

II.2.4.3. La coloration:

Elle est conférée par les doubles liaisons conjugués qui sont principalement en configuration trans sous forme étendue, à leur forme naturelle (**De Ritter et Purcell., 1981 ; Britton., 1995**).

II.2.4.4. L'activité antioxydante:

Grace à leur longue chaîne carbonée polyinsaturée, les caroténoïdes présentent une activité anti radicalaire et ils sont particulièrement efficaces comme étant des antioxydants (**Ghedira., 2005**). Dans le même contexte, ils jouent un rôle important dans la protection des membranes cellulaires et des lipoprotéines contre les dommages de la peroxydation (**Beutner et al., 2001 ; Stahl et Sies., 2003**). Les caroténoïdes agissent:

- par neutralisation des radicaux libres:

Les caroténoïdes (Car-H) neutralisent les radicaux libres (R°) par le transfert d'hydrogène, via la réaction suivante (**Dutta et al., 2005**), la propriété la mieux décrite est leur capacité à inhiber le radical peroxyde (ROO°):



- Piégeage de l'oxygène singulet:

Les caroténoïdes sont des piègeurs efficaces de l'oxygène singulet en le transformant en oxygène moléculaire triplet par la réaction suivante (**Lee et al., 2004**):



II.2.5. Source et distribution des caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont le groupe de pigments le plus largement distribué. Ils ont été identifiés chez des organismes photosynthétiques et non photosynthétiques; chez les plantes supérieures, les algues, les champignons, les bactéries et au moins dans une espèce de chaque forme de vie animale. Les caroténoïdes sont responsables de nombreux brillants couleurs rouges, orange et jaunes des fruits, des légumes, champignons, fleurs, oiseaux, insectes, crustacés et truites (**Goodwin., 1980; Gordon., 1982; Wong., 1989; Goodwin., 1992; Hari et al., 1994**).

Seuls les microorganismes et les plantes peuvent synthétiser des caroténoïdes de novo, ces pigments proviennent chez les animaux de ces deux sources, bien qu'elles puissent être modifiées au cours de leur métabolisme pour être accumulées dans les tissus (**Goodwin., 1980; Rodriguez et al., 2006**).

II.2.6. Rôle et bienfaisance des Caroténoïdes :

Les caroténoïdes colorent les fleurs, les graines, les fruits et certains champignons; la coloration joue un rôle important dans la reproduction puisqu'elle attire les animaux qui dispersent le pollen, les graines ou les spores (**Ootaki et al., 1996**).

Dans la photosynthèse, les caroténoïdes jouent plusieurs rôles essentiels : ils contribuent à la collecte de l'énergie lumineuse, maintiennent la structure et la fonctionnalité des complexes photosynthétiques et agissent à titre d'agents protecteurs s'occupant des espèces réactives de l'oxygène et de la dissipation d'excès d'énergie lumineuse (**Brack et Mathis., 2000; Del Campo et al., 2007**).

Par ailleurs, les caroténoïdes sont des précurseurs de la vitamine A (**Hurst., 2008**). L'effet bénéfique des caroténoïdes a été démontré dans des cas de maladies de l'œil comme la cataracte, pour la réduction de l'incidence de maladies associées au syndrome métabolique (inflammation du tissu adipeux, maladies cardiovasculaires), de certains cancers et certaines maladies dégénératives telles que et la dégénération maculaire (**Allard et al., 1994; Tapiero et al., 2004 ; Krinsky et Johnson., 2005 ; Stahl et Sies., 2005; Britton et al., 2009 ; Dias et al., 2009 ; Rock., 2009**).

Enfin les caroténoïdes auraient un rôle dans la régulation du système immunitaire, dans la protection de la stabilité génomique et dans la fertilité (**Stahl et Sies., 2003**)

Etude expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes.

III. Matériel et méthodes

III.1. Objectifs :

Les objectifs de notre travail consistent à :

- ✓ Extraire et quantifier les caroténoïdes et alcaloïdes inclus dans les jeunes raquettes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*);
- ✓ Analyser leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire par une multitude de tests in vitro.

III.2. Lieux et durée d'étude:

Les laboratoires de «technologie alimentaire» et «physiologie végétale» de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université IBN Khaldoun-Tiaret-, présentaient le siège de notre étude expérimentale, durant une période de deux mois et huit jours à compter du 11 février au 19 Avril 2019.

III.3. Matériel

III.3.1. Matériel végétale:

Les échantillons formés par des jeunes cladodes inermes, enlevées à partir de plusieurs arbustes vivants de figuier de barbarie de Theniet El had (Tissemsilt), ont un âge inférieur à 03mois, une longueur et une largeur comprises entre 12-20cm et 6-9 respectivement..

Ils subissent en vue de leur conservation, un lavage à l'eau salée 10% (NaCl), suivi d'un rinçage, un séchage et une congélation jusqu'à leur utilisation.



Figure 09: Photo de nos jeunes cladodes provenant de Theniet El-Had-Tissemsilt.

III.3.2. Matériel de laboratoire :

Tableau 02: Appareillages, verreries et produits chimiques utilisés

Appareillages	Verreries et autres	Produits chimiques	
-Balance analytique	-Verre de montre	-HCl	- β -carotène
-Agitateur magnétique	-Béchers	-Acide sulfurique (H_2SO_4)	($C_{40}H_{56}$)
-Rotavapeur	-Ballons	-Acide trichloracétique	-Acide ascorbique
-Bain mari	-Éprouvettes	-Hexane	-Eau physiologique
-Étuve	-Erlenmeyers	-Acétone	-tampon phosphate (pH=6,3; pH=6,6; pH=7,4)
-Spectrophotomètre (UV- VIS)	-Barreaux magnétiques	-Ethanol	-DPPH
-Réfrigérateur	-Tubes à essais	-Chloforme ($CHCl_3$)	-potassium hexacyanoferrate [$K_3Fe(CN)_6$]
-Appareil soxhlet	-Fioles jaugées	-Dichloromethane ($C_2H_4Cl_2$)	-Diclofénac
	-Pipettes graduée	-Amoniaque (NH_4OH) -($FeCl_3$)	-Acide linoléique
	-Flacons	-Tween 40	
	-Ampoule	- $FeCl_2$	
	-Micropipette	-NaCl	



Soxhlet



Rotavapeur

Figure 10: Montages d'extraction.

III.4. Protocole expérimental :

Les différentes étapes de notre expérimentation sont réunies dans le diagramme de la Figure :

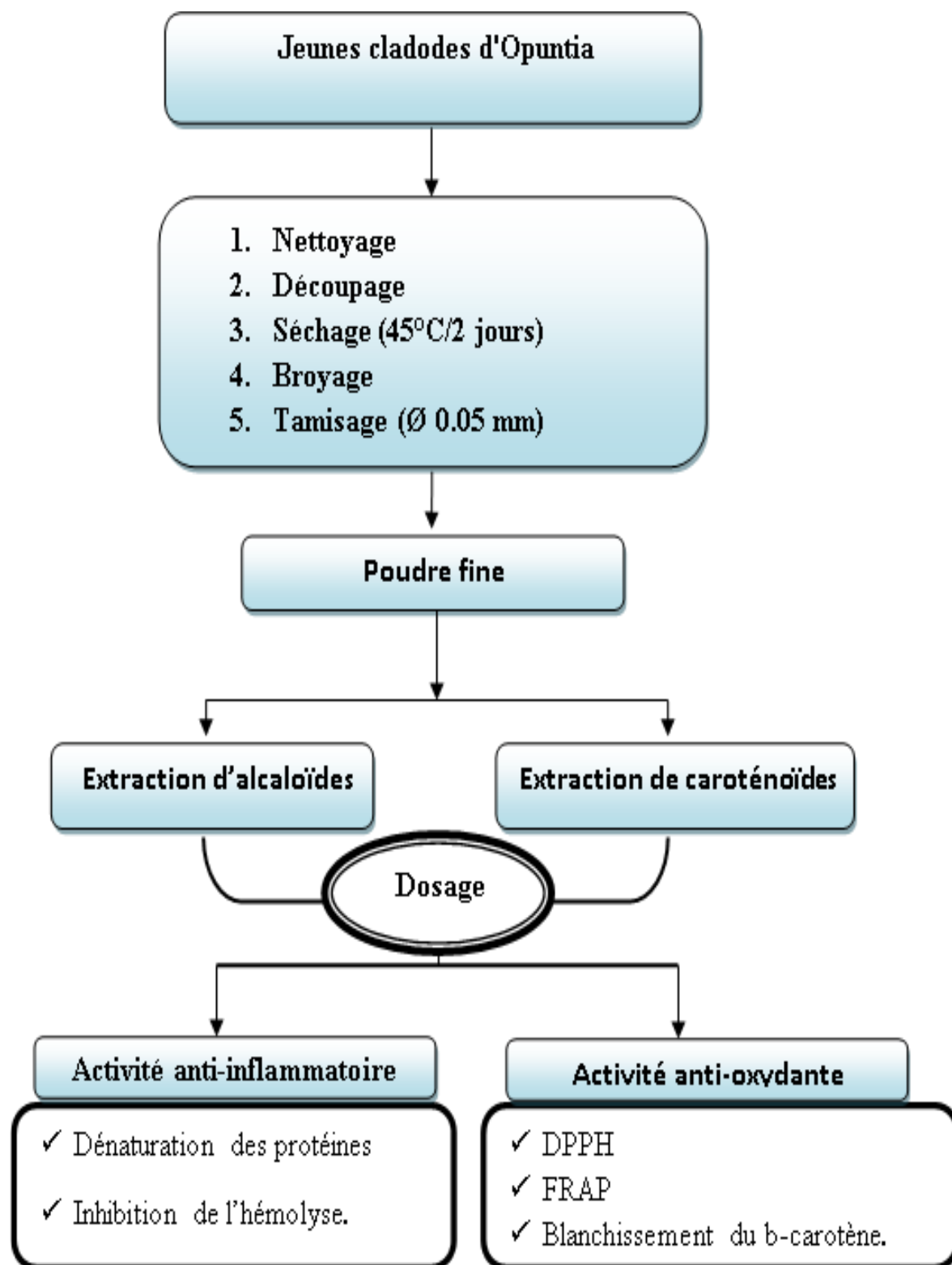


Figure 11: Protocole expérimental suivi.

