

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Centre des Sciences des Matériaux

Structure de Recherche : Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies et Environnement

Discipline : Chimie Organique et Analytique

Spécialité : Phytochimie

Présentée et soutenue le : 19/03/2022 par :

Chakir EL GUEZZANE

**Contribution à la valorisation pharmacologique et chimique du
figuier de barbarie et de ses dérivés : modélisation et optimisation
par la méthodologie de surface de réponse**

JURY

Lhou MAJIDI	PES, Université Moulay Ismail, Faculté Polydisciplinaire d'Errachidia,	Président
Badia TABYAOUI	PES, Université Chouaib Doukkali, Faculté des Sciences d'El Jadida	Rapporteur/Examineur
Rabaa FDIL	PES, Université Chouaib Doukkali, Faculté des Sciences d'El Jadida	Rapporteur/Examineur
Abdelkader ZARROUK	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteur/Examineur
Adil EL YADINI	PA, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Invité
Hicham HARHAR	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Co-Encadrant
Mohamed TABYAOUI	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Directeur de Thèse

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicace

D'ABORD, JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À MON PÈRE, MON BRAS DROIT.

JE DÉDIE ÉGALEMENT CE TRAVAIL À MA CHÈRE MÈRE, LA SOURCE DE TENDRESSE ET MON
BONHEUR.

À

MES SOEURS

À

TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE

À

TOUS MES AMIS ET MES COLLÈGUES LE LONG DE MES ÉTUDES ET TOUTES LES PERSONNES QUE
J'AIME ET QUI M'AIMENT JE VOUS SOUHAITE À TOUS UNE VIE PLEINE DE BONHEUR ET DE SUCCÈS
ET QUE DIEU, LE TOUT PUISSANT, VOUS PROTÈGE ET VOUS GARDE.

EL GUEZZANE CHAKIR

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies et Environnement (LMNE) de la faculté des Sciences de Rabat, sous la direction du Monsieur **Mohamed TABYAOUI**.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, Mr. **Mohamed TABYAOUI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences de Rabat et Vice doyen des affaires académiques et pédagogiques, de m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je lui suis également reconnaissant pour ses précieux conseils dans la réalisation de ce travail, ses qualités pédagogiques et scientifiques, malgré ses nombreuses responsabilités, celui-ci m'a toujours motivé et encouragé tout au long de ma thèse.

J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse toute ma sincère gratitude. Je tiens à remercier Mr. **Hicham HARHAR**, Professeur Habilité à la faculté des Sciences de Rabat, non seulement d'avoir accepté de me co-encadrer et de juger ce travail, mais encore pour son amabilité, sa grande disponibilité, ses encouragements, son soutien et ses précieux conseils. Qu'il trouve dans ces mots l'expression de ma sincère gratitude. C'est une chance unique d'avoir eu l'occasion de travailler sous votre direction.

J'adresse de chaleureux remerciements à Mr. **Lhou MAJIDI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté Polydisciplinaire d'Errachidia et doyen de la faculté Polydisciplinaire d'Errachidia, d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Qu'il soit assuré de mes sentiments de respects et de haute considération.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à Mme. **Badia TABAYOUI**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences d'El Jadida, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant avec une grande sympathie de siéger parmi mon jury de thèse en tant que rapporteur et examinateur. Je tiens à lui témoigner toute ma reconnaissance pour sa disponibilité, son amabilité, ses commentaires et ses suggestions.

Je tiens à remercier sincèrement Mme. **Rabiah FDIL**, Professeur de l'Enseignement Supérieur à la faculté des Sciences d'El Jadida, pour l'honneur qu'elle m'a fait en tant que rapporteur et examinateur de ce travail.

Je tiens à témoigner ma reconnaissance à Mr. **Abdelkader ZARROUK**, Professeur Habilité à la faculté des Sciences de Rabat, qui m'a fait un grand honneur d'assister en tant que rapporteur et examinateur de cette thèse. Je tiens à lui témoigner toute ma reconnaissance pour les différents échanges fructueux que nous avons eus et qui m'ont été d'une grande aide dans la finalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier Mr. **Adil EL YADINI**, Professeur Assistant à la faculté des Sciences de Rabat pour sa participation en tant que membre du jury.

Ma gratitude envers mes collègues de laboratoire et mes amis chercheurs, H. El Moudden , Z,Hafidi ,Y. El Idrissi, Z. El Idrissi, Y. Halabi pour leur soutien, leur accessibilité et leur aide au cours de ces dernières années.

Je tiens également à remercier tous les membres du Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies et Environnement (LMNE), ainsi que les chercheurs du département de Chimie.

Je tiens à remercier mes parents, mes sœurs et mes amis de m'avoir soutenu pendant toutes ces années et de m'avoir donné la force d'atteindre ce but.

Résumé

Ce travail de thèse est une contribution à la valorisation chimique et pharmacologique de deux plantes Marocaine à savoir *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha*. En raison de leur teneur en composés phénoliques et d'autres antioxydants naturels, ces plantes pourraient être considérées comme une source potentielle de produits naturels à haute valeur additive. Le but de cette étude était de caractériser et valoriser ce co-produit. Le premier volet de ce travail a porté sur l'évaluation des teneurs en antioxydants et la capacité antioxydante des graines, des cladodes et des fleurs pour les deux plantes dans quatre régions de récolte distinctes, ainsi que la corrélation entre les composés antioxydants et leur capacité antioxydante a été réalisée par l'analyse en composants principaux. Le deuxième volet de ce travail a consisté d'appliquer la méthodologie de la surface de réponse et d'étudier l'effet de trois facteurs tels que la température du processus de torréfaction, la durée de la torréfaction et la durée de l'extraction sur les graines d'*opuntia ficus indica*, afin d'optimiser le Total Phenolic Content, Total Flavonoids Content, Total Condensed Tannins Content, Total Sugars Content et l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et ABTS. Le troisième volet de ce travail a été consacré à l'étude de la composition en acides gras et en stérols des huiles de graine extraites par extraction à froid. De plus, l'activité antioxydante des huiles a été évaluée. Les approches expérimentales ont été renforcées par une approche in silico (Docking moléculaire) pour les constituants majeurs de cette huile végétale. Le quatrième volet de ce travail a consisté à évaluer(i) le profil antidiabétique in vitro de l'huile végétale d'*opuntia ficus indica* par l'inhibition d'enzymes digestives (α -glucosidase et α -amylase), les études d'amarrage moléculaire ont été réalisées sur ces enzymes, ainsi que l'évaluation (ii) de l'activité antibactérienne a été faite contre six souches bactériennes.

Mots-clés : *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*, activité antioxydante, activité antidiabétique, activité antibactérienne, méthodologie de la surface de réponse (RMS), Docking moléculaire.

Abstract

This thesis work is a contribution to the chemical and pharmacological valuation of two Moroccan plants, namely *Opuntia ficus indica* and *Opuntia megacantha*. Due to their content of phenolic compounds and other natural antioxidants, these plants could be considered as a potential source of natural products with high additive value. The aim of this study was to characterize and valorize this co-product. The first part of this work focused on the evaluation of the antioxidant content and the antioxidant capacity of seeds, cladodes and flowers for the two plants in four regions. of distinct harvests, as well as the correlation between antioxidant compounds and their antioxidant capacity was carried out by principal component analysis. The second part of this work consisted in applying the response surface methodology and studying the effect of three factors such as the temperature of the roasting process, the duration of the roasting and the duration of the extraction on *opuntia ficus indica* seeds, in order to optimize the Total Phenolic Content, Total Flavonoids Content, Total Condensed Tannins Content, Total Sugars Content and the antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods. The third part of this work was devoted to the study of the fatty acid and sterol composition of seed oils extracted by cold extraction. In addition, the antioxidant activity of the oils was evaluated. The experimental approaches were reinforced by an in silico approach (molecular docking) for the major constituents of this vegetable oil. The fourth part of this work consisted in evaluating (i) the antidiabetic profile in vitro of the vegetable oil of *opuntia ficus indica* by the inhibition of digestive enzymes (α -glucosidase and α -amylase), the docking studies molecular studies were carried out on these enzymes, as well as the evaluation (ii) of the antibacterial activity was carried out against six bacterial strains.

Keywords: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*. antioxidant activity, antidiabetic activity, antibacterial activity, response surface methodology (RSM), molecular docking.

Liste des abréviations

ABTS	2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate).
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion.
ACP	Analyse en Composants Principaux .
AMF	Criblage phytochimique et analyse multifactorielle.
BBD	Box-Behnken Design.
CMI	Concentration minimale inhibitrice.
CMB	Concentrations minimales bactéricides.
CrtM	Déhydrosqualéne synthase.
CST	Extrait des cladodes de Tiznit.
CTR	Extrait des cladodes de Rabat.
CTT	Extrait des cladodes de Taza
CSH	Extrait des cladodes de Al Hoceima.
CPG	Chromatographie en phase gazeuze.
CAM	Crassulacean Acid Metabolism
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
FTR	Extrait des fleurs de Rabat.
FRAP	Ferric Reducing AntioxidantPower.
FSH	Extrait des fleurs de Al Hoceima.
FST	Extrait des fleurs de Tiznit.
GC-MS	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplé à un Spectromètre.
HCA	Analyse de grappes hiérarchiques.
MeOH	Extraits méthanoliques.
MRTD	La dose maximale tolérée recommandée.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
OFI	Opuntia ficus-indica.
PRDX5	Protéine humaine Peroxiredoxin 5.

PDB ID: 1B2Y	l' α -amylase pancréatique humaine.
PDB ID: 3ACX	Caroténoïde C (30) Déhydrosqualène synthase
PASS	Prédiction des spectres d'activité des substances.
PEP	Phosphoénolpyruvate carboxylase.
PBS	P-nitrophényl- α -D-glucopyranoside.
RMS	Méthodologie de la surface de réponse.
ROS	Réactives de l'oxygène.
SNC	Perméabilité du système nerveux central.
TF	Test Flavonoids.
TT	Test Tannins.
TS	Test Saponins.
TA	Alcaloïdes de test.
TPC	Total Phenolic Content.
TFC	Total Flavonoids Content.
TTC	Total Condensed Tannins Content.
TSC	Total Sugars Content.
TPC	Teneur en polyphénols totaux
TFC	Teneur en flavonoïdes.
TTC	Teneur en tanins totaux.
TSC	Teneur en sucres totaux.
TF	Test de Flavonois.
TT	Test de Tannins.
TS	Test de Saponins.
TA	Test d'Alcaloïdes.
X1	Température de torréfaction.
X2	Temps de torréfaction.
X3	Temps d'extraction.

Liste des tableaux

- Tableau 1:** Distribution des composés phénoliques dans les différentes parties du cactus (Opuntia ficus indica).
- Tableau 2:** Composition en acides gras d'Opuntia ficus indica dans la cladode et l'huile de graine de cactus.
- Tableau 3:** Distribution du contenu vitaminique dans les différentes parties du cactus (Opuntia ficus indica).
- Tableau 4:** Distribution des stérols dans les différentes parties du cactus (Opuntia ficus indica).
- Tableau 5:** Composition minérale des différentes parties du cactus (Opuntia ficus indica).
- Tableau 6:** Composition et distribution des acides aminés dans les différentes parties du cactus (Opuntia ficus indica).
- Tableau 7 :** Les phytomédicaments les plus demandés sur le marché.
- Table 8 :** Coordonnées géographiques, altitudes et type de climat des sites étudiés.
- Table 9:** Levels of the roasting factors by BBD.
- Tableau 10 :** Rendements des extraits pour Opuntia monacantha et Opuntia ficus-indica.
- Tableau 11 :** Résultats du criblage phytochimique de tous les extraits.
- Tableau 12 :** Résultats de la teneur en antioxydants de l'Opuntia ficus indica (épineux) et de l'Opuntia megacantha (épineux).
- Tableau 13:** Capacité antioxydante totale pour différents extraits .
- Tableau 14 :** Coefficient de matrice de corrélation de Pearson entre la capacité antioxydante et les composés antioxydants dans les extraits d'Opuntia Ficus Indica et d'Opuntia monacantha.
- Tableau 15 :** Valeurs p du coefficient de la matrice de corrélation.
- Tableau 16 :** Résultats du TFC, TPC, TTC, TSC, ABTS (IC50) et DPPH (IC50) .
- Tableau 17 :** Données d'ANOVA du coefficient de régression du modèle.
- Tableau 18 :** Données d'ANOVA du coefficient de régression du modèle.
- Tableau 19 :** Données sur ANOVA du coefficient de régression du modèle.
- Tableau 20 :** Résultats expérimentaux et prévus aux conditions optimales.
- Tableau 21 :** Matrice de corrélation de Pearson entre les composés bioactifs.
- Tableau 22 :** Valeur p de la matrice de corrélations des coefficients.
- Tableau 23 :** Pourcentage relatif des profils d'acides gras.
- Tableau 24 :** Teneur en stérols (mg / 100 g) d'huile de graines d'Opuntia ficus indica.

Tableau 25: Composés polyphénols totaux et capacité antioxydante des extraits.

Tableau26: Propriétés physicochimiques, pharmacocinétique, et chimie médicinale de six composés sélectionnés, selon le logiciel Swiss ADME.

Tableau 27 : Résultats ADMET du composé actif le plus élevé de toutes les données et des composés prédits.

Tableau 28 : Les résultats de la prédiction PASS des activités biologiques de la série des ligands.

Tableau29 : Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5).

Tableau30 : Résultats de l'activité inhibitrices de l' α -glucosidase et de l' α -amylase .

Tableau31 : Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur α amylase.

Tableau32 : Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur α glucosidase.

Tableau33 : Activité antibactérienne in vitro : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Concentration Minimale Bactéricide, exprimées en (mg/ml).

Tableau34 : Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur l'enzyme Déhydrosqualénesynthase (CrTm).

Liste des figures

Figure 1 : Deux espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre *Opuntia*, (a) : *Opuntia ficus indica* (inermis), *Opuntia megacantha* (épineuse).

Figure2: Carte illustrant l'aire de distribution du cactus à son origine.

Figure 3 : Schéma illustrant quelques organes du cactus.

Figure 4 : Répartition mondiale d'*Opuntia ficus indica*.

Figure5: Schéma illustrant les différentes parties du figuier de Barbarie.

Figure6: Photosynthèse de type CAM.

Figure 7: Schéma illustrant la technique de bouturage.

Figure8: Photo de la plante d'*Opuntia ficus indica*.

Figure9: Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires.

Figure10: Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène.

Figure 11: Différentes structures chimiques de la vitamine C et la réaction avec les radicaux.

Figure 12: Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols.

Figure 13 : Mécanismes d'action antioxydante de la vitamine E sur les radicaux $\text{LOO}\bullet$.

Figure 14: Structures chimiques de carotène et xanthophylle.

Figure 15 : Mécanismes traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des $\text{ROO}\bullet$.

Figure 16: Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane.

Figure 17 : Mécanismes d'action des antioxydants des composés phénoliques.

Figure 18 : schéma de différentes voies métaboliques pour obtenir les acides phénoliques.

Figure19: structure générale des flavonoïdes. La numérotation des carbones vise à expliquer la dénomination de la structure C6-C3-C6.

Figure 20 : les sous classes des flavonoïdes.

Figure 21 : biosynthèse des flavonoïdes par voie des phénylpropanoïdes.

Figure 22 : structure générale d'un chalcone.

Figure 23 : structure générale des principales anthocyanidines.

Figure 24: Dosage des polyphénols totaux.

Figure 25: Structure de l'Acide Gallique.

Figure 26: Dosage des flavonoïdes des extraits organique (phénolique).

Figure 27: Structure de la Quercétine.

Figure 28: Dosage des tannins par vanilline.

Figure 29: Réduction du radical DPPH.

Figure 30: Formation et piégeage du radical $ABTS^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de $H^{\bullet}$.

Figure 31: Réduction du fer ferrique en fer ferreux.

Figure 32 : Résultats d'extraits de cette étude par l'analyse multifactorielle.

Figure 33 : Plan factoriel d'analyse en composantes principales réalisé selon les valeurs en composés bioactifs (TPC, TFC, TTC, DPPH et FRAP).

Figure 34 : Projection sur le plan factoriel ($F1 \times F2$).

Figure 35(a,d) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (a,) et TFC (d) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 36(b,e) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (b,) et TFC (e) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 37(C,f) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (C et TFC (f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 38(a,d):Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (a) et TSC (d) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 39(b,e):Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (b) et TSC (e) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 40:Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (c) et TSC (f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 41: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC_{50} (a) et ABTS IC_{50} (d) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 42: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC_{50} (b) et ABTS IC_{50} (e) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 43: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC_{50} (c) et ABTS IC_{50} (f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Figure 44 : Résultats de désirabilité pour :a: TPC, b: TFC, c: TTC, d:TSC, e: DPPH, and f:ABTS.

Figure 45: Plan factoriel d'analyse des composants principaux réalisé sur les valeurs (TFC, TPC, TSC, TTC, ABTS (1 / IC₅₀) et DPPH (1 / IC₅₀)).

Figure 46: Projection du plan factoriel (F1 × F2) de la variable de l'individu.

Figure 47 :Dendrogramme des extraits testés fondés par HCA en utilisant des capacités antioxydantes et antioxydantes

Figure48 :Bioavailability radar (**A**) et boiled-egg graphe (**B**) pour les constituants majeurs. 1: β -sitosterol , 2: Campesterol, 3: Δ -5-avenasterol , 4: Linolic acid 5: Oleic acid , 6: Palmetic acid

Figure49 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) avec les ligands : a : β -sitostérol,b : Campestérol,c : Δ -5-avénastérol.

Figure50 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5)avec les ligands : d :linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique.

Figure51 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de l'enzyme α amylase avec les ligands : a : β -sitostérol,b : Campestérol,c : Δ -5-avénastérol.

Figure52 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif l'enzyme α amylase avec les ligands : d : linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique.

Figure53 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif α -glucosidase avec les ligands : d :linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique.

Figure55 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de l'enzyme l'enzyme Déhydrosqualénesynthase (CrTm)avec les ligands

Figure 56 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif l'enzymeDéhydrosqualénesynthase (CrTm) avec les ligands.

SOMMAIRE

Dédicace.....	I
REMERCIEMENTS.....	II
Rèsumé.....	IV
Abstract.....	V
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	VIII
LISTE DES FIGURES.....	X
INTRODUCTION GENERALE.....	1
Partie I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
ChapitreI : Généralités sur le figuier de Barabrie.....	4
2. Cactées	5
2.1. Définition	5
2.2. Origine etdiffusion	5
2.3. Morphologie.....	6
2.4 Classification.....	7
3. Fiquier deBarbarie	8
3.1. Définition	8
3.2 Position systématique.....	9
3.3. Origine et Distribution géographique d’Opuntia ficusindica.....	10
3.4 Répartitiongéographique au Maroc.....	11
3.5. Espèces etcultivars au Maroc.....	12
3.6. Plantation	12
3.7. Descriptionmorphologique	13
3.8. Physiologie.....	14
3.9. Habitat.....	15
3.10. Reproduction et techniques demultiplications	16
3.11 Composition chimique	17
□ Partie phénolique	18

□ Les composés phénoliques	18
□ Partie lipide	20
□ Les acides gras	20
□ Vitamines	20
□ Stérols.....	21
□ Minéraux	22
□ Acides aminés	23
3.12. Exigencesécologiques	24
3.13. Ethnopharmacologie du figuier debarbarie.....	26
3.14. Importance économique etécologique	26
3.15. Les phytomédicaments les plus demandés sur lemarché	27
3.15. Utilisations	28
Chapitre II. Les antioxydantes.....	38
1. Radicaux libres et stressoxydatif	38
2. Différents type desERO	38
3. Stressoxydant	39
4. Moyens de défense contre les radicauxlibres.....	39
5. Antioxydants	42
6. Le pouvoirantioxydant	42
7. Polyphénols.....	47
□ Polyphénols.....	48
□ Acidesphénoliques	48
□ Flavonoïdes	50
□ Chalcones	53
□ Anthocyanes	53
□ Tannins.....	54
Partie II : PARTIE EXPERIMENTALE.....	56
Chapitre I : Extraction et analyses.....	57
1. Collecte et séchage de la plante	57
2. Préparation du matériel végétal	58
3. Méthodes d'extraction	58
3.1. Extraction par Soxhlet.....	58
4. Extraction par pression à froid.....	59

5. Détermination du rendement d'extraction	59
6. Analyse des huiles par le couplage (CPG/SM).....	60
6.1 Composition en acides gras	60
6.2. Composition en phytostérols.....	61
7. Etude phytochimique des extraits organiques.....	61
7.1. Screening phytochimique.....	61
☐ Détection des alcaloïdes.....	61
☐ Détection des flavonoïdes	62
☐ Détection des tannins	62
☐ Détection des saponosides	62
7.2. Dosage des phénols totaux.....	62
☐ Principe	63
☐ Protocole expérimentale.....	63
7.3. Dosage des flavonoïdes.....	64
☐ Principe	64
☐ Protocole expérimentale.....	65
7.4. Teneur totale en tanins condensés (TTC)	65
7.5. Dosage des sucres totaux	66
7.6 Détermination de la teneur en pigments (chlorophylle et en caroténoïdes) de l'huile végétale	67
7.7. Détermination des composés phénoliques totaux (TPC) de l'huile végétale	68
8. Evaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne.....	68
8.1. Evaluation du pouvoir antioxydant in vitro	68
☐ Test Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil).....	69
☐ Principe.....	69
☐ Protocole expérimentale	69
☐ Détermination du pourcentage de neutralisation.....	70
☐ Test de l'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6 sulphonate)	70
☐ Principe.....	70
☐ Protocole expérimentale	71
☐ Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing AntioxidantPower).....	72
☐ Activité antioxydante par le dosage des radicaux libres DPPH de l'huile végétale.....	73
8.2. Activité antidiabétique	73
☐ Test d'inhibition de l' α -glucosidase.....	73

□ Test d'inhibition de l' α -amylase	74
8.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	74
□ Souches bactériennes	74
□ Les milieux de culture.....	74
□ Préparation de l'inoculum.....	75
□ Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur microplaque	75
□ Méthode de micro dilution	75
□ Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) sur milieu solide.....	75
Chapitre II. Méthodes de simulations et Outils informatiques pour la modélisation.....	76
1. Préparation des extraits d'après le plan expérimental utilisé	77
2. Docking moléculaire	78
3. Analyse en composantes principales (ACP)	79
4. Matrice de corrélation	80
5. Principes de la classification ascendante hiérarchique (CAH)	80
6. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et propriétés de type médicamenteux des composés sélectionnés (ADMET)	81
7. Prédiction des spectres d'activité des substances (PASS).....	84
8. L'analyse des données	85
Partie III : RESULTATS ET DISCUSSION.....	91
Chapitre I. Une étude comparative de l'activité antioxydante de deux cultivars marocains de figue de barbarie récoltés dans différentes régions.....	91
1. Introduction.....	91
2. Rendements et criblage phytochimique des extraits.....	91
□ Rendements des extraits.....	92
3. Criblage phytochimique et analyse multifactorielle (AMF).....	92
4. Teneur en polyphénols totaux (TPC).....	94
5. Teneur en Flavonoïdes totaux.....	97
6. Teneur en tanins (TTC).....	98
7. Activité antioxydante par des méthodes DPPH et FRAP	99
8. Matrice de corrélation	103
9. Analyses des données par PCA.....	104
10. Conclusion	107

Chapitre II : Optimisation des conditions de torréfaction sur les composés bioactifs et leur pouvoir antioxydant des graines d' <i>Opuntia fiscus-Indica</i> en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RSM).....	108
1. Introduction.....	108
2. Modèle polynomial du second ordre et les surface de réponse de TPC et TFC	109
3. Analyse de la méthodologie de surface de réponse (RSM)	112
4. Modèle polynomial du second ordre et les réponse de TTC et TSC	116
5. Analyse de la méthodologie de surface de réponse (RSM)	119
6. Modèle polynomial du second ordre et interprétation du modèle de surface de réponse des dosages DPPH et ABTS	122
7. Analyse de la méthodologie de surface de réponse (RSM)	125
8. Vérification et comparaisons des modèles prédits et des valeurs expérimentales.....	129
9. Matrice de corrélation	131
10. Analyse en composantes principales PCA.....	132
11. Analyse de clustering hiérarchique HCA	134
12. Conclusion	135
Chapitre III. Activité antioxydante, Docking moléculaire contre l'enzyme Peroxiredoxine humaine 5 (PDB ID: 1HD2), ADMET, prédiction PASS pour les constituants majeurs de de l'huile végétale de graines d' <i>opuntia ficus indica</i>	136
1. Introduction.....	136
2. Composition des acides gras	137
3. Composition de stérols.....	138
4. Teneur en Phénolique Totale (TPC), chlorophylle, caroténoïdes et activité antioxydante par le dosage des radicaux libres DPPH	139
5. Évaluation in silico de la ressemblance du médicament, des propriétés ADME / toxicité	141
6. Prédiction in silico PASS.....	147
7. Docking Moléculaire	148
8. Conclusion	159
Chapitre IV. Activité antibactérienne, antidiabétique, et Docking moléculaire pour les constituants majeurs de l'huile végétale de graines d' <i>opuntia ficus indica</i>	160
1.Introduction.....	160
2. Activité antidiabétique	161
2.1. L'inhibition de α -amylase	162
2.2. L'inhibition de α glucosidase.....	170

3. Activité antibactérienne et Docking moléculaire contre l'enzyme Déhydrosqualène synthase (CrTm)	178
4. Docking moléculaire	179
5. Conclusion	187
CONCLUSION GENERALE.....	188
REFERENCES.....	190

Introduction générale

L'utilisation médicinale des plantes a été considérée l'une des pratiques thérapeutiques les plus anciennes. À l'époque, l'homme s'est soigné avec les plantes qu'il avait à sa disposition contre nombreuses maladies telles que ; toux, rhume, la malaria, ou la tuberculose. [1]. Il y a environ près de 240 000 à 300 000 espèces de plantes à fleurs sur terre. Moins de 10% de ces espèces auraient été étudiées scientifiquement pour leurs propriétés pharmacologiques [2-4]. Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires (composés organiques) avec une diversité structurale qui, autrement, ne pourrait pas être disponibles dans un laboratoire de synthèse chimique [5-6]. Elles contiennent un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes et les flavonoïdes [7-8]. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle ont été constatés d'où la nécessité d'une valorisation des plantes [9]. Au Maroc l'agriculture joue un rôle important dans l'économie nationale et les cultures pluviales occupent une part importante de la surface agricole utile (90%). Les terres arides au Maroc s'étendent sur une superficie dépassant 33 millions d'hectares, et les tendances futures montrent une baisse de précipitations et une augmentation de la température au niveau national. L'agriculture des zones arides est basée essentiellement sur des espèces qui résistent à la sécheresse, notamment le cactus. C'est une plante qui a l'aptitude de vivre avec une faible quantité d'eau et de supporter une longue période de sécheresse [10,11]. Elle est considérée une espèce adéquate pour une agriculture durable au Maroc grâce à sa résistance à la sécheresse, la lutte contre la désertification et à son utilisation dans l'alimentation de l'Homme et du bétail. C'est une plante qui est économiquement importante, mais qui reste très peu exploitée. Elle peut être valorisée en produits agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Ces produits vont jouer un rôle socio-économique important pour les agriculteurs et les populations rurales et vont contribuer au développement durable en milieu rural [10]. Ce présent travail est présenté en trois parties : Dans, la première partie de ce manuscrit. Le chapitre(I) portera des généralités sur le figuier de Barbarie, son origine, sa diffusion, sa biosynthèse, sa morphologie, sa classification, sa

composition chimique et son utilisation. Le chapitre (II) sera consacré sur des généralités sur les radicaux libres, et le stress oxydatif, ainsi que les métabolites primaire et secondaire.

Dans la deuxième partie, nous avons présenté la partie expérimentale qui se déroule en deux axes : dans le premier axe (chapitre I), nous avons cité les différentes méthodes utilisées pour l'extraction et la détermination de la composition chimique des différents extraits, également les protocoles d'évaluation du pouvoir antioxydant, antidiabétique et antimicrobien des extraits. Le deuxième axe (chapitre II) envisage les méthodes de simulation et outils informatiques assistés par ordinateur utilisés dans ce travail pour la modélisation et pour l'étude de la corrélation structure-propriétés.

La troisième partie, nous avons rapporté les résultats obtenus dans ce travail en quatre chapitres, le chapitre I présent les résultats de l'étude comparative de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques d'*Opuntia ficus indica* et d'*Opuntia megacantha* collectés dans quater régions différentes. Le chapitre (II) montre les résultats de l'optimisation des composées phénoliques des grains d'*Opuntia ficus indica* par la méthodologie des surfaces de réponse.

Le chapitre III présent les résultats pratiques de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*, ainsi que leurs résultats théoriques par le Docking moléculaire contre l'enzyme Peroxiredoxine humaine 5 (PDB ID: 1 HD2) afin de comprendre leurs mécanismes d'action.

Le dernier chapitre (IV) sera montrer les résultats pratiques de l'activité antidiabétique et antibactérienne de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*, ainsi leurs résultats' d'assimilation théorique.

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le figuier de Barbarie

1. Introduction

Le figuier de Barbarie est une plante succulente appartenant à la famille des cactus, plus précisément au genre *Opuntia*. Il est cultivé dans des climats arides et semi-arides, comme en Méditerranée et en Amérique centrale [12]. Les régions semi-arides du Mexique ont la plus grande diversité de cactus au monde [13]. Il existe environ 300 espèces du genre *Opuntia*, dont beaucoup produisent des tiges et des fruits très tendres et comestibles [14]. Parmi ces espèces, on trouve *Opuntia ficus-indica* (inermes ou sans épines) et *Opuntia megacantha* (épineuse) largement connues sous le nom de figuier de Barbarie, ils étaient l'objet de cette étude (figure.1).

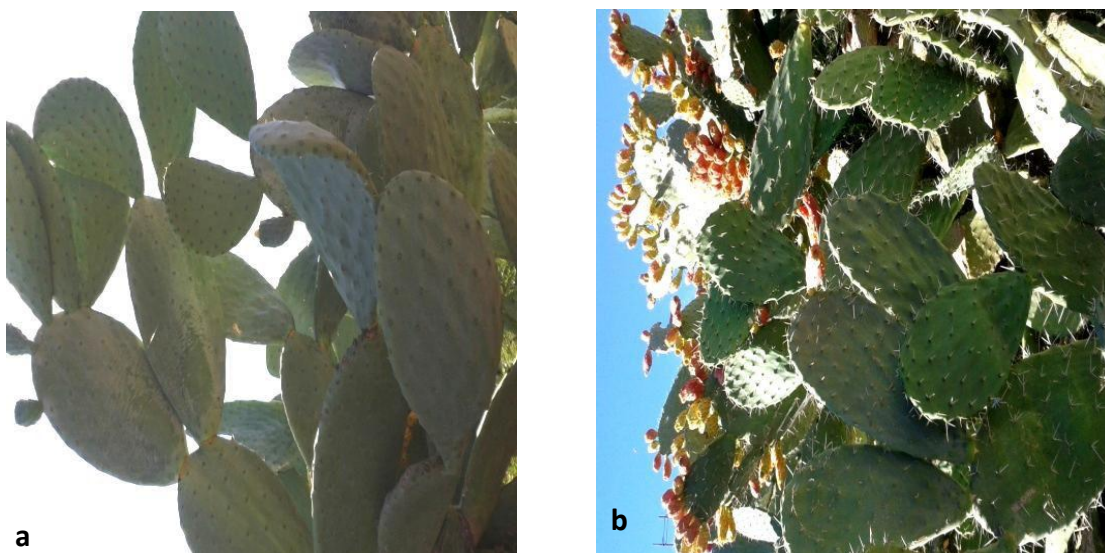


Figure 1 : Deux espèces du figuier de Barbarie appartenant au genre *Opuntia*, (a) : *Opuntia ficus indica* (inermes), *Opuntia megacantha* (épineuse).

Les jeunes parties de la tige de cactus (cladodes) sont généralement consommées comme légumes dans les salades, tandis que les fruits sont consommés frais [15]. La composition chimique des jeunes parties de la tige dépend de la variété, du stade de croissance et des conditions environnementales. Elles ont une valeur nutritionnelle élevée, principalement en raison de leurs ressources minérales, de leurs protéines, de leurs fibres alimentaires et de leurs composants phytochimiques [16]. Elles sont utilisées à des fins médicinales et cosmétiques, comme aliments ou matériaux de construction, et comme source de pigments naturels. Cependant, leurs utilisations sont encore principalement limitées au pays d'origine [17].

2. Cactées

2.1. Définition

La famille des cactus appartient aux plantes succulentes. Grâce à leur système de stockage de l'eau, ils peuvent survivre sur leurs réserves pendant la sécheresse temporaire. Dans des conditions similaires, la plupart des autres plantes se fanent et meurent en raison du manque d'eau [17]. Leur aspect souvent étrange est associé à des mutations qu'ils produisent pour stocker l'eau dans leurs tiges, feuilles ou racines. D'autres développements plus importants ont permis d'augmenter les réserves d'eau en réduisant l'évaporation. Leur peau est généralement charnue ou recouverte de poils ou d'un revêtement cireux qui réduit l'évaporation. L'écorce épaisse dense joue un rôle déterminant et limite la chaleur solaire intense en apportant un ombrage partiel aux plantes. Par rapport aux d'autres plantes « normales », les cellules de ces plantes peuvent résister à des changements plus importants de la teneur en eau [17]. Il existe de très vieux mythes sur les cactus. Les cactus sont des symboles importants chez les Aztèques du Mexique et les Incas du Pérou. Les propriétés curatives et divinatoires des cactus peuvent être observées dans de nombreux bâtiments, poteries et autres objets du quotidien [17].

2.2. Origine et diffusion

Presque tous les cactus proviennent du nouveau monde et certaines espèces s'étendent au nord de l'Alberta au Canada, tandis que d'autres s'étendent au sud jusqu'en Patagonie (figure 2)[19]. Les seules exceptions sont certaines espèces trouvées en Afrique orientale et à Madagascar, qui peuvent avoir été introduites par des oiseaux migrateurs et y continuer d'évoluer [17].

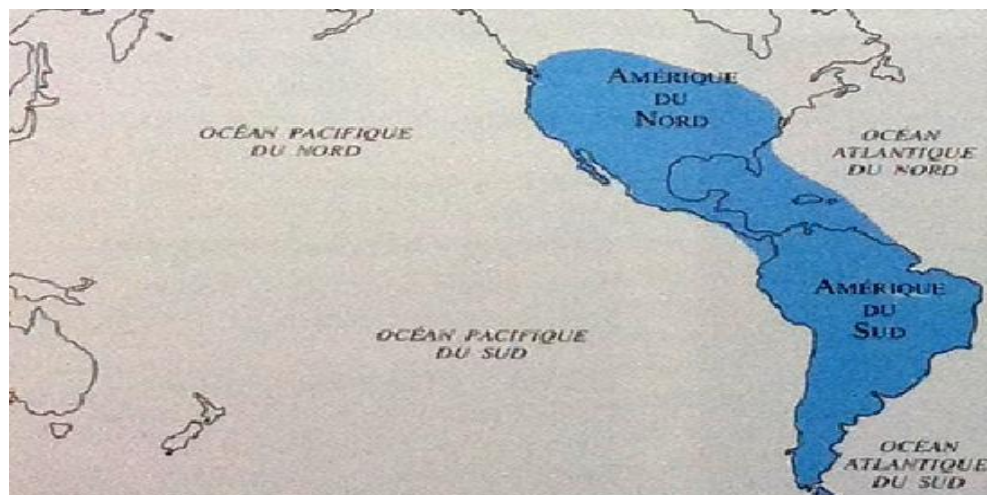


Figure 2 : Carte illustrant l'aire de distribution du cactus à son origine [19].

La culture des cactus est originaire des hautes terres du Mexique qui se caractérise par un climat chaud et sec [20].

Ces régions semi-arides du Mexique présentent une énorme diversité génétique d'espèces de cactus cultivées et sauvages. Plusieurs espèces ont été introduites dans d'autres parties du monde ayant un climat semi-aride, telles que l'Australie, l'Afrique du Sud, le Madagascar ou la région méditerranéenne. Les cactus ont été introduits en Europe méditerranéenne à la fin du 15ème siècle et au début du 16ème siècle pour fournir de la nourriture aux résidents indigènes. Il a également été introduit en Afrique du Nord et en Afrique du Sud et dans tout le bassin méditerranéen au XVIe siècle. Actuellement, il est cultivé dans les zones arides et semi-arides de plusieurs pays. En tant que culture, les cactus étaient inconnus en Europe avant le départ de Christophe Colomb. L'Espagnol Gonzalo Fernández de Oviedo Valdes l'a décrit pour la première fois avec précision dans l'Histoire des Antilles de 1535. Depuis longtemps, son fruit a été un aliment important dans l'alimentation indienne[21]. Le Mexique a utilisé le genre cactus depuis avant les Hispaniques, combiné au maïs et à l'agave, constituant ensemble la pièce maîtresse de l'économie agricole de la civilisation aztèque. Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour diverses espèces de cactus car on pense qu'elles jouent un rôle dans le succès des systèmes agricoles durables dans les zones marginales, en particulier dans les zones arides et semi-arides [22].

2.3.Morphologie

Les cactées ont des formes diverses, allant de plantes miniatures jusqu'à de grands arbres atteignant près de 25 m de hauteur. Cependant à l'exception du genre *Preskia* et des genres proches qui ont des feuilles normales, des aiguillons et une structure un peu élémentaire pour les fleurs et les fruits, tous les autres genres sont très similaires. Ces autres genres sont en fait sans feuilles et le processus de photosynthèse se produit dans des tiges vertes charnues[19].

C'est au niveau des aréoles que les épines, les nouveaux rameaux et les fleurs sont apparues. Il existe quelques exceptions, comme les *Echinocereus* dont les boutons floraux percent la paroi de la tige près d'une aréole, les *Mammillaria* et les *Corphanta* chez qui les boutons sortent d'un emplacement axillaire entre les tubercules ou d'une gorge partant de l'aréole du tubercule. Les fleurs du cactus sont sessiles, la seule exception étant fournie par les *Pereskias* à fleurs pédonculées (figure3). Les fruits sont généralement des baies juteuses, mais dans quelques genres, il s'agit de capsules sèches d'où les graines s'échappent soit par un pore basal ou par une fente irrégulière [19].

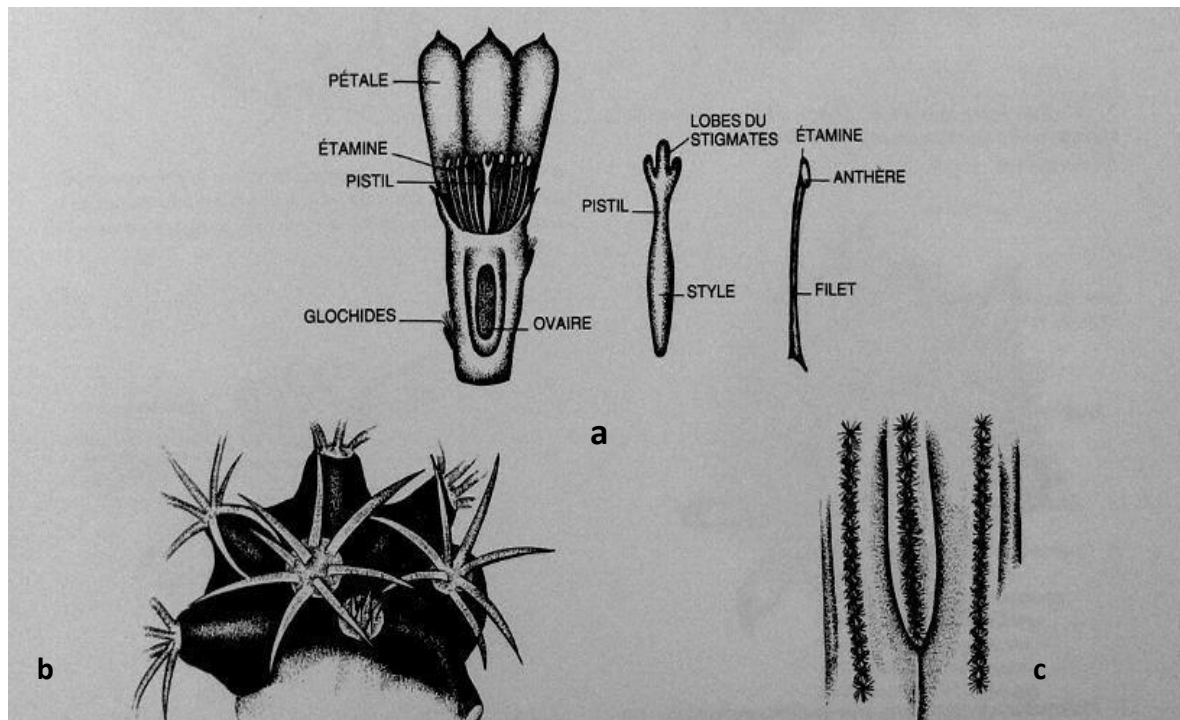


Figure 3 : Schéma illustrant quelques organes du cactus, (a) : fleur de cactus d'après l'exemple d'*Opuntia*, (b) : jeune plante montrant sa structure tuberculée, qui en approchant de la maturité, deviendra une formation à côte, (c) : coupe d'une tige de *Carnegiea gigantea* montrant la structure côtelée et la façon dont une autre côte se forme au fur et à mesure du développement de la tige [19].

2.4 Classification

La famille des cactacées est subdivisée en huit groupes, dont chacun d'entre eux comprend plusieurs genres[19].

✚ **Groupe *Pereskia*** : Plante à feuilles, mais sans glochides. Les graines noires sont sans arilles (enveloppe extérieure ou appendice fixé au pédoncule de l'ovule). Genres : *Maihuenia*, *Pereskia*.

✚ **Groupe *Opuntia*** : Plantes à petites ou minuscules feuilles et glochides. Les graines sont ailées ou munies d'un arille.

Genres : *Opuntia*, *Pereskia*, *Pterocactus*, *Quiabentia*, *Tacinga*.