III.4.1. Extraction et quantification des alcaloïdes:

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir d'échantillon sont obtenues par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin (**Bruneton., 1999**):

- 10g de poudre sèche sont alcalinisée par 40ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 8 heures à température ambiante, permettant ainsi aux alcaloïdes, de passer de la forme sel en forme organique.
- La poudre alcalinisée est placée dans une cartouche en cellulose dans l'appareil de Soxhlet, qui est monté sur un ballon contenant 250 ml de dichlorométhane. Les alcaloïdes sont extraits à chaud sous reflux pendant 3 à 4 heures (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines).
- A l'issue de cette opération, l'extrait brut est passé à la purification par trois extraction successives par une solution de 150ml d'acide sulfurique (0.5N), les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, puis alcalinisées jusqu'à pH 9 par l'ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).
- Nous épuisons ensuite la solution par trois volumes de 150ml de chloroforme, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois.
- Nous récupérons les trois fractions organiques dans un Erlen Mayer, pour les déshydrater par filtration sur papier filtre soutenant du sulfate de sodium anhydre.
- L'extrait recueilli est évaporé par rotavap à 40°C à pression réduite jusqu'à évaporation totale du solvant, le résidu sec obtenu représente les alcaloïdes totaux qui seront pesés, reconstruit dans le chlorofome et conservés à l'abri de la lumière et la chaleur.

III.4.2. Extraction et quantification des caroténoïdes:

La méthode de (**Sass-kiss et al., 2005**) a été adoptée pour extraire les caroténoïdes. 4g de poudre de cactus ont été homogénéisés avec 10ml de mélange de solvants (hexane/acétone/éthanol) (1:2:2;v/v/v) pendant 15min, avant d'être centrifugé à 5500rpm à 4°C/15 min. La couche supérieure d'hexane, contenant le pigment est ensuite séparée.

La détermination des caroténoïde totaux a été effectuée sur un aliquote de l'extrait d'hexane en mesurant l'absorbance à 430 nm. Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalent β -carotène pour 100 g

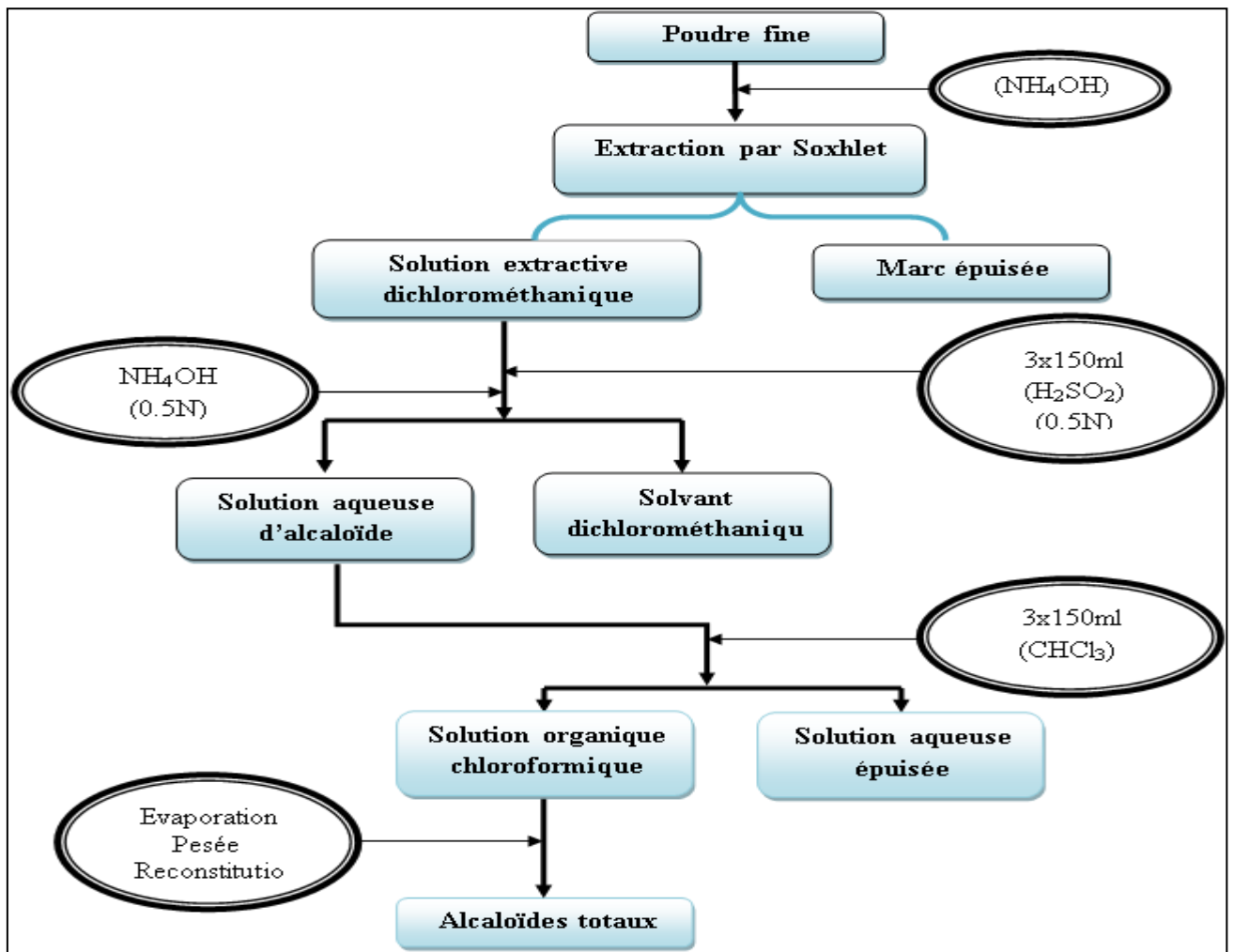


Figure 12: Extraction des alcaloïdes des jeunes cladodes (Bruneton., 1999).

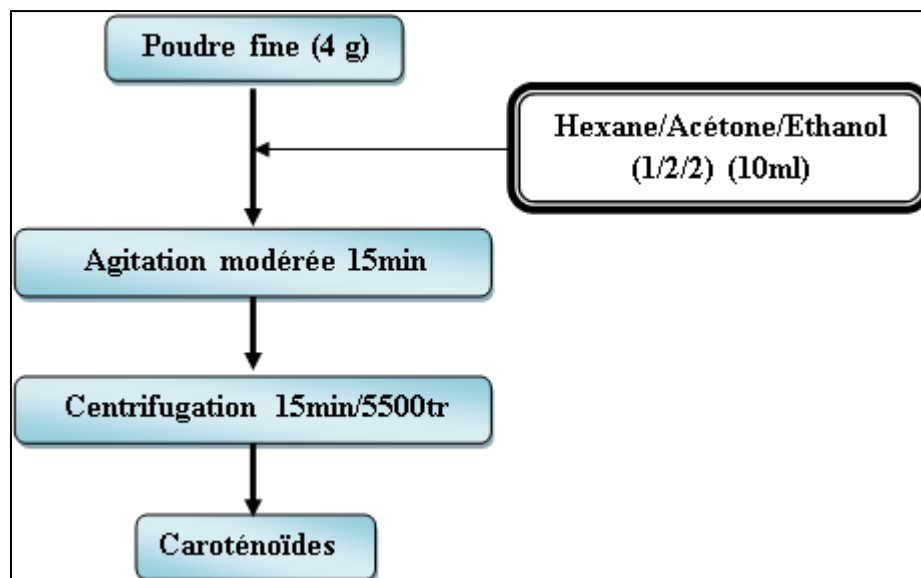


Figure 13: Extraction des caroténoïdes des jeunes cladodes (Sass-kiss et al, 2005)

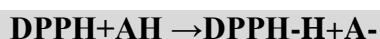
III.5. L'activité anti-oxydante:

Afin de s'engager dans les analyses de l'activité biologique, antioxydante et anti-inflammatoire, nous préparons une série de dilutions de l'ordre de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32 de l'extrait mère pour chaque métabolite testé.

III.5.1. Test DPPH:

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl) qui possède un électron non apparié sur un atome de son pont d'azote, est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette due à une recombinaison des radicaux DPPH (appairage de l'électron libre), mesurable par Spectrophotométrie à ($\lambda=515-517\text{nm}$) (Cristina et al., 2009). Le mécanisme est récapitulé dans la réaction suivante (Guimarães et al., 2010):



Où AH est un composé capable de céder un H^+ au radical DPPH.

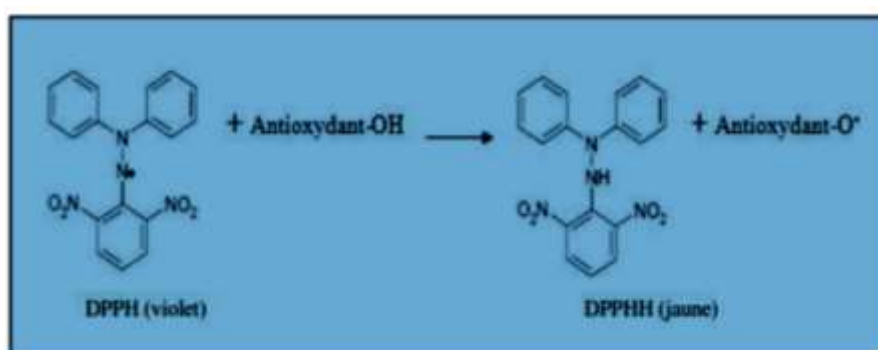


Figure 14: Structure chimique de DPPH (Cristina et al., 2009)..

A. Mode opératoire

1ml de la solution éthanolique de 0,06 mM de DPPH, est mélangé dans un tube à essai avec 1ml de chaque concentration de l'extrait. Les tubes sont incubés 30 min à l'abri de la lumière à température ambiante et l'absorbance est lue à ($\lambda=517\text{ nm}$) contre un blanc qui contient de l'éthanol pur. Les mêmes opérations sont répétées avec l'acide ascorbique (control positif)

B. Expression des résultats

Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

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

La valeur de la CI50 exprime ensuite le pourcentage d'inhibition; c'est la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée pour chaque extrait par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

III.5.2. Dosage du pouvoir réducteur « FRAP »:

Ce test basé sur l'oxydoréduction, mesure l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure [$\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] en fer ferreux (Fe^{2+}), qui donne une coloration bleue-verte proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (*Ribeiro et al., 2008 ; Guimarães et al., 2010*).