✚ **Groupe *Cereus*** : Plantes sans feuilles ni glochides, à graines noires ou brunes. Ces plantes sont ordinairement colonnaires, côtelées et généralement pourvues de nombreux aiguillons. L'extérieur de la base du tube floral est nu ou épineux. Genres : *Armatocereus*, *Arrojadoa*, *Jasminocereus*, *Monvillea*, *Wilcoxia* etc.

✚ **Groupe *Echinopsis*** : Comme le groupe *Cereus*, sauf que les plantes peuvent être naines et

que l'extérieur du tube floral est généralement pourvu de poils ou peut posséder des écailles étroites.

Genre: *Acanthocalycium*, *Arequipa*, *Espostoa*, *Mila*, *Oroya*, *Weingartia* etc.

 **Groupe *Hylocereus*:** Comme le groupe *Cereus*, mais les plantes sont épiphytes, souvent à racines aériennes, et côtelées. Les aiguillons sont souvent assez peu nombreuses ou complètement absentes.

Genres : *Aporocactus*, *Cryptocactus*, *Hylocereus*, *Rhipsalis*, *Wittia* etc.

 **Groupe *Neoporteria* :** Plantes généralement naines, globuleuse à courtes, cylindriques et côtelées. La base du tube floral est un peu laineuse, avec des aiguillons dans le haut.

Genres : *Austrocactus*, *Frailea*, *Nonocactus*, *Parodia*, *Wigginsia*, etc.

 **Groupe *Melocactus* :** Comme le groupe *Neoporteria*, la base du tube floral est nue ou laineuse, mais sans aiguillons. Les fleurs sont portées sur un cephalium terminal, sauf chez les *Buiningia* où il est latéral.

Genre : *Buiningia*, *Discocactus*, *Melocactus*.

 **Groupe *Echinocactus* :** Comme le groupe *Melocactus*, sauf que les fleurs apparaissent au centre, mais sans cephalium.

Genre : *Ariocarpus*, *Aztekium*, *Islaya*, *Solisia*, *Strombocactus*, *Toumeyia*, etc.

3. Figuier de Barbarie

3.1. Définition

La figue de barbarie est originaire du Mexique et convient très bien aux régions arides et semi-arides [23]. Il occupe une place importante dans l'alimentation humaine et est également utilisé comme aliment pour le bétail. Parce qu'elle pousse dans des conditions environnementales prospères et résiste aux conditions météorologiques extrêmes [24].

Elle est considérée comme une plante arborescente robuste d'une hauteur de 3 à 5 m. Le tronc est épais et ligneux et une organisation en articles aplatis, de forme elliptique ou ovoïdale de couleur vert-mat, ayant 30 à 50 cm de longueur, 15 à 15 cm de largeur, et 1.5 à 3 cm de l'épaisseur, ils appelées cladodes ou raquettes. Les cladodes assurent la fonction chlorophyllienne et sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs. Les feuilles sont coniques, d'environ quelques millimètres de longueur, et éphémères, apparaissant sur les cladodes jeunes. A leur base, se trouvent les aréoles (environ 150 par cladodes) qui sont des bourgeons axillaires modifiés, typiques des Cactacées.

Leurs méristèmes produisent des épines, des glochides, des racines adventives, de nouveaux cladodes ou des fleurs. Les épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm. Il existe deux variétés, la variété inerme et l'épineuse.

Les glochides sont de fines épines de quelques millimètres de couleur brunâtre, se décrochent facilement, munies de minuscules écailles en forme d'hameçons s'implantant solidement dans la peau. Ils apparaissent même dans la variété inerme. Les fleurs marginales sur le sommet des cladodes âgées d'un an, et le généralement sur les aréoles situées au sommet des cladodes ou sur la face la plus exposée au soleil, sont hermaphrodites, de couleur jaunâtre et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante. En principe, un cladode peut porter jusqu'à trentaine de fleurs. Ses fruits sont des baies charnues ovoïdes ou piriformes, uniloculaires et polyspermiqes [25].

3.2 Position systématique

De nombreux auteurs ont classé le Genre *Opuntia*. Jusqu'à présent la position systématique la plus valable du figuier de barbarie est la suivante [26] :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : *Caryophyllidae*

Ordre : Caryophyllales

Famille : *Cactaceae*

Sous-famille : Opuntioideae

Tribu : *Opuntieae*

Genre : *Opuntia*

Sous-genre : *Platyopuntia*

Espèce: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*.

Nom commun : Fiquier de Barbarie

Nom latin : *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia megacantha*.

Autres noms : Figuier des Indes, figue du désert, nopal, semelle du pape, figuier d'Espagne

Le genre *Opuntia* appartient à la famille des Cactaceae, ordre des Caryophyllales et la sous-classe des Caryophyllales. Il existe environ 130 genres et 1500 espèces dans la famille des Cactaceae, dont 300 appartiennent au genre *Opuntia* [20]. Le groupe des Opuntiaes comprend le genre *Opuntia*, subdivisé à son tour en quatre sous-genres : *Platyopuntia*, *Cylindropuntia*, *Tephrocactus* et *Brasiliopuntia*. Le sous-genre *Platyopuntia* comprend 150 à 300 espèces décrites, on a l'espèce *Opuntia megacantha* et la série des *figus-indicae*, qui comprennent l'*Opuntia ficus-indica* et qui sont appelés le figuier de Barbarie [20].

L'*Opuntia ficus-indica* et l'*Opuntia megacantha* ont la plus grande importance agronomique, que ce soit pour leur fruit comestible ou pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes [20]. La domestication d'*Opuntia ficus-indica* a commencé il y a environ 8000 ans. Il en existe une forme épineuse et une forme inerme. De nombreux auteurs considèrent l'*Opuntia megacantha* comme un synonyme d'*Opuntia ficus-indica*, toujours considérée comme la forme inerme. La preuve la plus évidente est que l'*Opuntia megacantha* est une forme d'*Opuntia ficus-indica* mais dans des conditions de stress, certaines cladodes de la forme inerme peuvent commencer à développer des épines. Par ailleurs, les plantes qui proviennent à partir des graines d'espèces sans épines peuvent générer des formes épineuses, caractérisées par une grande variabilité [26].

3.3. Origine et Distribution géographique d'*Opuntia ficus-indica*

Le genre *Opuntia* est originaire du Mexique [27]. Sa répartition géographique est très étendue (Figure 4) : Mexique, Sicile, Chili, Brésil, Turquie, Corée du Sud, Argentine et Afrique du Nord. Il a été introduit pour la première fois en Espagne et a été introduit en Afrique du Nord et en Afrique du Sud à la fin du XVI^e siècle. Il s'est répandu rapidement dans le bassin méditerranéen, où il s'est naturalisé et est devenu une caractéristique du paysage [28]. Il a été essentiellement développé en Méditerranée occidentale : sud de l'Espagne, Portugal et Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc) [29]. Dans certains pays comme l'Italie, l'Espagne et le Mexique, grâce à des programmes de recherche et développement, les cactus sont cultivés de manière intensive et moderne pour produire des fruits ou des aliments pour animaux, voire pour un usage industriel [20]. En revanche, en Australie et en Afrique du Sud, cette plante, en particulier la variété asperme est considérée comme une mauvaise herbe [27].

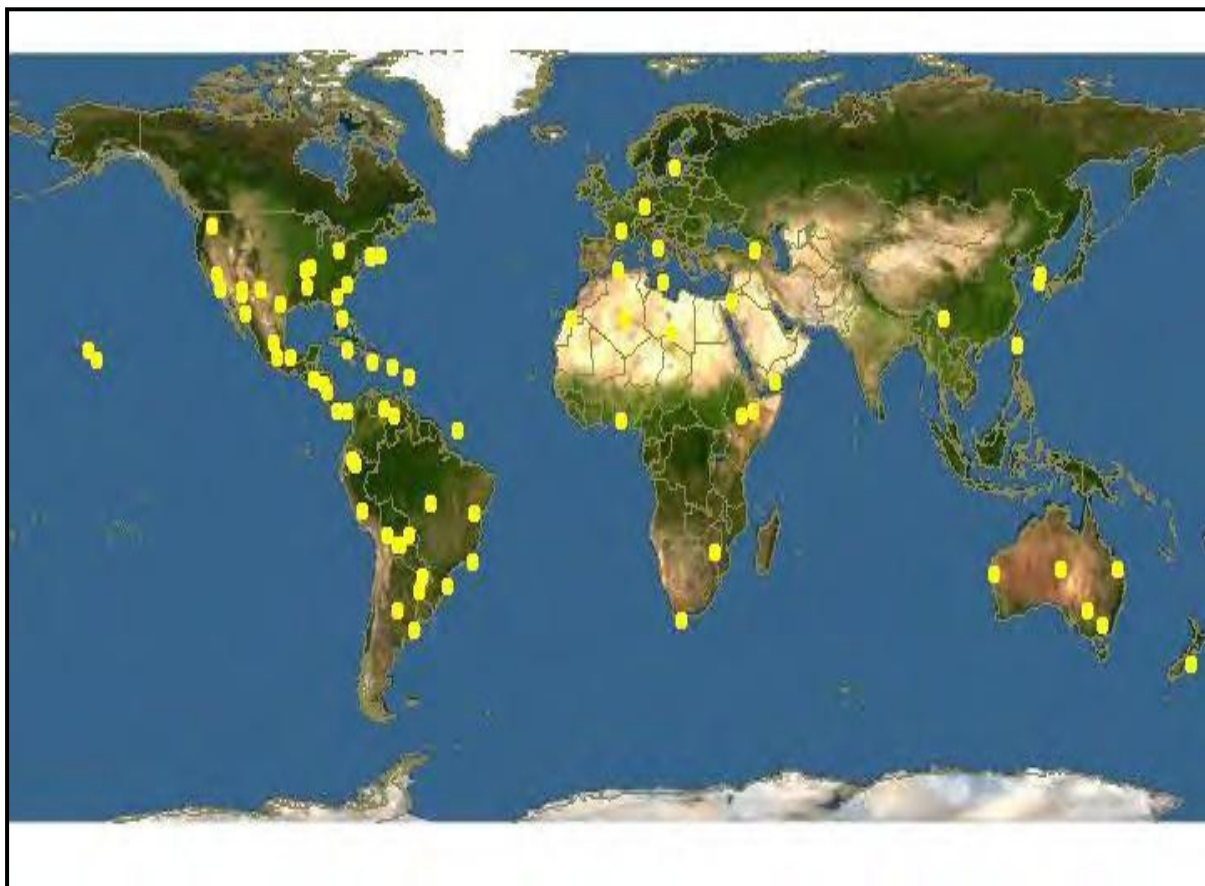


Figure 4 : Répartition mondiale d'*Opuntia ficus indica* ([www.map_of_opuntia_ficus indica](http://www.map_of_opuntia_ficus_indica))

3.4 Répartition géographique au Maroc

Le figuier de Barbarie a été cultivé depuis longtemps au Maroc. Il a été introduit près de trois siècles au moins. Du nord au sud, il est le plus souvent utilisé comme haie, également utilisé comme fruit comestible, et utilisé comme aliment pour le bétail en période de sécheresse [21]. Au cours des deux dernières décennies, en raison de la sécheresse, sa superficie a considérablement changé, passant de 50 000 hectares en 1998 à plus de 120 000 hectares en 2009, enregistrant une croissance annuelle de 2 500 hectares [10]. La région de Guelmim-Sidi-Ifni occupe la première place avec 50% de la superficie nationale (33 000 ha environ) et avec des rendements en fruits qui varient entre 10 et 22 t/ha. La région de Khouribga vient en troisième place et celle de Doukkala en quatrième [10]. Au Nord du Maroc, le figuier de Barbarie est également situé dans plusieurs localités. Il se trouve dans la région de Moulay Idriss près de Meknès à des altitudes de 500 à 800m, et dans des villages avoisinants les villes de Sidi Kacem, Tétouan, Tanger, Chefchaoune (plus de 500mm de précipitations). On le trouve également dans les montagnes du Rif (Nord du Maroc), le froid hivernal limite son extension, mais il est

probable que des différences de tolérance entre génotypes existent et méritent d'être explorées, quelques plantations rencontrées aux villages avoisinant les villes d'Ifrane, Azrou et Immouzer, entre autres, semble affirmer cette hypothèse.

Il est aussi localisé au centre du pays, des plantations du figuier de Barbarie sont largement répandues dans le paysage rural avoisinant les villes de Marrakech, Béni Mellal et et aussi dans les régions orientales aux alentours des villes d'Errachidia, Rich, Midelt, Oujda, Taourirt, Ouarzazate, etc. Les génotypes qui existent dans ces zones sont extrêmement résistants à la sécheresse et même aux basses températures n'est pas négliger[21].

3.5. Espèces etcultivars au Maroc

Depuis les années 1980, des travaux d'identification des espèces ont été progressivement menés au Maroc. Ainsi Arba [10], a décrit 3 espèces qui produisent des fruits comestibles en milieu rural : *Opuntia ficus-indica* qui est surtout cultivé au Sud ; *Opuntia megacantha* qui est fréquente dans la plupart des régions et *Opuntia shumannii* qui existe au Sud marocain et qui produit des fruits sucrés et juteux de qualité. Par la suite, une quarantaine d'espèces ont été identifiées [21]. Pour ce qui est du profil variétal, trois cultivars ont été identifiés, et sont utilisés par les agriculteurs notamment dans la région d'Ait Baâmrane sur la base de leur précocité et de leurs caractères épineux. Il s'agit des cultivars : Aïssa (inermes et précoces : récolte juin à août) et Moussa (inermes et tardives : récolte septembre à décembre voire janvier et février) qui donnent des fruits juteux à pulpe jaune orangé à maturité, sans oublier Achéfri (épineux) qui les entourent souvent. Dans la région du Rif, le cultivar Dellahia est très apprécié pour la qualité de ses fruits et pour ses propriétés organoleptiques. D'autres cultivars à fruit comestible existent, mais peu connus ; notamment Akria qui présente un cultivar inermes avec une floraison et une maturité semblables au cultivar Aïssa à pulpe rouge carmin acide, mais à fruit pourpre et El bayda qui est un cultivar proche de Aïssa, mais à fruit de couleur blanche [21]. Il est à noter qu'il existe d'autres variétés de cactus, se trouvent dans d'autres localités, en particulier dans les régions de Marrakech, Oued Zem, Doukkala et Casablanca, et qui sont réputés par la qualité de leur fruit, bien apprécié par le consommateur. Ces cultivars ont été identifiés et nommés par les agriculteurs eux-mêmes [21].

3.6. Plantation

Cette plante est pratiquée dans la région sud de février à mars, ou dans d'autres régions à la fin du printemps. Les nouvelles plantations sont établies à partir de grandes boutures de tiges

constituées de 4 à 5 cladodes. Ils sont récoltés, séchés pendant quelques jours (une semaine à un mois), avant d'être plantés directement dans le sol.

Pour éviter la pourriture, les cladodes doivent être séchés avant la plantation. La partie basale est placée horizontalement avec une légère inclinaison afin d'augmenter la surface de contact avec le sol. La formation des racines se produit après 15 jours. Les modes de plantation sont en quiconque dans la plaine et en lignes dans la montagne. L'espacement varie de 0,5x2 m à 4x4 m. La forte densité (1600 à 2000 plants/ha) n'est recommandée que pour des zones avec des conditions d'irrigation relativement bonnes. La direction N-S est très importante pour assurer l'ensoleillement des plantes.

Une autre façon de se propager est d'utiliser une jeune raquette d'un an. Ils sont récoltés en juillet (recommandé par certains auteurs à l'automne), traités à l'acide naphthalène acétique (1000 ppm), et mis en pot sur un substrat composé de sable et de tourbe (1: 1).

Après 4 mois, une moyenne de 42,5 racines par cladode est obtenue. Cette méthode de multiplication permet de profiter des jeunes pousses qui ne sont généralement pas utilisées lors du processus de taille verte[30].

3.7. Description morphologique

Le figuier de Barbarie est une plante arborescente, caractérisée par des tiges en forme de raquettes plates charnues et ovales pouvant atteindre 3 à 4 mètres de haut (figure.5). Les raquettes, appelées cladodes, mesurent 30 à 40 centimètres de long, sur 15 à 25 cm de large et 1,5 à 3 cm d'épaisseur. Verts, ils se combinent pour former diverses branches. 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. Il existe de nombreuses cellules dispersées à leur surface, et ces cellules sont dispersées avec des cellules nées sur les feuilles, des feuilles fragiles, de courte durée et caduques.

Elles portent de redoutables épines munies de minuscules aiguillons recourbés vers leur base. Les cladodes de la base, en vieillissant, finissent par se lignifier pour former un véritable tronc. Le figuier de Barbarie donne des fleurs et des fruits en abondance. Les fleurs apparaissent sur le dessus des raquettes, larges de 4 à 10 cm et de couleur jaune, orange ou rouge. Ces fleurs sont comestibles, comme le fruit auquel elles donnent naissance qui se présente sous la forme d'une grosse baie ovoïde et charnue, dont la peau verte jaunâtre est, elle aussi, ornée de petites épines. Dans les climats tempérés, la floraison a lieu en avril, mai et les fruits sont cueillis fin juillet à septembre, dès qu'ils deviennent un peu mous. Dans certaines contrées arides et chaudes, la

plante peut donner des fruits deux fois par an. Appelée figue de Barbarie, ce fruit a une chair d'une couleur variant du jaune clair au rouge violacé et dont le goût se révèle délicieux et subtil. Ses graines, riches en vitamines et en oligoéléments, lui confèrent de nombreuses propriétés et c'est à partir de ces graines que l'on obtient une huile très recherchée [31].

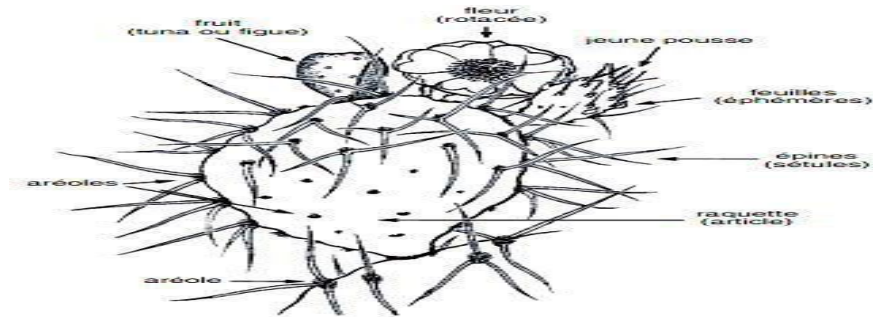


Figure 5: Schéma illustrant les différentes parties du figuier de Barbarie[31].

3.8. Physiologie

Le figuier de Barbarie est une plante à photosynthèse de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism). Elle a la particularité de fixer le CO_2 pendant la nuit, le stocker et de fermer ses stomates pendant le jour. Une telle stratégie peut éviter les pertes d'eau causées par l'évapotranspiration pendant la journée, optimisant ainsi l'utilisation de l'eau [32].

Les stomates s'ouvrent uniquement la nuit, car à ce moment, la température est plus basse que pendant la journée et l'humidité est plus élevée. Cela provoque une faible évapotranspiration et donc de faibles pertes d'eau.

C'est pourquoi les plantes CAM se sont spécialisées dans la fixation du CO_2 pendant la nuit. Cette fixation est réalisée par le phosphoénolpyruvate carboxylase (PEP), qui provient de la dégradation de l'amidon et du saccharose produit dans le chloroplaste le jour. Cette fixation 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. En d'autres termes, durant la nuit, le figuier de Barbarie fait "le plein" de CO_2 sous forme d'acide malique, mais en raison de l'obscurité, elle ne peut pas immédiatement la convertir en sucre. En effet, comme toutes les autres plantes, les plantes CAM ont également besoin de l'énergie lumineuse du jour pour compléter le cycle de Calvin et pour ainsi accomplir la photosynthèse en entier [33](figure6).

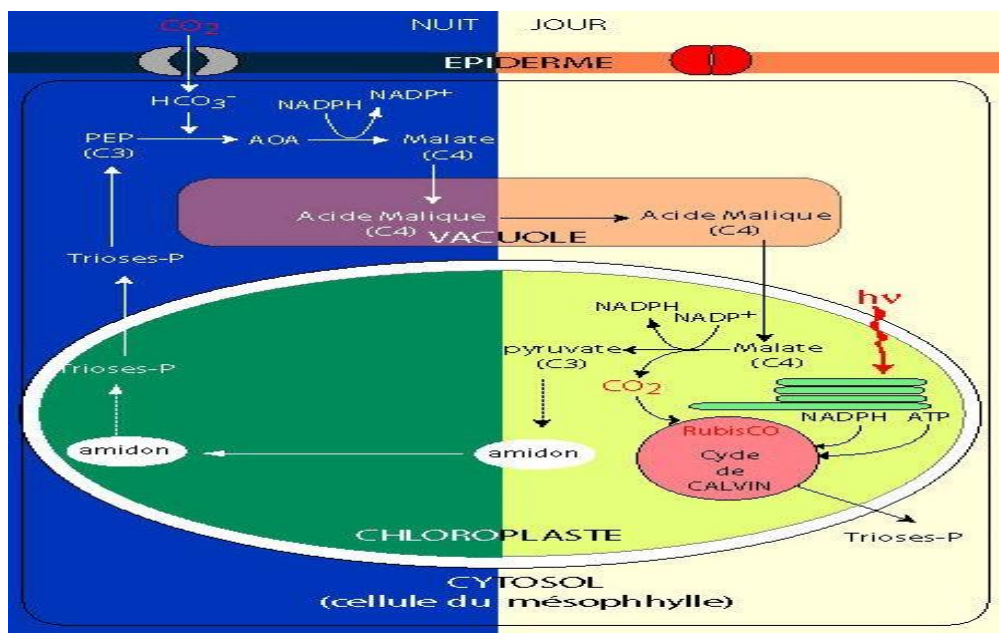


Figure 6: Photosynthèse de type CAM[33].

3.9. Habitat

Les cactus ont évolué et se sont adaptés à toutes sortes de biotopes. La définition généralement admise qu'un désert est un lieu où la moyenne annuelle des précipitations ne dépasse pas 250 mn. Selon cette définition seul un très faible pourcentage de cactus pousse dans de véritables déserts. La grande majorité des espèces vivent dans des biotopes où elles reçoivent chaque année au moins le double de cette quantité d'eau. Certains types de cactus apprécient des habitats encore plus humides, en particulier nombre d'espèces épiphytes des forêts sempervirentes tropicales où l'humidité atmosphérique est constamment élevée. Les cactus occupent des biotopes depuis le littoral jusqu'aux régions intérieures, du niveau de la mer à des altitudes approchant les 4000 m. Certains cactus se sont adaptés au froid intense et à la neige abondante, ainsi que ceux qui poussent sur le sable à quelques mètres au-dessus du niveau de la mer [19].

De point de vue écologique, l'*Opuntia ficus-indica*, même si on la trouve dans les zones où le climat est tempéré, est généralement une espèce dans les zones arides et désertiques, et présente donc une série d'adaptations morphologiques et physiologiques aux caractéristiques du milieu d'origine [20].

Le cactus a des propriétés exceptionnelles qui lui permettent d'emmagasinier, dans les organes succulents, de grandes quantités d'eau. De courtes précipitations de quelques mm de pluie seulement peuvent être efficacement utilisées par cette plante grâce aux racines superficielles, mais très étendues, qui sont en mesure d'absorber l'eau dans le sol quand les niveaux d'humidité

sont bas au point d'empêcher la vie de la plupart des espèces cultivées aux alentours [20]. En l'absence de feuilles permanentes, le processus photosynthétique se réalise dans les raquettes vertes. Celles-ci contiennent également un parenchyme aquifère qui peut emmagasiner et conserver l'eau de façon efficace. L'efficacité dans la limitation des pertes en eau par transpiration cuticulaire est améliorée grâce à la présence d'un épais revêtement cireux épicuticulaire et intracuticulaire. La morphologie stomatique contribue elle aussi à limiter les pertes par transpiration, tout comme l'ensemble du processus photosynthétique. En effet, cela peut avoir lieu suivant le cycle CAM (Crassulacean Acid Metabolism) qui, comme on le sait, permet l'ouverture nocturne des stomates pour les échanges gazeux, réduisant par conséquent les pertes par transpiration [20].

3.10. Reproduction et techniques demultiplications

Presque tous les cactus ont des fleurs normalement hermaphrodites, c'est-à-dire qu'ils ont à la fois des organes mâles (étamines) et femelles (carpelles). La partie réceptrice de l'organe femelle est le stigmate, à l'extrémité du pistil, et c'est cette surface qui reçoit le pollen pour qu'ait lieu la fécondation aboutissant finalement à la formation des graines. Le transport naturel du pollen s'effectue en général par hasard, du fait de nombreux types d'insectes ou d'oiseaux différents attirés par les fleurs dans leur quête de nectar, voire du pollen lui-même [19]. Traditionnellement, le figuier de Barbarie est multiplié végétativement par bouturage des cladodes, en laissant sécher au préalable les sections pendant deux semaines et parfois plus (figure 7).

Cette période de pré-séchage ne se justifie pas et certains travaux ont même montré ses effets négatifs sur les repousses. A la plantation, la cladode est placée dans un sillon de 15 cm, la cladode est plantée en hauteur et les deux tiers sont mises dans le sol et inclinée. Le sol est alors tassé autour de la cladode. Les distances de plantation sont variables en fonction de la pluviométrie et du degré d'intensification de la culture. En zone aride et semi-aride (150 à 400 mm de pluie), les densités de plantation sont de 1200 à 2000 cladodes à l'hectare. Quand la pluviométrie dépasse 400 mm, ces densités peuvent être de 3200 à 5000 raquettes à l'hectare [34].

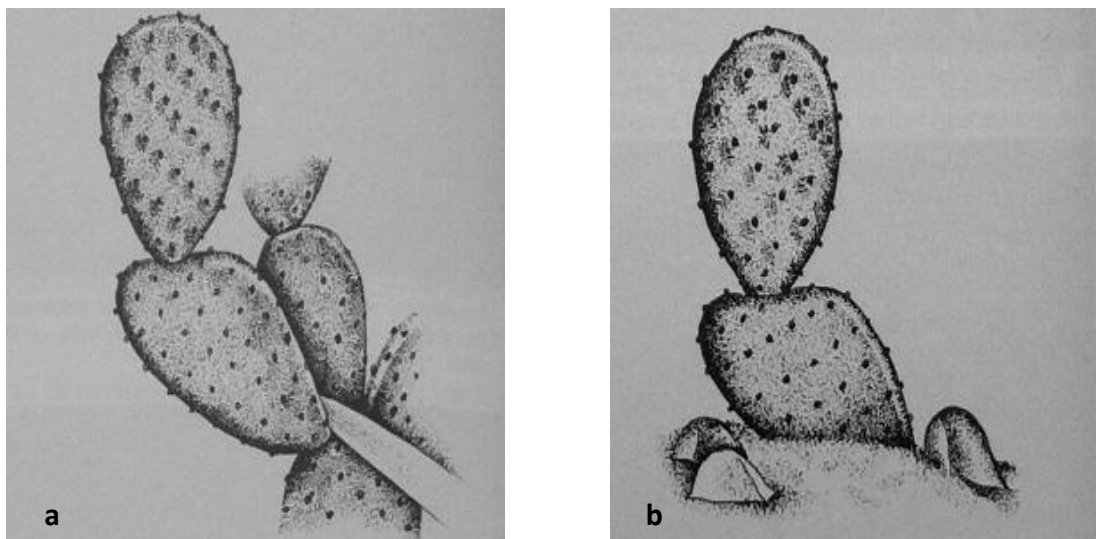
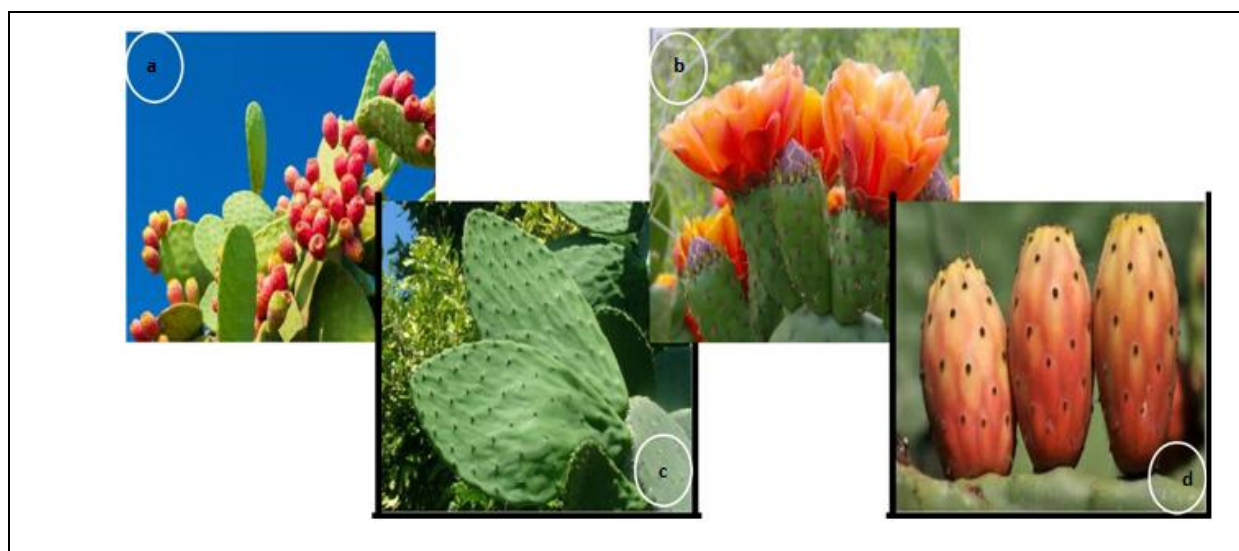


Figure 7: Schéma illustrant la technique de bouturage, (a) : meilleur emplacement pour prélever les boutures, (b) : plantation au niveau du sol[19]

3.11 Composition chimique

Au cours de dernières années, les recherches sur le cactus ont démontré ses bienfaits grâce à l'étude de sa composition, démontrant la présence de vitamines, de fibres, d'acides aminés, de minéraux, ainsi que d'autres composants.



(a) la plante entière, (b) la fleur, (c) la cladode de cactus et en (d) le fruit de cactus.

Figure 8: Photo de la plante d'*Opuntia ficus indica*.

Partie phénolique

• Les composés phénoliques

Dans la grande famille des antioxydants, on trouve une variété de composés appelés les polyphénols. Ce sont eux que l'on retrouve en majorité dans les fruits, légumes et les plantes qui contribuent à leurs vertus pour la santé. Les polyphénols sont caractérisés, comme l'indique leurs noms, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaire. Ces composés sont les produits du métabolisme secondaire chez les plantes. Les polyphénols prennent une importance croissante en pharmacologie, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et aussi du cancer[35].

Tableau 1: Distribution des composés phénoliques dans les différentes parties du cactus (*Opuntia ficus indica*) [38]

Partie de la plante	Composant principal identifié	Quantité en mg/ 100g
	Acide gallique	1630-4900
	Quercétine3-O-Rutinoside	709
Fleur de Cactus	Kaempférol3-O- Rutinoside	400
	Quercétine3-O-Glucoside	447
	Isorhamnetin3-O-Robinoside	4269
	Isorhamnetin3-O-Galactoside	979
	Isorhamnetin3-O- Glucoside	724
	Kaempférol3-O-Arabinoside	324
	Acide phénolique total	218,8
	Quercétine	9
	Isorhamnetin	4,94
Pulpe de Cactus	Kaempferol	0,78
	Lutéoline	0,84
	Glycosides d'isorhamnétine	50,6
	Kaempferol	2,7
	Acide phénolique total	48-89
	Feruloy-Saccharose Isomère 1	7,36-17,62

Graines de Catus	Feruloy-Saccharose Isomère 2	2,9-17,1
	Sinapoyl-Diglucoside	12,6-23,4
	Flavonoïdes totaux	1,5-2,6
	Tanins Totaux	4,1-6,6
	Acide phénolique total	45-700
	Flavonoïde total	6,95
Peau du fruit cactus	Kaempferol	0,22
	Quercétine	4,32
	Isorhamnetin	2,41-91
	Acide gallique	0,64-2,37
	Coumaric	14,08-16,18
	3,4-dihydroxybenzoïque	0,06-5,02
	4-hydroxybenzoïque Acide	0,5-4,72
	Férulique Acide salicylique	0,56-34,77
	Isoquercétine Isorhamnetin	0,58-3,54
Cladode de Cactus	3-O-glucoside Nicotiflorine	2,29-39,67
	Rutin	2,36-26,17
	Narcissine	14,69-137,1

Toutes les parties de cette plante sont riches en polyphénols, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques. La distribution de ces composés diffère d'une partie de cactus à une autre. L'acide gallique est majoritaire dans la fleur (4900 mg/100 g), alors qu'il est peu présent dans la raquette de cactus (2,37 mg/100 g). Ce composé connu par son pouvoir antioxydant et pro-oxydant, il est capable aussi de réduire les dommages à l'ADN [36]. Il possède aussi une activité anti-tumorale, antibactérienne et antivirale. La nicotiflorine est un composé majeur du cladode à raison de 146,5 mg/100 g. La nicotiflorine joue un rôle dans la neuroprotection du système nerveux [37]. Dans la pulpe la teneur totale en polyphénol est de 218,8 mg/ 100 g, par contre dans les graines cette teneur ne dépasse pas 89 mg/100 g. [38] (Tableau 1). La peau du fruit de cactus est riche en Isorhamnétine ce composé connu par son rôle anticancéreux et anti-inflammatoire par l'inhibition des cytokines inflammatoires. [39]

Partie lipide

• Les acides gras

L'analyse des lipides totaux réalisée à partir des extraits des cladodes de cactus montre que l'acide palmitique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linolénique constituent 93% de la teneur des lipides (Tableau 2) [41]. L'huile de graine de cactus présente un taux d'environ 62% en moyenne de l'acide linoléique. Ce dernier est connu pour ces propriétés contre les maladies cardiovasculaire, inflammatoire et certaines maladies métaboliques [42].

Tableau 2: Composition en acides gras d'*Opuntia ficus indica* dans la cladode et l'huile de graine de cactus[38].

Acides gras en g/100g des acides gras totaux	Cladode de cactus	Graine de Cactus
C12:0	1,33	*****
C14:0	1,96	*****
C16:0	13,87	9,32-20,1
C16:1	0,24	1,42-1,80
C18:0	3,33	2,72-311
C18:1	11,16	16,77-18,3
C18:2	34,87	53,5
C18:3	33,23	70,29
C20:0	*****	0-2,58
C22:0	*****	*****
C22:1	*****	*****
C24:0	*****	*****

• Vitamines

Il existe des composants qui présentent une grande importance sur le plan nutritionnel, tels que les carotènes et les tocophérols (vitamine E) [43]. Les tocophérols sont les principaux antioxydants liposolubles localisés dans les membranes cellulaires chez l'homme. La carence en ces composés affecte de nombreux tissus chez les mammifères. La carence en vitamine E chez l'homme provoque des anomalies du développement du système nerveux chez l'enfant et une hémolyse chez l'homme. Des études suggèrent que les personnes ayant un apport en vitamine E et autres antioxydants plus faibles pourraient présenter un risque accru de certains types de cancer et d'athérosclérose [44]. Il est également suggéré que la supplémentation en

antioxydants pourrait réduire le risque de ces processus dégénératifs [45]. Les données sur la composition en vitamines des différentes parties du cactus sont résumées dans le Tableau 3. Le taux de vitamine E est extrêmement élevé dans la peau du cactus en raison de 2182 mg/100 g de ce tissu. Tandis que la graine contient 106 mg/100 g de la vitamine E mais quasiment absente dans la raquette de cactus.

Tableau 3:Distribution du contenu vitaminique dans les différentes parties du cactus (*Opuntia ficus indica*) [38].

Vitamines en mg/100g de tissu	Pulpe decactus	Graine decactus	Peau de fruitcactus	Cladode decactus
Vitamine K1	53,2	52,2	109	*****
Vitamine C	34-40	*****	*****	44743
Vitamine B1	*****	*****	*****	0,14
Vitamine B2	*****	*****	*****	0,6
Vitamine B3	*****	*****	*****	0,46
α -tocophérol	84,9	56	1760	*****
β -tocophérol	12,6	12	222	*****
γ -tocophérol	7,9	33	174	*****
σ -tocophérol	422	5	26	*****
Totale de la Vitamine E	527,4	106	2182	*****

- **Stérols**

Dans une étude menée par l'équipe de Ramadan sur la composition de cactus en stérol a montré que le β -sitostérol présente environ 57% du contenu total en stérol majeur dans la peau de fruit de cactus[42] Le deuxième composant majeur est le campestérol constitue avec le β -sitostérol 80% des stérols totaux (Tableau 4). Les autres composants, le stigmastérol et le 5-avénastérol sont présents en quantités approximativement égales (environ 6,0% des stérols totaux). De nombreux effets bénéfiques ont été mis en évidence pour ces deux stérols[46]. Le Lanostérol et l'ergostérol sont présents à des concentrations plus faibles. Les phytostérols, en général, présentent un intérêt en raison de leur activité antioxydante et de leur impact sur la santé. Les phytostérols ont été ajoutés aux huiles végétales comme exemple d'un aliment fonctionnel efficace [47].

Tableau 4: Distribution des stérols dans les différentes parties du cactus (*Opuntia ficus indica*) [42].

Principaux composants identifiés en g/kg	Pulpe de cactus	Graine de cactus	Peau du cactus
Campestérol	8,74	1,66	8,76
Stigmastérol	0,73	0,3	2,12
Lanostérol	0,76	0,28	1,66
β -Sitostérol	11,2	6,75	21,1
5 avenastérol	1,43	0,29	2,71
7 Avenastérol	*****	0,05	*****
Ergostérol	*****	*****	0,68

- **Minéraux**

La graine de cactus est la partie la plus riche en minéraux. Le potassium et le phosphore sont majoritaires avec des quantités respectivement de 170 et 155 mg / 100 g (Tableau 5). La présence de grandes quantités de magnésium est également remarquable [48].

Tableau 5: Composition minérale des différentes parties du cactus (*Opuntia ficus indica*) [48]..

Principaux composants identifiés en mg/100g	Pulpe de cactus	Graine de cactus	Cladode du cactus
Calcium	27,6	16,2	5,64-17,95
Oxalate de calcium	*****	*****	4,3-11,5
Magnésium	27,7	74,8	8,8
Sodium	0,8	67,6	0,3-0,4
Potassium	161	163	2,53-55,20
Fer	1,5	9,45	0,09
Phosphore	*****	152	0,15-2,59
Zinc	*****	1,45	0,08
Cuivre	*****	0,32	*****
Manganèse	*****	Trace	0,19-0,29

- **Acides aminés**

Concernant les acides aminés, c'est le glutamate qui se présente comme élément dominant suivi de l'arginine (Tableau 6). Dans la cladode, les principaux minéraux sont le potassium avec une quantité de 55,20 mg/100 g et le calcium avec un taux de 235 mg/100 g (Tableau 6) [49]. Le principal acide aminé présent dans cette partie est la glutamine. Dans la pulpe, le potassium est majoritairement présent à 161 mg/100 g (Tableau 6) [50]. Dans l'ensemble, le fruit est enrichi en acide aminé proline et un autre dérivé d'acide aminé, la taurine, Il représente à eux deux 61,78% de la teneur totale en acides aminés (Tableau6).

Tableau 6: Composition et distribution des acides aminés dans les différentes parties du cactus (*Opuntia ficus indica*) [50].

Principaux composants en g/100g identifiés	Cladode du Cactus	Fruit de cactus	Graine de cactus
Alanine	1,25	3,17	4,75
Arginine	5,01	1,11	6,63
Asparagine	3,13	1,51	Trace
Acide asparginique	4,38	Trace	10,42
Acide glutamique	5,43	2,4	21,68
Glutamine	36,12	12,59	Trace
Cystine	1,04	0,41	0,37
Histidine	4,18	1,64	3,11
Isoleucine	3,97	1,13	6,2
Leucine	2,71	0,75	9,94
Lysine	5,22	0,63	6,79
Méthionine	2,92	2,01	0,7
Phénylalanine	3,55	0,85	5,25
Sérine	6,68	6,34	8,46
Thréonine	4,18	0,48	1,53
Tyrosine	1,46	0,45	3,09
Tryptophane	1,04	0,46	Trace

Valine	7,72	1,43	6,02
Acide α -aminobutyrique	Trace	0,04	Trace
Carnosine	Trace	0,21	Trace
Citrilline	Trace	0,59	Trace
Ornithine	Trace	Trace	Trace
Proline	Trace	46	Trace
Taurine	Trace	15,79	Trace
Glycine	Trace	Trace	5,06

3.12. Exigences écologiques

Le genre *Opuntia* est xérophyte [51]. Il pousse principalement dans les zones arides et semi-arides. Sa variabilité génétique importante le rend hautement adaptable sur le plan écologique, lui permettant de vivre dans des conditions climatiques différentes [32]. Il pousse dans les plaines, les régions côtières et les plateaux [52]. Il s'inquiète les fortes gelées et peut résister des températures minimales jusqu'à -10°C pour quelques heures. Cette tolérance dépend de la turgidité du tissu chlorenchymateux des cladodes [53]. Les températures maximales supportées excèdent les 50 à 58°C. Bien que cette espèce ait une large faculté d'adaptation pour différents sols (acides, calcaires ou pauvres en matière organique), elle préfère les sols très perméables, sableux ou caillouteux [54]. Les caractéristiques écologiques du figuier de Barbarie, dépendent principalement des facteurs climatiques qui contrôlent sa croissance et sa distribution ;notamment les précipitations, l'humidité atmosphérique, la température de l'hiver, la nature des sols et le drainage [21].

 **Température** : Le figuier de Barbarie est résistant au froid et peut supporter des gelées de l'ordre de -5 °C. Son besoin calorique est très important et la température se situe entre 15 et 25 ° C pendant la phase de croissance du fruit. Il résiste à la sécheresse et convient parfaitement à une température annuelle moyenne de 15 à 18 ° C. Il peut résister à des températures élevées supérieures à 50 ° C. En outre, le niveau le plus bas de température où le développement est possible est l'isotherme de 1,5 à 2 °C de la moyenne journalière du mois le plus froid (généralement janvier) qui correspond à la moyenne mensuelle de 7 à 9 °C, mais avec un maximum journalier supérieur ou égal à 12 °C.