A. Méthode de dosage

Nous utilisons le protocole décrit par (**Oyaizu., 1986**). Dans un tube à essai contenant 200 μl de solution d'échantillon à différentes concentrations, nous ajoutons 500 μl de tampon phosphate (0,2M : pH 6,6) puis 500 μl de potassium hexacyanoferrate ($[\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1% dans l'eau distillée).

L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 min avant d'ajouter 500 μl d'acide trichloracétique (10%) et centrifuger à 3000rpm/10minutes.

Nous transférons ensuite 500 μl de surnageant dans un autre tube auquel, pour les mélanger avec 500 μl d'eau distillée et 100 μl de FeCl_3 (1%) fraîchement préparé dans de l'eau distillée. Le blanc et le contrôle positif sont préparés dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par le méthanol et l'acide ascorbique respectivement.

B. Expression des résultats

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à ($\lambda=700 \text{ nm}$) par (UV-VIS spectrophotomètre) calibré par un blanc semblablement préparé (méthanol). Une

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

III.5.3. Test de blanchissement de la β -carotène:

A. Méthode de dosage

L'émulsion (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, le chloroforme est complètement évaporé à 40°C avec le rotavapor, par la suite 100ml d'eau distillée saturée en oxygène sont ajoutés, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement.

2,5 ml de cette émulsion sont ajoutés à 100 ou 150 μ l de solution d'alcaloïdes ou caroténoïdes à 100 μ g/ml, et d'antioxydant de référence (acide ascorbique) à la même concentration. L'ensemble est chauffé à 50°C dans un bain-marie.

Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol.

B. Expression des résultats

La cinétique de décoloration de l'émulsion des extraits, de l'acide ascorbique et du méthanol est suivie à ($\lambda=490$ nm) à des intervalles de 15 min 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 :

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

Avec:

AE_0 : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à t = 0 min.

AE_{120} : Absorbance à 490 nm d'échantillons testés à t = 120 min.

AC_0 : Absorbance à 490 nm du contrôle à t = 0 min.

AC_{120} : Absorbance à 490 nm du contrôle à t = 120 min.

III.6. Activité anti-inflammatoire

III.6.1. Inhibition de la dénaturation des protéines:

A. Méthode de dosage:

La technique suivie 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 caroténoïdes ou alcaloïdes de cladodes à 250 μ g/ml.

- **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 distillée.
- **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 diclofinac sodium (250 µg/ml).

Le pH des solutions a été ajusté à 6,3 par une solution d'HCl (1N), et l'incubation commence à 37°C/20 min, la température était ensuite augmentée puis maintenue à 57°C/3 min. La solution phosphate buffer saline (pH=6,3) a été ajouté aux solutions après refroidissement des tubes en raison de 2,5ml.

B. Expression des résultats

L'absorbance a été lue à ($\lambda=416\text{nm}$) par le spectrophotomètre UV visible, et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé par la relation:

$$\text{Inhibition}_{(\%) } = 100 - \frac{\text{D.O solution d'essai} - \text{D.O control}}{\text{D.O control}} \times 100$$

D.O: densité optique.

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées; et les résultats sont comparés avec le diclofinac sodium (250µg/ml).

III.6.2. Inhibition de l'effet hémolytique sur les globules rouges:

a. Prélèvement du sang humain et préparation de la suspension des globules rouges humains:

Le sang frais prélevé des volontaires (20-45 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines, est partagé dans des tubes héparinisés d'environ 6ml/tube.

Les échantillons sont ensuite centrifugés à 3000rpm/10 min, dans le but récupérer le culot de globules rouges. On le lave trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à 3000rpm/5 min.

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.

b. Evaluation de l'effet des caroténoïdes et des alcaloïdes des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la stabilisation de la membrane des globules rouges:

On vise par ce protocole à évaluer l'effet protecteur de nos extraits sur les membranes des érythrocytes soumis à une hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de (Ganesh Gadamsetty et al., 2013).

A. Méthode de dosage:

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 ml d'extraits mères des cladodes (caroténoïdes ou alcaloïdes) du figuier de barbarie concentré à 260µg/ml ou de leurs dilutions, sont mélangés avec 1.5 ml du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (Na Cl à 0.36%) puis incubés, à 37 °C/20 min.

En second lieu, chaque tube reçoit un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (10%), enchainé d'une incubation, à 56 °C pendant 30 min. La réaction est arrêtée en plongeant les tubes dans l'eau froide pendant 20 min, ils seront ensuite centrifugés pendant 5 min à 3000 rpm.

Le contrôle négatif contient de l'eau physiologique à la place des extraits, alors que le diclofenac et avec les mêmes concentrations que l'extrait, est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire standard.

B. Expression des résultats:

La lecture d'absorbance du surnageant est faite à ($\lambda=560\text{nm}$), à l'aide d'un spectrophotomètre et le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

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

Ac : Absorbance de contrôle;

At : Absorbance de l'échantillon (test).

III.6. 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 des caroténoïdes et alcaloïdes testé *in vitro*. La différence est considérée statistiquement significative au risque 5% ($p<0.05$).

Chapitre IV:

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion:

IV.1. Rendement d'extraction:

Nous avons utilisé la technique d'extraction par solvant afin d'extraire les biomolécules d'intérêt (Caroténoïdes et Alcaloïdes) depuis les jeunes cladodes de figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Selon (Robards., 2003), la dite technique est la plus utilisée et donne un rendement maximal. Le **Tableau 03** rassemble les informations reçues sur les rendements d'extraction pour les deux métabolites:

Tableau 03: Rendement d'extraction des Caroténoïdes et Alcaloïdes des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica*.

	Concentration dans l'extrait (mg/ml)	Rendement (mg/100g poids sec)
Caroténoïde	4.47	1369
Alcaloïde	5,74	574

Les caroténoïdes sont alors présents à une teneur de **(4.47 mg/g P.S)**, un taux plus importants que celui trouvé par **Jaramillo-Flores et al., (2003)** qui est **229 µg/ g de poids sec total** dont le profil dans les cladodes d'*Opuntia* est partagé en α -cryptoxanthine (20%), β -carotène (36%) et lutéine (44%). Selon le même auteur cette valeur s'élève avec le traitement thermique.

La variation de la teneur des caroténoïdes dépend peut être de la variété de la plante à l'image de ce qui a été remarqué pour les fruits avec **0,17 mg / 100 g** pour les fruits verts à **2,65. mg éq.β-carotène/100g** avec le cultivar orange. (Kuti., 2004; Chougui et al., 2013). La région de récolte affecte aussi la présence de ces molécules; elles passent de **(1,50µg/100g)** pour le fruit de (Sicile) à **(1.77mg éq.β-carotène/100g)** . (Tesoriere et al., 2004 ; Chougui et al., 2013).

A propos de alcaloïdes, le résultat est de **57,4 mg/100g P.S** confirmant ainsi leur présence. Ces intéressantes molécules, à côté d'autres ont été isolés à partir de ce cactus (Valente et al., 2007)

La richesse du sol en matières organiques et son pH (surtout alcalin), sont deux paramètres qui influencent considérablement la production des alcaloïdes dans la plante (Demeyer et Dejaegere., 1995 ; Demeyer et Dejaegere., 1997).

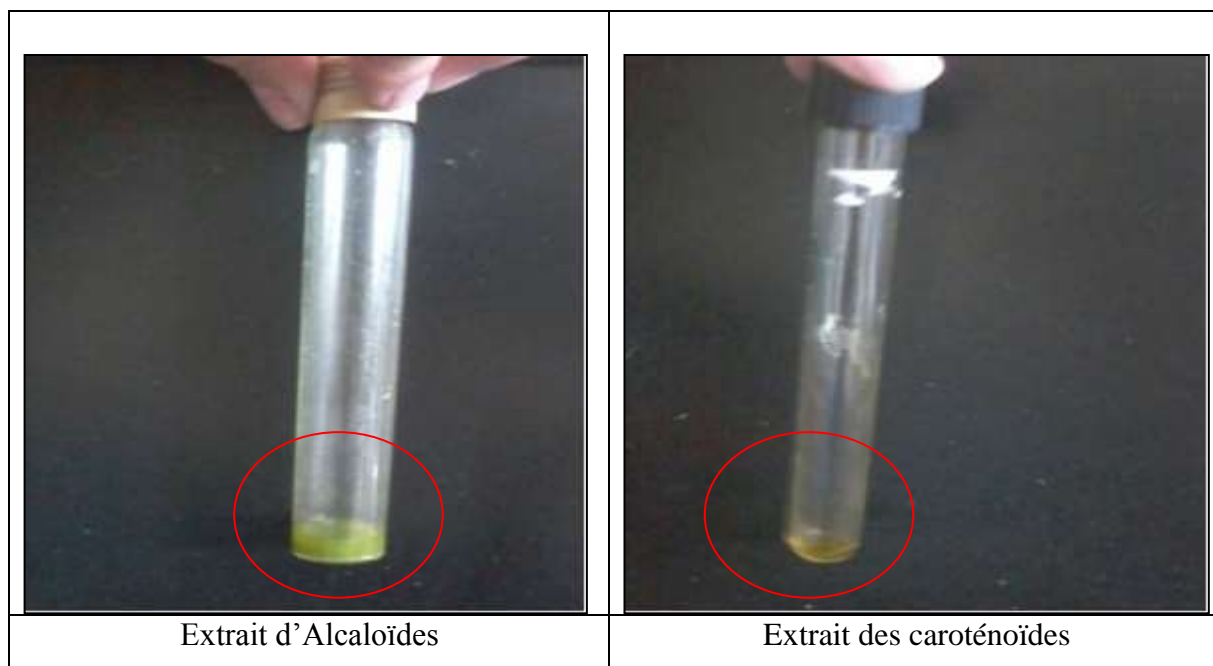


Figure 15: Photos des extraits d'*Opuntia ficus indica*

IV.2. Activité antioxydant

IV.2.1. Test DPPH :

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin et al., 2008).

L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à ($\lambda = 517$ nm), qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal (Maisuthisakul et al., 2007 ; Da Silva Pinto et al., 2008).

En voyons l'allure des trois courbes, nous concluons qu'il y ait une proportionnalité entre la capacité inhibitrice des extraits et leurs concentrations, c'est un effet dose-dépendant.