 **Précipitations** : Les exigences en précipitations varient selon la nature du sol. En effet, pour des sols sableux et profond, le minimum de précipitation requis tourne autour de 300 à 400 mm/an, alors que sur des sols vaseux et limoneux, la moyenne des précipitations

minimales requise est de 200 mm/an; mais le cactus peut être cultivé tant que l'eau additionnelle de l'érosion permet au sol d'emmagasiner 300 à 400 mm.

✚ **Humidité** : L'humidité atmosphérique, en cas de grand déficit de saturation de l'atmosphère (humidité relative basse) affecte, également les espèces d'*Opuntia*. Les observations empiriques ont démontré que le figuier de Barbarie est éliminé des régions où la moyenne relative de l'humidité est au-dessous de 40% pour plus de trente jours consécutifs. Les cactus peuvent pousser dans les régions arides et semi-arides de l'Afrique du Nord et du Proche-Orient, où le déficit annuel moyen d'humidité relative et de saturation est toujours supérieur à 60% et inférieur à 12%.

✚ **Sol** : Cette espèce a une large gamme d'adaptabilité, particulièrement adaptée pour une forte perméabilité, un sol sableux ou caillouteux et une faible teneur en argile (<20%). Il redoute des sols lourds et mal drainés. Il supporte aussi bien les sols acides que les sols très calcaires, voire salins (moins de 70 mol de NaCl / cm³)

✚ **Drainage** : il constitue aussi l'une des plus importantes exigences écologiques. En effet, le figuier de Barbarie est très sensible au manque d'oxygène au niveau des racines. Pour cette raison, il est recommandé d'éviter les sols argileux qui peuvent être saturés temporairement et mal drainés.

✚ Les facteurs biotiques jouent également un rôle important dans la culture et la production de cactus. De nombreux parasites et maladies peuvent toucher le figuier de Barbarie [34]

✚ **Rouille** : elle se manifeste par de petites taches jaunes, circulaires, pouvant s'étendre en plaques irrégulières d'un blanc sale ou cendré. Ce sont surtout les cladodes de deux ans qui, une fois attaqués, n'émettent que peu de cladodes, et finissent par se dessécher. Elle se manifeste principalement dans les zones humides, elle est efficacement combattue par des traitements à base de cuivre et l'ablation des cladodes parasités.

✚ **Mildiou des cactus** : les symptômes de la maladie se présentent sous forme de cloques soulevant l'épiderme et de taches brunâtres qui envahissent les fruits et les raquettes. La vulnérabilité aux maladies varie d'une race à l'autre. Le contrôle préventif comprend la coupe et le brûlage des parties affectées des plantes.

✚ **Cératite** : une mouche méditerranéenne des fruits qui peut occasionner des dégâts importants dans les plantations mal entretenues. Un insecticide de synthèse permet de se débarrasser facilement de cet insecte.

✚ **Cochenilles** : bien que généralement polyphages, certaines espèces de cochenilles sont des parasites spécifiques et attaquent à une seule espèce de cactée. Certains cultivars inermes de cactées sont résistants aux cochenilles.

3.13. Ethnopharmacologie du figuier de barbarie

Le figuier de barbarie a toujours été l'une des plantes médicinales les plus utilisées. La recherche médicale moderne redécouvre avec un intérêt grandissant la plante et ses propriétés. Elle a étudié les molécules actives qui le composent et l'a rendu efficace contre quelques-unes des affections les plus graves de notre temps : réduire le taux de sucre et de cholestérol dans le sang [55], utilisée comme régulant diurétique et comme remède au dysfonctionnement de la prostate [13]. Cette plante peut également être utilisée comme médicament pour traiter les remèdes aux douleurs gastro-intestinales, l'angoisse, l'artériosclérose, la spasmophilie, le stress, aux brûlures et coups de soleil.

Les scientifiques ont récemment observé les effets anticancéreux de la bétanine isolé de l'*Opuntia ficus-indica* sur la lignée de cellules K562 de la leucémie myéloïde chronique et sur des mélanomes (cancer de la peau) chez la souris. En raison de ses propriétés amaigrissantes, le figuier de barbarie est encore utilisé dans de nombreux pays / régions. L'huile essentielle des graines des fruits du cactus sont riches en acides gras poly- insaturés, en stérols et en vitamines, elle est utilisée comme antiride naturel et pour la fabrication des crèmes dermiques antirides [56].

3.14. Importance économique et écologique

Le figuier de Barbarie s'adapte aux conditions désertiques et semi-désertiques pour constituer une culture indéniable d'importance écologique et socio-économique. En raison de son importance, il a attiré une attention particulière renouvelée dans certains pays.

En effet, cette plante peut réagir efficacement lorsqu'elle est utilisée pour la protection, la restauration et l'amélioration des sols. Il met en évidence les terres marginales et stériles où les autres espèces cultivées sont difficiles à végétaliser. Il ne nécessite pas de méthodes agricoles particulières, d'engrais ou de traitements antiparasitaires [57]. Elle a un impact considérable sur les revenus des agriculteurs, faisant de la plante l'une des espèces les plus rentables économiquement.



Importance écologique

Le figuier de Barbarie peut produire de grandes quantités de biomasse végétale même dans les conditions extrêmes. En l'absence de fertilisation, et avec une pluviosité comprise entre 150 et 400 mm/an, la variété inerme peut produire jusqu'à 100 tonnes de raquettes/an [58]. Cette production dépend de la région [57]. L'utilisation du cactus pour la protection et la mise en

valeur des sols dans les régions arides et semi-arides a été démontrée dans la région de Milpa-Alta en Mexique [10]. Cette région a été complètement défrichée pour y introduire des cultures fourragères telles que les maïs. L'échec était total en raison de la faiblesse et de l'irrégularité des précipitations. Ce n'est que par la réintroduction du cactus que toute la région a été remise en valeur sans risque de dégradation environnementale.

Les *Opuntia*, en association avec d'autres espèces ligneuses ont été utilisés avec succès dans un programme de fixation des dunes en Somalie. Les racines étendues de cette espèce sont en mesure d'exercer une action antiérosive efficace en stabilisant les surfaces en [53].

Importance économique

L'importance économique de ce végétal réside dans la production du fruit destiné à l'alimentation humaine et son usage fourrager pour l'alimentation animale, ce qui crée des revenus et des opportunités d'emploi au profit des résidents. Ces avantages économiques peuvent être résumés comme suit:

A. Production de fruits et raquettes comestibles

La première importance économique du cactus dans le monde réside dans la production de fruits comestibles [59]. Ces fruits sucrés et juteux et leur valeur nutritionnelle sont similaires à celle de la plupart des fruits comme les oranges, les pommes, les poires, l'abricot, les cerises... etc. [60].

3.15. Les phytomédicaments les plus demandés sur le marché

Actuellement, les médicaments élaborés à partir de plantes sont des extraits, des fractions séparées par chromatographie, des mélanges ou des ensembles de composants. Leurs effets pharmacologiques dépendent de la combinaison de principes actifs extraits de plantes [61], ils constituent une nouvelle catégorie de produits pharmaceutiques appelés phytomédicaments (Tableau 7).

Tableau 7 : Les phytomédicaments les plus demandés sur le marché

Plante	Effet observé	Utilisation en cas de :
<i>Allium sativum</i>	Antiplaquettaire	Artériosclérose et dysfonctionnement des plaquettes
<i>Arnica montana</i>	Anti-inflammatoire	Blessures et lésions
<i>Artemisia annua</i>	Antiparasitaire	Malaria
<i>Angelica sinensis</i>	Protection hépatique	Hépatite et cirrhose hépatique

<i>Astragalus radix</i>	Immunostimulant	Grippe
<i>Centella asiatica</i>	Collagène actif I	Blessures et brûlures
<i>Crataegus oxyacantha</i>	Meilleure perméabilité vasculaire	Maladies cardio-vasculaires
<i>Echinaceae purpurea</i>	Immunostimulant	Infections respiratoires
<i>Ginkgo biloba</i>	Antioxydant	Insuffisance cérébrovasculaire
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Active les prostaglandines	Ulcère gastrique et duodénal
<i>Matricaria chamomilla</i>	Inhibe les prostaglandines et les leucotriènes	Inflammation viscérale
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Hypoglycémiant	Diabète sucré
<i>Panax ginseng</i>	Adaptogène et tonique	Affaiblissement et stress
<i>Plantago psyllium</i>	Hypocholestérolémiant	Prévention des infarctus
<i>Psidium guajava</i>	Antagoniste du calcium	Antidiarrhéique
<i>Tanacetum parthenium</i>	Antisérotoninergique	Migraine
<i>Thymus vulgaris</i>	Antimicrobien	Pharyngite et amygdalite
<i>Zingiber officinal</i>	Antisérotoninergique	Migraine et nausée

Il contient en moyenne 85 % d'eau, 15 % de sucres, 0.3% de sels et moins de 1 % de protéines. C'est une bonne source de vitamine C avec un apport énergétique important. Il est consommé à l'état frais, bouilli dans l'eau ou séché [59]. Les jeunes raquettes (Nopals ou Nopalitos) de 10-15 cm de longueur sont consommées comme légumes et ingrédients dans la confection des autres préparations alimentaires [53]. Le mucilage possède des propriétés visqueuses est utilisé en industrie alimentaire [62] (. Les graines du fruit produisent une huile comestible à haut degré d'insaturation, qui contient de grandes quantités d'acide linoléique, d'acide palmitique et d'acide oléique [42]. Cette huile appartient à la même classe que les graines de soja, de maïs et de tournesol.

3.15. Utilisations



Alimentation humaine

- **Fruit** : Il existe près de 200 espèces d'*Opuntia*, mais seuls les fruits d'une vingtaine d'espèces sont exploités. Les fruits sont connus par leurs teneurs élevées en sucre, minéraux et vitamines. Ils sont produits et vendus en été et en automne, selon la précocité de la variété. Au

Mexique, par exemple, ces fruits comestibles appelés « tuna », sont commercialisés à l'état frais ou transformé : séchés, congelés, sous forme de confit, de jus et d'alcool[21].

- **Cladode** : Les jeunes cladodes sont consommées comme légumes car elles sont tendres et contiennent des fibres. Leur valeur nutritionnelle est similaire à celle de nombreux légumes et feuilles. Ils sont riches en eau, glucides, protéines, vitamine C et β -carotène, ce dernier étant le précurseur de la vitamine A. Ces jeunes cladodes sont appelés « Napolitos » au Mexique où elles sont considérées comme un légume traditionnel depuis des siècles. Elles sont consommées à l'état frais ou après cuisson en tant que légume vert. Elles sont conseillées pour les diabètes à diabétisme indépendant de l'insuline, car leur consommation peut améliorer le contrôle du sucre chez ces patients et peut réduire le taux du cholestérol dans le sang [10]. Il existe d'autres produits dérivés à partir des cladodes : confiture, cornichon et cladodes confits. Alors que les cladodes ont été traditionnellement utilisés comme un substitut de viande pendant les périodes de jeûne, elles sont aujourd'hui servies avec un repas semblable à des haricots verts [17].

- ***Production de fourrage pour le bétail***

Elle représente la deuxième importance économique du cactus dans le monde. L'utilisation du figuier de Barbarie dans l'alimentation du bétail représente également la deuxième importance de cette plante au Maroc. Le cactus est utilisé depuis longtemps dans l'alimentation du bétail des zones arides et sa production dans ces zones est plus rentable que celle d'autres espèces fourragères comme le maïs et le sorgho. Il est cultivé comme espèce fourragère dans plusieurs pays dans le but d'assurer un stock alimentaire pour le bétail dans le cas d'une situation critique de sécheresse. Un certain nombre de pays : Mexique, USA, Brésil, Pérou, etc. produisent des quantités importantes de cladodes en tant qu'aliment pour le bétail. Les cladodes sont appréciées par le bétail, car elles sont riches en eau, en fibre, en protéine et en éléments minéraux. Leur consommation permet d'améliorer la saveur du lait et la couleur du beurre [10]. Les cladodes sont broutées directement sur le champ par le bétail de pâturage comme ce qui se fait dans le Mexique et aux Etats-Unis où il y'a de grands ranchs de cactus pour le pâturage, ou bien elles sont récoltées et coupées pour les distribuer au bétail domestique comme ce qui se fait dans certains pays de l'Afrique du Nord comme le Maroc et la Tunisie où les plantations de cactus qui sont destinées à la production de fruits sont utilisées dans l'alimentation du bétail.

En comparaison avec d'autres éléments fourragers, la valeur énergétique des raquettes sont proche de celle de la luzerne avec 0,12 unité fourragère/kg. Avant de les donner au bétail, les cladodes sont déshydratées pour quelques jours afin d'éviter les diarrhées aux animaux et qui

sont dues à la consommation de cladodes gorgées d'eau. Les espèces épineuses peuvent passer sous un coup de feu afin de les débarrasser des épines[10]. En raison de leur effet laxatif attribué à la forte teneur en acide oxalique, une combinaison avec de la paille, l'atriplex, le foin de luzerne ou les tiges de maïs est recommandée. D'une autre part la faible teneur phénolique et tannin dans les cladodes facilite la digestion et améliore la production de viande [17].

- **Production des huiles :** L'huile extraite des graines du fruit du figuier de Barbarie appartient à la famille des huiles polyinsaturées comme la plupart des huiles végétales. La valeur commerciale de cette huile est intéressante en raison de ses particularités cosmétiques recherchées. Elle est riche en acide gras insaturé comme l'acide linoléique (64,43%) et l'acide oléique (18,46%). Parmi les acides gras saturés, le plus important est l'acide palmitique (12,60%) et l'acide stéarique (2,82%). Par contre, sa particularité réside dans sa richesse en matière insaponifiable (stérols et tocophérols). Cette caractéristique pourrait être un levier pour son exploitation dans le domaine de la cosmétologie ; étant donné les effets bénéfiques de ces substances sur l'élasticité de la peau, le métabolisme cellulaire et la restauration de la structure cutanée. Elle possède d'excellentes propriétés cosmétiques, car elle prévient le vieillissement et les rides de la peau. Les graines peuvent également être utilisées pour préparer de la crème à usage dermatique [21].

- **Production cosmétique et pharmaceutique :** Le mucilage des cladodes est utilisé dans la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux, des crèmes dermatiques et des laits hydratants. Il est également utilisé depuis longtemps par les femmes rurales au Maroc pour assouplir leurs cheveux. Ce mucilage permet également de réduire le taux de cholestérol dans le sang. La poudre séchée des cladodes ou poudre de nopal a également un effet sur le contrôle du sucre et du cholestérol dans le sang[63]. Elle a aussi un effet amincissant et antiglycémique car, la pectine de la poudre diminue le plasma [64]. Le thé aux fleurs est utilisé en Sicile comme remède aux maux des reins. Des capsules qui sont faites à partir des fleurs séchées sont utilisées comme régulateur diurétique et comme remède au dysfonctionnement de la prostate. Le bouilli des fleurs séchées est utilisé en pharmacopée traditionnelle au Maroc comme remède aux douleurs gastro-intestinales, aux brûlures et coups de soleil.

- L'huile essentielle des graines des fruits du cactus est riche en acides gras polyinsaturés, en stérols et en vitamines, elle est utilisée comme antiride naturel et pour la fabrication des crèmes dermatiques antirides. L'huile essentielle des graines est actuellement extraite et

commercialisée par des petites sociétés privées dans certaines régions du Maroc [10].

- **Production d'alicaments :** Les technologies mises au point récemment ont démontré la possibilité de production des alicaments sous forme de gélules ou capsules. Ce sont des aliments naturels qui ont des fonctions thérapeutiques pour le traitement des maladies comme l'obésité, le cholestérol, la constipation et les coliques. Ils contribuent à la régulation du transit de l'intestin [21].
- **Engrais vert :** Les résidus des raquettes ou des fruits et les autres parties de la plante constituent un excellent fertilisant [31].
- **Protection :** Cette plante 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. Elles nécessitent peu d'entretien tout en offrant la richesse de leurs fruits et de leurs raquettes. Néanmoins, il faut tenir compte du caractère invasif de cette plante [31].
- **Combustible :** C'est une plante qui fournit un excellent bois de chauffage et une flamme éclairante [31].

Chapitre II. Les antioxydantes

1. Radicaux libres et stress oxydatif

Notre organisme est normalement soumis à un stress oxydatif. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas des ressources enzymatiques et antioxydantes suffisantes pour les éliminer [65].

2. Différents type desERO

- **L'anion-radical superoxyde ($O_2^{\bullet -}$)** : est issu de la réaction de l'oxygène avec un électron, souvent au niveau de la chaîne de transport des électrons de la membrane mitochondriale ou au cours de la lutte des leucocytes contre les bactéries et les virus. Il semble être impliqué dans la protéolyse non enzymatique du collagène.
- **Le peroxyde d'Hydrogène (H_2O_2)** : provient d'une réaction entre deux anions superoxyde qui met fin au processus radicalaire. Il s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant.
- **Le radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$)** : est le produit de la réaction du peroxyde d'Hydrogène avec les ions métalliques comme par exemple le fer. Avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus instable et le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène.
- **L'oxyde nitrique ($NO^{\bullet}$)** : produit par la NO synthétase, est un vasodilatateur physiologique et joue aussi un rôle de messenger interneuronal. Il peut avoir un rôle néfaste.
- **L'oxygène singulet (1O_2)** : est produit en présence de rayonnement UV ou par les leucocytes. Il est à l'origine du vieillissement cutané, de la cataracte, de la dégénérescence musculaire liée à l'âge et de certains cancers de la peau.
- **L'anion hypochlorite (ClO^-)** : est produit à partir du peroxyde d'hydrogène par la myéloperoxydase (MPO). Il n'est présent que lors des infections.
- **Le peroxynitrite ($ONOO^-$)** : est issu de la réaction entre ($O_2^{\bullet -}$) et ($NO^{\bullet}$). Très néfaste pour les protéines et les gènes, il est impliqué dans l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde [66,67].

3. Stressoxydant

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules [68]. Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont : l'acide désoxyribonucléique (ADN) (modification des bases, cassure des brins), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides (peroxydation lipidique) [69]. Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreux désordres et maladies : athérosclérose [70]. La cancérogenèse, l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le mongolisme [71], les maladies cardiovasculaires, arthrose, le diabète, chute de cheveux et le vieillissement [72].

4. Moyens de défense contre les radicaux libres

Les systèmes de lutte contre les ERO sont classés dans 3 catégories (figure.8) : la prévention à temps plein, la détoxification active suite à une attaque oxydante et la détoxification passive[73]:

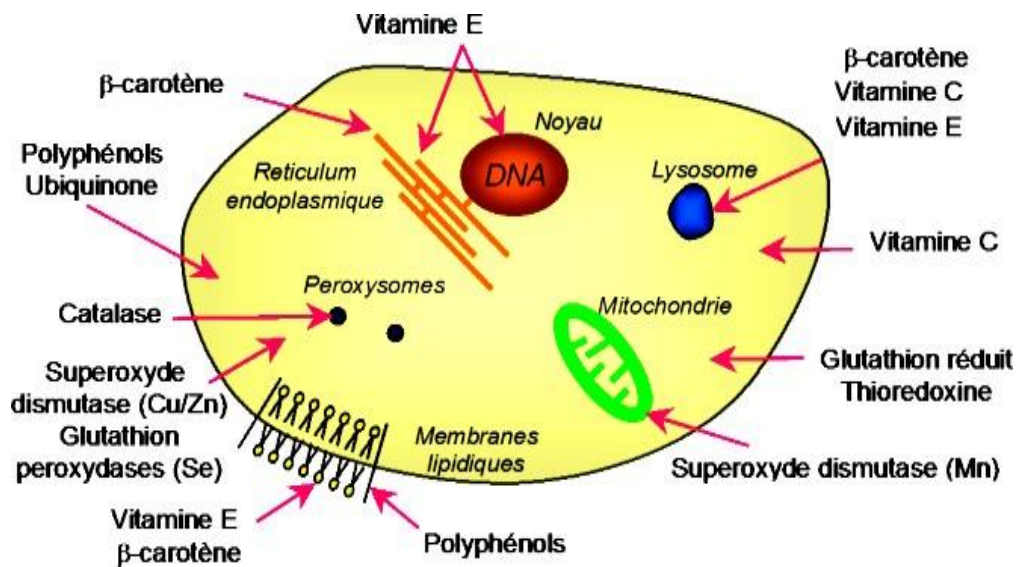


Figure 9 :Schéma illustrant les molécules intervenant dans les protections cellulaires[73]

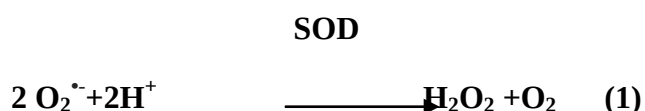


Prévention à plein temps : C'est un système qui agit en permanence pour prévenir la surproduction de radicaux libres de l'oxygène en inactivant les molécules endogènes (Fe, Cu) ou exogènes (quinone) susceptibles de les générer. Par exemple, la liaison de la transferrine (protéine chélatrice) avec deux atomes de fer ferrique par molécule à pH physiologique rend ce métal incapable d'être impliqué dans les mécanismes d'oxydoréduction générateurs de radicaux libres.

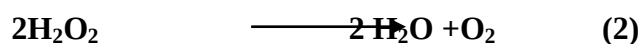


Détoxification active à la suite d'une attaque oxydante : Ce système de défense repose principalement sur 3 enzymes [74]:

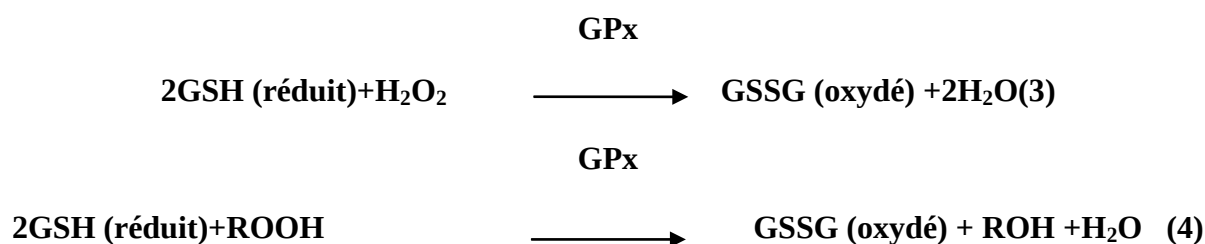
→ Superoxyde dismutase (SOD) : Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en hydrogène peroxyde (H_2O_2) et en oxygène.



→ Catalase : Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H_2O_2 en deux molécules H_2O et O_2 .



→ Glutathion peroxydase : C'est une enzyme à cofacteur de sélénium localisé dans le cytosol et la matrice mitochondriale. Elle a pour activité la dégradation des peroxydes organiques ($ROOH$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).



Détoxification passive : Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser les radicaux libres par des molécules telles que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque, etc. [74]

5. Antioxydants

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant. Le terme de substrat oxydable inclut toutes sortes de molécules *in vivo* [75].

Le radical arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable et ne présente aucun danger, il sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron, à l'avantage de ne pas transformer en radical libre. Il devient inactif.

Il existe un très grand nombre de molécules antioxydantes. Elles peuvent être biologiques (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien apportées par l'alimentation. Chaque antioxydant a une localisation bien spécifique et cible des radicaux libres particuliers [76].

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères [74]:

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Chélaté des ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^{2+}) d'importance biologique capable de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génétique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

6. Le pouvoir antioxydant



Protections cellulaires

• **Systèmes antioxydants enzymatiques**

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Figure 10) les plus efficaces chez l'homme ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase [77].

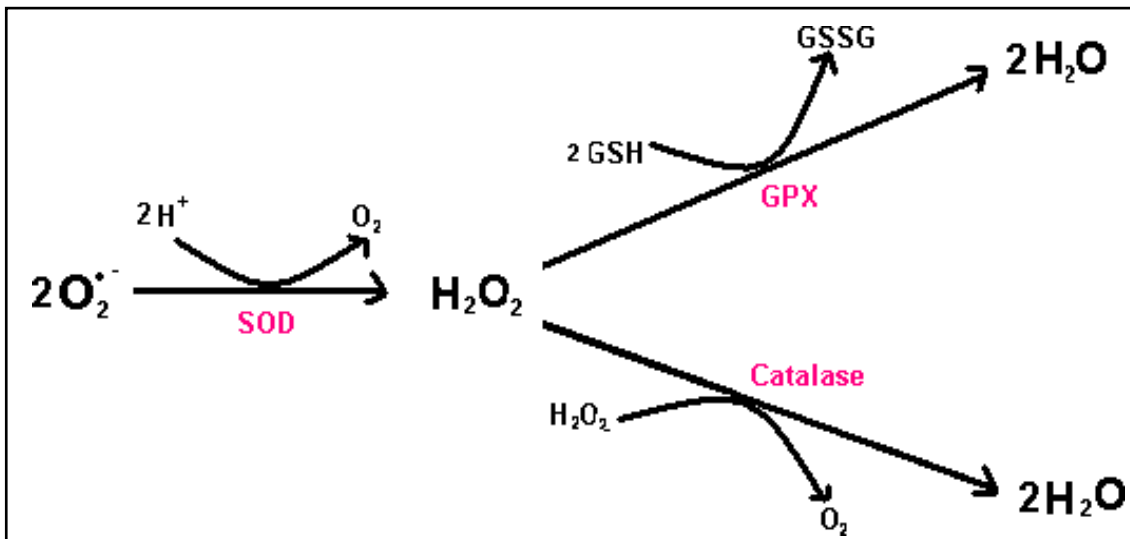


Figure 10 :Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène [76].

Le rôle majeur du superoxyde dismutase ou SOD est de catalyser la dismutation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire. La catalase, essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

L'activité du glutathion peroxydase, ou GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur[78] .

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine reductase, glutathiontransferase...etc.

- **Systèmes antioxydants non-enzymatiques**

- **Systèmes antioxydants endogènes**

Les systèmes antioxydants non-enzymatiques endogènes incluent de nombreux thiols dont le majoritaire est le glutathion, largement présent sous forme réduite, qui est capable de réagir, *in vitro*, avec les radicaux $\text{HO}^\bullet$, $\text{RO}^\bullet$, $\text{RO}_2^\bullet$, ^1O , ONOO^- , des radicaux centrés sur le carbone, et aussi l'acide hypochloreux HOCl .

Le glutathion est aussi capable de participer à l'activité non-enzymatique, il détoxifie le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes[78].

Les deux formes, oxydée et réduite, de l'acide lipoïque, autre composé appartenant aux thiols,

présentent des propriétés antioxydantes *in vitro* en piégeant les $\text{HO}^\bullet$, $\text{RO}_2^\bullet$, l'HOCl et $\text{l'}^1\text{O}_2$. En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, ils permettent de les désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes[79].

L'acide urique, présent sous forme urate à pH physiologique, possède des propriétés antioxydantes *in vitro* contre les $\text{HO}^\bullet$ et $\text{RO}^\bullet$, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine[78].

• **Systèmes antioxydantsexogènes**

Les antioxydants chimiques exogènes (Figure 11), eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques [80].

La vitamine C ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire [81]. Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle ($\text{AscH}^\bullet$), stabilisé par résonance. Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée ($\text{Asc}^{\bullet-}$) (Figure 12) [74].

Paradoxalement, les études *in vivo* de la supplémentation en vitamine C montrent, pour la plupart, une réduction de l'oxydation de l'ADN, des protéines et de la lipoperoxydation, alors que certains auteurs relatent l'effet pro-oxydant *in vitro* de cette molécule dans des milieux tamponnés contenant du fer en accélérant la réaction de Fenton [82].

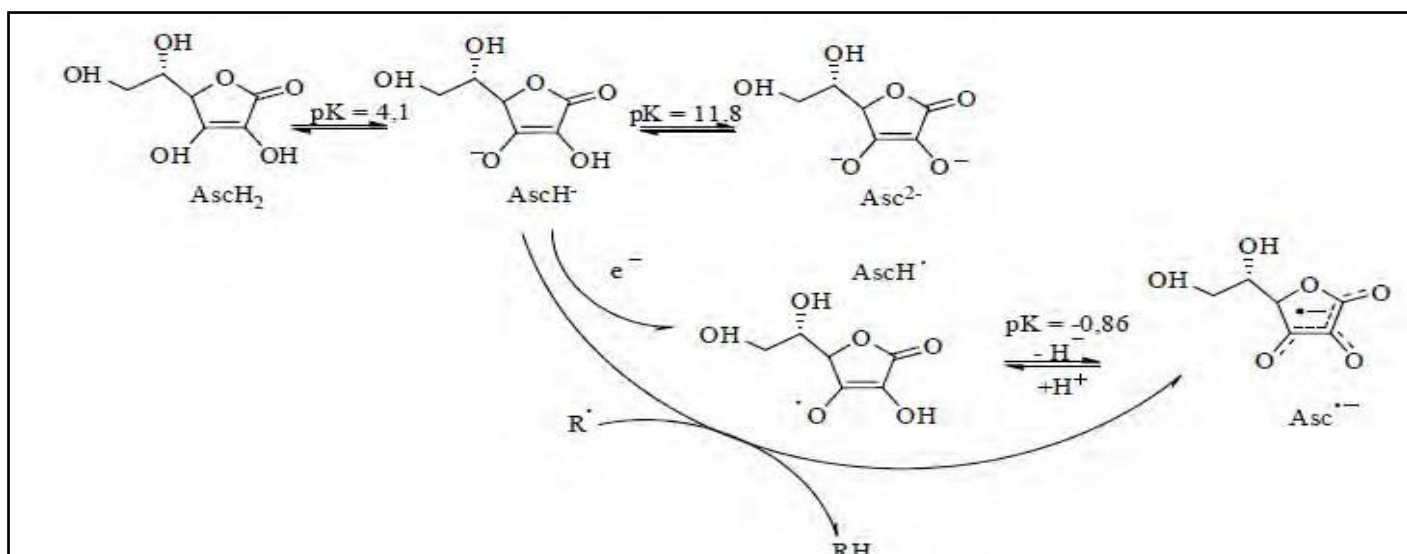


Figure 11: Différentes structures chimiques de la vitamine C et la réaction avec les radicaux[74]

La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (Figure 13). Ce sont de bons antioxydants alimentaires, mais surtout leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. Elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux $\text{LOO}^\bullet$ (Figure 14) [83].

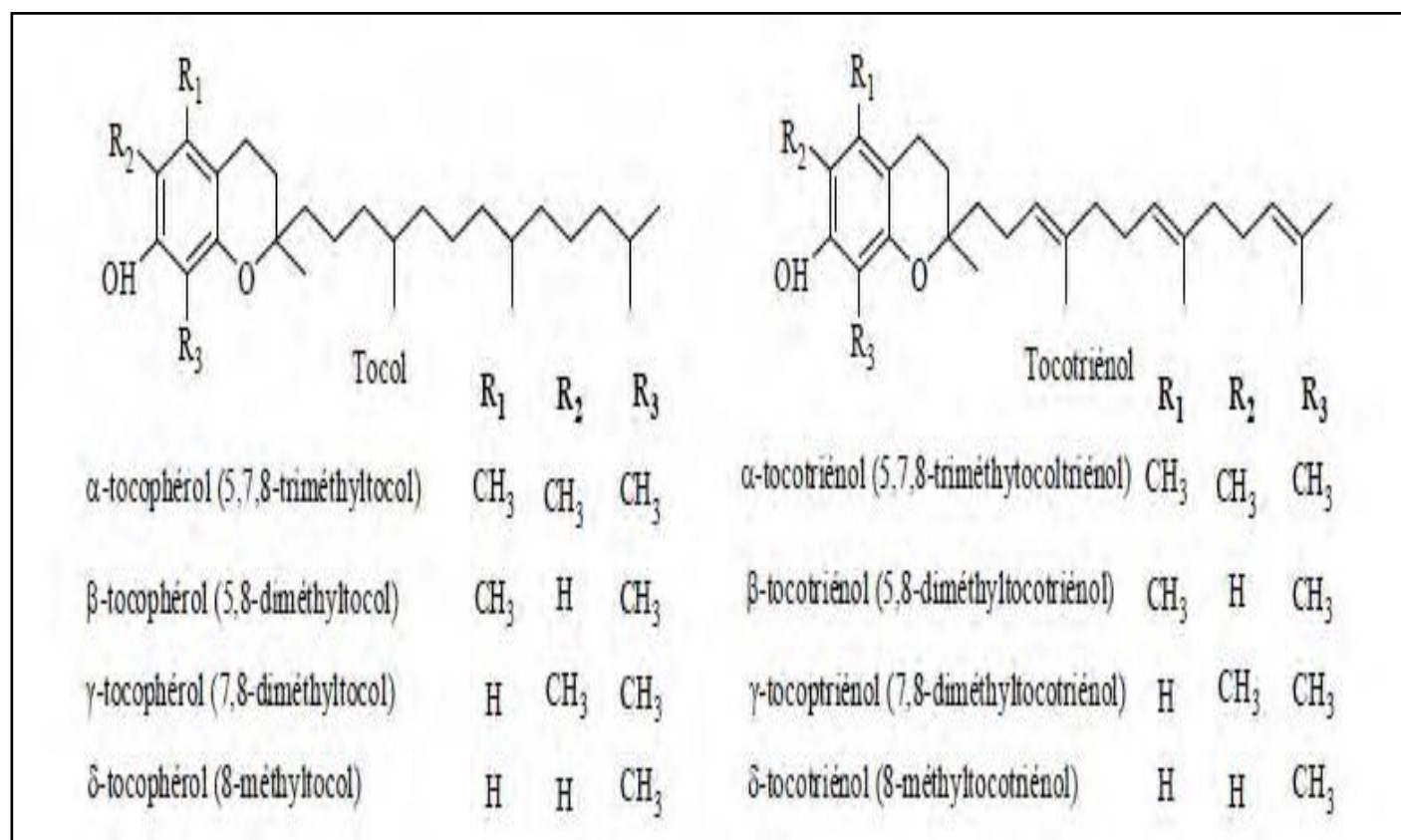


Figure 12: Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols[74]

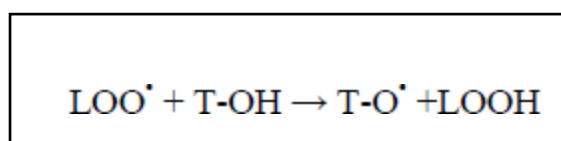


Figure 13 : Mécanismes d'action antioxydante de la vitamine E sur les radicaux $\text{LOO}^\bullet$ [74]

De plus, il faut noter que la vitamine C associée à la vitamine E régénère la forme réduite de l' α -tocophérol par une réaction de transfert d'hydrogène[84].

Les caroténoïdes : Sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles (Figure 15). On dénombre environ 600

présents dans la nature. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $\text{ROO}^\bullet$, $\text{HO}^\bullet$, $\text{O}_2^\bullet$, $\text{R}^\bullet$ par simple addition électrophile et transfert d'électron (Figure 16). Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet[74].

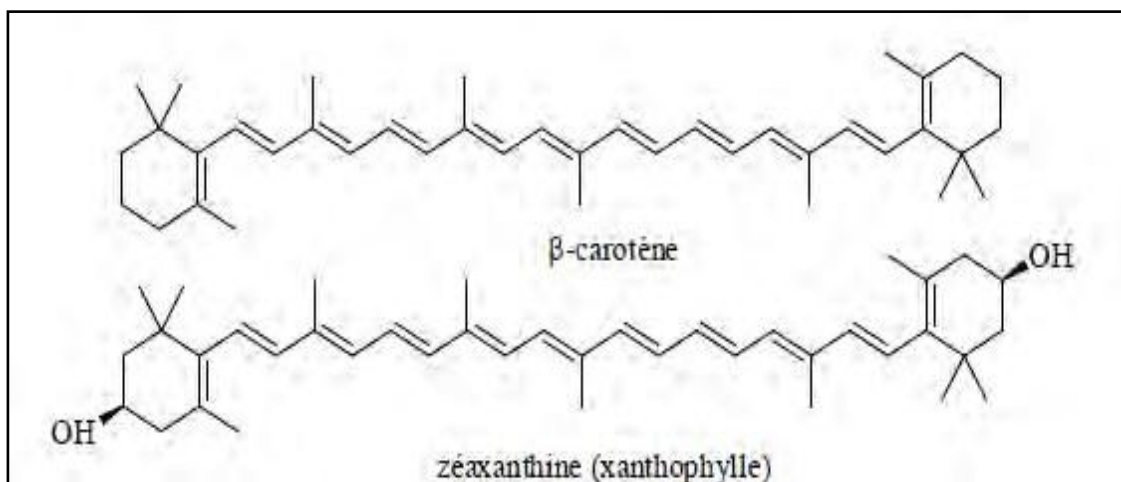


Figure 14: Structures chimiques de carotène et xanthophylle[74]

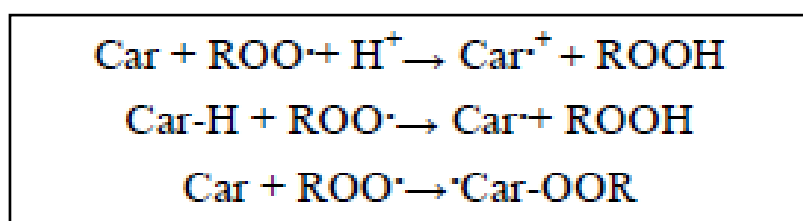


Figure 15 : Mécanismes traduisant l'activité antioxydante des caroténoïdes, cas des $\text{ROO}^\bullet$ [74]

Les composés phénoliques, et en particulier les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane (Figure 17).

Leur capacité antioxydante réside dans leur capacité à neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Figure 18) [85].

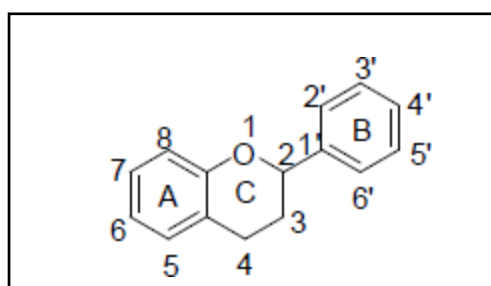


Figure 16: Structure chimique de la 2- phénylbenzopyrane [85]

De façon générale, l'activité biologique des composés phénoliques et spécialement les flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier le nombre des groupements hydroxyles [86].

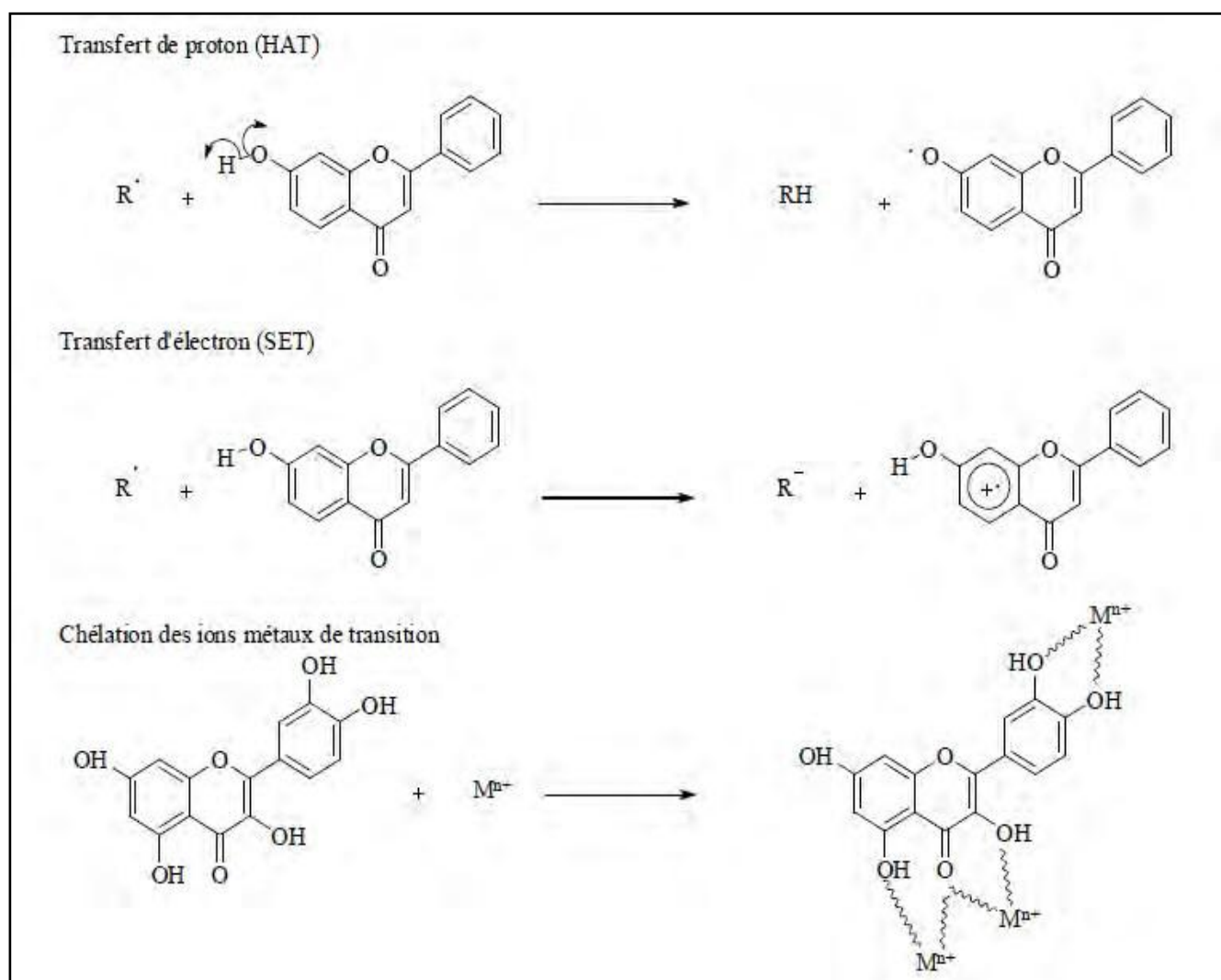


Figure 17 : Mécanismes d'action des antioxydants des composés phénoliques [85]

7. Les composés phénoliques

Dans le métabolisme de la plante, on différencie les métabolites primaires des métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont directement impliqués dans la croissance, le développement, la reproduction et l'assimilation des nutriments de la plante. Les métabolites secondaires, quant à eux, jouent plusieurs rôles comme servir de défense pour la plante ou attirer certaines espèces pollinisatrices. Ils permettent également la communication de plantes à plantes

[87]. Les polyphénols sont des métabolites secondaires qui ne sont pas directement impliqués dans le processus de croissance et de développement, mais remplissent d'autres fonctions tout aussi importantes pour la plante.

Polyphénols

Les polyphénols sont des composés organiques ayant la caractéristique d'avoir un groupement aromatique porteur de plusieurs fonctions hydroxyles. Les substances phénoliques ont tendance à être solubles dans l'eau, ils sont le plus souvent combinés avec des sucres et ils sont généralement situés dans la vacuole des cellules végétales [96].

Ils jouent un rôle d'antioxydants naturels qui leur confèrent un intérêt médical pour le traitement de certaines maladies telles que, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires et certains cancers [97].

Parmi les classes de polyphénols, on compte principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes et les tannins.

• **Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont des composés qui ont des propriétés antioxydantes. Ils sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (acide caféique, acide gallique), les plantes produisent de l'acide benzoïque en modifiant la structure chimique de l'acide cinnamique de la même manière de nombreux organismes décomposent les acides gras. De même, les groupements hydroxyles supplémentaires de l'acide cinnamique permettent d'obtenir les structures de l'acide coumarique, caféique, chlorogénique et férulique (figure 19).

L'hydrolyse alcoolique du tissu végétal libère un certain nombre d'acides phénoliques hydrosolubles par exemple l'acide gentisique très répandu ou l'acide salicylique et l'acide o-protocatéchique qui le sont un peu moins. Ces acides peuvent être associés à des glycosides ou d'autres métabolites primaires. Parmi les activateurs de la floraison, on trouve les acides p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et syringique. À l'inverse, l'acide gallique, est rapporté comme un inhibiteur naturel de la floraison en particulier dans des feuilles de Kalanchoe [98].

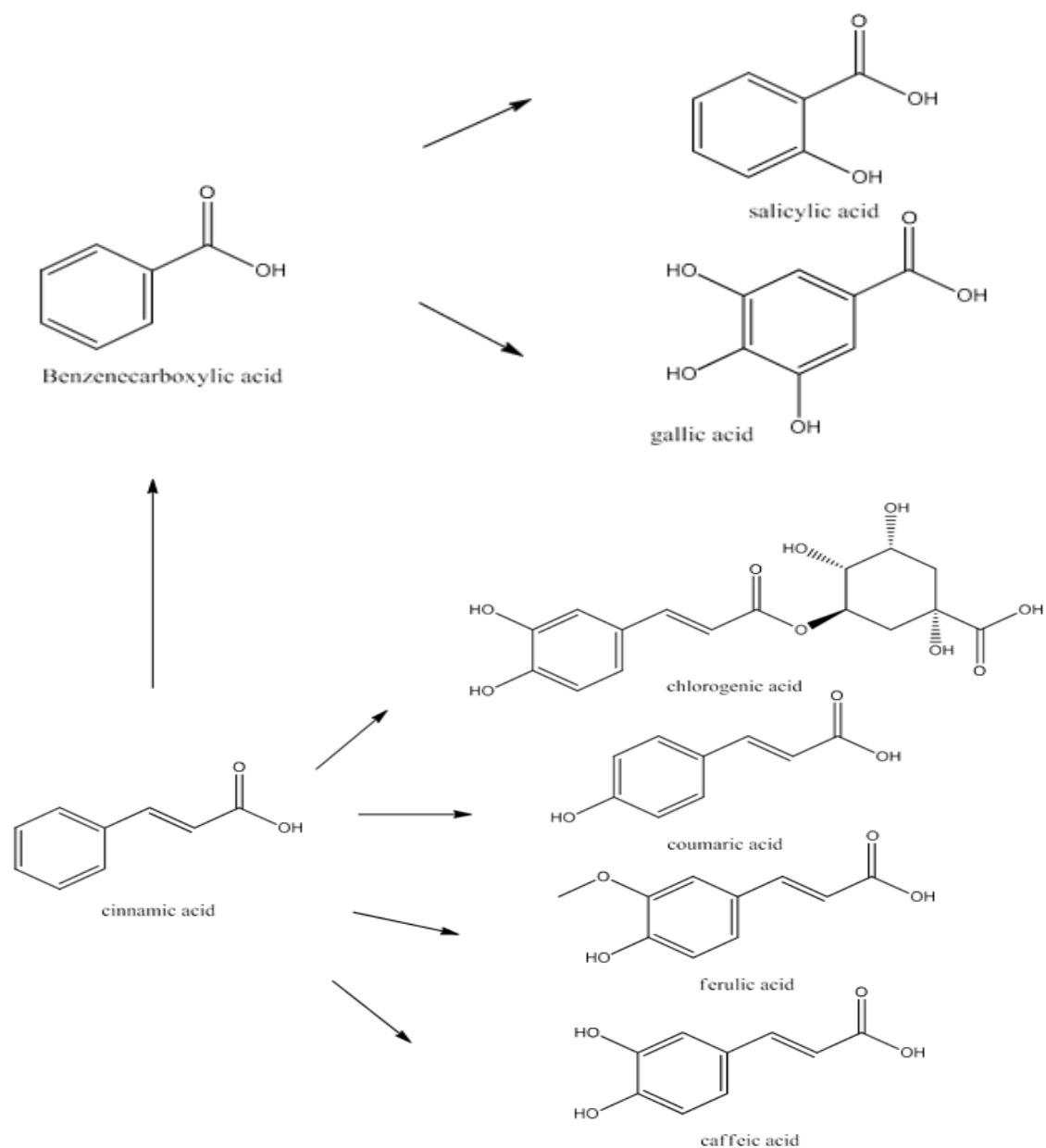


Figure 18 : schéma de différentes voies métaboliques pour obtenir les acides phénoliques.

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles benzéniques porteurs d'une fonction hydroxyle, reliés par une chaîne linéaire à 3 C, avec un squelette carboné C6-C3-C6. Ils portent un noyau benzénique en position 2. Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzo- γ -pyrone (figure 20).

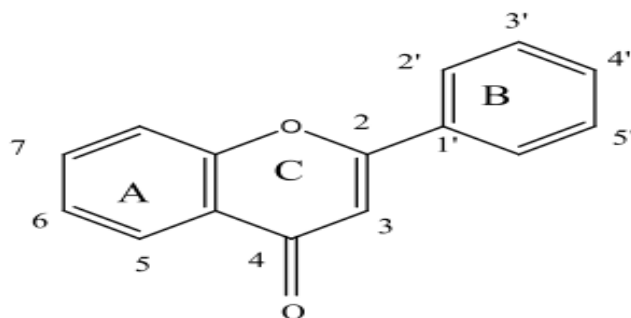


Figure 19 : structure générale des flavonoïdes. La numérotation des carbones vise à expliquer la dénomination de la structure C6-C3-C6

Les flavonoïdes sont largement distribués dans les plantes sous forme de 9 classes principales ; les flavones, les flavonols, les flavonones, les flavononols, les flavanols, les anthocyanidines, les isoflavones, les neoflavone et les chalcones. Toutefois, certaines classes sont plus majoritairement distribuées telles que les flavanols, les flavones et les chalcones tandis que les isoflavones et les autres classes sont minoritaires [96](figure 21).

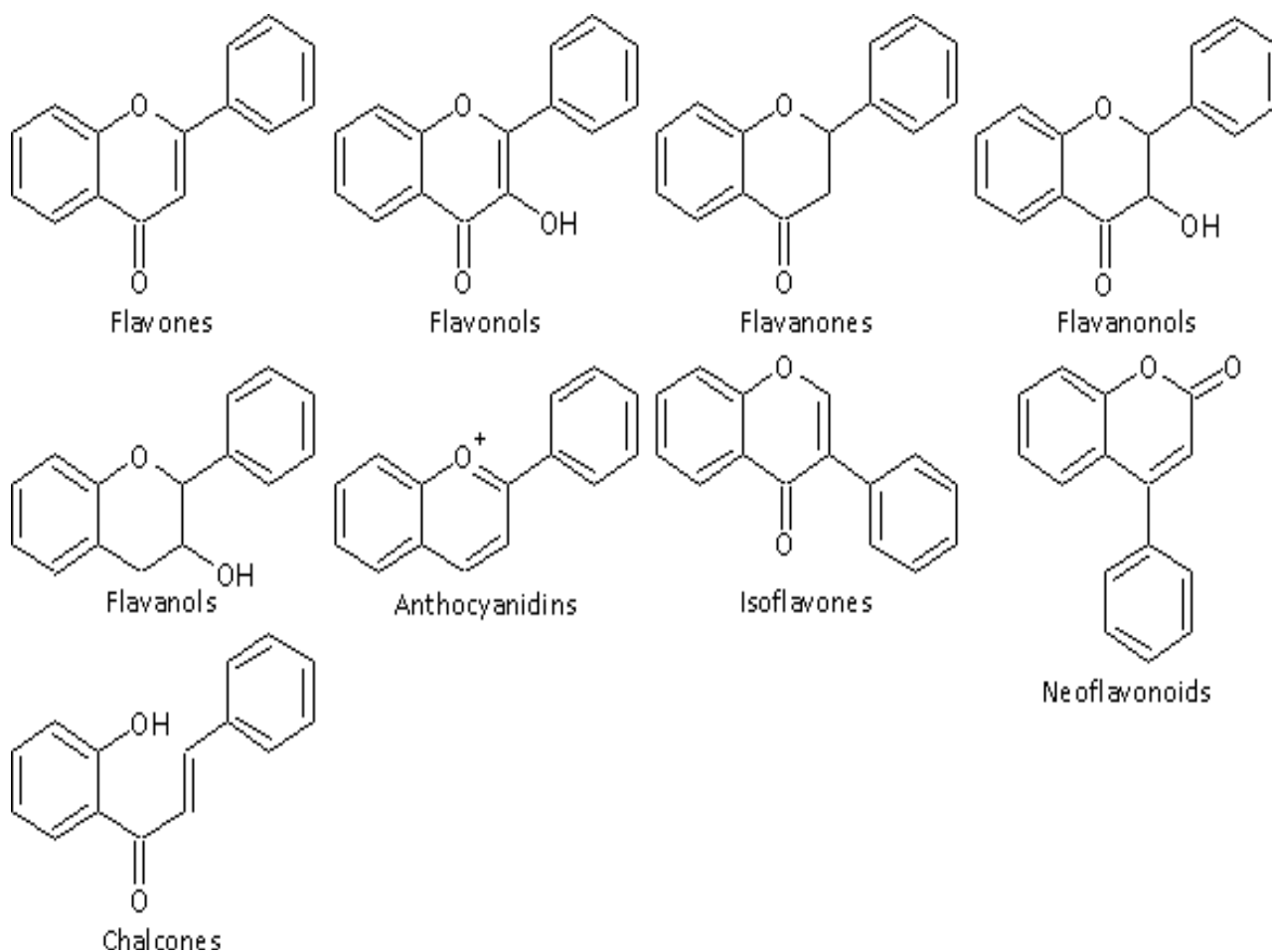


Figure 20 : Les sous classes des flavonoïdes.

La biosynthèse des flavonoïdes se fait par la voie des phénylpropanoïdes qui passe par l'action de la malonyl-CoA sur la coumaryl-CoA, issue du métabolisme des sucres (figure 22). La première étape enzymatique est catalysée par la chalcone synthase (CHS), qui aboutit à la formation de la chalcone. Pour la majorité des plantes, la chalcone ne s'accumule pas, elle est métabolisée, en flavonoïde (les flavanones, les dihydroflavonols et les anthocyanes). D'autres classes de flavonoïdes telles que les flavones, les isoflavones, les pro-anthocyanidines et les flavonols sont issues de voies latérales de biosynthèse dont les précurseurs sont les intermédiaires de formation des anthocyanes [99].

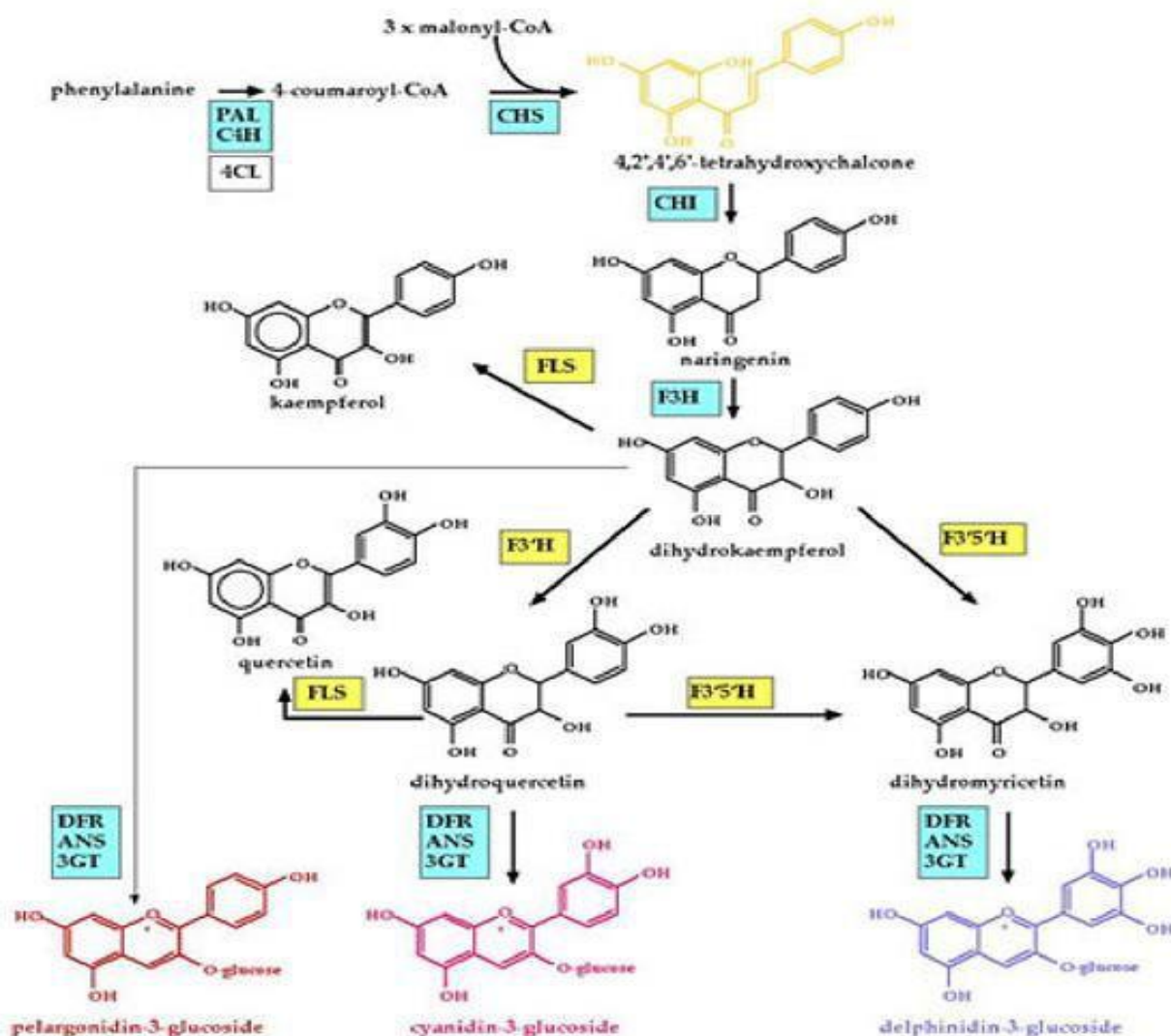


Figure 21 : biosynthèse des flavonoïdes par voie des phénylpropanoïdes[100].

Parmi les flavonoïdes les plus fréquents dans les plantes, on retrouve plusieurs flavonols dont le kaempférol, la quercétine et la myricétine. Ces molécules sont fréquemment substituées par des sucres. Pour les monoglycosides, l'association avec le sucre se fait le plus souvent sur le carbone 3. La catéchine et l'épicatéchine sont des stéréo-isomères, de même pour la gallocatéchine et l'épigallocatéchine qui sont classés parmi les flavan3-ols. Les flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes qui réduisent les radicaux peroxydes en désactivant les espèces réactives de l'oxygène ($>O\cdot$) comme les ions superoxydes ou encore les radicaux $OH\cdot$. Les flavonoïdes peuvent aussi jouer le rôle de pigments pour la coloration des fleurs afin d'attirer les animaux pollinisateurs. Chez les plantes supérieures, les flavonoïdes sont impliqués dans la filtration UV, la fixation symbiotique de l'azote. Ils peuvent également agir en tant que messagers chimiques, des régulateurs physiologiques et d'inhibiteurs du cycle cellulaire. Les flavonoïdes par exemples

sécrétées par la racine de leur plante hôte aident les rhizobiums dans le stade de l'infection à se défendre. Les flavonoïdes peuvent être séparés par des techniques chromatographiques et des composants individuels identifiés par comparaison chromatographique et spectrale avec des marqueurs connus [92].

- **Chalcones**

La Chalcone est une cétone aromatique ayant comme structure de base des flavonoïdes et une énone. Elle constitue le noyau central d'une variété de composés biologiques importants, qui sont connus collectivement sous le nom chalcones ou chalconoides. Elles sont montrées sous forme de deux cycles benzéniques A et B liés entre eux par une chaîne à trois carbones, cétonique α , β -insaturé. Ces composés sont rarement substitués sur le cycle B. De manière équivalente aux autres flavonoïdes, les positions 2, 4 et 6 du cycle A peuvent être hydroxylées ou méthoxylées (figure23).

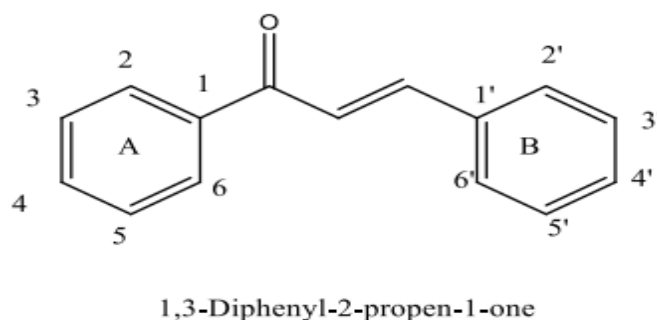


Figure 22 : structure générale d'un chalcone.

La chalcone est naturellement synthétisée par de nombreux végétaux par la voie métabolique des phénylpropanoïdes. La phénylalanine est d'abord modifiée en acide cinnamique, qui est transformé en acide paracoumarique qui forme alors un thioester avec le coenzyme A, le 4- coumaroyl-CoA [101]. Le thioester réagit après avec 3 molécules de malonylcoenzyme A qui finissent par se cycliser et former un second groupe phényle, formant ainsi le 4',2,4,6-tetrahydroxychalcone [102]. Les Chalcones et leurs dérivés montrent un large éventail d'activités biologiques, tels que des anti-diabétiques, anti- néoplasique, anti-hypertenseurs, anti-rétroviraux, anti-inflammatoires, anti-parasitaires, anti- histaminique, anti-paludéens, anti-oxydant, anti-fongique, les anxiolytiques, antispasmodique, anti-nociceptives, hypolipémiants, anti-filariose, anti-angiogénique, anti-protozoaires, anti- bactérien, anti-stéroïdien [103,104].

- **Anthocyanes**

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocyclecentral

C. Les anthocyanidines (aglycones anthocyanes formées lorsque les anthocyanes sont hydrolysées avec de l'acide) sont responsables aussi de la couleur naturelle de la plante. Ces molécules sont constituées d'un aglycone anthocyanidine et d'un glucose en position 2' (Figure 24). L'aglycone est chargé positivement et la charge portée peut être délocalisée par effet mésomère sur la majeure partie du squelette flavonoïde.

Parmi les anthocyanidines qui sont très connus il y a la malvidine, la delphinidine, la pétunidine et la cyanidine. La coloration attribuée aux végétaux dépend de plusieurs éléments, particulièrement le pH et de la nature des substitutions de l'aglycone. En plus de la pigmentation, ces composés sont accumulés dans des différents organes des plantes afin de les protéger contre les attaques de nuisibles.

Anthocyanidine	R1	R2
Cyanidine	OH	H
Delphinidine	OH	OH
Paeonidine	OCH ₃	H
Pétunidine	OCH ₃	OH
Malvidine	OCH ₃	OCH ₃

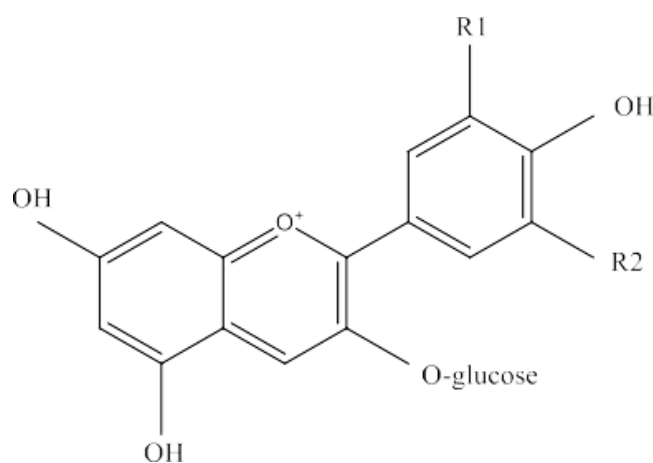


Figure 23 : structure générale des principales anthocyanidines

Les anthocyanes les plus connues sont la pélargonidine responsable de la coloration rouge ou orange dans certaines plantes. Il y a encore la cyanidine qui donne une couleur rouge ou rose et ensuite la delphinidine responsable de la coloration mauve. Elle aussi donne spécialement la coloration rouge aux fruits et aux feuilles en automne..

Tannins

Chimiquement, les tannins sont des polyhydroxyphénols. Les tannins sont répartis en quatre groupes suivant leurs structures chimiques : les gallotannins, les ellagitannins, les tannins complexes, et les tannins condensés. Les gallotannins sont des tannins formés d'unités d'acides galliques liées à diverses unités polyol-, flavanol- ou triterpénoïdes. Les ellagitannins sont des tannins formés d'au moins deux unités d'acides galliques C-C couplées entre elles et sans liaison glycosidique avec des unités flavanols (catéchines). Les tannins complexes sont des tannins formés par une unité gallotanin ou ellagitannin comportant une liaison glycosidique. Les tannins

condensés sont des proanthocyanidols comportant des liaisons entre le C-4 d'une unité flavanol et un C-8 (ou C-6) d'un autre flavanol monomère. Ils sont bénéfiques pour la santé en raison de leur activité antimutagène et anticancéreux [106], antibactériens [105]. Ils jouent un rôle dans la protection contre la prédation, et peut-être aussi que les pesticides, et dans la régulation de la croissance des plantes [107]. Les proanthocyanidines sont des polymères de flavanols qui peuvent être reconnues par le fait que lorsqu'ils sont chauffés par en milieu acide, les feuilles qui les contiennent deviennent rouges.

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Extraction et analyses

Dans ce chapitre, nous avons décrit toutes les méthodes et les techniques utilisées dans ce travail. Après la récolte des échantillons (cladodes, fleurs, graines), nous avons fait l'extraction des extraits organiques (phénolique) à partir les trois parties pour chaque plante, ainsi que nous avons extrait l'huile végétale des graines d'*Opuntia ficus indica*. Ensuite, nous avons décrit les méthodes d'analyse et des quantifications des teneurs en composés bioactifs pour les extraits organiques (phénoliques) et l'huile végétales, également, nous avons détaillé avec précision les protocoles expérimentaux utilisés pour évaluer les activités bibliologiques des extraits organiques et l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*.

1. Collecte et séchage du matériel végétal

Le Maroc est un pays situé en Afrique du Nord-Ouest. Il se caractérise par un climat très différent selon les régions. Dans ce travail, nous avons récolté les matières végétales dans différentes régions; chaque région est caractérisée par des coordonnées géographiques spécifiques et un type de climat. El Ajhar et al. [108], ont montré dans leur étude la classification climatique des régions du Maroc pendant la période 1980-2015 (tableau 8). D'après cette étude, les régions de Rabat, Taza et d'Al Hoceima sont caractérisées par un climat semi-aride, tandis que la région de Tiznit est caractérisée par un climat aride. De plus, les régions de Taza et Tiznit se trouvaient respectivement à une altitude élevée de 509 m et 237 m, tandis que celles de Rabat et Al Hoceima étaient à une altitude basse respectivement de 84m et 27 m.

Les matériels végétaux utilisés au long de ce travail sont les cladodes, les fleurs et les graines. Ils sont collectés auprès des deux variétés *Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*. Ils ont été collectés en été entre juillet et septembre en 2017. Ensuite, les échantillons (cladodes, fleurs et graines) d'*Opuntia ficus-indica* ont été collectés dans les régions de Tiznit et d'Al Hoceima, tandis que ceux d'*Opuntia megacantha* ont été collectés dans les régions de Rabat et Taza. Nous avons choisi ces régions en raison leurs propriétés géographiques et climatiques comme le montre le tableau 8. Les échantillons collectés ont été séchées à l'ombre, à l'abri de l'humidité, et à une température ambiante (24°C) pendant 7 jours en moyenne.

Table 8 : Coordonnées géographiques, altitudes et le type de climat des sites étudiés.

Site	Longitude	Latitude	Altitude(m)	1980-1990	1991-2015	1991-2015
Rabat	34.050°	-6.760°	084	Semi-arid	Semi-arid	Semi-arid
Taza	34.210°	-4.000°	509	Semi-arid	Semi-arid	Semi-arid
Al Hoceima	35.180°	-3.850°	027	Semi-arid	Semi-arid	Semiarid
Tiznit	29.697°	-9.732°	237	Arid	Arid	Arid

2. Préparation du matériel végétal

Après la récolte, chaque échantillon (cladodes, fleurs, graines) sera découpé en fines tranches et séché à l'air, puis broyé à l'aide d'un broyeur (type Gulatti MFC). La poudre résultante est conservée à température ambiante (24°C) dans un récipient hermétique. Cette fine poudre sera ensuite utilisée pour la préparation des différents extraits.

- **Torréfaction des graines *Opuntia ficus-indica*.**

Les graines d *Opuntia ficus-indica* ont été isolées à base de l'eau et séchées à l'obscurité à température ambiante (24°C°) pendant 72 heures. Ensuite, ils sont placés dans un papier aluminium et torréfiés dans un four conventionnel à air chaud forcé à différentes températures (60 ° C, 130 ° C, 200 ° C) pendant différentes durées (10, 30,50min). Le choix des conditions opératoires de la torréfaction a été décrit avec précision dans la partie III (**Chapitre II**). Les graines ont ensuite été broyées à l'aide d'un broyeur. La poudre fine résultante est stockée à température ambiante dans un récipient hermétique.

3. Méthodes d'extraction

3.1. Extraction par Soxhlet

L'extraction des extraits phénoliques a été réalisée par l'extraction solide-liquide en utilisant un appareil Soxhlet. 50 grammes de la matière végétale à extraire (séchée et broyée) sont pesés et mis dans la cartouche du Soxhlet. Le solvant (80% de méthanol, 20% d'eau) est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide. Le temps de traitement est de 5 à 6 heures. Le contenu du ballon (solvant + matières solubilisées) est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 64 °C pour éliminer tous le solvant. Le choix des deux méthodes d'extraction précédemment décrits a été basé d'une part de la disponibilité du matériel au laboratoire.

4. Extraction de l'huile végétale d'*Opuntia ficus-indica* par pression à froid

Le procédé d'extraction utilisé pour les huiles végétales est très important car il détermine la qualité de l'huile obtenue. Pour cela nous avons choisi l'extraction par pression à froid car il est le meilleur procédé : il permet de garantir une huile pure, ne contenant aucune substance étrangère (solvant et impureté) et de très haute qualité nutritionnelle. D'après ça, l'extraction des huiles végétale des graines d'*Opuntia ficus-indica* a été réalisée par la méthode presse à froid à l'aide d'un Kern Kraft prince F universal ; avec une presse à vis mécanique à moteur 2,2 kW.

5. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR [110], le rendement en huile essentielle ou en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle (ou extrait) obtenue après l'extraction et la masse initiale de la matière végétale utilisée (g). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule (5) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse d'HE ou (extrait sec)}}{\text{massedemati érevégétale}} \times 100 \quad (5)$$

Les extraits obtenus sont gardés au réfrigérateur à 4 °C dans des flacons en verre brun fermé hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière.

6. Analyse de la composition chimique de l'huiles végétale par le couplage (CPG/SM)

Les esters méthyliques d'acides gras ont été obtenus par méthylation des acides gras des huiles selon la méthode décrite par Chunhieng, A. et al [119] avant l'analyse au GC-MS. Trois gouttes d'huile ont été ajoutées à 3 mL d'une solution de méthylate de sodium puis le mélange a été chauffé à 60°C pendant 10 min. Après cette étape, 3 mL de chlorure d'acétyle et 10 mL du méthanol (50 mL /625 mL) ont été ajoutés au mélange préalablement chauffé. Le nouveau mélange a été chauffé pendant 10 min puis refroidi à température ambiante (24°C). Ensuite, 10 mL d'eau distillée et 15 mL d'hexane ont été ajoutés successivement. Le mélange est agité vigoureusement et laissé au repos jusqu'à obtention de deux phases. La phase hexanique supérieure contenant les esters méthyliques d'acides gras a été transférée dans un vial pour l'analyse au GC-MS. L'analyse des esters méthyliques d'acides gras a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS). Cette technique permet de séparer, identifier et quantifier des analytes au sein de mélanges complexes. C'est une méthode adaptée pour l'analyse de composés de faible poids moléculaire. Pour être analysé en GC-MS, un composé doit être suffisamment volatil et thermiquement stable. En outre, les composés fonctionnalisés peuvent nécessiter une modification chimique (dérivatisation) avant l'analyse afin d'éliminer les effets d'adsorption indésirables. Les échantillons sont généralement analysés sous forme de solutions organiques, par conséquent, les analytes doivent être extraits de la matrice végétale par des solvants organiques. La solution est introduite dans l'appareil par le biais de l'injecteur. Elle est ensuite vaporisée et envoyée dans une colonne chromatographique. L'échantillon est entraîné via un gaz vecteur (hélium) à travers la colonne. Les composés présents dans le mélange sont séparés en fonction de leur interaction avec la phase stationnaire de la colonne et la phase mobile (gaz). La dernière section de la colonne passe à travers une ligne de transfert chauffée reliée à l'entrée de la source d'ionisation où les composés sont ionisés [111].

6.1 Composition en acides gras

La composition des esters méthyliques d'acides gras FAME a été quantifiée déterminée selon le protocole CEE / 2568/91 [112], par chromatographie capillaire en phase gazeuse (CGC), à l'aide d'un chromatographe Varian CP-3800 (Varian Inc.) équipé d'un FID. Un injecteur fractionné a été utilisé et le volume injecté était de 1 mL. La colonne utilisée était une colonne CPWax 52CB (30 m x 0,25 mm de diamètre interne; Varian Inc., Middelburg, Pays-Bas). Les conditions des opérations chromatographiques étaient les suivantes: le gaz porteur était de l'hélium et le débit total de gaz était de 1 mL / min. La température initiale et finale de la colonne était de 170 ° C et

230 ° C, respectivement, et la température a été augmentée par paliers de 4 ° C / min. La température de l'injecteur et du détecteur était de 230 ° C. Les données ont été traitées en utilisant une station de travail Varian Star v 6.30 (Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA). Les résultats ont été exprimés en pourcentage relatif de chaque AF individuel présent dans l'échantillon.

6.2. Composition en phytostérols

Les phytostérols ont été dosés selon la méthode standard ISO 6799 [123] par chromatographie capillaire en phase gazeuse (CGC) sur colonne apolaire (Chroma pack) (30 mx 0,32 mm, DI: 0,25 µm, phase: CPSIL8CB). Le chromatographe VARIAN CP-3800 est équipé d'un injecteur diviseur type 1079 (T: 300 ° C) et d'un FID (T: 300 ° C). Le gaz vecteur est l'hélium (débit: 1,5 mL / min) [6].

7. Etude phytochimique des extraits organiques (phénolique)

7.1. Screening phytochimique

Le screening Phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante, il permet de mettre en évidence la présence de groupes de familles chimiques dans une drogue donnée, tels que : Les alcaloïdes, les saponines, les polyphénols, les flavonoïdes, les quinones.

Le principe est basé soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation, ou sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions de coloration (insaturation ou conjugaison dans une molécule).



Détection des alcaloïdes

La présence d'alcaloïdes est établie par la précipitation de sels en utilisant le réactif de Mayer comme révélateur. On ajoute à 10g de poudre végétale de chaque plante étudiée 10 mL de H₂SO₄ dilué (1/10), après 24h de macération à température ambiante, le macéré est filtré et lavé à l'eau de manière à obtenir 6 mL de filtrat.

Dans des tubes à essai contenant chacun 1 mL du filtrat de chaque plante, nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc-jaune ou brun indique la présence d'alcaloïdes [114].

Détection des flavonoïdes

Dans chaque tube à essai, 1 mL d'acide HCl concentré est mélangé avec 3 mL de chaque extrait méthanolique et 2 à 3 copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une coloration rose-orangé ou rouge après quelques minutes [115].

Détection des tannins

1 mL d'extrait aqueux de chaque plante étudiée a été mélangé avec 1 mL de l'eau distillée et 1 à 3 gouttes de chlorure ferrique FeCl_3 (1%). La coloration bleu-noire (tanins galliques) ou bleu-vert (tanins catéchiques) est considérée comme résultat positif pour la présence des tanins [116].

Détection des saponosides

Pour rechercher les saponosides, nous avons ajouté un peu d'eau distillée à 3 mL d'extrait. Le tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 10 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1cm indique la présence de saponosides [117].

7.2. Dosage des phénols totaux des extraits organique (phénolique)(TPC)

Les polyphénols produits par les végétaux en tant que métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules, de nature chimique et teneur extrêmement variables d'une espèce à l'autre.



Figure 24: Dosage des polyphénols totaux

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin–Ciocalteu est le plus utilisé [118].

Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross (en 1965) avec le réactif de folin–Ciocateu [119]. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée, qui passe par une absorption maximale aux environs des 765nm permettant de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage à partir des concentrations connues.

Protocole expérimentale

Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (0-300 μ g/ml), dont la structure est représentée sur la figure 26. 100 μ l de chaque solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau distillée). Après incubation pendant 2 minutes, 2 ml de carbonates de sodium à 20% ont été ajoutés, les solutions ainsi obtenues ont été secouées immédiatement et maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas d'acide gallique (l'extrait phénolique). Les densités optiques des solutions préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. L'analyse quantitative des polyphénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée par la même procédure. Toutes les mesures sont réalisées en duplicata.

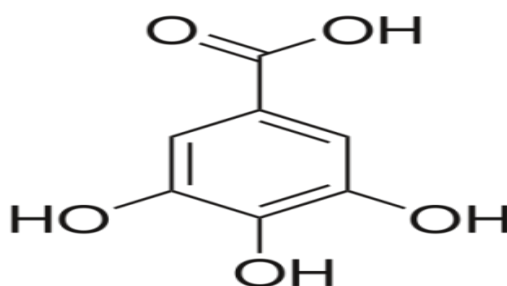


Figure 25: Structure de l'Acide Gallique

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir des droites d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme $Abs = a \times [AG] + b$. Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent en acide gallique par gramme d'extrait sec ou de matière sèche « a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine du droite étalon.

7.2. Dosage des flavonoïdes des extraits organique (phénolique)(TFC)

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude ($NaOH$) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits [120,121]. Le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe (jaune) très stable avec les groupements hydroxydes OH des flavonoïdes et la soude ($NaOH$) forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible a 510 nm.

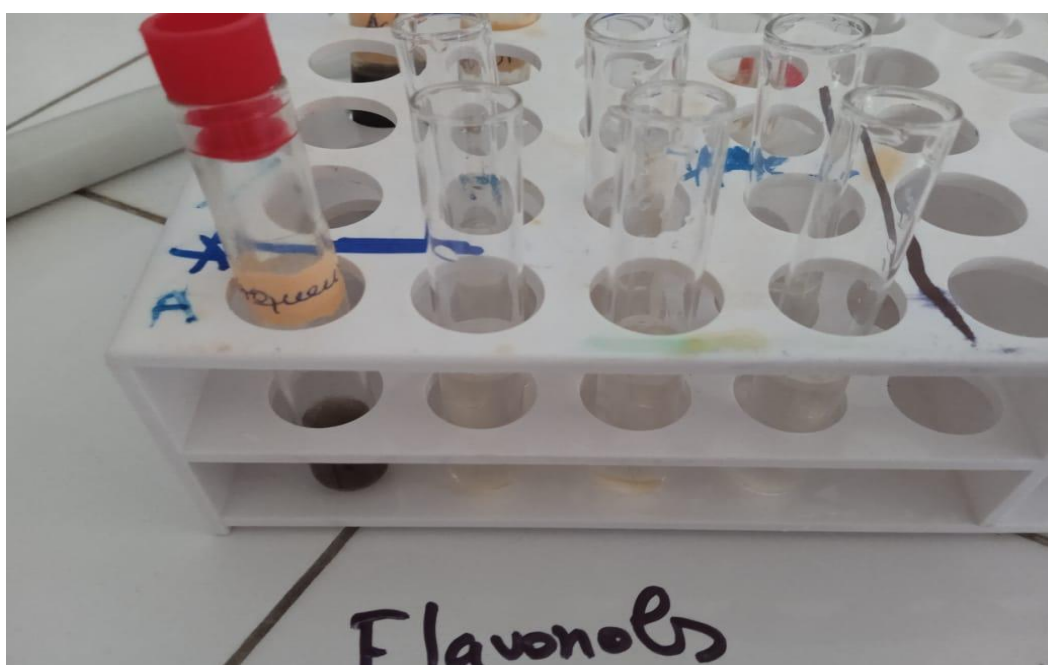


Figure 26: Dosage des flavonoïdes des extraits organique (phénolique)



Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes rosâtres par chélation des métaux (fer et aluminium), ce complexe rose absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 510 nm. Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir avec deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons [122].

Protocole expérimentale

L'extrait convenablement dilué (1 mL) ou la solution du composé étalon (figure 27), quercétine (12, 25, 50, 75, 100 mg /L) est introduit dans une fiole jaugée de 10 mL contenant au préalable 4 mL d'eau distillée. A l'instant $t = 0$ on y introduit 0,3 mL de NaNO_2 à 5 % (P/v). Après 5 minutes, on ajoute 0,3 mL d' AlCl_3 à 10 %, 6 minutes après, 2 mL de NaOH à 1M a été ajouté. Immédiatement le mélange réactionnel est dilué avec 2,4 mL d'eau distillée et est agité vigoureusement. Après 15 min d'incubation, l'absorbance est lue à 510 nm.

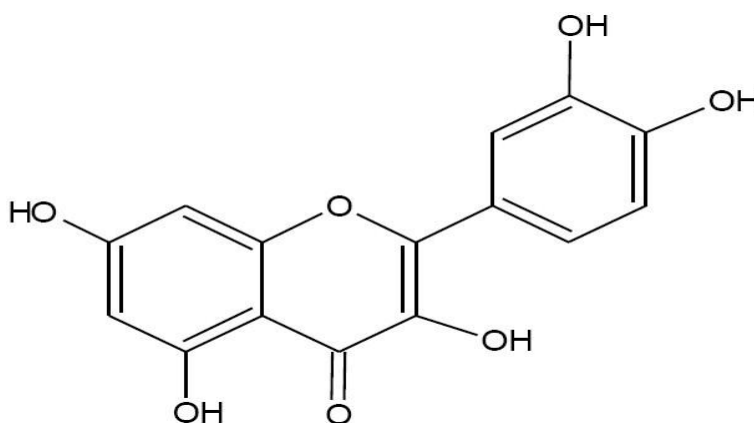


Figure 27: Structure de la Quercétine

L'absorbance de la solution rose est déterminée à 510 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Varian Cary 50 Scan UV-Visible. La teneur en flavonoïdes totaux de différentes plantes est exprimée en équivalents de mg de quercétine (mg QE) par gramme d'extrait. Tous les essais sont reproduits au moins deux fois.

7.4. Teneur totale en tanins condensés des extraits organique (phénolique)(TTC)

L'analyse des TTC (proanthocyanidines) a été effectuée par la méthode décrite par sun et al. [123]. Une portion (50 ml) d'extraits appropriés (50-600 ug / ml) a été ajoutée à 3 ml de solution de vanilline méthanolique à 4% et 1,5 de H_2SO_4 . Après 15 minutes, l'absorbance a été lue à 500 nm. Le TTC a été exprimé en mg d'équivalent catéchines (CE) pour 1 gramme de masse sèche de matériel végétal (mg CE / 1 g de masse sèche de matériel végétal). La courbe d'étalonnage pour les catéchines était comprise entre 50 et 600 μg / mL.