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir de la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH (IC50). Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (Pokorny et al., 2001).

Nous remarquons que l'acide ascorbique est le plus efficace contre le radical DPPH avec un chiffre de **0.103mg/ml**, les deux extraits ont une influence semblable avec **3.48mg/ml** et **3.38mg/ml** pour les caroténoïdes et les alcaloïdes successivement.

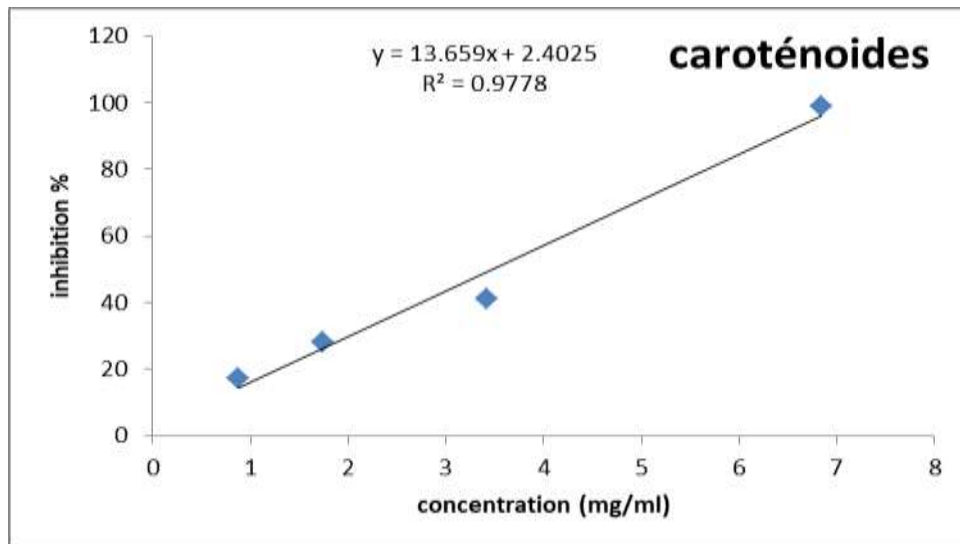


Figure 16. Inhibition caroténoïde en fonction de concentration.

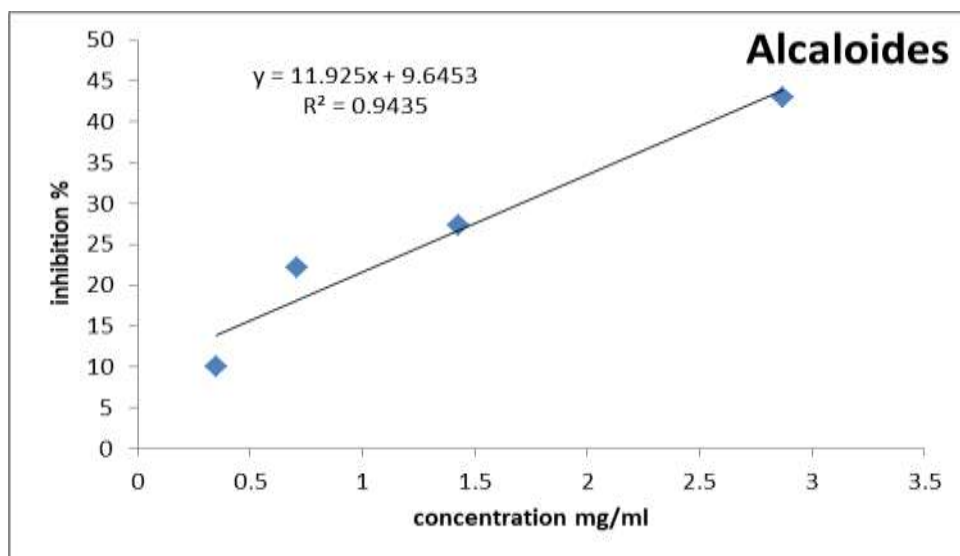


Figure 17. Inhibition d'alcaloïde fonction de concentration.

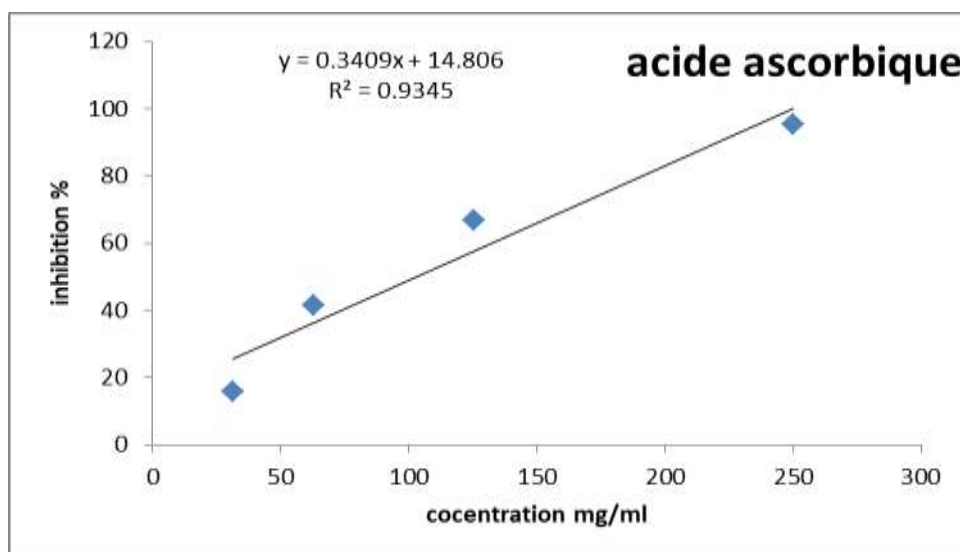


Figure 18. Inhibition d'acide ascorbique en fonction de concentration.

Les investigations ont mené vers une corrélation entre la présence des caroténoïdes et le potentiel antioxydant (**Monica. R et al., 2018**).

Pour une autre plante, les alcaloïdes totaux ont montré une bonne capacité à piéger le radical DPPH pour une gamme de concentration allant de **0 µg/ml** à **200 µg/ml**, son IC50 de l'extrait des alcaloïdes totaux est de **69 µg/ml** (**Sahli et Zaidi., 2017 ; Iwasa et ses Collaborateurs. 2001**), ont démontré que la capacité à réduire le DPPH par des alcaloïdes est supérieure à celle de l' α -tocopherol (vitamine E) à une concentration de **250µg/ml**.

Tableau 04: Valeurs des IC50 trouvées pour les deux extraits et l'acide ascorbique.

	IC50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0.103±0.025
Caroténoïdes	3.48±0.94
Alcaloïdes	3.38±0.67

Le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH, comme l'effet antioxydant d'une manière générale, dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (**Al-sobarry., 2012; Park et al., 2001; Rodriguez-Bernaldo et al., 2010**).

Il est établi que la structure des carotenoids modifie fortement leurs activité antioxydante; par exemple, canthaxanthine and astaxanthine montre un meilleur effet antioxydant que l' α -carotene ou la zeaxanthine (**Delgado et al., 2000**). Cependant, l'effet scavenger des caroténoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence des groupements OH libres (**Delgado et al., 2000**).

Il est important de noter que plusieurs facteurs influencent l'activité anti-radicalaire des alcaloïdes; une N-méthylation, une méthylation des groupements «OH» en positions C6 et C7 ou une oxydation réduit ou détruit l'activité anti-radicalaire de la molécule (**Racková et al., 2004**).

IV.2.2. Test de FRAP:

L'activité anti oxydante des deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode FRAP. En plus de sa simplicité, rapidité et reproductibilité, elle est universelle et applicable aussi bien chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (**Li et al., 2008**).

La présence des réductants dans les extraits provoque la réduction de fer Fe³⁺ complexe ferricyanide à la forme ferreux, qui peut être évalué en mesurant et en

surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à ($\lambda=700\text{ nm}$) (Amarowicz et al., 2004).

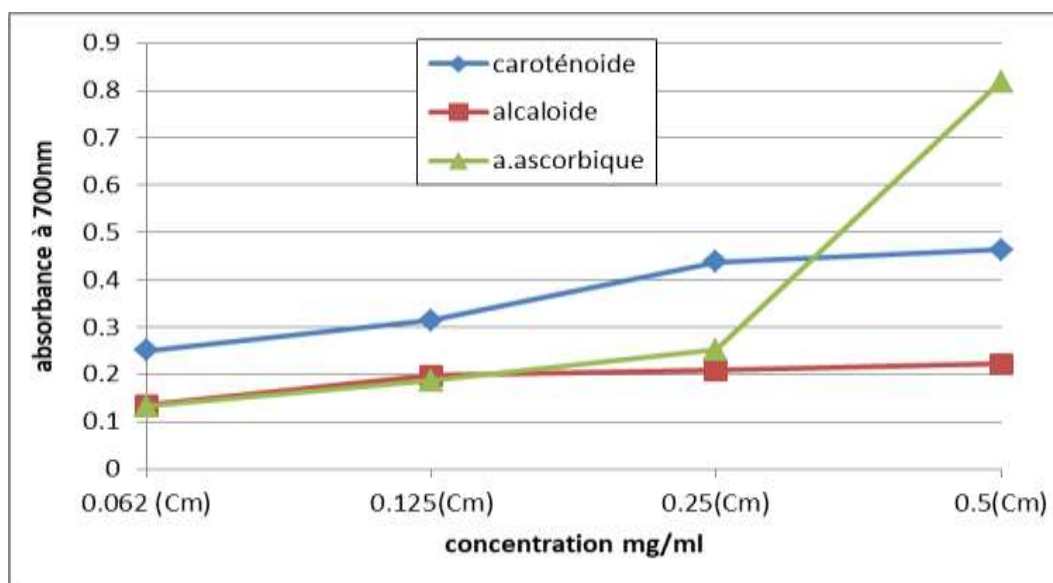


Figure 19: Evaluation de l'activité antioxydant des extraits par méthode de FRAP (Cm=concentration mère).