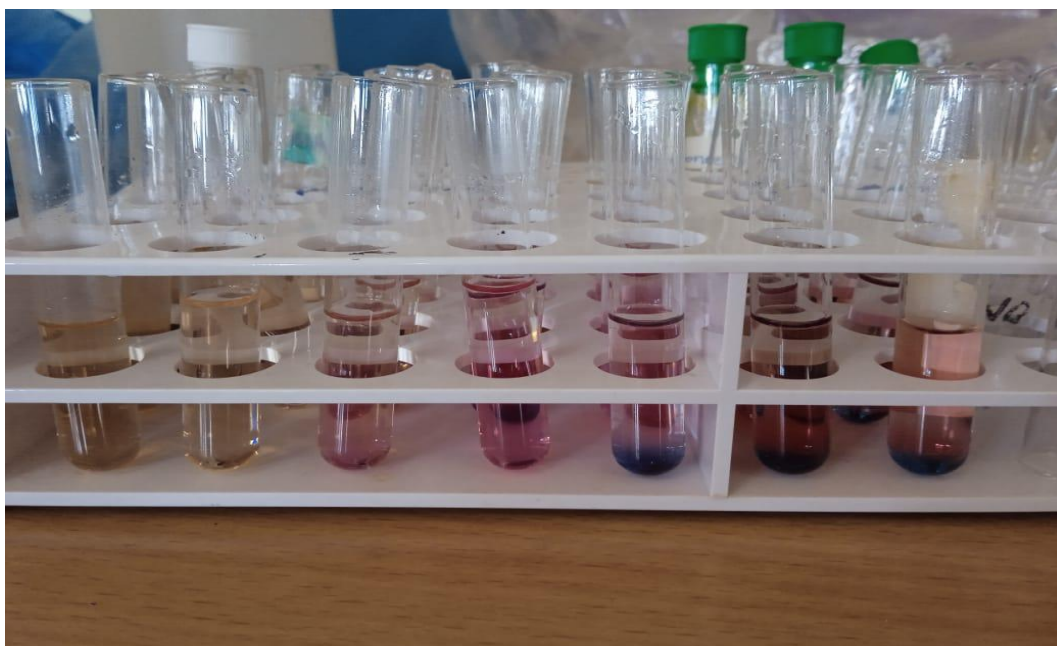


Figure 28: Dosage des tannins par vanilline

7.5. Dosage des sucres totaux des extraits organique (phénolique)(TSC)

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol / acide sulfurique [124]. Cette dernière nécessite une hydrolyse acide qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans le polyside. Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. A ce moment- là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange, leur apparition est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490nm. La teneur des sucres est exprimée en $\mu\text{g} / \text{ml}$ (convertie en grammes / litre) de α D (+) Glucose à partir d'une courbe d'étalonnage. On additionne à 0,5 g d'échantillon, 20 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4); puis on place l'ensemble dans une étuve réglée à 105°C pendant 3 heures ; on transverse la solution dans une fiole de 500ml tout en ajustant le volume par de l'eau distillée jusqu'à 500ml ; on filtre la solution puis on réalise trois dilutions au 1/3. Dans des tubes, on met 1ml de chaque dilution, ensuite on ajoute dans chaque tube 1ml de phénol à 5 % et 5ml d'acide sulfurique H_2SO_4 à 98 % ; les tubes sont maintenus dans l'étuve pendant 5 minutes à 105°C , puis laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes. Enfin, à l'aide d'un spectrophotomètre, on lit la densité optique à une longueur d'onde de 490 nm. En parallèle, on trace la courbe d'étalonnage avec de D (+) Glucose.

7.6 Détermination de la teneur en pigments (chlorophylle et en caroténoïdes) de l'huile végétale d'*Opuntia ficus-indica* .

Les pigments comprennent la chlorophylle et les caroténoïdes. Le protocole décrit par Pokorny et al.[125] a été adopté pour estimer la teneur en chlorophylle. La mesure d'absorbance des échantillons d'huile a été réalisée à des longueurs d'onde de 630, 670 et 710 nm. Le tétrachlorure de carbone a été utilisé comme témoin. Les teneurs en chlorophylles ont été déterminées en utilisant la formule suivante :

$$C \text{ (mg / Kg)} = [(Abs_{670} - (Abs_{630} + Abs_{710}) / 2) * 345,3] / L \textbf{(6)}$$

C: teneur en chlorophylle exprimée en mg de chlorophylle / kg d'huile;

Abs: absorbance à la longueur d'onde respective (nm);

L: l'épaisseur de la cellule du spectrophotomètre (mm).

La teneur totale en caroténoïdes a été déterminée à 472 nm dans le cyclohexane en utilisant la valeur d'extinction spécifique selon la méthode colorimétrique décrite par Salvador et al.[19]. Les données ont été obtenues pour la détermination des pigments en effectuant une analyse réalisée en triple. Les résultats ont été exprimés en mg / kg

7.7. Détermination des composés phénoliques totaux de l'huile végétale d'Opuntia ficus-indica

L'extraction des composés phénoliques de l'huile des graines a été réalisée par la méthode d'Owen et al. [267]. En bref, 2 g de chaque échantillon d'huile a été extrait trois fois avec 10 ml la solution du méthanol : solution aqueuse (8: 2), après vortex pendant 2 minutes et centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes a chaque extraction. Les extraits méthanoliques ont été réunis puis lavés trois fois avec 10 ml de n-hexane pour éliminer les lipides. La fraction méthanolique a été séparée et évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif à pression réduite, et le résidu sec est utilisé pour le dosage colorimétrique et activité antioxydante. Le dosage du contenu phénolique totaux a été réalisé en utilisant la méthode colorimétrique (Folin–Ciocalteu) [127]. 500 µl de la solution a été mélangé avec 2500 µl de réactif Folin – Ciocalteu dans de l'eau distillée (1:10) et après, 4000 µl de Na₂CO₃ (7,5%, w / v) a été ajouté. Après 30 minutes d'incubation dans un bain-marie à 45 ° C, l'absorbance est mesurée à 765 nm et comparé à un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique sur une gamme de concentration de 0 à 300 mg / mL. Les valeurs de contenu phénolique ont été exprimées en acide gallique équivalent (mg GAE / g d'extrait d'huile).

8. Evaluation de l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne

8.1. Evaluation du pouvoir antioxydant in vitro

A travers notre étude bibliographique, il apparaît clairement qu'une seule méthode ne suffit pas ni pour caractériser les propensions antioxydants in vitro et in vivo, et ni à donner une prévision complète de l'efficacité antioxydante. L'utilisation de plus d'une méthode est donc nécessaire et nous avons choisi le test du 2,2-diphényl picrylhydrazyl (DPPH), FRAP et le test de l'acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) pour leur facilité de mise en œuvre afin d'évaluer l'activité antioxydante de nos extraits; ceci nous permettra de mieux généraliser les résultats.

■ Test Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) des extraits organique (phénolique).

• Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm [128]. En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle radical) (figure 29) de couleur violette se réduit en un produit jaune DPPHH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) [129]. La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits [130]. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non coûteux.

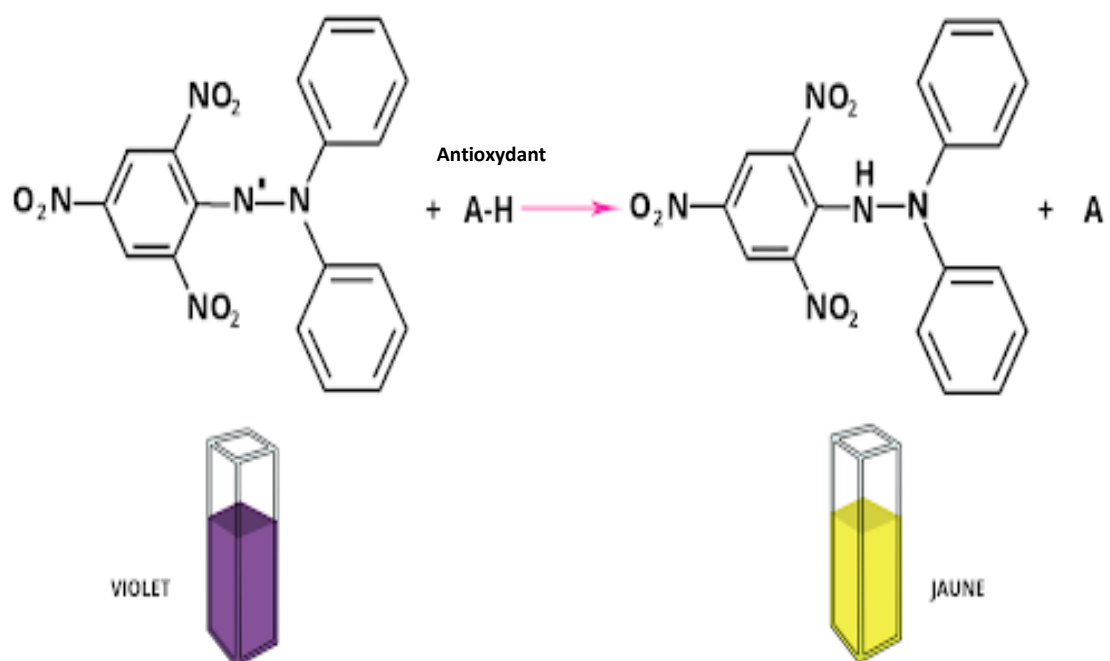


Figure 29: Réduction du radical DPPH

- **Protocole expérimentale**

Le DPPH est solubilisé dans le méthanol pour avoir une solution de 0,2mM. Dans des tubes, on introduit 2,5 ml de chaque extrait (0,1mg/ml dans le méthanol) et on ajoute 1ml de la solution méthanolique au DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique au DPPH et de 2,5 ml de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard l'acide ascorbique.

- **Détermination du pourcentage de neutralisation**

Les résultats d'activité antioxydante sont calculés en pourcentages de neutralisation des radicaux libres (I %) en utilisant la formule 7: [24]

$$I \% = [1 - (\text{Abs}_{\text{Echantillon}} - \text{Abs}_{\text{Contrôle négatif}})] \times 100 \text{ (7)}$$

Où % : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire ;

Abs_{Echantillon} : Absorbance de l'échantillon ;

Abs_{Contrôle négatif} : Absorbance du contrôle négatif

Les concentrations en huile essentielle et en AA, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'indice d'IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du DPPH initiale à 50%.

Test de l'ABTS(2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6 sulphonate) pour les extraits organique (phénolique).

L'extrait de plante est mis en contact avec les radicaux libres d'ABTS préformés et l'absorbance est lue avec un spectrophotomètre à 734 nm.

- **Principe**

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS^{•+}, (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique), qui présente un spectre d'absorption dans le visible avec trois maxima à 645, 734 et 815 nm. Le radical est formé

par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le dioxyde de manganèse, le peroxyde d'oxygène ou le persulfate de potassium. Le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de coloration bleue à vert (absorbant à 734 nm) est formé par arrachement d'un électron e^- à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de Trolox (ou d'antioxydant donneur de $\text{H}^\bullet$), le radical d'azote concerné piège un $\text{H}^\bullet$, conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution (figure 30).

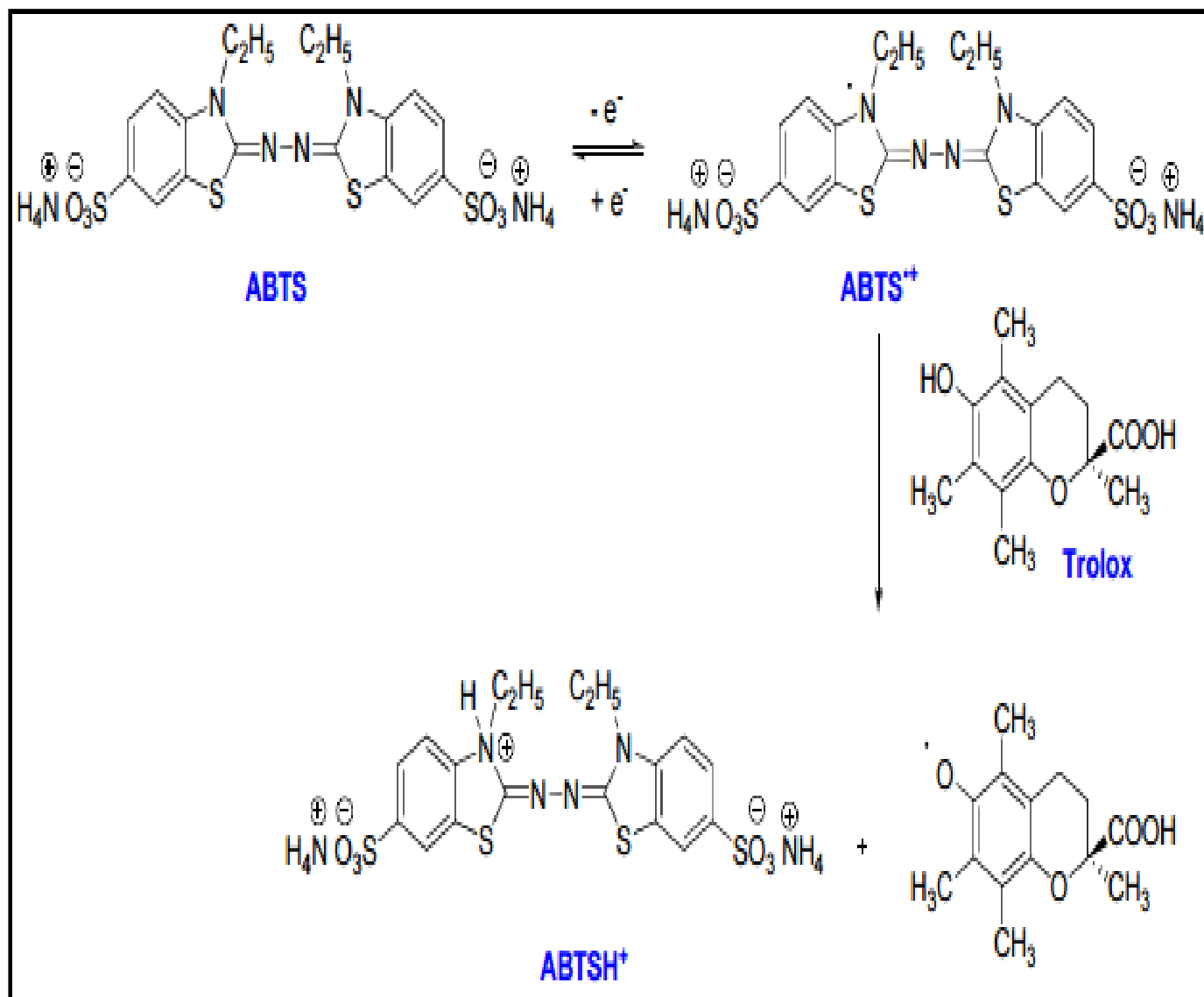


Figure 30: Formation et piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de $\text{H}^\bullet$

Par ce test, à un temps de réaction donné (4 à 6 minutes), nous déterminons un pourcentage d'inhibition à 734 nm (correspondant à une diminution de la coloration de la solution) en fonction de la concentration en agent réducteur.

- **Protocole expérimentale**

La solution de travail a été préparée en mélangeant deux solutions de réserve, une solution de l'ABTS (2 mM) et une solution de persulfate de potassium 70 mM (v/v) et on laisse réagir le mélange pendant 24 h à température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance de la solution obtenue (bleu – vert) est ajustée à $0,650 \pm 0,020$ à 734 nm [132]. L'extrait de plante (20 μ L) est ajouté à 980 μ L de la solution radicalaire d'ABTS. Le mélange est incubé à 37°C dans un bain marie à l'abri de la lumière pendant 10 mn. Un contrôle constitué de 20 μ L de MeOH (50%) et de 980 μ L de la solution d'ABTS est lu avant chaque série d'extrait à 734 nm. La capacité antioxydante totale des extraits de plantes ainsi déterminée est exprimée en μ g/ml. La solution radicalaire d'ABTS est préparée fraîchement.

 Réduction du fer: FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) des extraits organique (phénolique).

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} , la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) en couleur bleu vert du fer ferreux (Fe^{2+}), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700nm.

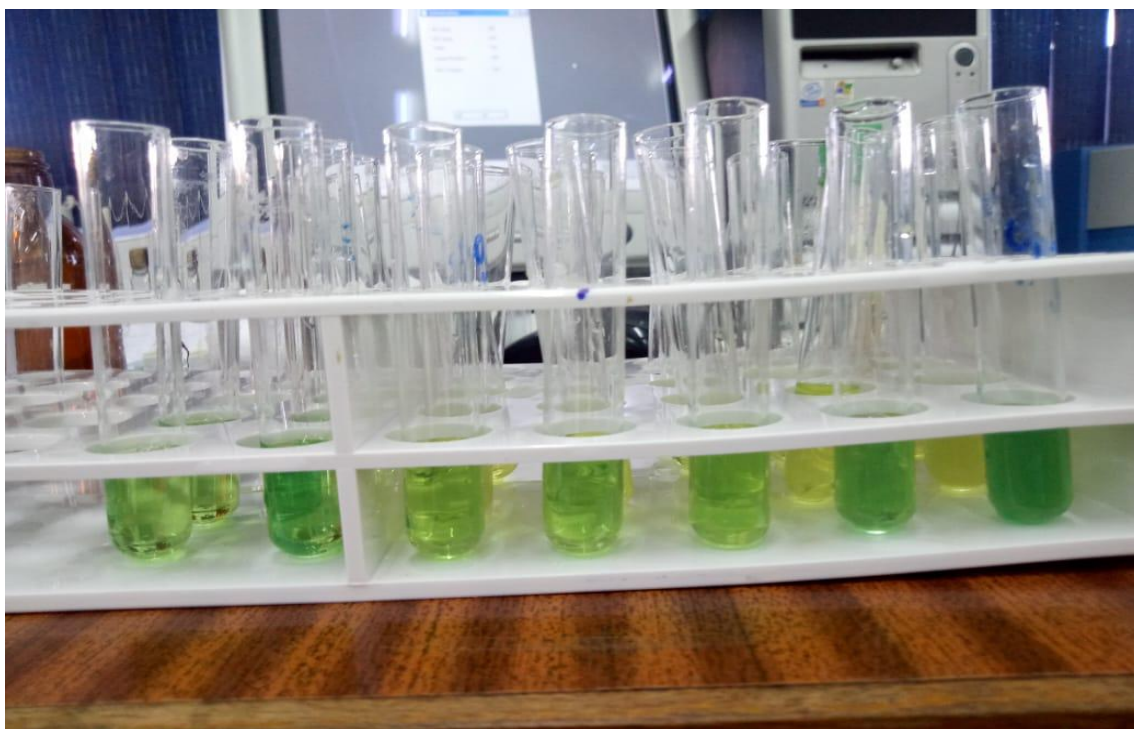


Figure 31:Réduction du fer ferrique en fer ferreux

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim et *al.*[122], en 2001 où: 0.5 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1,25 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000g pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) à 0.1% La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La valeur CE50 (mg / mL) indique la concentration de chaque extrait à laquelle l'absorbance était de 0,5 pour le pouvoir réducteur.



Activité antioxydante par le dosage des radicaux libres DPPH de l'huile végétale d'*Opuntia ficus-indica* .

L'activité antioxydante de l'extrait d'huile de graines méthanoliques a été réalisée par le test DPPH, selon le protocole décrit par Huang et al. [133]. 500 µl d'une solution de DPPH 0,2 mM ont été mélangés avec 2500 µl de la solution extraite. Après, le mélange est laissé dans l'obscurité pendant 30 min à 25 ° C et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH L'absorbance a été lue à 517 nm. L'activité antioxydante a été obtenue par l'équation 7.

8.2. Activité antidiabétique de l'huile végétale d'*Opuntia ficus-indica* .



Test d'inhibition de l' α -glucosidase

L'activité inhibitrice de l' α -glucosidase a été réalisée dans du PBS (0,1 M; pH 6,7), en utilisant le p-nitrophényl- α -D-glucopyranoside (pNPG) comme substrat, selon la méthode décrite par Fettach et al[134]. Les échantillons ont été préparés en dissolvant tous les extraits dans 0,1% de DMSO et dilués dans du PBS à une série de concentrations différentes. En bref, un mélange de 150 µl de l'échantillon à tester et 100 µl de PBS contenant la solution d'enzyme α -glucosidase de levure de boulanger (0,1 U / ml) ont été incubés à 37 ° C pendant 10 min. Ensuite, 200 µl de pNPG (1 mM) ont été ajoutés au mélange pour initier la réaction. Après incubation à 37 ° C pendant 30 min, 1 ml de Na_2CO_3 (0,1 M) a été ajouté pour arrêter la réaction et l'absorbance a été mesurée à 405 nm. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition et calculés à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(1 - (A \text{ échantillon} - A_b \text{ blanc})) / (A \text{ control} - A_b \text{ témoin})] * 100 \quad (8)$$

Où A contrôle fait référence à l'absorbance du contrôle (enzyme et tampon); Un témoin b fait référence à l'absorbance du blanc témoin (tampon sans enzyme); Un échantillon fait référence à l'absorbance de l'échantillon (enzyme et inhibiteur); et l'échantillon Ab est l'absorbance du blanc d'échantillon (inhibiteur sans enzyme). L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif.

Test d'inhibition de l' α -amylase

Le test d'inhibition de l' α -amylase a été réalisé selon le protocole de Fettach et al[134]., avec quelques modifications. Au début, le substrat a été préparé en dissolvant 200 mg d'amidon dans 25 ml d'hydroxyde de sodium (0,4 M) avec chauffage à 80 ° C pendant 5 min. Après refroidissement, le pH a été ajusté à $7,0 \pm 0,1$ et le volume final a été complété à 100 ml avec de l'eau distillée. Des échantillons de solution à des concentrations variables (150 μ L) ont été mélangés avec 500 μ L de PBS 0,02 M (pH 6,9, NaCl 0,006 M) contenant l'enzyme α -amylase pancréatique humaine (1,5 U / mL) et incubés pendant 10 min à 37 ° C. De l'amidon soluble (0,2%, PBS 0,02 M, pH 6,9, NaCl 0,006 M) a été ajouté au mélange et incubé à 37 ° C pendant 10 min. La réaction a été arrêtée en ajoutant 250 μ L de HCl (1 M), suivi par l'addition de 300 μ L de réactif iode (5 mM), et l'absorbance a été mesurée à 630 nm. L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été exprimée en pourcentage d'inhibition. L'acarbose a été utilisé comme contrôle positif.

8.3.Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile végétale d'*Opuntia ficus-indica* .

Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans les essais antibactériens sont des souches de référence ATCC : les bactéries à Gram-sont : *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* K12, et *Pseudomonas aeruginosa* et les bactéries à Gram⁺ sont: *Staphylococcus aureus* CECT 976 P, *Bacillus subtilis* DSM 6633 P, et *Listeria innocua* . Elles sont entretenues par repiquage sur des milieux favorables à leur croissance.

Les milieux de culture

Le milieu utilisé pour l'étude de la sensibilité bactérienne aux huiles testées et pour l'entretien des souches est : le milieu BreatHeart Infusion (BHI), ce milieu est standardisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. La composition de ce milieu est décrite ci-dessous :

Protéose peptone 10 g; Phosphate dissodique 2,5 g
Infusion de cervelle de veau 125 g; Eau distillée 1000 ml
pH finale 7,4 ; Infusion de cœur de bœuf 5 g

Préparation de l'inoculum

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures bactériennes en phase de croissance exponentielle (jeune culture de 18 à 24 heures).

a) La culture des souches bactériennes est assurée par ensemencement de la bactérie dans le bouillon Brain Heart Infusion (BHI) et incubation à 37°C pendant 24h dans l'étuve. Celle-ci est repiquée dans un bouillon (BHI).

On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester, ses dernières sont déchargées dans 5 ml d'eau physiologique (9%) stérile. Les tubes sont agités pendant 5 secondes à l'aide d'un agitateur électrique (Vortex). La densité de la suspension bactérienne doit être équivalente au standard 0,5 de Mac Farland ($1,5 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{ml}^{-1}$) ou à une densité optique (DO) de 0,08 à 0,10 à 625 nm [135]. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ou bien de la culture s'il est trop faible. Cette solution représente l'inoculum bactérien qui sera utilisé pour toute l'étude.

Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur microplaque

• ***Méthode de micro dilution***

Les CMI sont déterminées par la méthode standardisée de micro-dilution en milieu liquide selon la méthode de Carson et al. (1995) [136]. La dilution de l'huile végétale est réalisée dans le DMSO à 10%, la première concentration étant 100 mg/ml pour l'huile. Les dilutions d'échantillons ont été distribuées dans les cupules en partant de la concentration la plus forte (100 mg/ml) dans le puits numéro 1 à la plus faible (0.39 mg/ml) dans le puits numéro 9, le puits numéro 10 est utilisé pour le contrôle de stérilité, le puits numéro 11 comme contrôle positif, et le puits numéro 12 comme contrôle de l'effet de DMSO. Les microplaques sont incubées 24h à 37°C et en ajoutant 20 µl de Triphényltétrazolium Chloride (TTC) d'une concentration de 5 mg/ml, la lecture des résultats est après incubation à 37°C pendant 2 heures à 4 heures. La CMI correspond à la première dilution où la croissance est négative (pas de culture visible).



Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) sur milieu solide

La CMB est définie comme la concentration la plus faible du produit qui détruit 99,9% des microorganismes. La suspension des cupules correspondant à la CMI et celles ayant des concentrations supérieures à la CMI sont inoculés sur gélose pour déterminé la CMB. Un échantillon de 20µL de chaque puits va être transférés dans des boites de Pétri contenant du milieu (MHA). Après incubation pendant 24 heures à l'étuve à 37 °C. La CMB correspond à la concentration de l'huile dont la boite contienne un nombre de colonies inférieur à 3.

Chapitre II. Méthodes de simulations et Outils informatiques pour la modélisation

Dans ce chapitre, nous avons décrit la méthode utilisée pour construire un plan expérience afin d'établir une matrice d'expérience pour optimiser le processus de la torréfaction des graines d'*Opuntia ficus indica*. Également, nous avons décrit avec précision toutes les méthodes d'assimilation théoriques (Docking, ADMET, et PASS) pour prédire l'affinité d'un ligand (les constituants majeurs de l'huile végétale) pour une protéine (ou enzyme). Ensuite, nous avons expliqué les méthodes statistiques (PCA, HCA HCA ANOVA) utilisées dans ce travail pour le traitement des données.

1. Préparation des extraits d'après le plan expérimental utilisé

Un plan d'expérience constitue une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manières efficaces et économique. La méthodologie des plans d'expériences est basée sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats. L'intérêt majeur des plans d'expérience réside dans le fait qu'ils permettent d'optimiser le nombre d'expérimentations à réaliser lors de la phase d'essais, en déterminant au préalable les réels facteurs ou combinaisons de facteurs influents sur la réponse du système à étudier[137]. Dans ce travail, nous avons utilisé Box-Behnken Design (BBD); cette technique consiste 15 essais (tableau 16) .Elle a été utilisée pour l'optimisation des conditions de torréfaction et des facteurs d'extraction. Trois facteurs (variables indépendantes) ont été optimisés, à savoir la température de torréfaction(X1), le temps de torréfaction(X2) et le temps d'extraction(X3). Ces facteurs avaient 3 niveaux (-1,0, + 1), respectivement inférieurs, moyens et supérieurs, ainsi que le choix des facteurs et leurs niveaux ont été décrits avec précision dans **le chapitre II (Partie : III)**. Le tableau 9 présente les domaines de variation et les niveaux codés des trois variables. Les teneurs en composés bioactifs (TPC, TTC, TFC, et TSC), et la capacité antioxydante par les dosages ABTS et DPPH ont été sélectionnés comme les réponses de la conception du modèle (Y) de ce travail, et ils sont mentionnés dans le tableau 16.

Table 9 :Niveaux des facteurs de torréfaction par BBD

Processus d'extraction	Variables indépendantes	Niveau		
		(-1)	(0)	(+1)
soxhlet	X ₁ température de torréfaction (°C)	60	130	200
	X ₂ temps de torréfaction (min)	10	30	50
	X ₃ temps d'extraction (h)	3	4.5	6

Les coefficients de régression (β) ont été générés par l'ajustement des résultats expérimentaux à un modèle polynomial du second ordre. Le modèle polynomial du second ordre pour l'analyse de surface de réponse a été présenté comme suit [138]:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (9)$$

Où Y est la réponse prédite, ainsi que X_i et X_j étaient les variables indépendantes. De plus, β_0 , β_i , β_{ii} et β_{ij} étaient respectivement le coefficient de régression du mode (effet constant, linéaire, quadratique et interactif). De plus, l'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour obtenir ces coefficients de régression à l'aide de JMP11 (SW) Logiciel.

La valeur p du modèle, la valeur p du manque d'ajustement, le coefficient de détermination (R^2) et le coefficient d'ajustement (R^{2adj}) ont été utilisés pour estimer l'adéquation de l'équation polynomiale de la réponse. La fonction de désirabilité a été utilisée pour la prédiction multi-réponses [131]. La signification de tous les termes des modèles a été considérée comme statistiquement différente lorsque la valeur p < 0,05. Les graphes de surface (3D) ont été visualisés par le logiciel JMP 11 (SW) [139].

2. Docking moléculaire

Le Docking moléculaire est une méthode empirique qui permet de prédire l'affinité entre deux molécules. Il est généralement utilisé pour prédire l'affinité d'un ligand (dans ce cas sont les constituants majeurs) pour une protéine, entre autres, la position et l'orientation la plus favorable pour un ligand venant en interaction avec une protéine cible. Cet outil est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une

forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes. D'autres parts, lorsque la structure tridimensionnelle d'une protéine cible est définie, le Docking permet de mettre en évidence les régions et les résidus (les acides aminés) à explorer pour optimiser l'affinité d'un ligand avec cette cible. Le principe général est, considérant une cible de géométrie donnée, d'essayer de placer le ligand en interaction avec la protéine de la façon la plus favorable possible pour les activités antioxydante, antidiabétique (*' α -glucosidase*, *α -amylase*), et antibactériennes. le Docking moléculaire a été réalisé à l'aide d'AutodockVina [138], pour les six molécules majeures de notre huile végétale qui sont : β -sitostérol, campestérol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique et acide palmitique. Afin de comprendre le mode et le mécanisme d'interaction, l'évaluation de la capacité d'un programme à faire ce travail est généralement jugée au moyen de la déviation quadratique moyenne (RMSD) du modèle conçu par le logiciel par rapport à la structure du cristal, la prédiction est acceptable si la valeur ne dépasse pas 2 angströms [141]. Les structures cristallines protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) (PDB ID: 1HD2), l' α -amylase pancréatique humaine (PDB ID: 1B2Y) , l' α -glucosidase (PDB ID: 3W37) complexée avec l'inhibiteur des glucides (acarbose) , et caroténoïde C (30) Déhydrosqualène synthase complexée avec BPH-673 (PDB ID: 3ACX) ont été utilisées comme enzyme cible respectivement pour les activités : antioxydante, l' α -amylas , l' α -glucosidase, , et antibactériennes. Les structures cristallines tridimensionnelles ont été extraites de la Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Le prétraitement des structures cristallines cibles a été réalisé en utilisant PYMOL [142] (<http://www.pymol.org>), pour l'élimination des molécules d'eau, des hétéroatomes, des ions et des ligands d'origine dans la structure cristalline

3. Analyse en composantes principales (ACP)

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) est une méthode très efficace pour l'analyse de données quantitatives (continues ou discrètes) se présentant sous la forme de tableaux à M observations / N variables. Cette technique permet de :

- ✚ Visualiser et analyser rapidement les corrélations entre les variables.
- ✚ L'analyse en Composantes Principales utilise une matrice indiquant le degré de similarité entre les variables pour calculer des matrices permettant la projection des variables dans le nouvel espace. Il est commun d'utiliser comme indice de similarité le coefficient de corrélation

de Pearson. La corrélation de Pearson présente l'avantage de donner des matrices semi-définies positives dont les propriétés sont utilisées en Analyse en Composantes Principales.

✚ Visualiser et analyser les observations initialement décrites par les variables sur un graphique à deux ou trois dimensions, construit de manière à ce que la dispersion entre les données soit aussi bien préservée que possible [143].

Dans de ce travail, l'analyse en composantes principales vise à établir l'apparition d'une corrélation entre toutes les variables utilisées pour évaluer la capacité antioxydante de tous les échantillons de deux cultivars de figuier de Barbarie d'une part, et entre la composition chimique des différents extraits de cette étude et leur activité antioxydante. L'analyse des composants principaux a été réalisée sur les résultats des teneurs des composés bioactifs (TPC, TFC, TTC, et TSC) et de la capacité antioxydante par les trois essais FRAPS, ABTS et DPPH, qui sont exprimés comme des variables pour les extraits des deux cultivars de figues de barbarie. Cette méthode aide à l'interprétation des résultats, elle a permis d'expliquer l'avantage de la variation de la capacité antioxydante, due à la nature du cultivar, à la partie des plantes utilisées, et à la région géographique, ainsi elle va étudier l'apparition d'une corrélation entre les teneur en composés antioxydants et la capacité antioxydante.

4. Matrice de corrélation

L'objectif est d'étudier les corrélations entre les variables quantitatives discrètes qui sont les teneurs en composés bioactifs (TPC, TFC, TTC, TSC), et le pouvoir antioxydant (DPPH, ABTS, et FRAP). Cette technique permet de donner un coefficient de corrélation de Pearson. Ce coefficient de corrélation mesure la force de la liaison (positive ou négative) qui peut exister entre deux variables quantitatives discrètes. Ainsi que nous testerons la significativité des corrélations. Cette technique permet de donner une matrice de corrélation qui peut visualiser l'ensemble de coefficients de corrélations sous forme d'une matrice. Les coefficients de corrélation varient entre -1 et 1. Une valeur positive indique une corrélation positive. Une valeur négative reflète une corrélation négative. Une valeur proche de zéro reflète l'absence d'une corrélation linéaire. La significativité des corrélations a été testée par une p-value calculée pour un coefficient de corrélation [143].

5. Principes de la classification ascendante hiérarchique (HCA)

La classification ascendante hiérarchique (HCA) est une méthode de classification qui présente les avantages suivants : elle se base sur les dissimilarités entre les objets (échantillons) que l'on veut regrouper. L'un des résultats est le dendrogramme, qui permet de visualiser le regroupement progressif des données. On peut alors se faire une idée d'un nombre adéquat de classes, dans lesquelles les données peuvent être regroupées. Dans notre cas on a 3 classes et les valeurs moyennes des variables pour chaque classe [143]. De plus, les similitudes entre les extraits analysés ne sont représentées sous forme de dendrogrammes générés par le logiciel XLSTAT 2014. Les distances entre les extraits ont été calculées en utilisant des distances euclidiennes carrées. Cette technique utilise une approche d'analyse de la variance pour évaluer les distances entre les clusters [144].

6. Prédiction des propriétés pharmacocinétiques et pharmacologiques des composés majeurs de l'huile végétale (ADMET)

Dans cette partie, nous avons fait la prévision des propriétés pharmacocinétiques et du type médicamenteux des composés majeurs de cette huile végétale ((β -sitostérol, campestérol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique et acide palmitique). un médicament oralement idéal est celui qui est rapidement et complètement absorbé, distribué, métabolisé et correctement éliminé sans causer de dommages. Par conséquent, la prédiction *in silico* des propriétés de l'ADMET, à savoir l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) est un moyen important de sélectionner des molécules prometteuses en termes de propriétés pharmacocinétiques en tant que candidat-médicament. Cette méthode comprend plusieurs paramètres importants à savoir : La Règle des cinq de Lipinski est une règle formulée par Christopher A. Lipinski en 1997, sur la base de l'observation que la plupart des médicaments administrés par voie orale sont des molécules relativement petites et modérément lipophiles. Dans laquelle un médicament oralement actif ne présente pas plus d'une violation des critères suivants: Pas plus de 5 liaison hydrogène donneurs (le nombre total de azote - hydrogène et liaisons oxygène -hydrogène), Pas plus de 10 liaisons hydrogène accepteurs (tous azote ou oxygèneatomes), A masse moléculaire moins de 500 daltons, Un coefficient de partage octanol-eau (log P) qui ne dépasse pas 5. La surface polaire (PSA) est une métrique de chimie médicinale couramment utilisée pour l'optimisation de la capacité d'un médicament à pénétrer les cellules. Les molécules avec une surface polaire supérieure à 140 angströms au carré ont tendance à être

médiocres pour pénétrer les membranes cellulaires. La lipophilie, exprimée par le logarithme du coefficient de partage octanol-eau $\log P$, elle constitue une propriété physico-chimique primordiale importance dans la chimie médicinale et dans la découverte globale de médicaments. La lipophilie d'une molécule est son aptitude à se dissoudre dans une matière grasse. On apprécie la lipophilie d'une molécule ou plutôt sa balance lipophile/hydrophile en exprimant le coefficient de partage P de cette molécule dans un mélange octan-1-ol/eau c'est-à-dire le rapport entre respectivement les concentrations dans l'octan-1-ol et l'eau. Plus $\log(P)$ est élevé et plus la molécule est lipophile. Pour avoir quelque chance de traverser une membrane plasmique par diffusion passive, $\log(P)$ doit être compris entre 1 et 5. La valeur optimale pour une absorption orale étant 1,8. Les scores de biodisponibilité peuvent être définis par la mesure de la proportion de la dose de médicament administrée qui finit dans la circulation sanguine sans subir de métabolisation. La biodisponibilité absolue correspond à la quantité et la vitesse qui caractérise le passage du médicament dans la circulation générale. Le but de cette mesure est d'évaluer la fraction absorbée et l'effet de premier passage. A noter : un médicament administré par voie intraveineuse aura une biodisponibilité absolue de 1 ($F=1$), soit 100 %. Les médicaments administrés par une autre voie ont habituellement une biodisponibilité absolue inférieure à 1[268].

Le sang-cerveau barrière (BBB) Le rôle de la barrière hémato-encéphalique est d'isoler le cerveau des substances indésirables qui peuvent se trouver dans la circulation sanguine, tout en permettant le passage de nutriments indispensables au fonctionnement du cerveau (20 % du métabolisme général de l'organisme), ainsi que l'évacuation des déchets produits par ce fonctionnement. Par conséquent, une attention toute particulière est portée, dans l'anatomie de la barrière hémato-encéphalique, aux éléments constitutifs de l'étanchéité entre le capillaire et l'espace cérébral, ainsi qu'aux éléments susceptibles de transport actif ou passif des matières entre ces deux espaces[268].

La glycoprotéine P est l'un des transporteurs de médicaments qui déterminent l'absorption et l'efflux d'une gamme de médicaments, La glycoprotéine P fonctionne comme une pompe à efflux transmembranaire, pompant ses substrats de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule. Les médicaments qui induisent ou inhibent la glycoprotéine P peuvent interagir avec d'autres médicaments manipulés par la pompe. La glycoprotéine P se trouve dans la membrane apicale (luminale) de tout l'intestin, du duodénum au rectum, avec une forte expression dans les entérocytes de l'intestin grêle. Il réduit la disponibilité orale des médicaments qui sont ses substrats. Comme les enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments, les substrats de

la glycoprotéine P peuvent potentiellement agir comme inhibiteurs ou inducteurs de sa fonction. L'inhibition de la glycoprotéine P peut entraîner une augmentation de la biodisponibilité du médicament sensible. L'induction de la glycoprotéine P réduit la biodisponibilité [268].

Les cytochromes P450 sont des enzymes présentes dans divers tissus et qui interviennent dans le métabolisme de substances endogènes et exogènes, notamment de nombreux médicaments. Quelques isoenzymes assurent le métabolisme de la plupart des médicaments. Ils sont un système complexe d'isoenzymes. Une trentaine de ces isoenzymes ont été identifiées dans l'espèce humaine au niveau du foie et aussi au niveau intestinal. Quatre isoenzymes sont impliquées dans le métabolisme d'environ 90 % des médicaments couramment utilisés. Ces isoenzymes sont désignées en général par les termes CYP 1A2, CYP 2C9, CYP 2D6 et CYP 3A4. Par ailleurs, les cytochromes participent activement à la biotransformation de nombreuses molécules exogènes (dites « xénobiotiques »), contribuant ainsi à la détoxification de l'organisme, mais aussi à celle de nombreux médicaments dans l'organisme. Plus les cytochromes P-450 sont actifs, plus les médicaments sont biotransformés rapidement. La biotransformation abolit ou réduit généralement l'activité des médicaments dont les métabolites sont pharmacologiquement inactifs. Le radar de biodisponibilité est affiché pour une évaluation rapide de la similarité avec le médicament (voir Fig. 3). Six propriétés physicochimiques sont prises en compte : la lipophilie, la taille, la polarité, la solubilité, la flexibilité et la saturation. Une gamme physico-chimique sur chaque axe a été définie par descripteurs adaptés et représentés par une zone rose dans laquelle le tracé radar de la molécule a tomber entièrement pour être considéré comme une drogue. La zone rose représente la plage optimale pour chaque propriété (lipophilie : XLOGP3 entre -0,7 et +5,0, taille : MW entre 150 et 500 g/mol, polarité : TPSA entre 20 et 130Å², solubilité : log S pas supérieur à 6, saturation : fraction de carbones dans l'hybridation sp³ non inférieure à 0,25, et flexibilité : pas plus de 9 liaisons rotatives). Le graphe de l'œuf à la coque (B) permet une évaluation intuitive de l'absorption gastro-intestinale passive (HIA) et de la pénétration cérébrale (BBB) en fonction de la position des molécules dans le référentiel WLOGP-versus-TPSA. La région blanche correspond à une probabilité élevée d'absorption passive par le tractus gastro-intestinal et la région jaune (jaune) correspond à une probabilité élevée de pénétration dans le cerveau. Les zones jaunes et blanches ne s'excluent pas mutuellement. De plus, les points sont colorés en bleu s'ils sont prédits comme activement effluxés par la P-gp (PGP+) et en rouge s'ils sont prédits comme non-substrat de la P-gp (PGP) [268].

Par conséquent, La prédiction des propriétés pharmacocinétiques et de type médicamenteux a été effectuée en évaluant les propriétés des composés (β -sitostérol, campestérol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique et acide palmitique) en termes de descripteurs d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADMET) par des serveur en ligne SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) et pkCSM ([http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm / prediction](http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction)). Les deux serveurs en ligne ont été utilisés pour prédire les propriétés pharmacocinétiques de certains composés (constituants majeurs). L'interface Web conviviale a permis de saisir des structures au format SMILES et après soumission, les résultats ont été donnés dans un tableau de sortie. Selon deux modèles prédictifs utilisés, la solubilité dans l'eau a été donnée comme le logarithme de la concentration molaire ($\log \text{ mol / L}$). Les valeurs de perméabilité Caco-2 ont été données comme le logarithme du coefficient de perméabilité apparente ($\log P_{app}$: $\log \text{ cm / s}$). Les valeurs prédites $> 0,90$ correspondaient à une perméabilité élevée au Caco-2. La perméabilité cutanée a été exprimée comme la constante de perméabilité cutanée ($\log K_p$) où $\log K_p > 2,5$ correspond à une perméabilité cutanée relativement faible. Une absorbance intestinale inférieure à 30% a été considérée comme mal absorbée. Le volume de distribution à l'état d'équilibre (VD_{ss}) était faible si $\log VD_{ss} < 0,15$ et élevé si $\log VD_{ss} > 0,45$. La perméabilité du système nerveux central (SNC) a été exprimée en termes de produit de la perméabilité hémato-encéphalique-surface ($\log PS$) où les composés avec un $\log PS > 2$ étaient considérés comme pénétrant dans le SNC et ceux avec un $\log PS < 3$ étaient considérés comme incapables de pénétrer dans le système nerveux central (SNC). La perméabilité hémato-encéphalique a été mesurée comme $\log BB$ où les molécules avec $\log BB > 0,3$ étaient capables de traverser facilement la barrière hémato-encéphalique et $\log BB < 1$ étaient mal distribuées au cerveau. La clairance du médicament a été mesurée par la constante de proportionnalité (CL_{tot}) et exprimée en $\log (\text{mL / min / kg})$. La dose maximale tolérée recommandée (MRTD) était considérée comme faible si $\log (\text{mg / kg / jour}) < 0,477$ et élevée si $\log (\text{mg / kg / jour}) > 0,477$ [145].

7. Prédiction des spectres d'activité des substances (PASS)

La prédiction PASS a été exécutée sur la plate-forme en ligne librement accessible Pass Online (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline>). De plus, la prédiction des spectres d'activité des

substances (PASS) donne un aperçu des activités ou effets biologiques possibles qui peuvent être mis en évidence par les ligands bioactifs(β -sitostérol, campestérol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique et acide palmitique). Les structures des ligands sélectionnés ont été soumises au format SMILES. Ensuite, les résultats de sortie ont été analysés. Ce serveur Web a estimé le spectre d'activité prédite d'un composé en termes d'activité probable (Pa) et d'inactivité probable (Pi). La prédiction de l'activité est basée sur l'analyse des relations structure-activité de l'ensemble d'apprentissage contenant plus de 300 000 composés présentant plus de 4 000 types d'activités biologiques. Les valeurs de Pa et Pi varient entre 0,000 et 1,000. Seules les activités avec $Pa > Pi$ ont été considérées comme possibles pour un composé particulier. Si $Pa > 0,7$, la probabilité d'action pharmacologique expérimentale est élevée et si $0,5 < Pa < 0,7$, la probabilité d'action pharmacologique expérimentale est moindre. Si la valeur de $Pa < 0,5$, la chance de trouver l'activité expérimentalement est très faible [146]

8. L'analyse des données et logiciels utilisés

Box-Behnken Design (BDD) a été appliqué afin d'optimiser les facteurs de torréfaction et le temps d'extraction des extraits de *graines d'opuntia ficus indica* à l'aide du logiciel JMP 11 (SW). De plus, les corrélations PCA, HCA et Pearson ont été effectuées à l'aide du logiciel XLSTAT 2014. Le logiciel IBM SPSS Statistics 21 a été utilisé pour présenter les résultats en moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne. La signification des résultats utilisés par le test de Tukey à $\alpha = 0,05$.

Partie III : résultats et discussion

Chapitre I. Une étude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés marocains de figuier de barbarie récoltés dans différentes régions

1. Introduction

La figue de barbarie est une espèce adaptée à l'agriculture durable au Maroc en raison de sa résistance à la sécheresse et à la désertification, et bien connue pour son utilisation en agriculture et en alimentation des humains et du bétail [147]. Cette plante est économiquement importante et utilisée dans l'agroalimentaire, la cosmétique et la pharmacie, mais elle est moins exploitée. Diverses recherches ont indiqué que le fruit de figue de barbarie contient des teneurs plus élevées en composés bioactifs qui lui confèrent une valeur nutritionnelle et fonctionnelle, tels que des antioxydants [148-150], en outre, les antioxydants sont des composés bioactifs qui peuvent réduire, retarder ou inhiber l'oxydation d'autres composés même s'ils sont présents à des teneurs très faibles. En conséquence, ils protègent le corps contre les maladies [149]. De plus, leurs extraits ont des composés phénoliques qui comprennent des propriétés antioxydantes qui peuvent protéger la santé des personnes et lutter contre les maladies dégénératives, le diabète, l'artériosclérose, l'hypercholestérolémie ou les maladies cardiovasculaires et gastriques [151]. Pour faire la lumière sur la figue de barbarie, nous avons travaillé sur trois parties de ces deux variétés qui sont les cladodes, les fleurs et les graines. Parmi les différents types de figuier de barbarie, on trouve *Opuntia ficus-indica* (sans épines) et *Opuntia megacantha* (épineux) qui font l'objet de ce chapitre. Cette étude concerne la valorisation phytochimique de deux variétés de figue de Barbarie largement présents dans les différentes régions du Maroc. *Opuntia megacantha* et *Opuntia ficus-indica* ont des formes différentes. Le but de ce travail est d'examiner les teneurs en composés antioxydants et la capacité antioxydante des graines, des cladodes et des fleurs pour les deux variétés récoltées dans quatre régions distinctes. La corrélation entre les composés antioxydants et leur capacité antioxydante a été réalisée par l'analyse en composants principaux (PCA).

2. Rendements et criblage phytochimique des extraits

Les modes opératoires d'extractions et les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante ont été décrits avec précision dans le **Chapitre I (Partie: II)**.



Rendements des extraits phénoliques

Les résultats de rendements sont présentés dans le tableau 10, ils étaient significativement différents ($p < 0,05$). Par ailleurs, la comparaison des rendements des extraits de cladodes, a montré que le meilleur rendement est obtenu par l'extrait (CTT) (17,10%), puis l'extrait (CST) (15,81%), suivi par l'extrait de cladodes de Rabat(CTR) (14,62%), puis l'extrait (CSH) (13,93%). Pour les extraits de fleurs, le grand rendement est enregistré par l'extrait de fleur de Rabat(FTR) (15,84%), suivi par l'extrait (FTT) (15,23%), puis l'extrait (FST) (14,57%), et le rendement le plus faible est observé chez l'extrait de fleur d'Al Hoceima (FSH) (14,37%).

Concernant les extraits de graines, nous avons observé dans le tableau 10, que l'extrait (SST) avait un rendement plus élevé (16,42%), suivi par l'extrait des graines de Taza (STT) (15,44%), puis l'extrait (STR) (13,42%), et le rendement le plus bas de cette étude a été enregistré par l'extrait de graines d'Al Hoceima(SSH) (10,22%).

Tableau 10 : Rendements des extraits pour *Opuntia monacantha* et *Opuntia ficus-indica*

		<i>Extrait</i>	<i>Rendement (%)</i>
<i>Opuntia ficus-indica</i> (sans épines)	Tiznit	Graines (SST)	16.42±0.2 ^{ac}
		Cladodes (CST)	15.81±0.11 ^{ac}
		Fleurs (FST)	14.57±0.42 ^{ac}
	Al Hoceima	Graines (SSH)	10.22±1.02 ^b
		Cladodes (CSH)	13.93±0.97 ^a
		Fleurs (FSH)	14.37±0.3 ^{ac}
<i>Opuntia megacantha</i> (épineuse)	Rabat	Graines (STR)	13.42±0.42 ^a
		Cladodes (CTR)	14.62±1.02 ^{ac}
		Fleurs (FTR)	15.84±0.14 ^{ac}
	Taza	Graines (STT)	15.44±0.31 ^{ac}
		Cladodes (CTT)	17.10±0.10 ^c
		Fleurs (FTT)	15.23±0.22 ^{ac}

Les données sont présentées sous forme de la moyenne de deux répétitions individuelles ($n = 2e \pm SEM$), les moyennes suivies de lettres similaires exposant dans la même colonne ne sont pas différentes ($P < 0,05$).

3. Criblage phytochimique et analyse multifactorielle (AMF)

Les résultats obtenus à partir du criblage phytochimique réalisé sur les extraits des graines, des cladodes et des fleurs de deux variétés étudiés ont été présentés dans le tableau 11. D'une part,

les flavonoïdes, les saponines et les tanins ont été détectés. En revanche, les alcaloïdes n'ont pas été détectés.

Tableau 11 :Résultats du criblage phytochimique d'extraits

<i>Extrait</i>	<i>Flavonoïdes (TF)</i>	<i>Tanins(TT)</i>	<i>Saponines (TS)</i>	<i>Alcaloïdes (TA)</i>
<i>Fleurs(FTR)</i>	++	+	+	—
<i>Fleurs(FTT)</i>	++	++	+	—
<i>Fleurs(FST)</i>	+++	++	+	—
<i>Fleurs(FSH)</i>	+++	+	—	—
<i>Cladodes(CTR)</i>	+	++	+	—
<i>Cladodes(CTT)</i>	+	++	+	—
<i>Cladodes(CST)</i>	++	+	+	—
<i>Cladodes(CSH)</i>	++	++	—	—
<i>Graines (STR)</i>	+	+	—	—
<i>Graines (SSH)</i>	+	+	—	—
<i>Graines (SST)</i>	+	+	—	—
<i>Graines (STT)</i>	+	+	—	—

(+++): Réaction très positive, (++): Réaction moyennement positive, (+):Réaction peu positive, (-): Réaction négative, TF: Test de Flavonoïdes, TT: Test de Tannins, TS: Test de Saponins, TA : Test d'Alcaloïdes

L'analyse multifactorielle (AMF) est une technique utilisée pour étudier la relation entre les modalités ((+++), (++) , (+), (-)) de variables qualitatives (plus de 2 variables) et pour obtenir des résultats notamment sous forme de représentations graphiques.

Dans cette étude, les variables qualitatives sont les tests de criblage phytochimiques (TF, TT, TS et TA). Ainsi que, la figure 32 montre la répartition des résultats (modalités) des variables qualitatives (TF, TT, TS; TA) en trois groupes pour les 12 extraits testés, elle nous permet de collecter tous les résultats d'extraits, afin de fournir des informations résumées sur ces extraits sous forme de groupe.Le groupe I a été composé par les extraits qui ont une réaction modérément positive (++) pour les flavnoides(TF) et une réaction négative (-) pour les alcaloides (TA).Le groupe II est formé par les extraits contenant une réaction très positive (+++) pour les flavnoides (TF) , une réaction moyennement positive (++) pour les tanins(TT)et peu de réaction positive (+) pour les saponainse(TS) .Par ailleurs, le groupe III montre qu'il existe des extraits contenant d'une part une petite réaction positive (+) pourles falvonides (TF),

et les tanins (TT) d'autre part, et une réaction négative (-) pour les saponinase (TS) et les alcaloïdes (TA). Selon le criblage phytochimique, nous avons remarqué que les extraits des fleurs étaient plus riches en flavonoïdes et en tanins que les extraits des cladodes et des graines.

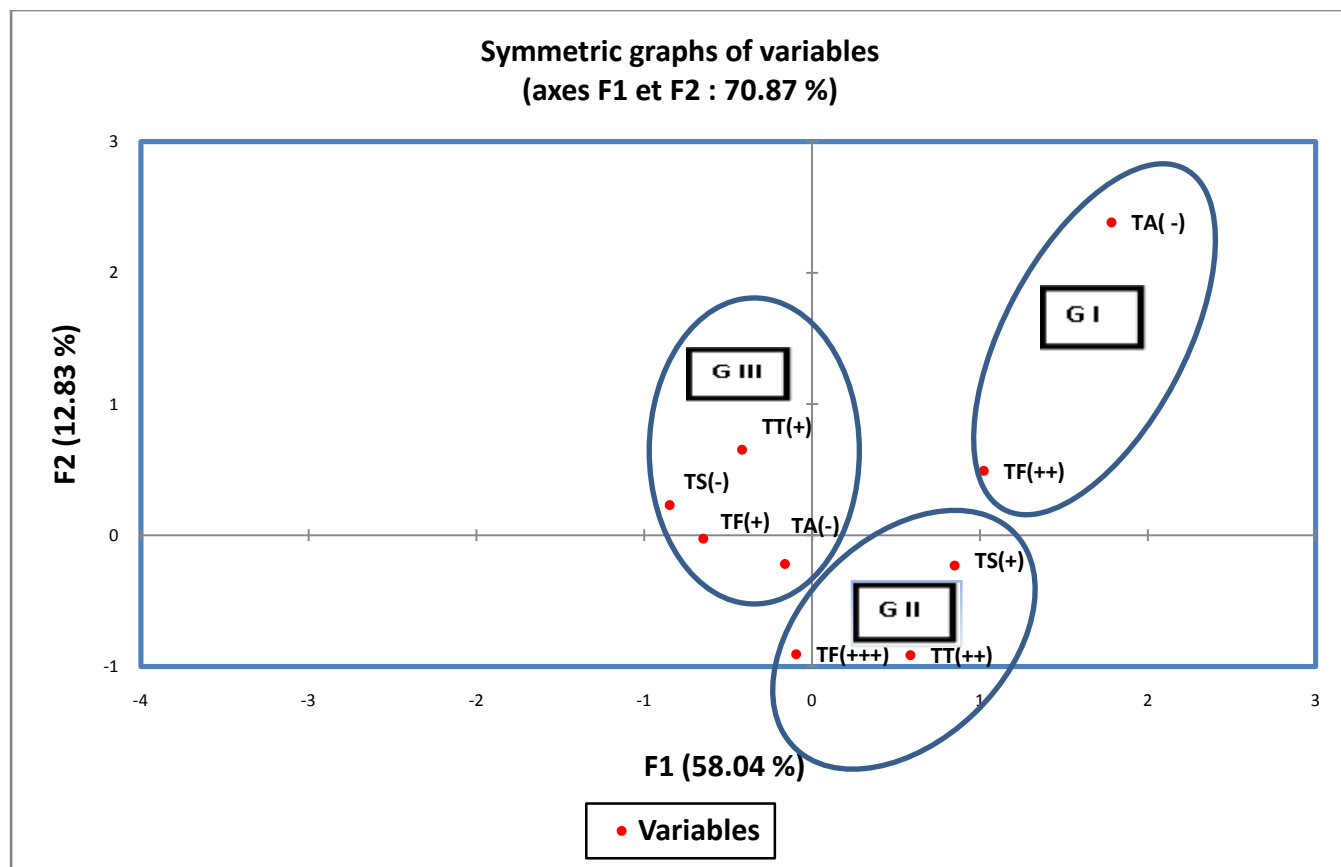


Figure 32 : Résultats d'extraits de cette étude par l'analyse multifactorielle.

4. Teneur en polyphénols totaux (TPC).

Parmi, les composés métaboliques qui se trouvent dans les aliments végétaux, on trouve les polyphénols qui se caractérisent par des propriétés importantes (biologiques et pharmacologiques), qui protègent contre les maladies chroniques. De plus, ils neutralisent les effets des espèces réactives de l'oxygène et ont plus de pouvoir antioxydant que celui des vitamines C [152]. Les teneurs des polyphénols (TPC) pour les extraits étudiés (trois parties) d'*Opuntia ficus indica* (sans épines) et d'*Opuntia megacantha* (épineux) (tableau 12) montrent une différence significative ($p < 0,05$) entre les concentrations en polyphénols. Cette différence statistique peut être attribuée aux conditions environnementales et climatiques.

Tableau 12 : Résultats des teneurs en composés antioxydants de l'*Opuntia ficus indica* (épineux) et de l'*Opuntia megacantha* (épineux).

		Extract	TPC (mgGAE/1g masse sèche)	TFC (mgQE/ masse sèche)	TTC (mgCE/ masse sèche)
<i>Opuntia ficus-indica</i> (spineless)	Tiznit	Graines (SST)	31.03±0.03 ^a	0.53±0.03 ^{af}	0.34±0.08 ^a
		Cladodes (CST)	41.12±0.08 ^b	9,64±0.02 ^b	1.30±0.02 ^{bc}
		Fleurs (FST)	46.71±0.01 ^c	13.33±0.14 ^c	1.09±0.05 ^{be}
	Al Hoceima	Graines (SSH)	16.35±0.12 ^d	0.57±0.1 ^{af}	0.32±0.02 ^a
		Cladodes (CSH)	38,04±0.01 ^e	9.55±0.16 ^b	1.44±0.03 ^c
		Fleurs (FSH)	46.65±0.14 ^c	13.08±0.02 ^{cd}	1.18±0.02 ^b
<i>Opuntia megacantha</i> (thorny)	Rabat	Graines (STR)	22.08±0.05 ^f	0.71±0.02 ^a	0.16±0.01 ^a
		Cladodes (CTR)	35.18±0.03 ^g	6.36±0.05 ^e	1.09±0.06 ^{be}
		Flowers(FTR)	50.01±0.02 ^h	12.9±0.03 ^d	0.86±0.03 ^{df}
	Taza	Graines (STT)	13.51±0.02 ⁱ	0.18±0.01 ^f	0.17±0.02 ^a
		Cladodes (CTT)	34.29±0.03 ^j	6.24±0.03 ^e	0.95±0.02 ^{de}
		Fleurs (FTT)	44.25±0.05 ^k	11.22±0.04 ^g	0.7±0.04 ^f

(mg GAE / 1g masse sèche): milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de masse sèche de matière végétale;(mg QE / 1 g de masse sèche): milligrammes équivalent de quercétine par gramme de masse sèche de matière végétale;(mg CE / 1 g de masse sèche): milligrammes d'équivalent catéchines pour 1 gramme de masse sèche de matière végétale.Les données sont présentées sous la forme de la moyenne de deux répétitions individuelles (n = 2e ± SEM), les moyennes suivies de lettres similaires exposant dans la même colonne ne sont pas différentes (P <0,05).

Les résultats ont révélé que les cladodes sont très riches en composés polyphénols (TPC) (allant de 34,29 ± 0,03 à 41,12 ± 0,08 mg de GAE / 1 g de masse sèche de cladodes) et étaient significativement différents selon le type de la variété. (Tableau 12).

L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* (spineless) de Tiznit (CST), a montré la teneur en polyphénols (TPC) la plus élevée avec 41,12 ± 0,08 mg GAE/1g de masse sèche de cladodes, suivi d'un extrait d'*Opuntia ficus-indica* (spineless) d'Al Hoceima (CSH) avec 38,04 ± 0,01 mg GAE/1g de masse sèche de cladodes, et l'extrait d'*Opuntia megacantha* (épineux) de Rabat (CTR) avec 35,18 ± 0,03 mg GAE / 1g masse sèche de cladodes, tandis que l'extrait d'*Opuntia megacantha* (épineux) de Taza (CTT) contient une faible teneur en polyphénols(TPC) (34,29 ± 0,03 mg de GAE / 1 g de masse sèche de cladodes).On voit clairement que les extraits des cladodes de la variété *Opuntia ficus indica* (sans épines) ont une teneur en polyphénols plus élevée que celles d'*Opuntia megacantha* (épineux).

Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Bouzoubaâ et al. [153], qui ont montré que la variété sans épines a une teneur en polyphénols plus élevée ($337,57 \pm 67,53 \mu\text{g}$ d'acide caféique / g) qu'une variété épineuse ($289,39 \pm 59,10 \mu\text{g}$ d'acide caféique / g). Au contraire, Boutakiout et al. [154] ont montré que le jus extrait des cladodes épineux a une teneur en polyphénols plus élevée ($464,90 \pm 7,42 \mu\text{g}$ d'acide gallique ml⁻¹) que les cladodes sans épines ($455,65 \pm 7,63 \mu\text{g}$ d'acide gallique ml⁻¹). De plus, diverses études ont indiqué que les cladodes sont plus riches en polyphénols (TPC), les résultats rapportés par Lee et al. [155] pour les extraits éthanoliques des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* de l'île de Cheju (Corée du Sud) (variant entre 3,7 et 180,3 mg GAE / 1g extract), et les résultats trouvés par Allali et al. [156] pour l'extrait éthanolique des cladodes d'*Opuntia ficus-indica* de Settât (Maroc) ($111,2 \pm 5,8 \text{ mg}$ d'acide gallique / g d'extrait lyophilisé). De plus, des travaux récents ont montré l'importance des cladodes, comme l'étude réalisée par Blando et al. [157], qui ont montré que l'analyse des extraits de Cladode d'*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill a révélé une teneur en polyphénols beaucoup plus élevée au stade immature de développement ($54,02 \pm 1,62 \text{ GAE}$ / g sec poids) que les cladodes matures ($18,63 \pm 0,94 \text{ GAE}$ / g de poids sec). Ensuite, Izuegbuna et al [158], ont indiqué que les rendements de la teneur en polyphénols des extraits de cladode d'*Opuntia stricta* à différents solvants étaient respectivement de 101,81 mg / g, 82,54 mg / g, 54,98 mg d'équivalent GAE par gramme d'extrait séché pour les extraits d'acétone, d'aqueux et d'éthanol. En outre, Aruwa et al [159] ont rapporté que la teneur en polyphénols (TPC) pour l'extrait méthanolique d'*Opuntia ficus-indica* était de $8,61 \pm 1,21 \text{ mg GAE lyophilisé} / \text{g}$.

Concernant les extraits des fleurs, le contenu phénolique (TPC) total variait entre $44,25 \pm 0,05$ et $50,01 \pm 0,02 \text{ mg GAE} / 1 \text{ g}$ de masse sèche de fleurs. À partir ces résultats, les extraits de fleurs ont été enregistrés les fortes valeurs en polyphénols (TPC) , suivies les extraits des cladodes et celles des graines. La plus grande valeur en polyphénols (TPC) a été trouvée chez l'extrait l'*Opuntia megacantha* (épineux) de Rabat (FTR) avec $0,01 \pm 0,02 \text{ GAE mg} / 1 \text{ g}$ de masse sèche de fleurs, suivie d'un extrait d'*Opuntia ficus-indica* de Tiznit (FST) ($46,71 \pm 0,01 \text{ GAE mg} / 1 \text{ g}$ masse sèche de fleurs), puis l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* d'Al Hoceima (FSH) ($46,65 \pm 0,14 \text{ GAE mg} / 1 \text{ g}$ masse sèche de fleurs), et l'extrait d'*Opuntia megacantha* (épineux) de Taza (FTT) ($44,25 \pm 0,05 \text{ mg GAE} / 1 \text{ g}$ de masse sèche de fleurs) . Cependant, il y avait une différence statistiquement significative ($p < 0,05$) observée entre les teneurs des extraits étudiés. Ces valeurs étaient inférieures à celles rapportées par d'autres auteurs, comme Dib et al. Pour les extraits phénoliques de fleurs d'*Opuntia. ficus-indica* d'Algérie ($120,22 \pm 1,004 \text{ mg}$

GAE / g DW), et Alimi et al. pour l'extrait de fleur méthanolique d'*Opuntia. ficus indica* f. Inermis de Gafsa, (Tunisie) ($159,76 \pm 0,32$ GAE mg / 1 g poids sec). Au contraire, nos résultats étaient supérieurs à ceux rapportés par plusieurs études, comme l'étude réalisée par Ouerghemmi et al, pour la fleur de poirier tunisien (*Opuntia ficus indica* L.) ($3,89 \pm 0,10$ mg GAE / g DW) [160-162], et l'étude réalisée par Berrabah et al. [163], pour les extraits de fleurs d'*Opuntia ficus-indica*. L d'Algérien (variant de $7,52 \pm 1,27$ à $10,89 \pm 5,60$ mg GAE / g poids sec des extraits de fleurs). Cette différence peut être attribuée aux techniques d'extraction, d'analyse, à l'origine géographique, au degré de maturité, et aux conditions de stockage. De plus, les principales substances phénoliques des fleurs d'*Opuntia ficus-indica* étaient l'acide gallique, le 6-isoharmnetin-3-O-robinobioside et le 7-isoharmnetin-3-OGalactoside [164].

Concernant les graines, les résultats montrent que les teneurs en polyphénols varient considérablement entre $13,51 \pm 0,02$ et $31,03 \pm 0,03$ mg GAE / g 1g de masse sèche de graines. La valeur la plus élevée a été enregistrée chez l'extrait d'*Opuntia ficus –indica* de Tiznit (SST) avec une teneur de $31,03 \pm 0,03$ mg GAE / g 1 g de masse sèche de graines, suivi de l'extrait (STR) avec une teneur qui est égale $22,08 \pm 0,05$ mg GAE / g 1 g sec masse de graines, puis l'extrait (SSH) avec une teneur qui est égale $16,35 \pm 0,12$ mg GAE / g 1 g de masse sèche de graines. Nous avons observé une différence significative entre les valeurs des extraits de graines. Les extraits de graines avaient une teneur en polyphénols (TPC) inférieure à celle des extraits de cladode et de fleurs. Nos résultats ont été supérieurs à ceux rapportés par Cardador-martínez [165] pour la même espèce, chez 3 cultivars mexicains (337-460 mg équivalent d'acide gallique pour 100 g de graines sur base sèche) (Montesa, Cristalina et Pelón-liso). La différence des résultats selon les quatre régions et les deux variétés peut s'expliquer par plusieurs facteurs tels que la génétique, les précipitations, les conditions édapho-climatiques, le type de sol et la maturité [165]. Par ailleurs, divers travaux ont montré que l'huile de graines d'*Opuntia ficus indica* était riche en polyphénols, comme l'étude réalisée par Brahmi et al. [166], ils ont noté que la teneur totale en phénol des huiles de graines d'*Opuntia ficus indica* (L.) était de $55,82 \pm 3,84$ mg GAE / 100 g d'huile d'extrait d'huile de graines *Opuntia ficus indica*.

5. Teneur en Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont classés par divers groupes ; les plus connus sont les anthocyanes, les flavonols, les flavones et les flavanones [167]. Les teneurs en flavonoïdes (TFC) chez les extraits de cladodes variaient de $6,24 \pm 0,03$ à $9,64 \pm 0,02$ mg QE / g 1 g de masse sèche de cladodes, et représentaient des différences statistiquement significatives entre les extraits ($p < 0.05$).

L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* de la région de Tiznit (CST) avait la teneur en flavonoïdes la plus élevée ($9,64 \pm 0,02$ mg QE / g 1 g de masse sèche de cladodes), suivi de l'extrait (CSH) ($9,55 \pm 0,16$ mg QE / g 1 g de masse sèche de cladodes), puis l'extrait (CTR) avec une teneur qui est égale $6,36 \pm 0,05$ mg QE / g 1 g de masse sèche de cladodes, tandis que l'extrait d'*Opuntia megacantha* (épineux) de Taza (CTT) contient une faible teneur en flavonoïdes (TFC) qui est égale $6,24 \pm 0,03$ mg QE / g 1 g de masse sèche de cladodes. Concernant les extraits de fleurs, les résultats en flavonoïdes (TFC) varient entre $11,22 \pm 0,04$ et $13,33 \pm 0,14$ QE / 1 g de masse sèche de fleurs. La teneur la plus élevée en flavonoïdes a été trouvée chez les fleurs d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) de Tiznit (FST) avec une teneur de $13,33 \pm 0,14$ QE / 1 g de masse sèche de fleurs, suivies d'un extrait (FSH) avec une teneur de $13,08 \pm 0,02$ QE / 1 g de masse sèche de fleurs, puis l'extrait (FTR) ($12,9 \pm 0,03$ QE / 1 g de masse sèche de fleurs), tandis que l'extrait (FTT) contient une faible teneur en flavonoïdes (TFC) $11,22 \pm 0,04$ QE / 1 g de masse sèche de fleurs. Nous avons remarqué qu'il existe une différence significative entre les extraits des fleurs d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) et celles d'*Opuntia megacantha* (épineuses). Nos résultats étaient inférieurs à ceux trouvés par Alimi et al ($79,51 \pm 0,57$ mg équivalent rutine / g poids sec). [161], ils étaient également inférieurs à ceux rapportés par Dib et al ($62,67 \pm 0,15$ mg QE / g DW) [160]. Concernant les extraits de graines, la teneur en flavonoïdes (TFC) était comprise entre $0,18 \pm 0,01$ et $0,71 \pm 0,02$ mg QE / g 1 g de masse sèche de graines. La teneur la plus élevée est celle de l'extrait (STR), qui contient $0,71 \pm 0,02$ mg QE / g 1 g de masse sèche de graines, suivi de l'extrait (SSH) avec $0,57 \pm 0,02$ mg QE / g 1 g de masse sèche de graines, puis l'extrait (SST) avec $0,53 \pm 0,03$ mg QE / g 1 g de masse sèche de graines, et enfin l'extrait (STT) avec $0,18 \pm 0,01$ mg QE / g 1 g de masse sèche de graines. Notre résultat est en accord avec ceux trouvés par Bouzouba et al. [153] qui ont montré que la variété spinneles est plus riche en flavonoïdes que la variété épineuse. Néanmoins, nos valeurs sont proches de celles rapportées par Cardador-martínez (8 à 66 mg équivalent de rutine pour 100 g de pelure sur base sèche) [165], et de celles trouvées par Berrabah et al. [163] pour les extraits de fleurs d'*Opuntia ficus-indica* Algérien ($0,51 \pm 0,15$ - $0,96 \pm 0,33$ mg QE g poids sec des extraits de fleurs). Les extraits de fleurs avaient des valeurs en flavonoïde plus élevée que celles des cladodes et graines.

6. Teneur en tanins(TTC)

Les tanins ont une importance économique et écologique, parmi ces tanins; il existe des tanins condensés qui sont des oligomères ou des polymères de flavan-3-ols dérivés de la (+) - catéchine ou de ses nombreux isomères. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils ne s'hydrolysent pas

sous l'action d'acides dilués [168]. Les résultats des extraits de cladodes ont indiqué que la teneur en tanins variait entre $0,95 \pm 0,02$ et $1,44 \pm 0,03$ mg CE / g 1 g de masse sèche de cladodes. Les teneurs en tanin étaient significativement plus élevées chez les extraits *Opuntia ficus-indica* (épineux) que celles d'*Opuntia megacantha* (épineux). La teneur la plus élevée a été enregistrée chez l'extrait de cladode d'*Opuntia ficus-indica* d'Al Hoceima (CSH) avec une teneur qui est égale $1,44 \pm 0,03$ mg CE / g 1 g de masse sèche de cladodes, suivie par l'extrait (CST) avec une teneur qui est égale $1,30 \pm 0,02$ mg CE / g 1 g de masse sèche de cladodes. Cette différence en teneurs de tanins dépend de deux facteurs principaux: le stade de développement de la végétation et les conditions environnementales [169]. Pour les extraits de fleurs, la teneur en tanins (TTC) varie de $0,7 \pm 0,04$ à $1,18 \pm 0,02$ mg CE / g de masse sèche de fleurs.

La teneur la plus élevée en tanins (TTC) a été enregistrée chez l'extrait (FSH) avec une teneur qui est égale $1,18 \pm 0,02$ mg CE / g de masse sèche de fleurs, suivi de l'extrait (FST) ($1,09 \pm 0,05$ mg CE / g masse sèche de fleurs), puis de l'extrait (FTR) avec une teneur qui est égale $0,86 \pm 0,03$ mg CE / g masse sèche de fleurs. Ces résultats étaient bien supérieurs à ceux obtenus par Ouerghemmi et al. pour les extraits méthanoliques ($0,09 \pm 0,01$ mg CE / g DW). Elles étaient également inférieures à ceux obtenus par Berrabah et al. [163]. ($27,86 \pm 5,07$ - $77,62 \pm 2,13$ mg CE / g poids sec des extraits de fleurs) pour les extraits de fleurs d'*Opuntia ficus-indica*. L. de l'Algérien [162]. On observe également que les teneurs en tanins (TTC) chez les extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) étaient plus élevées que celles d'*Opuntia megacantha* (épineux). Concernant les extraits de graines, ils indiquent que les teneurs en tanins étaient significativement différentes et étaient comprises entre $0,16 \pm 0,01$ et $0,34 \pm 0,08$ mg CE / g de masse sèche de graines (tableau 12). La valeur la plus élevée a été enregistrée chez l'extrait (SST) avec une teneur de $0,34 \pm 0,08$ mg CE / g de masse sèche de graines, suivi de l'extrait (SSH) avec une teneur qui est égale $0,32 \pm 0,02$ mg CE / g de masse sèche de graines, tandis que l'extrait (STR) contient une faible teneur en tanins ($0,16 \pm 0,01$ mg CE / g masse sèche de graines). Ces résultats étaient inférieurs à ceux enregistrés par Cardador-Martínez et al. (171 - 205 mg équivalent de catéchine pour 100 g de graines sur une base sèche)[145].

7. Activité antioxydante par deux méthodes (DPPH et FRAP).

La capacité antioxydante des extraits de fleurs, cladode, et graines pour l'*Opuntia monacantha* (épineuse) et l'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) a été évaluée et présentée dans le tableau 13.

Tableau 13: Capacité antioxydante totale pour les extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) et d'*Opuntia megacantha* (épineux).

Extrait	DPPH (IC ₅₀ mg/mL)	FRAP (EC ₅₀ mg/mL)
Fleurs (FTR)	0.24±0.01 ^a	3.21±0.04 ^{ab}
Fleurs (FTT)	0.24±0.01 ^a	3.92±0.01 ^{ad}
Fleurs (FST)	0.21±0.02 ^a	2.91±0.02 ^b
Fleurs (FSH)	0.20±0.01 ^a	2.40±0.03 ^b
Cladodes (CTR)	0.77±0.02 ^b	5.20±0.64 ^{cd}
Cladodes (CTT)	0.73±0.03 ^{cb}	5.71±0.05 ^c
Cladodes (CST)	0.60±0.02 ^{dc}	4.31±0.04 ^d
Cladodes (CSH)	0.54±0.02 ^d	4.43±0.02 ^d
Graines (STR)	0.84±0.03 ^{eb}	7.62±0.03 ^e
Graines (SSH)	0.96±0.02 ^e	8.47±0.02 ^{ef}
Graines (SST)	0.95±0.06 ^e	10.03±0.08 ^g
Graines (STT)	0.77±0.34 ^b	9.17±0.56 ^{fg}
Reference standards Ascorbic Acid	0.00197±0.00041	0.06500± 0.0071

Les données sont présentées sous forme du moyenne de deux répétitions individuelles (n = 2e ± SEM), les moyennes suivies de lettres similaires exposant dans la même colonne ne sont pas différentes (P <0,05).EC50 et IC50 sont: concentration inhibitrice demi-maximale.

L'activité de piégeage des radicaux DPPH est représentée par les valeurs d'IC₅₀ (la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de 50% le radical DPPH) des extraits et de l'étalon de référence (Tableau 13). Ces valeurs nous permettent d'évaluer et de comparer l'efficacité des différents extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) et d'*Opuntia monacantha* (épineux). En effet, plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est élevée. Les activités antioxydantes obtenues à partir ces extraits varient de 0,20100 ± 0,002 à 0,24000 ± 0,001 mg / mL pour les extraits de fleurs, de 0,54150 ± 0,0205 à 0,77150 ± 0,0215 mg / mL pour les extraits de cladodes, et de 0,77550 ± 0,345 à 0,96250 ± 0,0215 mg / mL pour les extraits de graines. L'analyse statistique a révélé qu'il existe une petite différence de la capacité antioxydante entre les deux variétés étudiées, et une forte différence selon la partie de la plante utilisée à l'extraction (P <0,05). L'activité de piégeage des radicaux(DPPH) la plus élevée est attribuée à l'extrait (FSH) avec une IC₅₀ qui est égale 0,201 ± 0,002 mg / ml, suivi de l'extrait (FST) avec

une $IC_{50} = 0,211 \pm 0,002$ mg/ml, puis l'extrait (FTR) avec une IC_{50} de $0,23805 \pm 0,00295$ mg/ml. Par contre, les extraits de graines (SSH) avaient une faible activité antiradicalaire avec une IC_{50} qui est égale $0,96250 \pm 0,02150$ mg/ml. Ces résultats montrent que tous les extraits ont une faible capacité antioxydante par rapport au standard de référence. De plus, les activités antioxydantes des extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines), et ceux d'*Opuntia monacantha* (épineuses) sont relativement faibles que du standard (l'acide ascorbique) dont la valeur d' $IC_{50} = 0,00197 \pm 0,00041$ mg / mL. Nous avons observé qu'il n'y avait pas de différence significative ($P > 0,05$) entre les extraits de fleurs, mais entre les extraits des cladodes et des graines, il existe une différence significative ($P < 0,05$). Ces résultats ont également indiqué que l'extrait de fleurs pour les deux variétés avait une forte capacité antioxydante que ceux des cladodes et des graines. Les extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) ont des pouvoirs antioxydants plus puissants que ceux d'*Opuntia megacantha* (épineux), ces résultats est cohérent avec ceux rapportés par Yeddes et al. [170] dans lequel, ils ont constaté que les extraits de pelure et de pulpe d'*Opuntia. ficus indica* avaient des activités antioxydantes élevées ($0,54 \pm 0,04$ mg/ mL, $0,51 \pm 0,01$ mg/mL) plus ceux d'*Opuntia megachantha* ($0,57 \pm 0,02$ mg/mL, $0,56 \pm 0,01$ mg/mL).

Egalement, nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Dib et al. [160] pour les extraits phénoliques de fleurs d'*Opuntia ficus-indica* d'Algérie ($0,51 \pm 0,01$ - $0,57 \pm 0,02$ mg/ mL), et ceux trouvés par Ouerghemmi et al. [54] pour les extraits de fleur de poire de cactus tunisienne (*Opuntia ficus indica* L.) ($0,20 \pm 0,05$ DPPH (IC_{50} mg/mL), et ceux rapportés par Izuegbuna et al. [52] pour les extraits éthanoliques de cladodes d'*Opuntia stricta* ($0,439$ mg / mL). De plus, nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Berrabah et al. [163], qui ont indiqué que l' IC_{50} des extraits de fleurs d'*Opuntia ficus-indica*. L d'Algérie variait de 2,85 à 9,1 mg/mL .Ensuite, nous avons observé que pour tous les extraits riches en polyphénols et flavonoïdes sont dotés d'un pouvoir antioxydant important.

Il a été démontré que les composés antioxydants tels que l'acide ascorbique, le tocophérol, les flavonoïdes et les tanins peuvent réduire et décolorer le DPPH en raison de sa capacité à abandonner l'hydrogène [171]. Les polyphénols contenus dans les extraits d'*Opuntia. ficus. indica* sont probablement le principal contributeur au pouvoir antioxydant de ces extraits, ceci est cohérent avec un travail qui a été effectué pour les extraits de *S. Montana*, c'est une espèce riche en composés phénoliques qui sont responsables de nombreuses activités biologiques y

compris l'activité antioxydante et antimicrobienne [172]. Nos résultats sont également cohérents avec ceux obtenus par les extraits de cladodes d'*Opuntia Monacantha* où les pourcentages d'inhibition des radicaux DPPH sont plus élevés dans les extraits qui rapportés sont riches en polyphénols et en flavonoïdes. Le mécanisme de réaction entre les molécules antioxydantes et le radical DPPH dû à la conformation structurale de la molécule bioactive [173]. Cette dernière réagit avec le radical DPPH en réduisant un nombre égal de groupements hydroxyles portés par la molécule antioxydante [174]. Cela conduit à suggérer que l'effet antioxydant des extraits peut dépendre de la synergie entre les composés phénoliques et d'autres composés. La capacité antioxydante des extraits a également été déterminée par la méthode FRAP. Cette méthode est rapide et reproductible, elle est universelle et peut être appliquée aux extraits végétaux qu'ils soient aqueux ou organiques [175]. De plus, le complexe ferricyanure Fe^{3+} peut être réduit sous forme ferreuse en présence d'agents réducteurs dans les extraits végétaux [176]. Dans le cas du test FRAP, les potentiels antioxydants obtenus à partir des extraits varient de $2,40700 \pm 0,033$ à $3,92800 \pm 0,0120$ mg / mL pour les extraits de fleurs, de $4,31600 \pm 0,0485$ à $5,71805 \pm 0,05805$ mg/mL pour ceux de cladodes, et de $7,62955 \pm 0,03755$ à $10,0325 \pm 0,0875$ mg/mL pour ceux de graines. Nous avons remarqué que les extraits de graines et de cladodes ont un pouvoir antioxydant plus faible que ceux de fleurs. Pour ceux-ci, l'extrait (FSH) a une activité plus élevée qui est égale $2,40700 \pm 0,033$ mg / mL, suivi de l'extrait (FST) avec une $\text{EC}_{50} = 2,91650 \pm 0,0245$ mg / mL, puis de l'extrait (FTR) avec une $\text{EC}_{50} = 3,21820 \pm 0,0032$ mg / mL. L'analyse statistique montre que ces résultats présentent une différence significative ($p < 0,05$). D'après nos résultats, nous avons remarqué chez tous les extraits testés l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées. Le tableau 13 montre que les extraits de fleurs ont un pouvoir réducteur plus fort que ceux de cladode, ainsi que les extraits des graines sont considérées comme les moins faibles en termes de pouvoir réducteur. Mais, l'activité antioxydante chez tous les extraits d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) et d'*Opuntia monacantha* (épineux) est nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de $0,065 \pm 0,0071$ mg/mL. Le pouvoir réducteur des extraits d'*Opuntia ficus Indica* peut dépendre de la présence de groupes hydroxyle chez les composés antioxydants qui peuvent servir de donneurs d'électrons. Ainsi, les composés antioxydants sont considérés comme des réducteurs oxydatifs et des inactivateurs [177]. Des études avaient également indiqué que le pouvoir réducteur d'un composé antioxydant peut servir d'indicateur significatif de sa capacité antioxydante [178].

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux trouvés par Bari et al. (41,4-838,8 µg/mL) [179], pour les extraits des cladodes d'*Opuntia monacantha*, ils ont montré que l'extrait méthanolique a un pouvoir réducteur plus élevé. Au contraire, nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Ouerghemmi et al. ($EC_{50} = 2,40 \pm 0,03$ mg/mL) [162], et ceux obtenues par Berrabah et al. [163] ($EC_{50} = 5,4-11,28$ mg / ml).

8. Matrice de corrélation

Les coefficients de corrélation pour les teneurs des composés bioactifs(TPC, TFC, TTC) et leurs pouvoirs antioxydants (DPPH et FRAP) sont indiqués dans le tableau 14. Ensuite, DPPH (1 / DPPH IC_{50}) et FRAP (1 / FRAP EC_{50}) représentent respectivement le pouvoir d'inhiber les radicaux libres DPPH et le pouvoir de réduire le fer. De plus, le tableau 15 montre les p-values du coefficient de la matrice de corrélation.