D'après la courbe de la **Figure 19**, on constate une augmentation de l'absorbance au fur et à mesure que la concentration augmente. Quoique, cette augmentation varie selon la substance choisie, et quand elle atteint un maximum de ($D.O= 0.818\pm 0.13$) pour l'acide ascorbique, elle ne dépasse pas les ($D.O=0.463\pm 0.17$) pour les caroténoïdes et pour les alcaloïdes ($D.O=0.222\pm 0.09$).

Les résultats présentés par (Sahli et Zaidi., 2017 ; Bentabet et al., 2014) sur les alcaloïdes sont meilleurs que le nôtre touchant des absorbances beaucoup plus supérieures, mais en contrepartie, ces chercheurs ont aussi trouvés que le pic de l'activité réductrice des alcaloïdes reste inférieur au standard employé à la même concentration.

Le pouvoir réducteur faible des caroténoïdes dans cette étude est en entente avec les travaux de (Mueller et Boehm., 2011). Mais à l'opposé de ce constat, ces chercheurs ont remarqué étonnamment que la décomposition du B-carotène en ses métabolites a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de son activité réductrice ferrique, où ils ont expliqué le phénomène par l'apparition d'un cycle.

β -ionone contenant un groupe fonctionnel oxygéné, entraînant une augmentation significative de l'activité de réduction. Ce cycle est non substitué à l'origine, et il n'apparaît

qu'après le clivage de BC en ses métabolites. Ces métabolites présentaient des valeurs de FRAP supérieures de 25% à celles de l' α -tocophérol (Mueller et Boehm., 2011).

La capacité réductrice d'un composé est un indicateur significatif et proportionnel de son potentiel antioxydant (Yildirim et al., 2001; Jeong et al., 2004 ; Sang et al., 2008). Néanmoins, il faut noter que la nature et la concentration des antioxydants contrôlent l'intensité de ce pouvoir réducteur, la position et le nombre de hydroxylations interviennent dans cette propriété (Sahli et Zaidi., 2017).

IV.2.3. Blanchissement de β -carotène :

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).

En analysant nos résultats illustrés dans la **Figure 20**, on trouve que l'absorbance à ($\lambda=490\text{nm}$) de toutes les solutions préparées, diminuent en fonction du temps. La régression est très claire particulièrement pour l'extrait d'alcaloïdes et le contrôle négatif où la densité optique mesurée s'est abaissée considérablement.

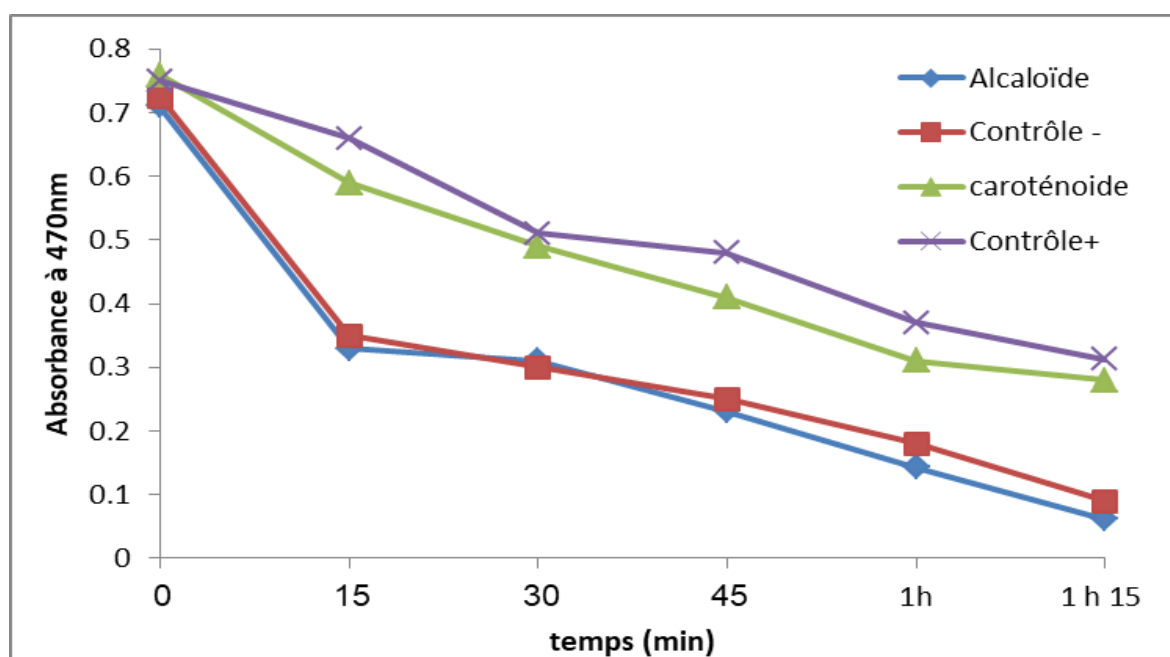


Figure 20: Absorbance des deux extraits, de l'acide ascorbique et du méthanol en fonction de temps.

L'acide ascorbique s'avère l'antioxydant le plus efficace (31.02% de protection), suivi de façon moins importante par les caroténoïdes (24.56% d'inhibition de l'oxydation), alors qu'en absence d'antioxydant (contrôle -) ou en présence d'alcaloïdes, le déclin est très remarqué pour arriver à des D.O = 0.09 et 0.061 de suite.

Un extrait qui 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**). Toutefois, plusieurs facteurs semblent moduler l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique à savoir la nature liposoluble ou hydrosoluble des antioxydants et leur concentration (**Haddadi., 2005**).

Le β -carotène et les caroténoïdes en général, ont un effet antioxydant lié principalement à une réaction avec les radicaux libre peroxylys (ROO^\bullet) capables d'enlever un atome d'hydrogène à chaque position de la chaîne polyène des caroténoïdes (**Krinsky et Johnson., 2005**). Les caroténoïdes peuvent empêcher la phase de propagation de la peroxydation lipidique et protéger ainsi les acides gras de l'oxydation, en s'offrant entant que substrat de peroxydation (**Levin et Mokady., 1994**).

Plusieurs études ont montré que les caroténoïdes possèdent un grand pouvoir antioxydant et peuvent empêcher l'oxydation des lipoprotéines humaines (**Ahuja et al., 2006 ;Yang, et al., 2010**). Ces recherches ont indiqué aussi que la caroténoïdes inhibe potentiellement différentes peroxydations lipidiques, piège directement les différents radicaux, et empêche l'accumulation des espèces actives de l'oxygène (**Kogure et al., 2002**).

Les alcaloïdes sont les moins efficaces dans la protection des lipides, une observation probablement justifiée par les études menées par (**Pérez et al., 2003**) ainsi que (**El mastas et ses collaborateurs., 2006**), qui montrent qu'à des concentrations très élevées et à des temps très avancés les alcaloïdes ne se comportent plus comme des antioxydants mais comme des « pro-oxydants » (transporteurs d'oxygène) (**Shahid et Bhanger., 2006**).

IV.3. Activité anti-inflammatoire

IV.3.1. Effet sur la dénaturation des protéines :

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation, dont elle consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintiennent leur structure tridimensionnelle et conduit peut être à la production d'auto-antigènes in vivo (**Gbohaida et al , 2015; Dhan et al., 2014**). L'inhibition de cette voie est prouvée comme étant l'un des mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (**Lanneau D., 2010**).

Cette technique était utilisée par plusieurs chercheurs dans le but d'évaluer l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire in vitro (**Leu et al.,2008; delgada et al., 2000**)

Il ressort que la solution standard, pour une concentration de (**250 µg/ml**), dispose d'un pouvoir d'inhibition de dénaturation de SBA important avec (**91.12%**), comparativement aux deux extraits; Alcaloïdes (**46.67%**) et Caroténoïdes (**17.77%**).

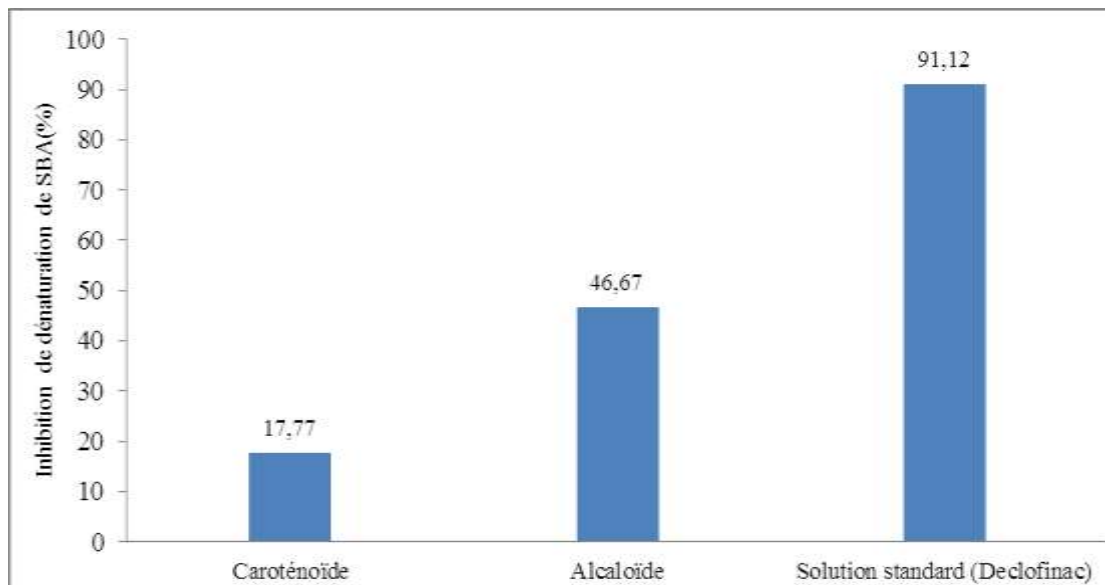


Figure 21: Taux d'inhibition de la dénaturation de BSA par les extraits et le diclofinac.

L'étude de (**Puspal et al., 2017**) a révélé que les alcaloïdes parmi d'autres composés bioactifs ont une propriété anti-dénaturation des protéines significative.

La présence de ces molécules phytochimiques peut aider à éliminer les isomères conformationnels hétérogènes hautement nocives, dérivés de protéines dénaturées chez l'homme (**Puspal et al., 2017**).

Cependant, en tant qu'antioxydants efficaces et à faibles concentrations, les caroténoïdes stoppent cette dénaturation par le biais d'empêchement de l'agrégation ou de la dégradation des protéines. A l'inverse, ils ont des effets indésirables lorsqu'ils sont consommés à forte dose (**Sen Gupta1 et Ghosh., 2013**).

IV.3.2. Test d'inhibition de l'hémolyse :

La ressemblance de la membrane du lysosome avec celle du globule rouge, assure la possibilité d'emploi du test de stabilisation de la membrane comme modèle pour examiner l'efficacité anti-inflammatoire des extraits de plantes, via l'exposition des érythrocytes à une solution hypotonique, ainsi qu'à une température élevée (**Reshma et al., 2014 ; Oyedapo et al., 2015**).

L'effet hémolytique d'une solution hypotonique est lié a une accumulation excessive de liquide dans la cellule, ce qui aboutit à la rupture de la membrane et provoque la libération de l'hémoglobine et d'autres composants internes dans le fluide environnant (**Habibur et al., 2015 ; Labu et al., 2015**).

Tandis que les agents anti-inflammatoires stéroïdiens montrent leurs actions par l'inhibition de l'enzyme cyclooxygénase qui induit la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (PG) Les médicaments non stéroïdiens (AINS) agissent en soit en restreignant ces enzymes lysosomales, soit en provoquant une stabilisation du membranes lysosomales (**Shirwaikar et al., 2011; Chippada et al., 2011**).

Après l'interprétation du graphe de la **Figure 22**, on peut voir un effet positif dans l'inhibition de l'hémolyse des hématies pour les trois solutions testées, avec une alternance dans les intervalles d'efficacité en fonction de la concentration. Les alcaloïdes et les caroténoïdes affichent des taux max pour les concentrations faibles (**de 8.125 à 32.5µg/ml**), pour s'incliner ensuite en terme d'efficacité, en faveur du diclofénac qui est au top pour des doses de (**65-260 µg/ml**).

La meilleure activité est enregistrée pour les alcaloïdes avec **52.38%**, suivi par le standard **48.97%** et les caroténoïdes **48.29%** consécutivement.

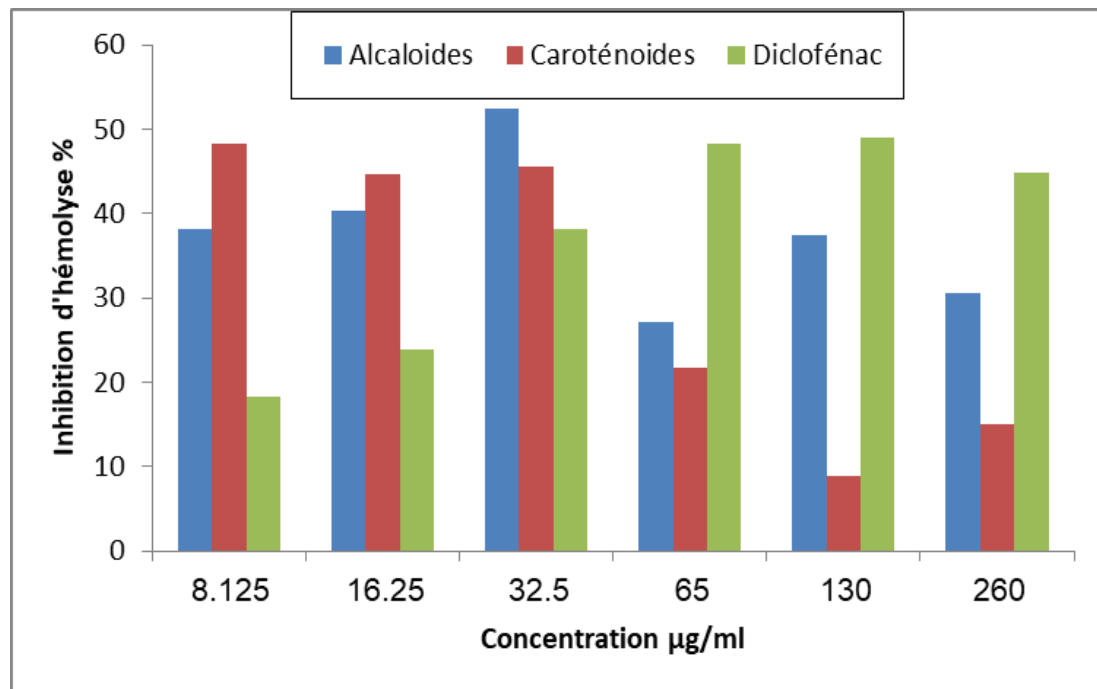


Figure 22: Taux d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges par les extraits et le diclofénac.

Les caroténoïdes (exp: α et β -carotène) protègent partiellement ou totalement les cellules intactes contre la peroxydation des lipides membranaires induite par un oxydant, et l'effet protecteur est indépendant de l'activité de la provitamine A (**O'Sullivan et al., 2007**). Des découvertes récentes suggèrent que la position et l'orientation des caroténoïdes dans la membrane sont des facteurs importants pour déterminer leur efficacité relative dans la protection contre les radicaux libres (**Britton et al., 2009**).

Les caroténoïdes peuvent interagir dans les solutions et les assemblages lipidiques organisés tels que (les micelles, les liposomes, les émulsions et les lipoprotéines). L'un des mécanismes proposés dans leur activité protectrice des membranes est la régénération de certains antioxydants par d'autres (**Palozza et al., 2009; Gouranton et al., 2011**). Il implique des transferts d'électrons ou d'atomes d'hydrogène entre des antioxydants répartis entre les phases aqueuse et lipidique, via des antioxydants situés à l'interface. Par exemple, dans les membranes, le lycopène ou le β -carotène prolonge de manière significative l'activité antioxydante de la xanthophylle "zéaxanthine" en réduisant son radical (**Borel., 2005**).

Pour les alcaloïdes, et malgré que plusieurs études comme celle de (**Sparg et al., 2004 ; Fiot et al., 2006**) ont montré qu'ils possèderaient des propriétés anti-inflammatoires, les informations concernant leur effet de préservation envers la membrane sont encore très limitées.

Conclusion générale

Conclusion

Les plantes médicinales est une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, et suscite un renouveau d'intérêt de plus en plus important.

Dans ce travail, nous vison à la mise en exergue de ces aptitudes thérapeutiques des jeunes cladodes de figuier de barbarie; une partie végétale, assez spéciale pour ses adaptativités morpho-physiologique et métabolique, provenant d'une plante abondante localement mais très en retrait en terme de valorisation malgré son vaste domaine d'applications.

On a constaté à la fin de ce travail, que les jeunes raquettes contiennent des quantités appréciables en caroténoïdes et alcaloïdes. Ces métabolites et suite à leur évaluation en tant qu'antioxydant ont prouvé une efficience variable selon la méthode utilisée; ils sont moyennement efficace comme scavengers de radicaux libres en DPPH. Par la suite, les caroténoïdes surpassent des alcaloïdes en matière du pouvoir réducteur et inhibition de la lipo-oxydation, où ils ont donnés des résultats très considérables.

Or, la mise en épreuve d'anti-inflammation des deux extraits a permis de se tenir de l'efficacité alcaloïdale plus ou moins intéressante contre la dénaturation des protéines, avec une bonne avance sur les caroténoïdes. Le même acte protecteur et avec le même ordre a été noté pour la stabilisation des membranes en lutte anti-hémolytique, les alcaloïdes sont les meilleurs vis-à-vis l'inflammation.

En perspectives, il est souhaitable de réaliser:

- Des tests d'innocuité des alcaloïdes de l'Opuntia, malheureusement réputés par leur toxicité à forte dose.
- Une caractérisation chromatographique, par RMN ou toute autre technique développée, dans le but est de découvrir des caroténoïdes et alcaloïdes attribués à l'Opuntia Algérien, y compris leur structure et composition moléculaire.
- Plus de tests in vitro sur les mêmes activités biologiques et sur d'autres activités thérapeutiques : l'anticoagulation, cicatrisation
- Des études in vivo, si les étapes précédentes s'avèrent vraiment prometteuses et suffisamment claires concernant le mécanisme d'action de ces biomolécules.

*Références
bibliographiques*

- **Al-sobarry, MA'2012)** : valorisation pharmacologique d'*Aloe perry baker et jatropha unicostata balf*, plantes endémiques du yémen : toxicité, potentiel anti-inflammatoire et analgésique. Thèses de doctorat. Fac. Med. pharmac. de rabat. Maroc, 2012, 214 pp.
- **ARBA, M. (2009)**: Le cactus opuntia, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture aspects fondamentaux et applications potentielles. pour une agriculture
- **Arba, M., Elaich, A., Sarti, B., Belbahri, LL., Boubekraoui, A., Zemmouri, A., Sbaa, H. (2000)**: Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Bull. Mens. Inf. et de liaison du PNTTA.*, 68 : 1-4.
- **Awa, N. (.2003)** : Etude de l'activité antidiabétique des extraits acétoniques, méthanoliques et
- **Badiaga, M.(2012)** : Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de
- **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K. (2014)**: Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, Springer-Verlag France 2014, DOI 10.1007/s10298-014-0834-x.
- **Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I. H., Hoffmann, T., Martin, H. D., Mayer, B., Noack, P., Ruck, Borel, P. (2005)**: Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes. *Annales de Biologie Clinique* 62: 165-177.
- **Britton, G., S. Liaaen-Jensen, H., Pfander. (2009)**: Carotenoids: Volume 5: Nutrition and health Birkhauser Verlag AG, Basel Switzerland.
- **Britton, H. (1995)** : *UV/Visible spectroscopy Carotenoids*. Nutrition and health Birkhauser Verlag AG, Basel Switzerland.
- **Bruneton, J. (1987)** : *Elément de phytochimie et de pharmacognosie*. Paris : Technique et
- **Bruneton, J. (1999)**: "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales", 3ème Edition, Lavoisier, Paris, Care, 1988, 11, 63-66. chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*, 2005, 49, 175-194.
- **Bruneton, J. (2009)** : Alcaloïdes. *In : pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*. Paris : Technique et Documentaire Lavoisier. 1067-1068p.