Tableau 14 : Coefficients de matrice de corrélation de Pearson entre la capacité antioxydante et les composés antioxydants des extraits d'*Opuntia Ficus Indica* et d'*Opuntia monacantha*

Variables	TPC	TFC	TTC	DPPH(1/DPPH IC_{50})	ABTS(1/FRAP EC_{50})
TPC	1				
TFC	0.940	1			
TTC	0.749	0.794	1		
DPPH (1/DPPH IC_{50})	0.775	0.847	0.394	1	
ABTS (1/FRAP EC_{50})	0.852	0.933	0.675	0.916	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha = 0,05$.

Tableau 15 : p-values du coefficient de la matrice de corrélation.

Variables	TPC	TFC	TTC	DPPH (1/DPPH IC_{50})	FRAP (1/FRAP EC_{50})
TPC					
TFC	< 0.0001	0			
TTC	0.005	0.002	0		
DPPH (1/DPPH IC_{50})	0.003	0.001	0.205	0	
FRAP (1/FRAP EC_{50})	0.000	< 0.0001	0.016	< 0.0001	0

Comme on peut le voir dans les tableaux 14 et 15, l'analyse de corrélations de Pearson entre l'activité antioxydante et les teneurs en composés bioactifs ont révélé que les polyphénols(TPC)et les flavnoides (TFC) avaient de fortes corrélations positives (valeur $p < 0,05$) avec l'activité

antioxydante. Les résultats de corrélation du polyphénols(TPC) étaient respectivement de 0,775 et 0,852 avec l'effet de piégeage des radicaux libres DPPH et le pouvoir antioxydant réducteur ferrique, cela indique que la teneur en polyphénols de ces extraits contribue à ses capacités de don d'électrons d'hydrogène.

Cela signifie que la capacité antioxydante des extraits d'*Opuntia* peut être attribuée à la présence de polyphénols. La corrélation linéaire positive entre les polyphénols et la capacité antioxydante a également été rapportée par plusieurs auteurs : Amri et al. [180]. et Guettaf et al [181]. Il y avait également une corrélation positive significative élevée ($p < 0,05$) entre les polyphénols(TFC) et l'activité antioxydante DPPH ($r^2 = 0,847$) et FRAP ($r^2 = 0,933$). Cependant, le tanin n'a pas beaucoup contribué aux activités antioxydantes ; par conséquent, leurs coefficients de corrélation avec les activités antioxydantes étaient relativement faibles (DPPH ($r^2 = 0,394$) et FRAP ($r^2 = 0,675$)). Ces résultats indiquent que le tanin contribue légèrement à cette bioactivité. Au contraire, les composés phénoliques associés aux flavonoïdes contribuent fortement à cette bioactivité. Par conséquent, ces fortes corrélations indiquent que les composés antioxydants, qui contribuent au pouvoir réducteur du fer par la méthode FRAP sont eux-mêmes, qui fournissent le pouvoir de piégeage des radicaux libres par DPPH. De plus, la matrice de corrélation a montré une forte corrélation entre FRAP et DPPH ($r^2 = 0,916$). Ensuite, les composés antioxydants de ces extraits, subissent deux mécanismes de réaction. Pour le test DPPH, ce radical est neutralisé par balayage radicalaire par transfert d'un atome d'hydrogène, également, par réduction directe par transfert d'électrons, puis pour le test FRAP, il se fait par réduction de Fe (III), basée sur le transfert d'électrons.

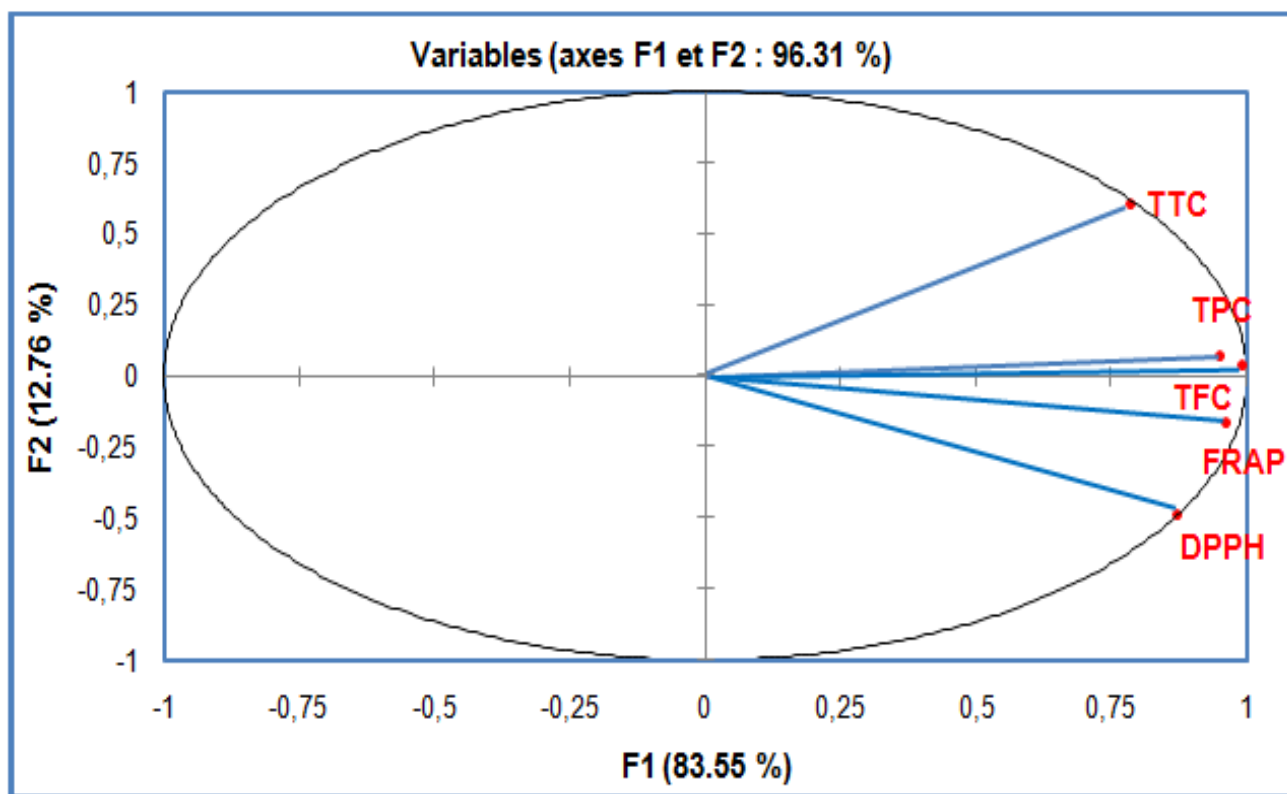
9. Analyses des données par PCA

Les teneurs en composés bioactifs et leurs pouvoir antioxydants sont considérés comme des variables. Ils sont projetés par l'ACP dans le plan factoriel du figure 33 (F1-F2). La première composante essentielle (F1) montre 83,5% de l'information et la deuxième composante essentielle (F2) explique 12,76% de l'information. Le pourcentage cumulé des deux premières composantes essentielles était de 96,31%, par conséquent, sa combinaison linéaire est bien représentative des variables, car elle est supérieure à 50%. Ensuite, les deux premiers axes sont adéquats pour expliquer l'ensemble des informations. La corrélation entre les variables est représentée sur la figure 31 par le plan construit par les axes F1 et F2. L'axe F1 est formé par la

corrélation positive entre les tests DPPH, FRAP et entre les teneurs suivantes TPC, TFC et TTC (figure 34). La figure 34 représente que les douze individus sont répartis (extraits) en 3 groupes.

Le groupe I est composé de quatre extraits (FTR, FTT, FST, FSH), la capacité antioxydante de ce groupe est significativement forte par rapport aux autres groupes par les tests DPPH et FRAP, également l'activité antioxydante de ce groupe dépend de leur contenu phénolique car ils se caractérisent par des teneurs très élevées en polyphénols (TPC) et en flavonoides (TFC). Nous avons quatre extraits des fleurs dans ce groupe, ce qui confirme que les extraits des fleurs ont un grand pouvoir antioxydant, suivies par les extraits des cladodes. Le groupe II est formé par quatre extraits (CTT, CTR, CST, CSH), il est caractérisé par des teneurs moyennes en polyphénols TPC et en flavonoides (TFC) et son activité antioxydante est moyenne et faible par rapport aux extraits du groupe I. De plus, il se caractérise par la teneur la plus élevée en tanins (TTC).

Le groupe III est composé par 4 individus (extraits), qui sont SSH, SST, STR, SST, ils sont caractérisés par des faibles teneurs en polyphénols (TPC), en flavonoïdes (TFC) et en tanins(TTC), par conséquent, il est caractérisé par un faible pouvoir antioxydant. Ensuite ce groupe est caractérisé par quatre extraits des graines, ce qui montre que les extraits des graines ont des teneurs plus faibles en composés phénoliques par rapport aux ceux des fleurs et des cladodes. L'analyse des données par PCA, a montré la présence d'une corrélation positive plus élevée, d'une part entre les polyphénols (TPC) et l'activité antioxydante par DPPH et FRAP, et d'autre part entre les flavonoïdes(TFC) et l'activité antioxydante par ces deux tests utilisés. Cela a montré les composés bioactifs des extraits qui assurent l'activité de piégeage du radical DPPH ont également contribué au pouvoir réducteur du fer par FRAP. De plus, la capacité antioxydante de nos extraits dépendait des teneurs en composés bioactifs (TPC (flavonoïdes, polyphénols et tanins) qui existait dans les extraits *l'opuntia ficus-indica* et *l'Opuntia megacantha*.



DPPH (1 / DPPH IC₅₀; FRAP (1 / FRAP EC₅₀)

Figure 33 : Plan factoriel d'analyse en composantes principales réalisé selon les valeurs en composés bioactifs (TPC, TFC, TTC, DPPH et FRAP) des différents extraits d'*Opuntia Ficus Indica* et d'*Opuntia monacantha*.

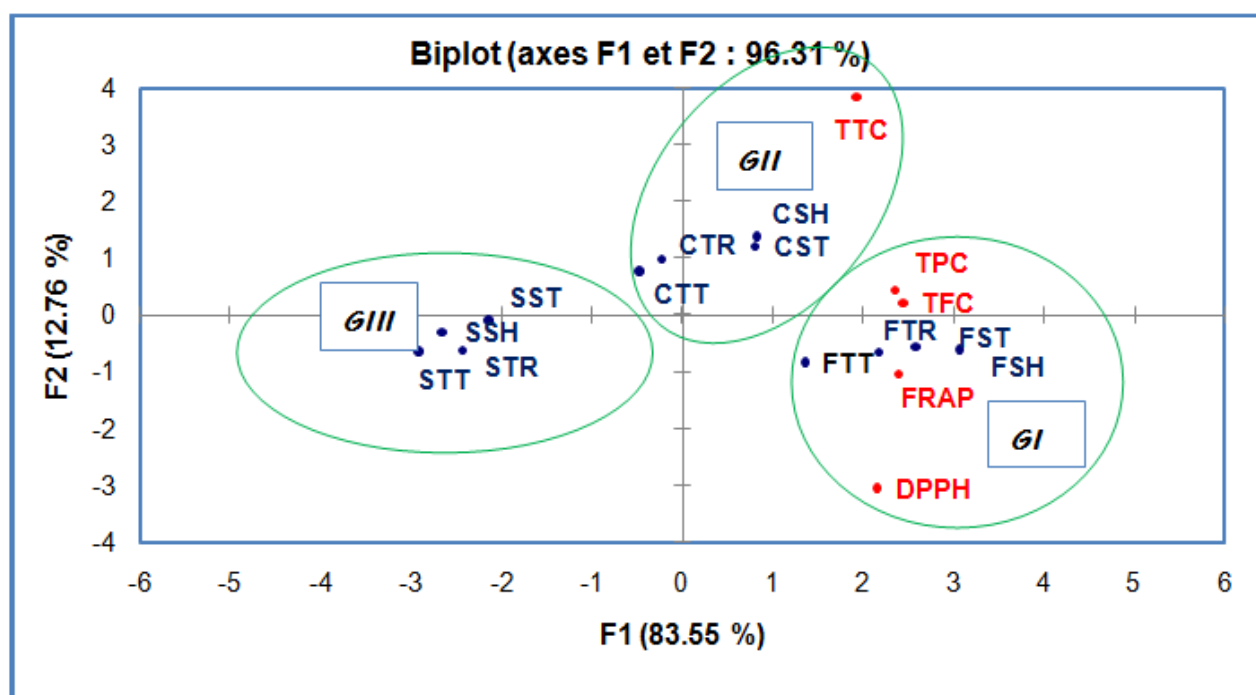


Figure 34 : Projection sur le plan factoriel (F1 × F2) .

10. Conclusion

Certaines études indiquent que la consommation de légumes et de fruits peut neutraliser les radicaux libres de l'organisme grâce aux antioxydants qu'ils contiennent. Cela peut aider à la prévention ou au traitement des maladies associées au stress oxydatif. Pour cette raison, cette étude comprend les différentes parties (fleurs, cladodes, graines) des deux variétés du cactus marocains. À travers ces résultats, le rendement le plus élevé est obtenu par l'extrait des graines de Tiznit (16,42%). Le criblage phytochimique a montré que la richesse de nos extraits en composés antioxydants (flavonoïdes, tanins condensés, saponines et en polyphénols). En outre, l'analyse quantitative a révélé que les tenurs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés étaient significatifs. On a également remarqué que les extraits de la variété d'*Opuntia ficus-indica* (sans épines) montraient une activité antioxydante plus élevée que ceux d'*Opuntia megacantha* (épineux). Ainsi que le changement de la variété et la région de récolte peuvent donner de bons résultats en composés qui ont une activité antioxydante. L'analyse des données par PCA a montré la présence d'une corrélation positive plus élevée d'une part entre les deux tests FRAP et DPPH, et d'autre part, entre les composés antioxydants et leurs activités antioxydantes. Ces résultats ont démontré que les extraits des fleurs, des cladodes et des graines peuvent être valorisés dans les industries biomédicales, cosmétiques et alimentaires.

Chapitre II : Optimisation des conditions de torréfaction des graines d'Opuntia fiscus-Indica en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RSM)

1. Introduction

Les graines sont considérées comme une source essentielle de valeurs nutritionnelles, telles que les flavénoïdes, les polyphénols, les acides gras et les tanins [182]. De plus, ils contiennent environ 10 à 15 % de la pulpe comestible et sont souvent jetés comme déchet après extraction de la pulpe [183]. La torréfaction des graines présente de nombreux avantages tels que la promotion de la saveur, de l'arôme, le changement de couleur et de texture des graines torréfiées, ainsi que l'élimination des micro-organismes indésirables et des contaminants alimentaires. Ils sont connus pour désactiver les enzymes qui peuvent accélérer la perte de nutriments et prolonger la durée de vie du produit. Afin de préserver les constituants bénéfiques des graines, la durée et la température de la torréfaction sont considérées comme les conditions les plus importantes [184–186]. De plus, un certain nombre de recherches ont montré que le profil phénolique de différents ingrédients comestibles peut être rendu plus bénéfique pour la santé en augmentant leurs capacités antioxydantes [185]. Ce résultat bénéfique dépend du grain considéré et des conditions de torréfaction utilisées. Lors de la torréfaction, les composés antioxydants peuvent se dégrader et la formation de nouveaux produits appelés produits de réaction de Maillard (MRP) est observée. Cette dégradation peut influencer considérablement les composés antioxydants [187]. Plusieurs études ont évalué les effets de la torréfaction sur la composition en composés bioactive et les capacités antioxydantes de diverses graines [188,189]. Et il a été constaté que l'optimisation des conditions de torréfaction des graines *d'opuntia ficusindica* peut améliorer considérablement l'activité antioxydante. Par conséquent, des protocoles d'optimisation systématiques et précis des conditions d'extraction et de torréfaction sont nécessaires pour maintenir précisément les activités bioactives et antioxydantes. La méthodologie de surface de réponse (RSM) est une technique statistique utilisée pour optimiser les protocoles suggérés car elle utilise des variables quantitatives (paramètres de torréfaction) avec une conception expérimentale adéquate pour évaluer les effets de ces paramètres et leur interaction inhérente. Box-Behnken design (BBD) est un RSM capable de générer un modèle mathématique prenant en compte l'effet des interactions potentielles entre les facteurs à tester tout en minimisant le nombre d'expériences à réaliser [188,190]. Par conséquent, l'objectif de présent travail est

d'appliquer la méthodologie RMS et d'étudier l'effet de trois facteurs tels que la température du processus de torréfaction(X1), la durée de la torréfaction(X2) et la durée de l'extraction(X3) afin d'optimiser les teneurs en polyphénols (TPC), en flavonoïdes (TFC) , en tanins(TTC), en sucres totaux (TSC) et l'activité antioxydante par les tests DPPH et ABTS pour les extraits des graines d'*Opuntia ficusindica*. La corrélation entre les molécules bioactives et leur capacité antioxydante est évaluée par l'analyse en composantes principales (ACP). Une analyse de grappes hiérarchiques (HCA) a été utilisée pour construire trois groupes basés sur les teneurs en composés bioactifs et leurs capacité antioxydante.

2. Modèle polynomial du second ordre et les surfaces de réponses pour TPC et TFC

L'optimisation des conditions de torréfaction a été réalisée par 15 essais randomisés. Le tableau 16 présente les résultats pour les teneurs (TFC, TPC, TTC, TSC, ABTS (IC50) et DPPH (IC50)) d'extraits de graines d'*Opuntia ficus indica* du Maroc à optimiser. Les teneurs en polyphénols (TPC) et en flavonoïdes (TFC) des extraits de graines d'*Opuntia ficus indica* variaient respectivement de $31,14 \pm 0,90$ à $103,76 \pm 1,82$ mg de GAE / g d'extrait et de $26,14 \pm 0,98$ à mgQE / g d'extrait. Selon les données d'ANOVA pour les polyphénols (TPC) et les flavonoïdes (TFC) (tableau 17), cse modèles étaient significatifs car leurs p-values ont respectivement $<0,0001$ et $<0,0015$. Leurs coefficients de détermination (R^2) étaient respectivement de 0,996167 et 0,976653 pour les polyphénols (TPC) et les flavonoïdes (TFC) , ces valeurs indiquent que ces deux modèles sont adéquats car R^2 est supérieur à 0,75 [191]. De plus, les coefficients de détermination ajusté Radj2 étaient respectivement de 0,989267 pour les polyphénols (TPC) et de 0,934629 pour les flavonoïdes(TFC), cela indique que cese modèles présentaient adéquatement la vraie combinaison entre toutes les variables indépendantes utilisées. De plus, le manque d'ajustement n'était pas significatif pour les polyphénols (TPC) et les flavonoïdes (TFC) car leurs p-values étaient respectivement de 0,0673 et 0,0536, ce qui indiquait que les équations du modèle étaient adéquates pour prédire les réponses. Les équations (10) et (11) peuvent prédire l'effet de variables indépendantes respectivement pour les teneurs en polyphénols (TPC) et en flavonoïdes (TFC) .Ils étaient représentés par un modèle de régression réduite.

$$\text{TPC (mg GAE/g extract)} = 56.686667 + 25.50625X_1 + 12.06875X_2 + 4.1225X_3 + 2.77X_1 \cdot X_2 + 1.5525X_1 \cdot X_3 + 2.3575X_2 \cdot X_3 + 10.641667X_1 \cdot X_1 + 4.088333X_2 \cdot X_2 - 6.095833X_3 \cdot X_3 \quad (10)$$

$$\text{TFC (mg QE/g extract)} = 44.746667 + 27.6395X_1 + 7.53925X_2 + 0.62125X_3 + 3.3285X_1 \cdot X_2 - 9.8825X_1 \cdot X_3 - 0.005X_2 \cdot X_3 + 21.671167X_1 \cdot X_1 - 2.221333X_2 \cdot X_2 - 5.180333X_3 \cdot X_3 \quad (11)$$

Les données d'ANOVA pour les polyphénols (TPC) (tableau 17) ont montré que les trois facteurs X1, X2 et X3 avaient un effet linéaire positif significatif sur l'optimisation des polyphénols (TPC), puisque leurs p-values étaient respectivement <0,0001, <0,0001 et 0,0043. De plus, l'effet quadratique X1 * X 1 a eu un effet positif significatif (p-value = 0,0003). Au contraire, les effets quadratiques X2 * X 2 et X3 * X 3 ont eu un effet négatif significatif sur l'optimisation des polyphénols (TPC) (valeur p <0,05). De plus, aucune interaction significative entre les trois facteurs testés n'a été observée (tableau 17).

Tableau 16 : Résultats des réponses à optimiser (TFC, TPC, TTC, TSC, ABTS (IC50) et DPPH (IC50)) selon la conception expérimentale.

Run	X ₁	X ₂	X ₃	TPC	TFC	TTC	TSC	DPPHIC ₅₀	ABTS IC ₅₀
1	200	10	4.5	76.43±0.90 ^a	83.286±0.802 ^a	6.05±0.95 ^{ad}	40.32±0.91 ^{ah}	205.35±1.21 ^a	711.89±2.1 ^a
2	60	50	4.5	44.51±1.29 ^b	38.45±0.71 ^{ib}	1.23±0.20 ^b	39.56±0.79 ^a	321.43±1.29 ^b	950.64±1.19 ^b
3	60	30	3	34.86±1.12 ^{cf}	30.14±0.86 ^{cg}	1.61±0.29 ^b	29.02±0.98 ^{be}	430.67±1.19 ^c	1090.15±1.95 ^c
4	130	50	6	66.58±1.19 ^d	48.54±1.40 ^d	6.83±0.41 ^{ac}	23.37±0.82 ^c	210.26±1.08 ^a	620.36±1.31 ^d
5	130	30	4.5	56.46±0.80 ^e	44.03±0.97 ^{bd}	3.25±0.20 ^{be}	30.17±0.93 ^{be}	230.64±0.83 ^d	684.23±1.11 ^e
6	60	30	6	39.29±0.81 ^{bf}	43.38±1.30 ^{bd}	1.41±0.31 ^b	26.36±0.31 ^{bc}	390.92±1.98 ^e	1010.76±2.90 ^f
7	200	30	6	90.71±1.10 ^g	72.57±0.93 ^e	7.76±0.79 ^{ac}	10.35±0.32 ^d	120.17±2.10 ^f	445.48±0.91 ^g
8	130	10	6	35.38±0.89 ^{cf}	35.16±1.06 ^{igj}	2.16±0.20 ^b	27.93±0.97 ^{be}	350.39±0.65 ^g	914.91±1.99 ^h
9	130	50	3	52.91±1.01 ^e	39.54±1.29 ^{bj}	3.12±0.18 ^{be}	26.03±0.98 ^{bc}	251.18±2.02 ^h	736.93±1.03 ⁱ
10	130	30	4.5	57.57±1.28 ^e	46.97±0.98 ^d	3.67±0.33 ^{dbe}	31.26±0.68 ^{eg}	231.53±1.19 ^d	682.01±1.01 ^e
11	200	50	4.5	103.76±1.82 ^h	106.71±1.20 ^f	9.12±0.90 ^c	15.54±0.39 ^f	76.91±0.99 ⁱ	323.52±1.21 ^j
12	60	10	4.5	28.26±1.09 ⁱ	28.34±0.96 ^c	1.54±0.30 ^b	34.91±0.99 ^g	491.27±2.11 ^j	1157.36±2.11 ^k
13	200	30	3	80.07±0.98 ^a	98.86±1.10 ^h	5.31±0.70 ^{ae}	34.02±0.61 ^g	171.73±1.09 ^k	610.32±2.69 ^l
14	130	10	3	31.14±0.90 ^{ci}	26.14±0.98 ^c	1.76±0.18 ^b	44.62±0.79 ^h	412.67±2.20 ^l	1054.52±2.21 ^m
15	130	30	4.5	56.03±1.01 ^e	43.24±0.86 ^{bd}	3.41±0.30 ^{dbe}	29.46±0.48 ^{be}	232.06±0.98 ^d	681.09±1.02 ^e

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de 2 répétitions individuelles (n = 2e ± SEM). La moyenne suivie de lettres similaires exposant dans la colonne ne sont pas différentes (P <0,05). TPC (mg GAE / g extrait); TFC (mg QE / g extrait); TTC (mg QAE / g extrait); TSC (mg d'extrait de D-Glu E / g); DPPHIC₅₀ (µg / ml); ABTS IC₅₀ (µg / ml); X1: température de torréfaction (° C); X2: temps de torréfaction (min); X3: temps d'extraction (h).

Tableau 17 : Données d'ANOVA des coefficients de régression et des termes du modèle.

La source	Coef	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F-value	p-avalue
TPC						
Modèle		7236.7311	9	804.081	144.3821	<0.0001*
Constante	56.686667					<0.0001*
X ₁	25.50625	5204.5503	1	5204.5503	934.5376	<0.0001*
X ₂	12.06875	1165.2378	1	1165.2378	209.2320	0.0001*
X ₃	4.1225	135.9601	1	135.9601	24.4132	0.0043*
X ₁ *X ₂	2.77	30.6916	1	30.6916	5.5110	0.0658
X ₁ *X ₃	1.5525	9.6410	1	9.6410	1.7312	0.2454
X ₂ *X ₃	2.3575	22.2312	1	22.2312	3.9919	0.1022
X ₁ *X ₁	10.641667	418.1356	1	418.1356	75.0811	0.0003*
X ₂ *X ₂	-4.088333	61.7150	1	61.7150	11.0816	0.0208*
X ₃ *X ₃	-6.095833	137.2031	1	137.2031	24.6364	0.0042*
Résiduel		27.8456	5	5.569		
Total		7264.5767	14			
Manque d'ajustement		26.582725	3	8.86091	14.0330	0.0673
Erreur pure		1.262867	2	0.63143		
Erreur totale		27.845592	5			
R ²	0.996167					
Radj ²	0.989267					
TFC						
Modèle		8955.6569	9	995.073	23.2404	0.0015*
Constante	44.746667					<0.0001*
X ₁	27.6395	6111.5357	1	6111.5357	142.7375	<0.0001*
X ₂	7.53925	454.7223	1	454.7223	10.6202	0.0225*
X ₃	0.62125	3.0876	1	3.0876	0.0721	0.7990
X ₁ *X ₂	3.3285	44.3156	1	44.3156	1.0350	0.3557
X ₁ *X ₃	-9.8825	390.6552	1	390.6552	9.1239	0.0294*
X ₂ *X ₃	-0.005	0.0001	1	0.0001	0.0000	0.9988
X ₁ *X ₁	21.671167	1734.0534	1	1734.0534	40.4996	0.0014*

$X_2 * X_2$	-2.221333	18.2190	1	18.2190	0.4255	0.5430
$X_3 * X_3$	-5.180333	99.0862	1	99.0862	2.3142	0.1887
Résiduel		214.0830	5	42.817		
Total		9169.7398	14			
Manque d'ajustement		206.35613	3	68.7854	17.8042	0.0536
Erreur pure		7.72687	2	3.8634		
Erreur totale		214.08300	5			
R^2	0.976653					
R_{adj}^2	0.934629					

* Significatif à p-value <0,05

Concernant les résultats de d'ANOVA pour les flavonoïde (TFC) , la température de torréfaction (X1) et le temps de torréfaction (X2) avaient un effet linéaire positif sur la teneur en flavonoïde (TFC) (valeur p <0,05), cependant, le temps d'extraction (X3) n'était pas significatif (valeur p > 0,05). De plus, l'effet d'interaction entre X1 et X3 a eu un effet négatif significatif sur les flavonoïde (TFC) (valeur p > 0,05). Ainsi que, l'effet quadratique de la température de torréfaction (X1) a eu un effet négatif significatif sur les flavonoïdes (TFC) (valeur p = 0,0014).

3. Analyse des surface de réponse (RSM) pour TPC et TFC

Les effets de trois facteurs : la température de torréfaction, le temps de torréfaction et le temps d'extraction, ainsi que leurs interactions et leurs effets quadratiques sur les teneurs en polyphénols(TPC) et en flavonoïde (TFC) ont été visualisés sur des graphes de surface de réponse (3D) illustrées dans la figure 35. En conséquence, la figure 35 a montre la teneur en polyphénols (TPC) en fonction de la température de torréfaction (X1) et du temps de torréfaction (X2) à un temps d'extraction fixe (X3) à 6h. Il a montré que la teneur en polyphénols(TPC) augmentait rapidement lorsque la température de torréfaction (X1) augmentait à un temps de torréfaction (X2) fixé, ainsi que, il augmentait progressivement lorsque le temps de torréfaction (X2) augmentait, et atteignait un optimum dans la région proche de 200 °C et 50min. La figure 35b montre l'effet du temps de torréfaction (X2) et du temps d'extraction (X3) à une température de torréfaction fixe (200°C) sur la teneur en polyphénols(TPC). Cette teneur (TPC) augmentait avec l'augmentation du temps d'extraction (X3) quand le temps de torréfaction (X2) était fixé, ainsi que, il a augmenté progressivement lorsque le temps d'extraction(X3) a augmenté avant de passer 5h d'extraction, après cela, il a diminué. L'effet de la température de torréfaction (X1) et du

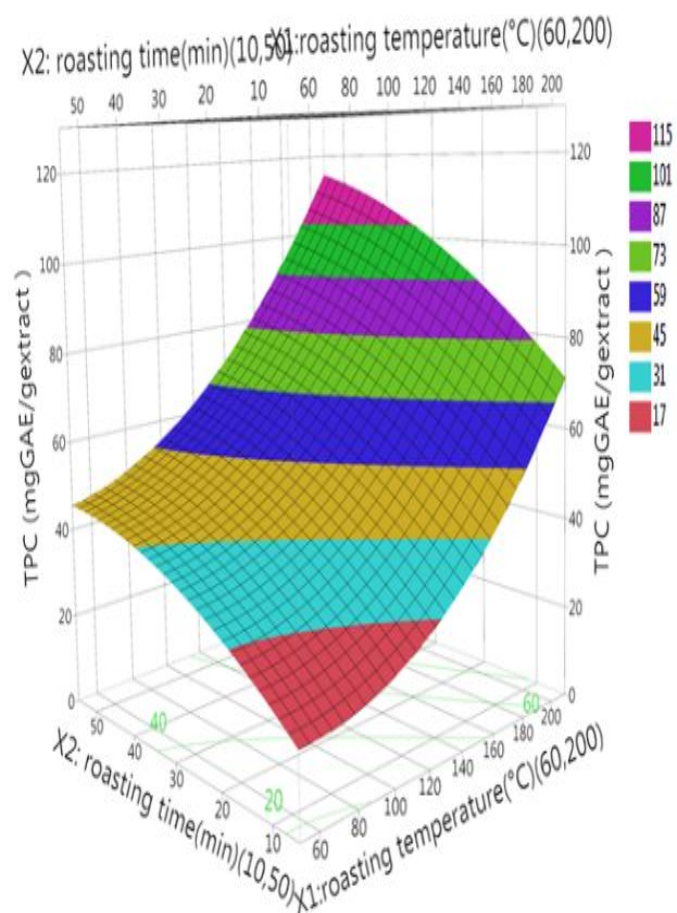
temps d'extraction (X3) à un temps de torréfaction fixe (X2) à 50°C est représenté sur la figure 35c, par conséquent, la teneur en flavonoïde(TFC) augmentait avec l'augmentation du temps de torréfaction(X2) lorsque le temps d'extraction était fixé. De plus, lorsque la température de torréfaction(X1) était fixée, la teneur en flavonoïdes(TFC) augmentait avant que le temps d'extraction(X3) n'augmente à 5h, après cela, il diminuait légèrement. De plus, l'optimisation de ces réponses a été réalisée selon la fonction de désirabilité (d) afin d'obtenir les réponses optimales pour les polyphénols (TPC) et les flavonoïdes (TFC). Ces réponse optimale pour ont été trouvée lorsque la désirabilité était proche de 1 (figure 44) [192].

Par conséquent, l'optimum de la teneur en polyphénols (TPC) était à la température de torréfaction(X1) à 200 ° C, le temps de torréfaction(X2) à 50 min et le temps d'extraction(X3) 5,49 h avec une réponse prédite qui est égale 106,2311 mg de GAE / g d'extrait et sa désirabilité qui est égale = 0,94 (figure 44a). Ces résultats étaient cohérents avec les études précédentes sur l'optimisation du teneur en polyphénols (TPC). Chandrasekara et Shahidi, 2011 [193] ont indiqué que la torréfaction à haute température (130 ° C) pendant 33 minutes augmentait considérablement la teneur (TPC) que celle des graines brutes (testa, noix de cajou).

De plus, la teneur en polyphénols (TPC) (à la fois extrait par l'eau et par l'éthanol) de la peau d'arachide a augmenté d'environ 35% par rapport à celle de l'échantillon brut à une température de torréfaction de 175 ° C pendant 5 min [194]. Ensuite, d'après une étude réalisée par Locatelli et al [195], la teneur en polyphénols (TPC) de la peau de noisette (extrait soluble) a augmenté à 180 ° C pendant 20 min plus que 10 min. De plus, Yin et al. [196] ont montré que la teneur (TPC) a augmenté d'environ 2,4 à 3,4 fois à une température comprise entre 120 ° C et 140 ° C pendant 180 min. De plus, la teneur (TPC) a augmenté de manière significative (valeur $p < 0,05$) lors d'un traitement thermique [197]. Concernant la teneur en flavonoïdes (TFC), la figure 35d montre le tracé de surface de réponse de la température de torréfaction (X1) et du temps de torréfaction (X2) sur la teneur en flavonoïdes (TFC) lorsque le temps d'extraction (X3) a été fixé à 3 h. La teneur (TFC) était stable quand le temps de torréfaction était fixé, et la température de torréfaction augmentait entre 60-120 °C; au-delà de 120 °C, la teneur(TFC) augmentait rapidement. Cette teneur (TFC) augmentait légèrement avec l'augmentation du temps de torréfaction (X2) lorsque la température de torréfaction était fixée. La figure 36e a montré que l'effet du temps de torréfaction (X2) et du temps d'extraction (X3) sur la teneur en flavonoïde(TFC) lorsque la température de torréfaction était fixée à 200 °C, cette teneur (TFC) augmentait avec l'augmentation du temps de torréfaction (X2) lorsque le temps d'extraction(X3) fixe, mais il

diminue avec l'augmentation du temps d'extraction (X3) lorsque le temps de torréfaction (X2) est fixé.

(a)



(d)

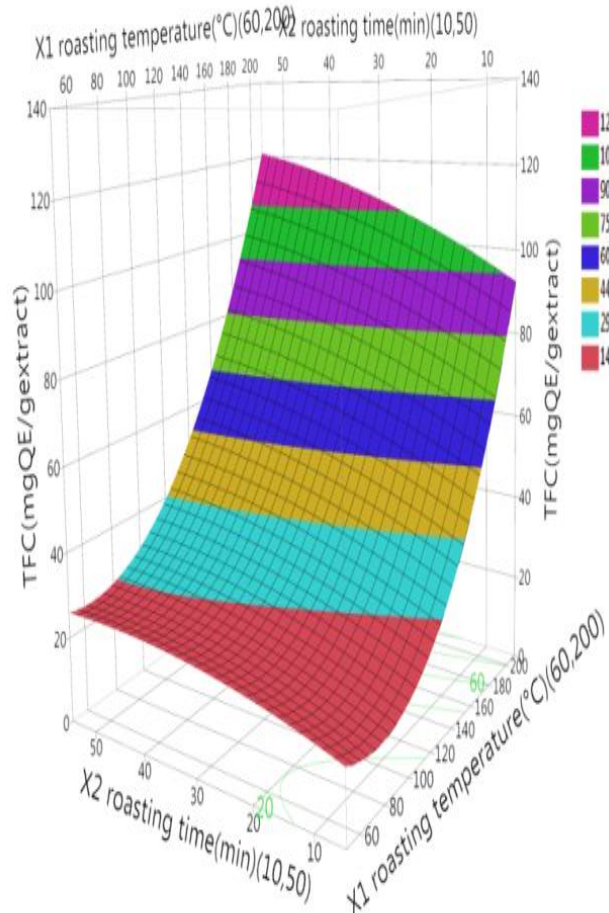


Figure 35(a,d) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (a.) et TFC (d) des extraits de graines d'*opuntia ficus indica*.

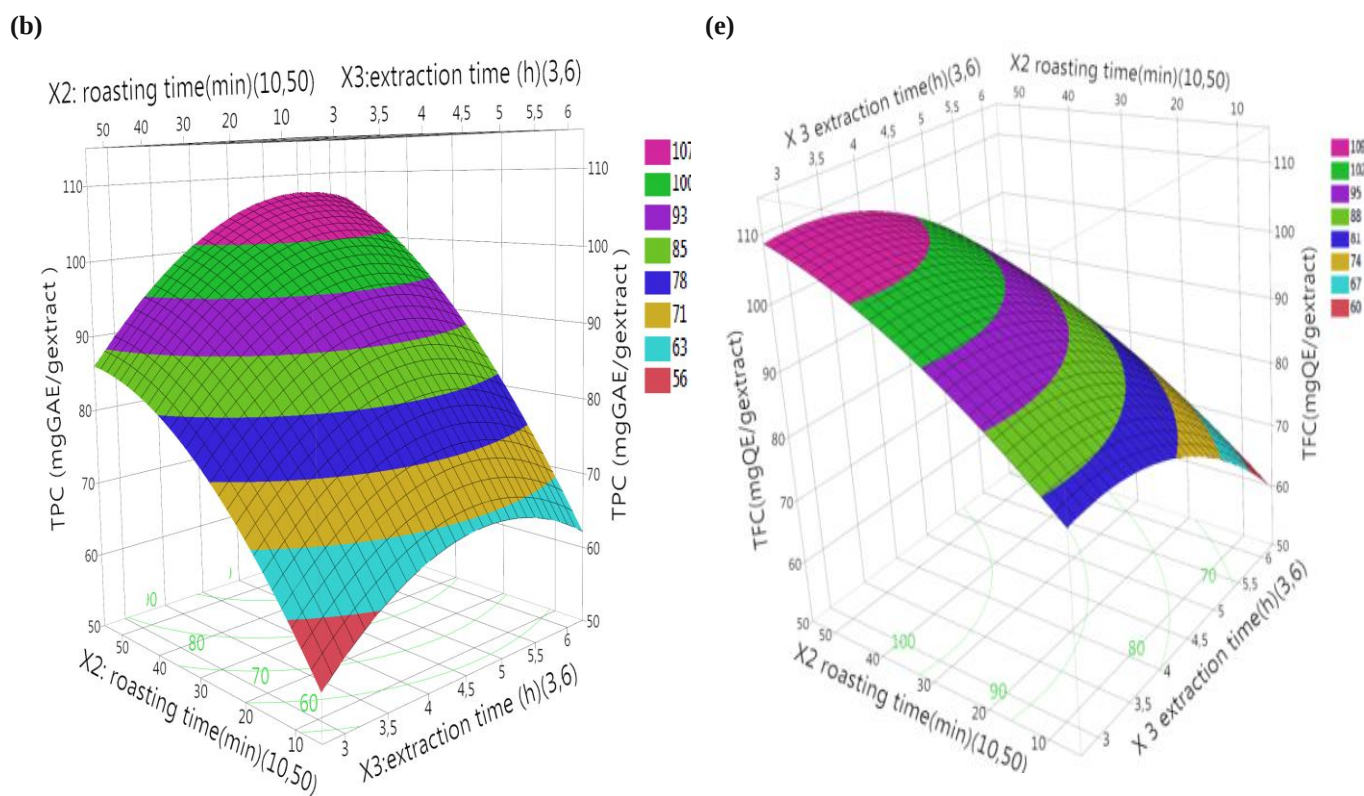


Figure 36(b,e) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (b,) et TFC (e) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

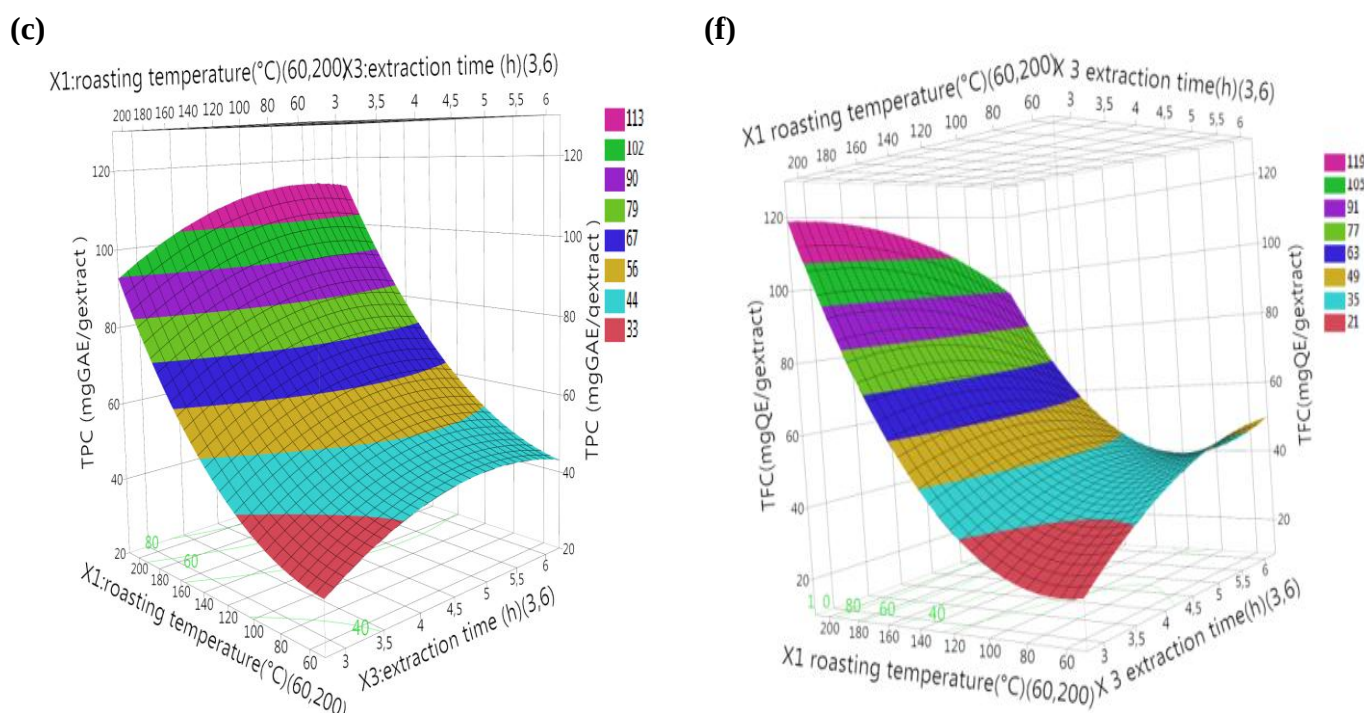


Figure 44(C,f) :Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TPC (C et TFC (f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

De plus, l'effet de la température de la torréfaction (X1) et du temps d'extraction (X3) sur la teneur en flavonoïdes (TFC) lorsque le temps de torréfaction (X2) était fixé à 50 ° C (Figure 37f), d'après ça, la teneur en flavonoïdes (TFC) augmentait légèrement avec l'augmentation de temps d'extraction (X3) à laquelle la température de torréfaction (X1) s'est fixé. En outre, la teneur en flavonoïdes (TFC) a rapidement augmenté avec l'augmentation de la température de torréfaction lorsque le temps d'extraction (X3) a été fixé. Le niveau élevé en flavonoïdes (TFC) a été enregistré à une température de torréfaction (X2) plus élevée. Par conséquent, le niveau maximum en flavonoïdes (TFC) était à une température de torréfaction (X2) qui est égale 200°C, un temps de torréfaction (X2) qui est égale 50 min et un temps d'extraction (X3) qui est égale 3,16 h avec une réponse prédite qui est égale 106,85 mgQE / g d'extrait et la désirabilité est d = 0,948 (figure 44b). Ces résultats sont similaires avec divers travaux. Lin et al. [198] ont indiqué que la teneur en flavonoïdes (TFC) a augmenté de manière significative par la torréfaction (après 5 min); en plus de cela, les aglycones et acides flavonoïdes sont augmentés par les effets de la température de torréfaction et du temps de torréfaction.