- **Chintapakorn, Y., Hamill, J.(2007) :** Antisense-mediated reduction in ADC activity causes
- **Collet, J.Y., Bourreau, E., Cooper, R.W., Tutin, C.E.G., Fernandez, M. (2013) :** Experimental demonstration of cellulose digestion by *Troglodytella gorillae*, an intestinal ciliate of lowland gorillas. *International Journal of Primatology*, **5**, 328.
- **Cristina, P., Ilonka, S., Bartek, T., (2009) :** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de Génie Industriel*, **4** : 25-39.
- *d'enseignement supérieur*, Paris, pp 379-454. d'histoire naturelle, Ouganda. 49p.
- de plantes consommées. Thèse de Doctorat. Museum national
- **De Ritter, E., Purcell, A.E.(1981):** Carotenoid analytical methods. In: Bauernfeind, J.C., Ed. *Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors*. Academic Press, New York, 815–882.
- **De Wit, M., Hugo, A., Shongwe, N., Van Der Merwe, R.S. (2010):** durable au mlMaroc. *Sym. Inter. Agriculture durable en région Méditerranéenne* **33**, S279.
- **Delgado-Vargas, F., Jiménez, A, R., Paredes-López, O. (2000):** Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **40:3**, 173-289
- **Derbel, S., Ghedira, K. (2005) :** Les phytonutriments et leur impact sur la santé.
- **Dias, M. G., Camões, M. F. G., Oliveira, L. (2009) :** Carotenoids in traditional Portuguese
- *docteur en pharmacie*. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- Documentaire Lavoisier. 345p. durable au Maroc. *Sym. Inter. Agriculture durable en région Méditerranéenne*
- **Dutta, D., Chaudhuri, U.R., Chakraborty, R. (2005) :** Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology*, **4(13)**: 1510-1520.
- **El Hachimi, A.(2017) :** Bendriss Unité de diversité et conservation des systèmes biologiques, faculté des sciences de Tétouan, université Abdelmalek-Essaâdi, BP 211 laboratoire de pharmacologie et toxicologie, faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, université Mohammed-V-Souissi, Maroc C. Alfaiz Institut national de la recherche agronomique, BP 6570 Rabat, Maroc *Phytothérapie* (2017) **15**:147-154 DOI

10.1007/s10298-016-1056-1 de leurs propriétés astringentes, cicatrisantes, amincissantes e

- **Elmastas, M., Gulcin, I., Isildak, O., Kufriveoglu, I, O ., Ibaoglu, K., Enein, A,H,Y. (2006)** : Radical scavenging activity and antioxidant activity of Bay leaf extracts. *Jornal of Iranian Chemical Society*. 3(3), p: 258-266.
- **Fabre, R., Truhaut, R. (1961)** : Précis de toxicologie. Tome 2. *Société d'édition*
- **Facchini, P.J., St-Pierre, B.(2005)** : Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic
- **Fernandez, m.l.,Trejo, A., Mcnamara, D.J.(1990)** : Pectin isolated From Prickly pear figue de barbarie : les polysaccharides pariètaux caractèrisation et modification chimique.
- **Ferreira, M.V., Dubeux, J.R., Lira, M., Cordeiro, D., Farias, I., Lima, L.E.(2006)** : Ferreira RLC. Productivity of *Opuntia ficus-indica* under different N and P fertilization and plant population in north-east Brazil. *J.Arid.Envir.*, 2006, 67: 357-372.
- **Fratia, A.C., Gordillo, B.E., Altamiranop., Ariza, C.R.(1988)** : Hypoglecemis effect
- fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 113(3) : 808-815.
- **Ghedjati, Nadhra. (2014)**: Toxicité aigüe et subaigüe des alcaloïdes naturels et synthétiques des graines du *Datura stramonium*. Mémoire de magister.université de Sétif..
- **Goldstein, G., Andrade, L., Noble, P. (1991)**: Sciences Pharmaceutiques. Université Libre de Bruxelles Europe. Belgique.
- **Goodwin, T. W. (1980)**: *Biochemistry of the Carotenoids. Vol. 1: Plants.*, 2nd. ed.,Chapman and Hall, New York, , 1–95 .
- **Goodwin, T. W. (1992)**: Biosynthesis of carotenoids: an overview, *Method. Enzymol.*; 214part B): 330–340.
- **Gordon, H. T., Bauernfeind, J. C.(1982)**: Carotenoids as food colorants, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*; 18: 59–97.
- **Gouranton, E. C ., Thabuis, C ., Riollet, C ., Malezet-Desmoulins, C ., El Yazidi, M. J., Amiot, P., Borel, J. F., Landrier. (2011)**: Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. *Journal of Nutritional Biochemistry* 22: 642-648.

-
- **Gray, J. C., guine- Stintzing F.C., Carle R.(1987):** Control of isoprenoid biosynthesis, *Adv. Bot. Res.*, 14: 25–91 Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*, 2005, 49, 175-194a pigs. *J. Nutr.*, 1990, 120, 1283-1290.
 - **Guignard, J.L. (2000) :** *Abrégé de biochimie végétale*. Paris : Masson. 201-209p.
 - **Guignard, J.L (2009) :** *Abrégé de Phytochimie*, Ed .Masson, Paris, **1985**, 25-29 pp
 - **Habbi Y.(2004).** Contribution à l'étude Morphologique, ultrastructurale et chimique de la figuier de barbarie , les polysaccharides pariétaux caractérisation et modification chimique
 - **HARBORNE, J.B. (1995) :** Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology.
 - **Harborne, J.B. (1998) :** *Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis*. Ed 3. Chapman & Hall. p:202-209.
 - **HESS, M.(2002) :** *Alkaloids, Nature's Curse or Blessing* 1ère édition. Ed. Wiley-héxaniques de vernonia colorata (willd/ drake) composées chez des rats wistar. *Thèse de héxaniques de vernonia colorata (willd/ drake) composées chez des rats wistar. Thèse de*
 - **Houi, R. K., Patel, T. R., Martin, A. M.(1994):**An overview of pigment production in biological systems: functions, biosynthesis, and applications in food industry, *Food Rev. Int.*, 10(1): 49–70 In Vitro Antioxidative Evaluation of - and -Carotene, Isolated from Crude Palm Oil, *Journal of Analytical Methods in Chemistry; Volume , Article ID 351671,*
 - **Iranbakhsh, A., Oshaghi, M., MAJD, A. (2006) :** Distribution of atropine and scopolamine idifferent organs and stages of development in *Datura stramonium* L. (solanaceae). Structure
 - **Jomova, K.,(2013) :** Advances in metal-induced oxidative stress and human **stress** in human disease. *Toxicology*.2013
 - **KONE DONATIEN. (2009) :** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes-extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols. étude leur activité antioxydante.
 - **KRIEF, S.(2003) :** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal :
 - **Krinsky, N.I., Johnsovb n, E.J. (2005):** Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol. Aspects Med.*, 26, 459-516 .

-
- **Labu, M., Grassi, F., Bardini, M., Imazio, S., Guiggi, A., Citterio, S., Banfi, E., Sgorbati, S.(2015):** Genetic relationships in *Opuntia* Mill genus (Cactaceae) detected by molecular marker. *Plant Sci.* 2015;165:1129-1136.
 - **Lanneau, D. (2010) :**Rôle des protéines de choc thermique HSP90 et HSP70 dans la différenciation macrophagique. *Sciences agricoles. Université de Bourgogne.*
 - **Lars Mueller., Volker Boehm. (2011):** Antioxidant Activity of β -Carotene Compounds in Different in Vitro Assays. *Molecules* 2011, 16, 1055-1069; doi: 10.3390/molecules 16021055. .
 - **Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004) :** Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative
 - **Leelaprakash, G., Mohan Dass, S. (2011):** Invitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (3): 189-196.
 - **Lemmens., Van Buggenhout., Van Loey., Hendrickx. (2013) :** Particle Size Reduction Leading to Cell Wall Rupture Is More Important for the beta-Carotene Bioaccessibility of Raw Compared to Thermally Processed Carrots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12769-12776
 - **Levin, G., Mokady, S. (1994):** Antioxidant activity of 9-cis compared to all-trans β -carotene in vitro. *Free Radic. Biol. Med*, 17, 77-82.
 - **Lichtenhaler, H. K. (1987):** Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Method. Enzymol.* 148: 350–382 .
 - **Lielaprakash, G., Mohan Dass, S. (2018) :** Invitro anti-inflammatory activity of methanol extract of *enicostemma axillare*. *International Journal of Drug Development & Research*, 3 (3): 189-196
 - **Liyana, p.,McGarvey, D. J.,Croteau, R., Terpenoid metabolism., Plant Cell.(1995)::** 1015–1026 *Molecule* , 17 (9) , 11255-11268 .
 - **Lydakakis, D., Pompodakis, N., Markellou, E., Lionakis, S.M. (2005):** Storage responseof cactus pear fruit following hot water brushing. *Postharv. Biol. Technol.* 38,145–151.
 - **Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D. (2011) :** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique Micromorphology of cactus-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) cladodes based on scanning microscopies minor alterations in the alkaloid profile of cultured hairy roots and regenerated transgenic

-
- **Monica, R., Loizzo,a., Maurizio., Bruno,b., Michele, Balzano.,Alessandra Giardinieri., Deborah Pacetti., Natale, G., Frega,c., Vincenzo Sicari., Mariarosaria Leporini., Rosa Tundisa. (2018):** Comparative chemical composition and bioactivity of *Opuntia ficus-indica* Sanguigna and Surfarina seed oils obtained by traditional and ultrasound-assisted extraction procedures .
 - **Nacoulma, A.P. (2012) :** Reprogrammation métabolique induite dans les NATURE ET SANTE. Le figuier de barbarie et son huile. Nature et Santé, of *Opuntia streptacantha* Lemaire in non-insulin-dependent diabetes. Diabestes.
 - *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. *Thèse de docteur*
 - *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. *Thèse de docteur*
 - **Nerd, A., Mizrahi, Y., Raveh, E., Yossov, E., Ben-Asher, J.(1991):** New fruit crops with high water use efficiency. In: Janick J, Whipkey A, editors. Creating Markets for Economic Development of New Crops and New Uses, The proceedings of the sixth National New Crops Symposium. ASHS Press,216-222. *New series*. Vol. (8): 329-402.
 - Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (1) : 21-33.
 - **Ootaki, T., Yamazaki, Y., Noshita, T., Takahashi, S. (1996):** Excess carotenoids disturb prospective cellto-cell recognition system in mating responses of *Phycomyces blakesleanus*. *Mycoscience* 37: 427–435.
 - **O'Sullivan, L., Ryan, L., O'Brien, L. (2007):** Comparison of the uptake and secretion of carotene and xanthophyll carotenoids by Caco-2 intestinal cells. *British Journal of Nutrition*.
 - **Oyaizu, M. (1986) :** Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine., 44:307–315.
 - **Palozza, P., Serini, S., Ameruso, M., Verdecchia,S. (2009):** Modulation of intracellular signalling pathways by carotenoids Birkhauser Verlag AG, Basel Switzerland. Parameters from the Chlorenchyma and the Parenchyma of the *Opuntia ficus indica*.

-
- **Pérez, R.M., Vargas, R., Martínez, F.J., García, E.V., Hernández, B. (2003):** Antioxidant activity of alkaloids from *Baconia araborea*. A study on six testing methods. *Ars Pharmaceutica*. 44(1), p: 5-21. *Phytothérapie*, 2011, 40-42.
 - **Pérez-Gutiérrez, M.A., Romero-García, A.T., Salinas, M.J., Blanca, G., Fernández, M.C., Suárez-Santiago, V.N. (2012) :** Phylogeny of the tribe fumarieae (papaveraceae s.l.) based on chloroplast and nuclear dna sequences: evolutionary and biogeographic implications. *American Journal of Botany*, 99(3):517–528. *Phétothérapie*. 3(1) : 28-34.
 - **Puspal, De., Subhradeep Sarkar., Madhumita, J., Mukhophadhyay. (2017):** Anti protein denaturation activity and bioactive compound screening of Piper betel aqueous and alcoholic leaf extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*; 6(2)
 - **Racková , L., Májeková, M., Kost'álová, D., Stefek, M. (2004) :** Antiradical and antioxidant activities of alkaloids from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (12):4709-4715
 - **Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knodler, M., Schieber, A. (2008) .:** Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica L.*) varieties. *Food Chemistry*, 110 (3) : 620-626.
 - **Rivera, S., Canela, R. (2012):** .Influence of Sample processing on the analise of caroténoides in Mais.
 - **Robards, K.(2003) :** Strategies of the determination of bioactive phenols in plants, fruit and
 - **Rock, C. L. (2009) :** Carotenoids and cancer. Basel Switzerland, Birkhauser Verlag AG.
 - **Rodriguez-Amaya, D. B., Rodriguez, E. B., Amaya-Farfan, J. (2006):** Advances in food carotenoids.
 - **Rodriguez-Concepcion, M. (2010):** Supply of precursors for carotenoid biosynthesis in plants. *Arch.*
 - **Sabrina Krief. (2003):** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat .

-
- **Sahli Souâd Zaidi Sid Ali. (2017):** Évaluation du potentiel antioxydant et étude de la cytotoxicité des alcaloïdes totaux et des extraits phénoliques bruts de *Fumaria agraria*. memoire de master, 17 Juin.
 - **Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, MM., Toth-Markus, M. (2005):** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruit and vegetables. *Food Res. Int.* 20:1023-1029.
 - **Shahid, I., Bhanger, M.I. (2006) :** Effect of seaso and production location on antioxidant activity if *Moringa oleifera* leveaes growing in Pakistan. *Journal of Food Composition and Analysis*, (19):544-551
 - **Shirwaikar A, Devi S, Siju . (2011): (Opuntia sp)** modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed. *International Journal of PharmTech Research*, 3(4), 2060-2063.
 - **Stahl, W., Sies, H. (2003):** Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6),
 - **Stintzing F.C., Carle R. (2005):** Cactus stems (*Opuntia* spp.) A review on theirchemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*, 2005, 49, 175-194 (ADUMED),p. 215-222.
 - **Sudzuk., Schmidt, M., Schulke, I., Sell, S., Ernst, H., Haremza, S., Seybold, G., Sies, H., Walsh, R. (2001):** Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and 460 phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of ss-carotene in 461 antioxidant functions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(6), 559-568.468.
 - **Tanaka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M., Makita, H., Mori, H., Satoh, K., Hara, A. (2008):** Suppression tissu hyperplasiques formés chez le tabac infecté par *Rhodococcus fascians*: under Wet versus Dry Conditions. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 1991, 18(2), oThèse Doctorat : Marrakech : Universtè Josep Fourier,1,pp4-5
 - Thèse de Doctorat en These docttorant :marrakech ::Université josef fourier, 1,pp4-5
saut de section troglodytes schweinfurthii) en ouganda activités biologiques et étude chimique
 - VCH, New York. USA. 297 p. vegetables. *Journal of Chromatography A* 1000 (1) : 657-691.
 - **Walali L.,D.(1997) :** Le figuier de barbarie. Espèce fruitière d'intérêt secondaire cultivée au Maroc. *BLPNTT. MADRPM/DERD.* 35 : 1-2

- **Yong, D. W. S.(2010):** Colorants. In: *Mechanism and Theory in Food Chemistry*, AVI, Westport, CT, 1989, 147–187.
- **ZteglervT., Facchini, P.J., St-Pierre, B.(2008) :** Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic.

Résumé.

Les substances naturelles issues de l'opuntia ficus indica disposent des intérêts multiples mis à profit dans le domaine pharmaceutique. La recherche actuelle porte sur l'étude des activités biologiques des caroténoïdes et alcaloïdes provenant des jeunes cladodes de figuier de barbarie Algérien.

La quantification des caroténoïdes et alcaloïdes par spectrophotomètre montre qu'ils sont présents à une teneur de **1.369** et **0.574 g/100g poids sec** de suite. L'estimation de l'activité antioxydante de ces biomolécules illustre que les caroténoïdes sont de loin les meilleurs par rapport aux alcaloïdes; malgré qu'ils piègent semblablement le DPPH où elles nécessitent une IC50 de **3.48mg/ml** et **3.38mg/ml**, leur pouvoir réducteur FRAP excède les alcaloïdes avec une absorbance (**D.O=0.463±0.17**) contre (**D.O=0.222±0.09**) respectivement, et ce de même pour la contradiction du blanchiment du b-carotène atteignant (**24.56% d'inhibition**) par rapport à une absence totale d'effet chez les alcaloïdes.

Cette image s'est renversée pour l'effet anti-inflammatoire, puisque les alcaloïdes et les caroténoïdes ont, consécutivement, un pourcentage de protection des protéines SBA contre la dénaturation égale à (**46.67%**) et (**17.77%**), côtoyé avec un effet anti-hémolytique de **52.38%** et **48.29%**.

Ces résultats jugent que la remédiation traditionnelle par les jeunes cladodes d'Opuntia peut se bénéficier de l'ampleur scientifique, pour être reconsidéré thérapeutiquement et médicalement.

Mots clés: Figuier de barbarie, jeunes cladodes, Alcaloïde, Caroténoïde, Antioxydant, Anti-inflammatoire.

ملخص

تمتلك المواد الطبيعية الموجودة في نبات الابونتيا امكانيات متعددة من الممكن استعمالها في المجال الصيدلاني، مما دفع بنا الى التركيز في البحث الحالي على دراسة الأنشطة البيولوجية للكاروتينويدات والالكلويدات المأخوذة من الفروع اليانعة للتين الشوكي الجزائري.

اظهر التقدير الكمي لهذه الكاروتينات والالكلويدات بواسطة مقياس الطيف الضوئي وجودها بتركيز يتراوح بين **1.369** و **0.574** جم / **100** غرام من الوزن الجاف على التوالي. من جهته، فقد اوضح تقدير النشاط المضاد للأوكسدة لهذه الجزينات الحيوية أن الكاروتينات هي الأفضل مقارنة بالالكلويدات؛ فعلى الرغم من أنها تلتقط DPPH مثلا بمثل كما يبين IC50 (**3.48** و **3.38** مل/مغ) تواليا، الا إن قدرة خفض FRAP للكاروتينويدات هي الأفضل مع امتصاص ضوئي يصل (**OD = 0.463 ± 0.17**) ضد (**OD = 0.222 ± 0.09**). كما ان الشيء نفسه لوحظ بالنسبة لتبييض بيتاكاروتين مع نسبة تثبيط تساوي **24.56** % مقارنة مع الغياب التام لهذا التأثير في الالكلويدات. في المقابل، انعكس هذا التأثير عند قياس النشاط المضاد للالتهاب، حيث إن الالكلويدات ابانت عن قدرات وقائية أكبر من الكاروتينات، ضد كل من تخريب البروتينات (**SBA 46.67** % ضد **17.77** %) وانحلال الكريات الحمراء (**52.38** % مقابل **48.29** %).

يمكن ان نجزم مما سبق أن العلاج التقليدي بمستخلصات الفروع الشابة للابونتيا، يمكن ان يستفيد بشكل كبير من النتائج العلمية الحديثة، لإعادة الاعتبار له وتوسيع نطاق استعماله العلاجية والطبية.

الكلمات الأساسية: التين الشوكي، الفروع الشابة، للكاروتينويدات، الالكلويدات، مضاد للأوكسدة، مضاد للالتهابات.

Abstract

Natural substances from *Opuntia ficus indica* have multiple interests in the pharmaceutical field. Current research focuses on the study of the biological activities of carotenoids and alkaloids from young cladodes of Algerian prickly pear.

The quantification of carotenoids and alkaloids by spectrophotometer shows their presence at a concentration of 1.369 and 0.574 g / 100 g dry weight in succession. The estimation of the antioxidant activity of these biomolecules illustrates that carotenoids are by far the best compared to alkaloids; although they similarly scavenge DPPH where they require an IC50 of (3.48mg / ml and 3.38mg / ml), their FRAP reducing power exceeds the alkaloids with an absorbance of (OD = 0.463 ± 0.17) against (OD = 0.222 ± 0.09) respectively. The same observation was made for the prevention of bleaching of β-carotene reaching (24.56% inhibition) compared to a total absence of effect in alkaloids.

This ascertainment was reversed for the anti-inflammatory effect, since the alkaloids and the carotenoids have, consecutively, a percentage of protection of the proteins SBA against the protein BSA denaturation equal to (46.67%) and (17.77%), beside their anti-hemolytic effect going to (52.38% and 48.29%).

These results show that the traditional remediation by the young cladodes of *Opuntia* can benefit from this scientific ground, to be reconsidered therapeutically and medically.

Key words: Barbary fig, young cladodes, Alkaloid, Carotenoid, Antioxidant, Anti-inflammatory.