De plus, une étude a été réalisée par Kumar et al. [199] a montré que la fraction de sucre dans les flavonoïdes glycosides avait un rôle essentiel dans l'activité antioxydante, et les aglycones avaient un effet plus fort sur l'activité antioxydante que les glycosides. Les résultats des teneurs en teneur en flavonoïdes et polyphénols de cette étude après la torréfaction peuvent être expliqués par ces causes suivantes. Premièrement, les molécules phénoliques peuvent être dégradées / polymérisées lors de la torréfaction, ce qui a montré la formation de nouvelles molécules ; ces molécules peuvent être plus solubles dans l'eau et l'éthanol. En outre, ces molécules peuvent être réactives avec le Folin-Ciocalteu dans le milieu alcalin [200]. Deuxièmement, lors de la torréfaction, les composés bioactifs liés peuvent être libérés [201].

4. Modèle polynomial du second ordre et les surfaces de réponses pour TTC et TSC.

Dans ce travail, les teneurs en tanins (TTC) et en sucres (TSC) d'extraits de graines *d'opuntia ficus indica* variaient respectivement de $1,23 \pm 0,20$ à $9,12 \pm 0,90$ mg QAE / g extrait et de $10,35 \pm 0,32$ à $44,62 \pm 0,79$ mg de D-Glu E / g d'extrait. Selon les données d'ANOVA présentées dans le tableau 18, les modèles étaient significatifs car leur valeur de p-value était respectivement de 0,0023 et 0,0004 pour les teneurs en tanins (TTC) et en sucres (TSC).

De plus, l'absence d'ajustement n'était pas significative (valeur $p > 0,05$), ce qui indiquait que l'équation des modèles étaient adéquate pour prédire les valeurs de réponse. De plus, les valeurs R^2 étaient respectivement de 0,971804 et 0,98568 pour les tneurs en tanins (TTC) et en sucres (TSC), ce qui indique que 97% des résultats expérimentaux étaient compatibles [202]. Ces valeurs ont montré que ces modèles présentaient adéquatement les vraies combinaisons entre toutes les variables utilisées.

De plus, les coefficients de détermination ajustés R_{adj}^2 étaient respectivement de 0,921052 et 0,959904 pour les tneurs en tanins (TTC) et en sucres (TSC), ce qui indiquait que les modèles étaient adéquats ($R_{adj}^2 > 0,75$) [191]. Par conséquent, ces modèles polynomiaux du second ordre ont été respectivement appliqués dans les équations 12 et 13.

$$\begin{aligned} \text{TTC}(\text{mgQAE/gextract}) = & 3.4433333 + 2.80625X_1 + 1.09875X_2 + 0.795X_3 + 0.845X_1 \cdot X_2 \\ & + 0.6625X_1 \cdot X_3 + 0.8275X_2 \cdot X_3 + 0.7983333X_1 \cdot X_1 + 0.2433333X_2 \cdot X_2 - 0.219167X_3 \quad * \\ & X_3 \end{aligned} \quad (12)$$

$$\begin{aligned} \text{TSC}(\text{mgD-GluE/gextract}) = & 30.296667 - 3.7025X_1 - 5.41X_2 - 5.71X_3 - 7.3575X_1 \cdot X_2 - \\ & 5.2525X_1 \cdot X_3 + 3.5075X_2 \cdot X_3 - 1.632083X_1 \cdot X_1 + 3.9179167X_2 \cdot X_2 - 3.727083X_3 \quad * \\ & X_3 \end{aligned} \quad (13)$$

Tableau 18 : Données d'ANOVA du coefficient de régression et des termes du modèle

La source	Coef	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F-value	p-value
TTC						
Modèle		87.863198	9	9.76258	19.1480	0.0023*
Constante	3.4433333					0.0004*
X ₁	2.80625	63.000313	1	63.000313	123.5668	0.0001*
X ₂	1.09875	9.658013	1	9.658013	18.9429	0.0073*
X ₃	0.795	5.056200	1	5.056200	9.9171	0.0254*
X ₁ *X ₂	0.845	2.856100	1	2.856100	5.6019	0.0642
X ₁ *X ₃	0.6625	1.755625	1	1.755625	3.4434	0.1227
X ₂ *X ₃	0.8275	2.739025	1	2.739025	5.3722	0.0682
X ₁ *X ₁	0.7983333	2.353241	1	2.353241	4.6156	0.0844
X ₂ *X ₂	0.2433333	0.218626	1	0.218626	0.4288	0.5415
X ₃ *X ₃	-0.219167	0.177356	1	0.177356	0.3479	0.5810
Résiduel		2.549242	5	0.50985		
Total		90.412440	14			
Manque d'ajustement		2.4593750	3	0.819792	18.2446	0.0524
Erreur pure		0.0898667	2	0.044933		
Erreur totale		2.5492417	5			
R ²	0.971804					
Radj ²	0.921052					
TSC						
Modèle		1107.8079	9	123.090	38.2405	0.0004*
Constante	30.296667					<0.0001*
X ₁	-3.7025	109.66805	1	109.66805	34.0707	0.0021*
X ₂	-5.41	234.14480	1	234.14480	72.7421	0.0004*
X ₃	-5.71	260.83280	1	260.83280	81.0333	0.0003*
X ₁ *X ₂	-7.3575	216.53123	1	216.53123	67.2701	0.0004*
X ₁ *X ₃	-5.2525	110.35503	1	110.35503	34.2842	0.0021*
X ₂ *X ₃	3.5075	49.21022	1	49.21022	15.2882	0.0113*
X ₁ *X ₁	-1.632083	9.83519	1	9.83519	3.0555	0.1409

$X_2 * X_2$	3.9179167	56.67719	1	56.67719	17.6080	0.0085*
$X_3 * X_3$	-3.727083	51.29040	1	51.29040	15.9345	0.0104*
Résiduel		16.0942	5	3.219		
Total		1123.9020	14			
Manque d'ajustement		14.450100	3	4.81670	5.8595	0.1492
Erreur pure		1.644067	2	0.82203		
Erreur totale		16.094167	5			
R^2	0.98568					
R_{adj}^2	0.959904					

* Significant at p-value<0.05

Selon le tableau 18, l'effet linéaire de la température de torréfaction (X1), du temps de torréfaction (X2) et du temps d'extraction (X3) avait un effet positif significatif sur la teneur en tanins (TTC) (p-value <0,05). De plus, les effets d'interaction entre les trois facteurs X1, X2 et X3 n'étaient pas significatifs sur la teneur en tanins (TTC) (p-value > 0,05). En outre, l'effet quadratique de trois variables indépendantes n'avait aucune signification sur la teneur en tanins (TTC) car leur p-value était respectivement de 0,0844, 0,5415 et 0,5810 pour les trois facteurs X1, X2 et X3. En ce qui concerne la teneur en sucres TSC, l'effet linéaire de la température de torréfaction (X1), du temps de torréfaction (X2) et du temps d'extraction (X3) a eu un effet négatif significatif (valeur p <0,05). En plus ça, les effets d'interaction $X1 * X2$ et $X2 * X3$ ont eu des effets négatifs significatifs sur la teneur en sucres (TSC) (valeur p > 0,05); au contraire, l'effet d'interaction entre le temps de torréfaction (X2) et le temps d'extraction (X3) a eu un effet positif significatif sur la teneur en sucres (TSC) car leur p-value est égale à 0,0113. De plus, les effets quadratiques $X2 * X2$ avaient un effet positif significatif sur la teneur en sucres (TSC) (p-value = 0,0085), mais l'effet quadratique du temps d'extraction $X3 * X3$ avait un effet négatif sur la teneur en sucres (TSC) (p-value = 0,0104). Au contraire, l'effet quadratique de $X2 * X2$ n'était pas significatif (p-value > 0,05).

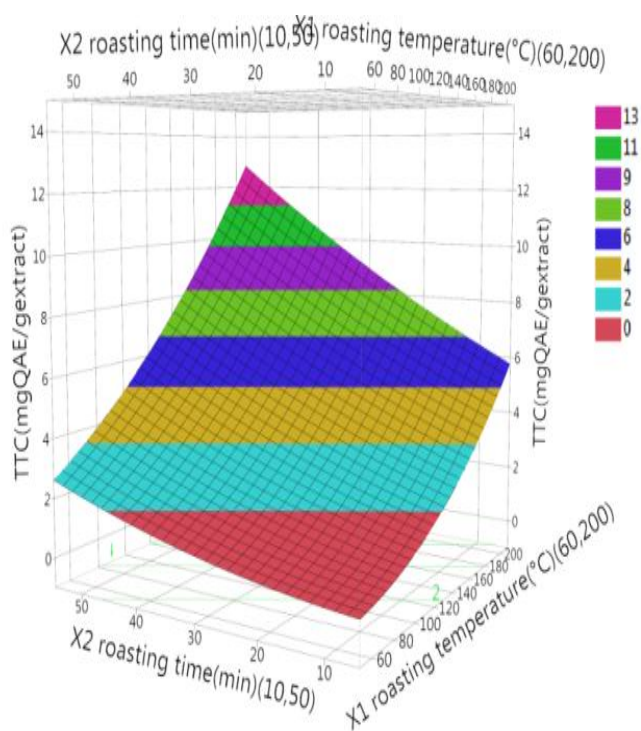
5. Analyse des surface de réponse (RSM) pour TTC et TSC.

Les surfaces de réponses (3D) des équations de régression 12 et 13 ont été établies par les surfaces de réponse (RSM) pour illustrer les effets de chaque variable indépendante étudiée sur les teneurs des tanins (TTC) et des sucres (TSC) (Figure 38). Selon ces résultats, la figure 34a montre l'influence de la température de torréfaction (X1) et du temps de torréfaction (X2) sur la

tenurs en tanins (TTC) lorsque le temps d'extraction (X3) a été fixé à 6h. Il a noté que la teneur en tanins TTC augmentait avec l'augmentation de la température de torréfaction lorsque le temps de torréfaction (X2) était fixé.

On voit également que le temps de torréfaction (X2) avait une influence sur les tenurs en tanins (TTC), car cette teneur (TTC) augmentait lentement avec l'augmentation de temps de torréfaction (X2) lorsque la temperature de torréfaction (X1) était fixé. De plus, l'effet d'interaction positive $X1 * X2$ sur le TTC a été observé. La figure 39b montre l'effet du temps de torréfaction et du temps d'extraction sur la teneur en tanins (TTC) lorsque le facteur (X1) a été fixé à 200 °C. Par conséquent, la teneur en tanins (TTC) a augmenté respectivement avec l'augmentation des deux facteurs X2 et X1. La figure 40c montre l'effet du temps de torréfaction(X2) et du temps d'extraction(X3) sur le TTC lorsque la température de torréfaction est fixée à 50 min. L'effet positif de X2 et X3 sur la teneur en tanins (TTC). Par conséquent, la teneur en tanins (TTC) a augmenté avec l'augmentation de deux facteurs X1 et X2. Il atteint un maximum de TTC dans la région proche de 50min et 6h. Le maximum en tanins (TTC) était à la température de torréfaction : 200 °C, le temps de torréfaction 50 min, et le temps d'extraction 6h avec une réponse prévues de 11,30 mg QAE / g extrait, et la dissirabilité est $d = 0,99$ (figure 44c). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Lin et al [143]. Ils ont indiqué que les extraits éthanoliques avaient une grande teneur en tanins (TTC) lors de la torréfaction (200 ° C pendant 20 min). Concernant les résultats du sucres (TSC) , la figure 38d montre l'effet de la température de torréfaction(X1) et du temps de torréfaction(X2) sur la tenur en sucres (TSC) lorsque le temps d'extraction(X3) est fixé (6h). Par conséquence, l'effet d'interaction négatif entre X1 et X2 a été enregistré; ainsi, l'optimum en sucres(TSC) a été observé dans la région à haute température (200 ° C)et un temps de torréfaction de 10 min. De plus, la figure 39e présente l'effet du temps de torréfaction(X2) et du temps d'extraction(X3) sur la tenur en sucres (TSC) lorsque la température de torréfaction (X2) était fixée à 200 ° C, la tenur en sucres(TSC) diminuait avec l'augmentation du temps d'extraction lorsque le temps de torréfaction était fixé,

(a)



(d)

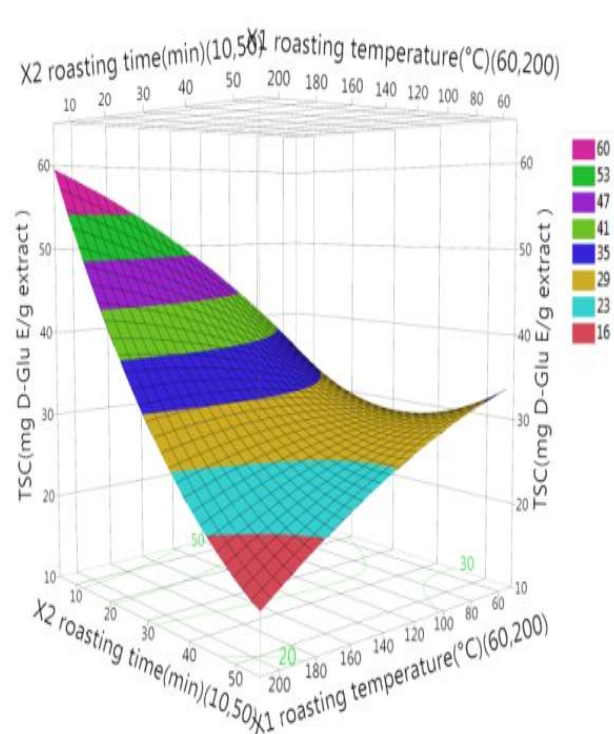
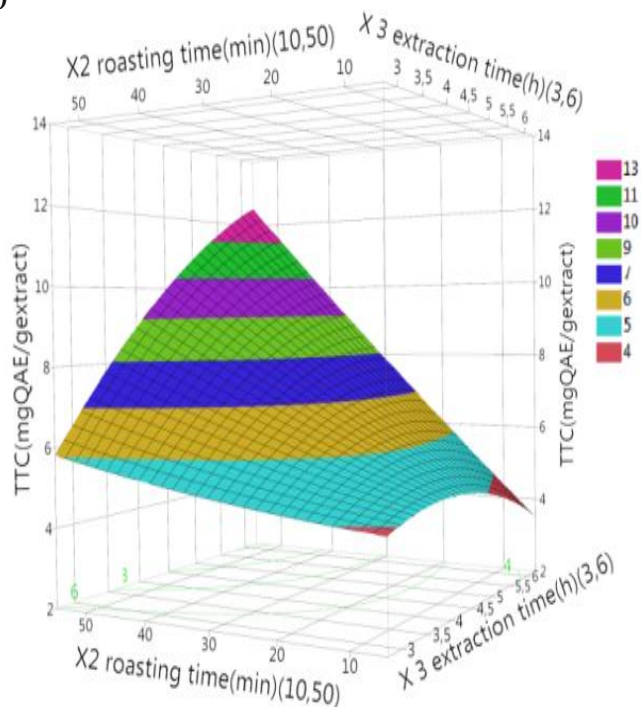


Figure 38(a,d):Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (a) et TSC (d) des extraits de graines d'*opuntia ficus indica*

(b)



(e)

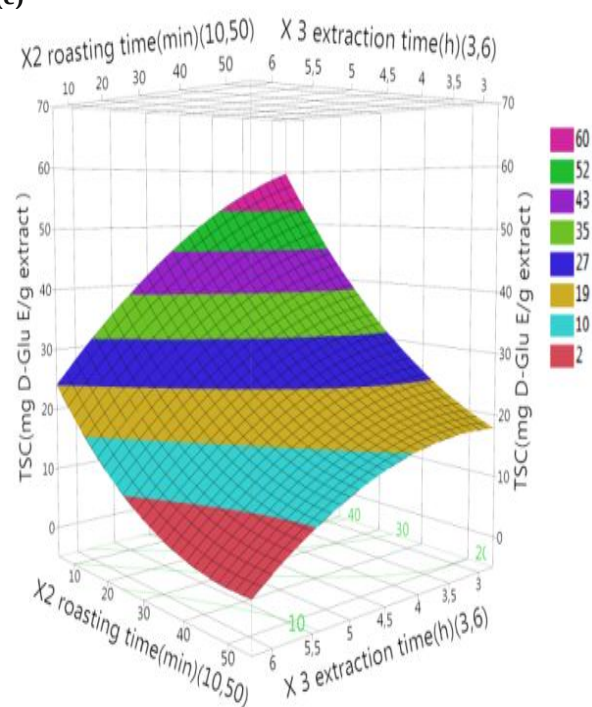


Figure 39(b,e):Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (b) et TSC (e) des extraits de graines d'*opuntia ficus indica*.

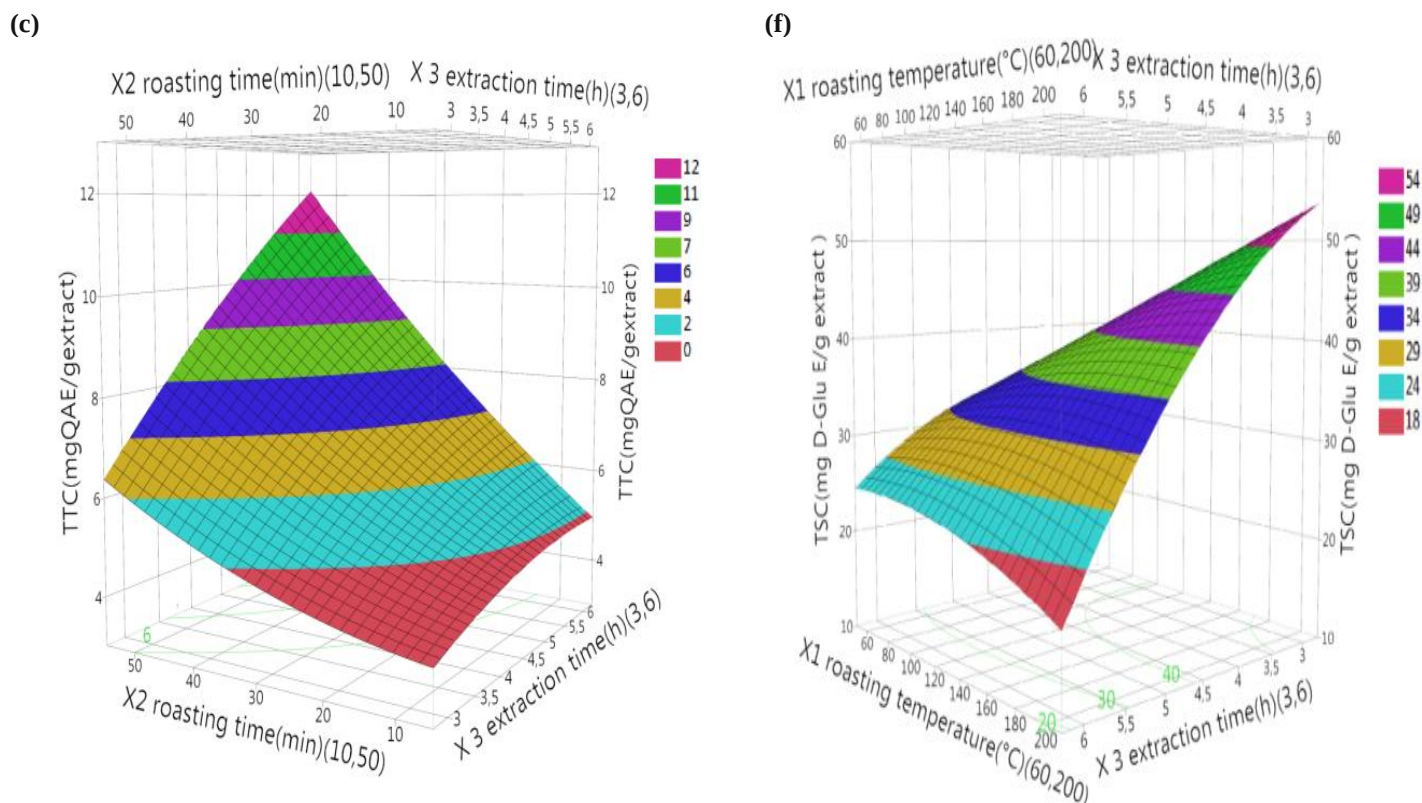


Figure 40:Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de TTC (a, b et c) et TSC (d, e et f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Selon la figure 40f, qui a montré l'influence de la température de torréfaction (X1) et le temps d'extraction (X3) sur la teneur en sucres (TSC) lorsque le facteur X2 était fixé à 10 min, la teneur en sucres (TSC) diminuait rapidement avec l'augmentation de temps d'extraction X3 lorsque la température de torréfaction (X1) se fixait. Ces résultats sont similaires aux travaux qui ont montré que la teneur en sucre libre diminuait généralement avec l'augmentation de la température et du temps de torréfaction [203], parce que pendant la torréfaction, les nutriments tels que les molécules de carbonyle et d'acides aminés peuvent être dégradés par des réactions de brunissement non enzymatiques [204,205]. Par conséquent, l'optimum en sucres (TSC) était à la température de torréfaction (60 °C), temps de torréfaction (50 min), temps d'extraction (5,12 h) avec une réponse prédite (38,86 mg de D-Glu E / g de d'extrait) et la désirabilité ($d = 0,81$) (figure 44d).

6. Modèle polynomial du second ordre et les surfaces de réponses pour DPPH et ABTS.

Les données d'Anova des pouvoirs antioxydants DPPH et ABTS sont mentionnées dans le tableau 19. P-value du modèle était $<0,0001$, ce qui a montré que les modèles étaient

significatifs. De plus, le manque d'ajustement n'était pas significatif car il était respectivement de 0,0756 et 0,0504 pour les tests DPPH et ABTS, ce qui confirme l'adéquation des modèles pour prédire l'activité antioxydante des extraits de graines torréfiées. De plus, les R^2 et R^{2adj} étaient respectivement de 0,999899 et 0,999718 pour DPPH et de 0,999813 et 0,999477 pour ABTS. On sait que $R^2 > 0,75$, ce qui indique l'adéquation des modèles [191]. Par conséquent, les modèles polynomiaux du second ordre ont été appliqués dans les équations 14 et 15.

$$\text{DPPH(IC}_{50}\text{)}(\mu\text{g/mL}) = 231.41 - 132.5163X_1 - 74.9875X_2 - 24.31375X_3 - 10.35X_1 * X_2 - 2.9525X_1 * X_3 + 5.34X_2 * X_1 + 35.04125X_2 * X_2 + 39.67275X_3 * X_3 \quad (14)$$

$$\text{ABTS(IC}_{50}\text{)}(\mu\text{g/mL}) = 682.44333 - 264.7125X_1 - 150.9038X_2 - 62.55125X_3 - 45.4125X_1 * X_2 - 21.3625X_1 * X_3 + 5.76X_2 * X_3 + 30.453333X_1 * X_1 + 72.955833X_2 * X_2 + 76.280833X_3 * X_3 \quad (15)$$

Selon l'analyse statistique d'Anova pour le pouvoir antioxydant par la méthode DPPH, la température de torréfaction (X_1), le temps de torréfaction (X_2) et le temps d'extraction (X_3) ont eu un effet linéaire négatif significatif (p-value $< 0,05$) sur les pouvoirs antioxydants par les deux méthodes DPPH et ABTS. En outre, leur effet quadratique $X_1 * X_1$, $X_2 * X_2$ et $X_3 * X_3$ avait un effet positif significatif (p-value $< 0,05$) sur le pouvoir antioxydant par DPPH.

De plus, l'effet d'interaction $X_2 * X_3$ a eu un effet positif significatif sur le pouvoir antioxydant (DPPH) (IC_{50}) car sa p-value est égale à 0,0031, au contraire, les effets d'interaction $X_1 * X_2$ et $X_1 * X_3$ avaient des effets négatifs significatifs (valeur p $< 0,05$) sur IC_{50} (DPPH). Concernant les données d'ANOVA pour le pouvoir antioxydant par l'ABTS. Les trois facteurs X_1 , X_2 et X_3 avaient un effet linéaire négatif sur IC_{50} (ABTS) (p-value $< 0,05$); en plus de ça, leurs effets quadratiques ont eu un effet significatif positif sur l' IC_{50} (ABTS) (p-value $< 0,05$). Ensuite, l'effet d'interaction entre la température de torréfaction (X_1) et le temps d'extraction (X_3) a eu un effet négatif significatif sur IC_{50} (ABTS) (p-value $< 0,0001$). Au contraire, l'effet d'interaction $X_2 * X_3$ n'était pas significatif car sa p-value est de 0,0924.

Tableau 19 :Données d'ANOVA du coefficient de régression et des termes du modèle.

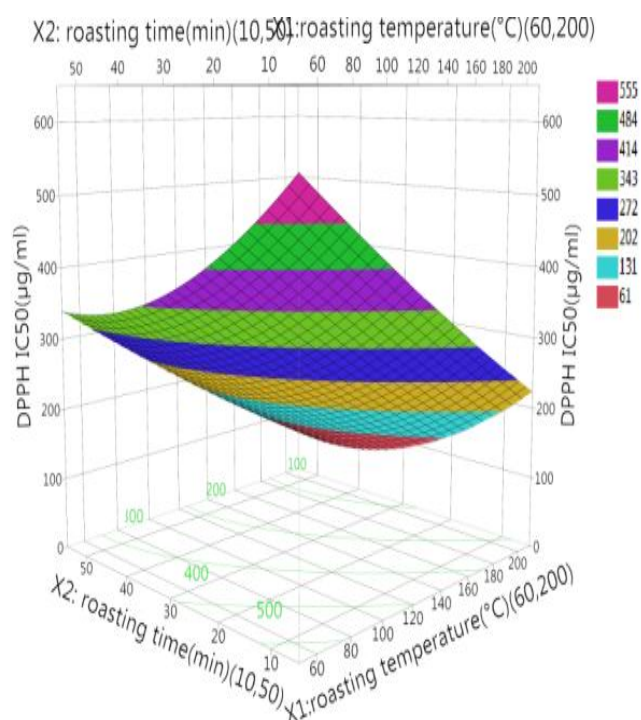
La source	Coef	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F-value	p-avlué
DPPHI(C₅₀)						
Modèle		200403.00	9	22267.0	5520.906	<0.0001*
Constante	231.41					<0.0001*
X ₁	-132.5163	140484.45	1	140484.45	34831.88	<0.0001*
X ₂	-74.9875	44985.00	1	44985.00	11153.63	<0.0001*
X ₃	-24.31375	4729.27	1	4729.27	1172.580	<0.0001*
X ₁ *X ₂	-10.35	428.49	1	428.49	106.2403	<0.0001*
X ₁ *X ₃	-2.9525	34.87	1	34.87	8.6455	0.0322*
X ₂ *X ₃	5.34	114.06	1	114.06	28.2808	0.0031*
X ₁ *X ₁	7.28875	196.16	1	196.16	48.6354	0.0009*
X ₂ *X ₂	35.04125	4533.74	1	4533.74	1124.102	<0.0001*
X ₃ *X ₃	39.67275	5811.72	1	5811.72	1440.964	<0.0001*
Résiduel		20.17	5	4.0		
Total		200423.16	14			
Manque d'ajustement		19.136275	3	6.37876	12.3883	0.0756
Erreur pure		1.029800	2	0.51490		
Erreur totale		20.166075	5			
R ²	0.999899					
Radj ²	0.999718					
ABTS(IC₅₀)						
Modèle		823930.42	9	91547.8	2976.325	<0.0001*
Constante	682.44333					<0.0001*
X ₁	-264.7125		1	-264.7125	18225.15	<0.0001*
X ₂	-150.9038		1	-150.9038	5922.736	<0.0001*
X ₃	-62.55125		1	-62.55125	1017.640	<0.0001*
X ₁ *X ₂	-45.4125		1	-45.4125	268.1903	<0.0001*
X ₁ *X ₃	-21.3625		1	-21.3625	59.3467	<0.0001*
X ₂ *X ₃	5.76		1	5.76	4.3146	0.0924
X ₁ *X ₁	30.453333		1	30.453333	111.3268	0.0001*
X ₂ *X ₂	72.955833		1	72.955833	638.9256	<0.0001*

$X_3 * X_3$	76.280833		1	76.280833	698.4914	<0.0001*
Résiduel		153.79	5	30.8		
Total		824084.21	14			
Manque d'ajustement		148.58192	3	49.5273	19.0071	0.0504
Erreur pure		5.21147	2	2.6057		
Erreur totale		153.79339	5			
R^2	0.999813					
$Radj^2$	0.999477					

7. Analyse des surfaces de réponse (RSM) pour DPPH et ABTS.

La surface de réponse (3D) des équations de régression 14 et 15 sont illustrées dans la figure 35. L'activité antioxydante est inversement proportionnelle à IC_{50} . De plus, la figure 41a et la figure 35d montrent respectivement l'effet du temps de torréfaction (X_2) et de la température de torréfaction (X_1) sur les IC_{50} pour les deux tests DPPH et ABTS. Quand le temps d'extraction (X_3) a été fixé à 4,5 h. Nous avons observé que l'activité antioxydante des deux tests DPPH et ABTS augmentait de manière significative avec l'augmentation du temps de torréfaction (X_2) et de la température de torréfaction (X_1) car l' IC_{50} des tests DPPH et ABTS était diminuée.

(a)



(d)

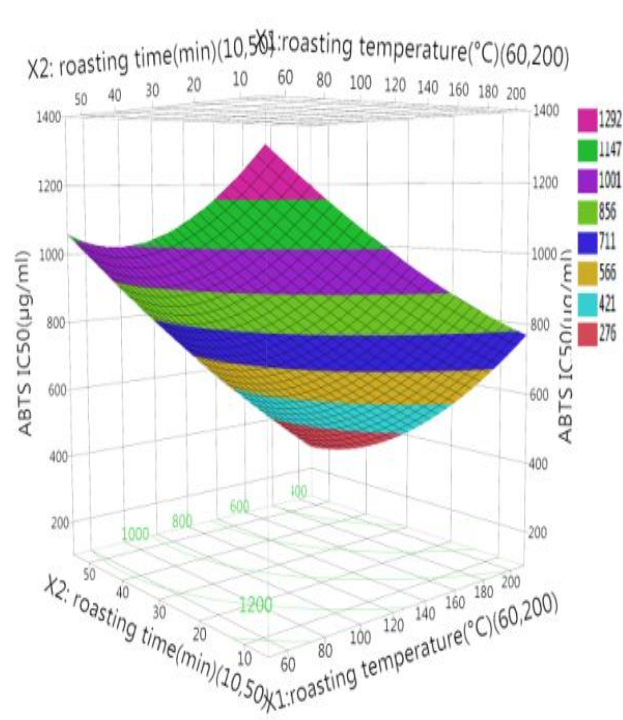


Figure 41: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC₅₀ (a) et ABTS IC₅₀ (d) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

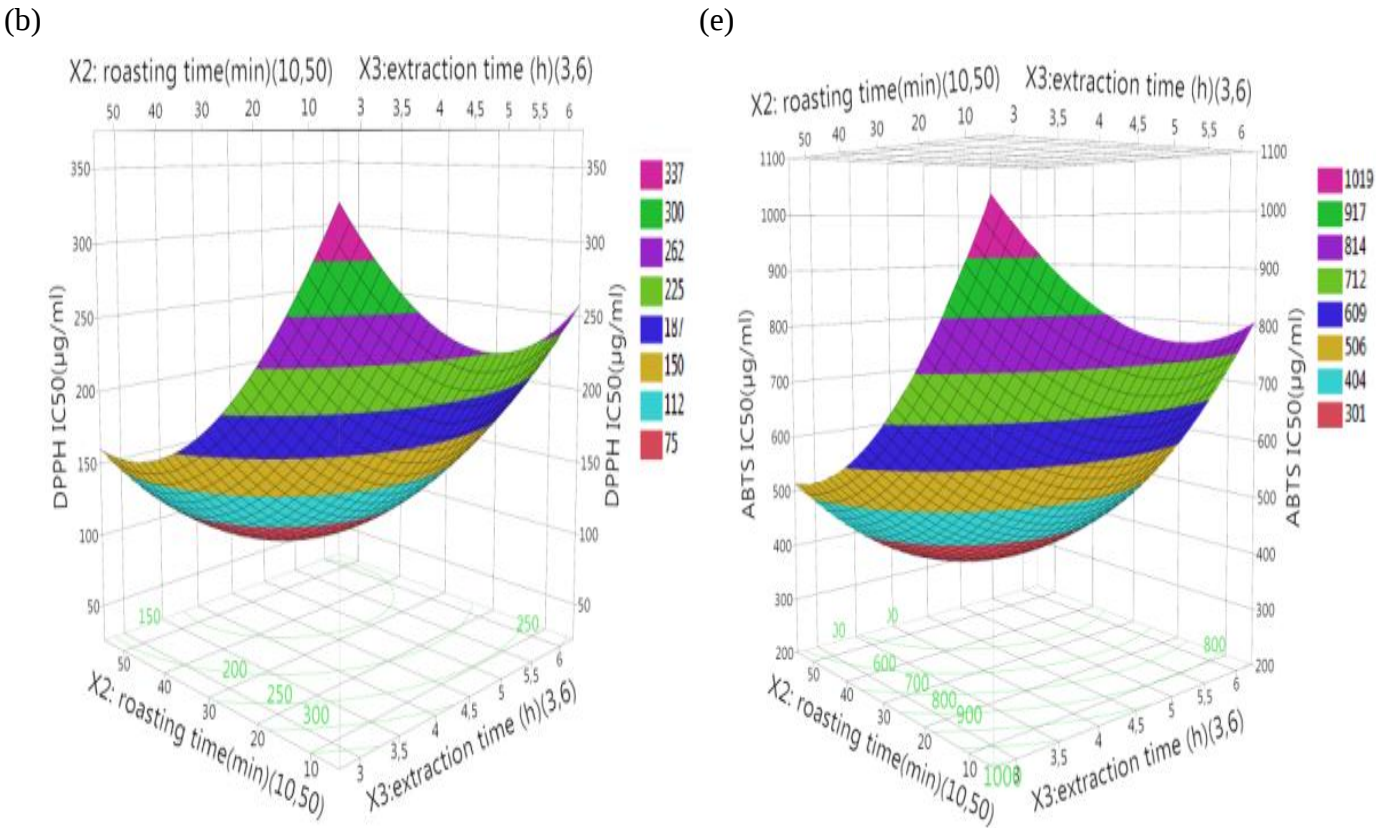
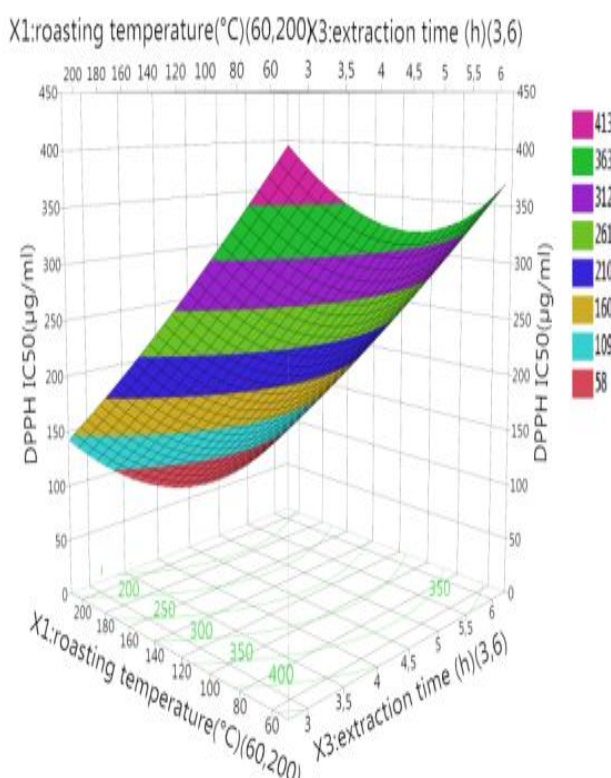


Figure 42: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC₅₀ (b) et ABTS IC₅₀ (e) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

(c)



(f)

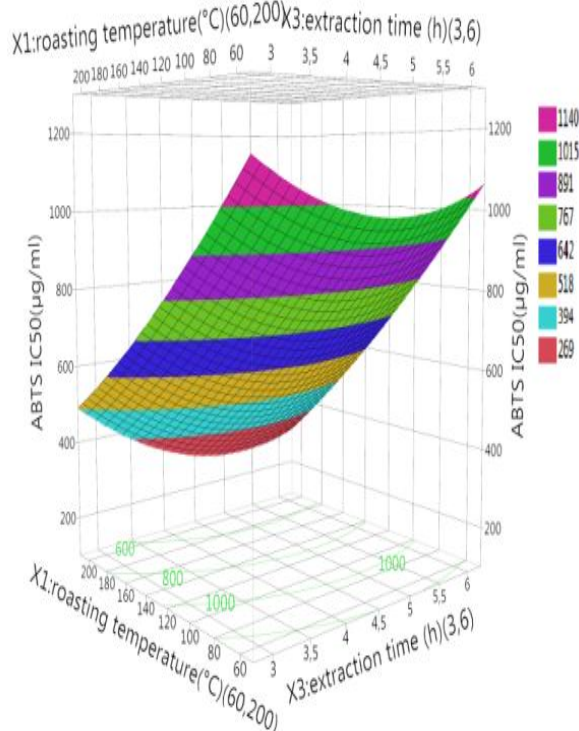


Figure 43: Diagrammes de surface de réponse des conditions de torréfaction de DPPH IC₅₀ (c) et ABTS IC₅₀ (f) des extraits de graines *d'opuntia ficus indica*.

Par conséquent, le maximum d'activité antioxydante pour les deux tests se situait dans la région à haute température de torréfaction (X1) et à haute temps de torréfaction (X2). En outre, les effets du temps de torréfaction (X2) et du temps d'extraction (X3) sur IC₅₀ lorsque la température de torréfaction a été fixée (200 ° C) sont présentés respectivement sur les figures 42b et 42e pour les deux tests DPPH et ABTS, l'activité antioxydante augmentait avec l'augmentation du temps d'extraction et de la température de torréfaction pour les deux tests. La figure 43c et la figure 43f montrent respectivement les effets de la température de torréfaction et du temps d'extraction lorsque le temps de torréfaction a été fixé (50 min) . Nous avons observé que l'activité antioxydante augmentait pour les deux tests avec l'augmentation de deux facteurs X1 et X3 car la valeur IC₅₀ était diminuée. De plus, l'activité antioxydante optimale était à une température de torréfaction et un temps d'extraction élevés pour les deux tests DPPH et ABTS. D'après la fonction de désirabilité, le maximum d'activité antioxydante par le test DPPH était à une température de torréfaction (X1 = 200 °C), un temps de torréfaction (X2 = 47,85 min) et un temps d'extraction (X3 = 4,91) avec 98,226% d'inhibition, qui correspond à 73,21 µg / mL de réponse

prédite, ainsi que la désirabilité est égale $d = 0,84$ (Figure 44e). Pour le test ABTS, l'optimum d'activité antioxydante était à une température de torréfaction ($X_1 = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$), temps de torréfaction ($X_2 = 49\text{ min}$) et le temps d'extraction ($X_3 = 5,28$) avec 97,38% d'inhibition, ce qui correspond à 305,57 $\mu\text{g/mL}$ de réponse prédite, ainsi que la désirabilité est égale $d = 0,907$ (figure 44f.). Ces résultats sont confirmés à ceux trouvés par plusieurs travaux. Lin et al. [198] ont montré que l'activité antioxydante la plus forte était enregistrée à une température de torréfaction élevée pour le noyau d'extrait d'amande éthanolique (*prunus dulcis*), ainsi que la puissance de piégeage du radical DPPH pendant la température de torréfaction à $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 20 min était supérieure à celle l'échantillon brut. De plus, Chandrasekara et Shahidi [193] ont montré que l'activité antioxydante du radical DPPH augmentait de manière significative avec l'augmentation de la température de torréfaction de l'extrait de testa phénolique soluble. Concernant le test ABTS, Yin et coll. [196] ont indiqué que le balayage (ABTS) a augmenté pendant la torréfaction à $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ et à $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ après 60 min de torréfaction. En outre, Gao et al. [206] ont rapporté que l'activité (ABTS) a augmenté de manière significative à $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 10 min de torréfaction par rapport à l'extrait brut.

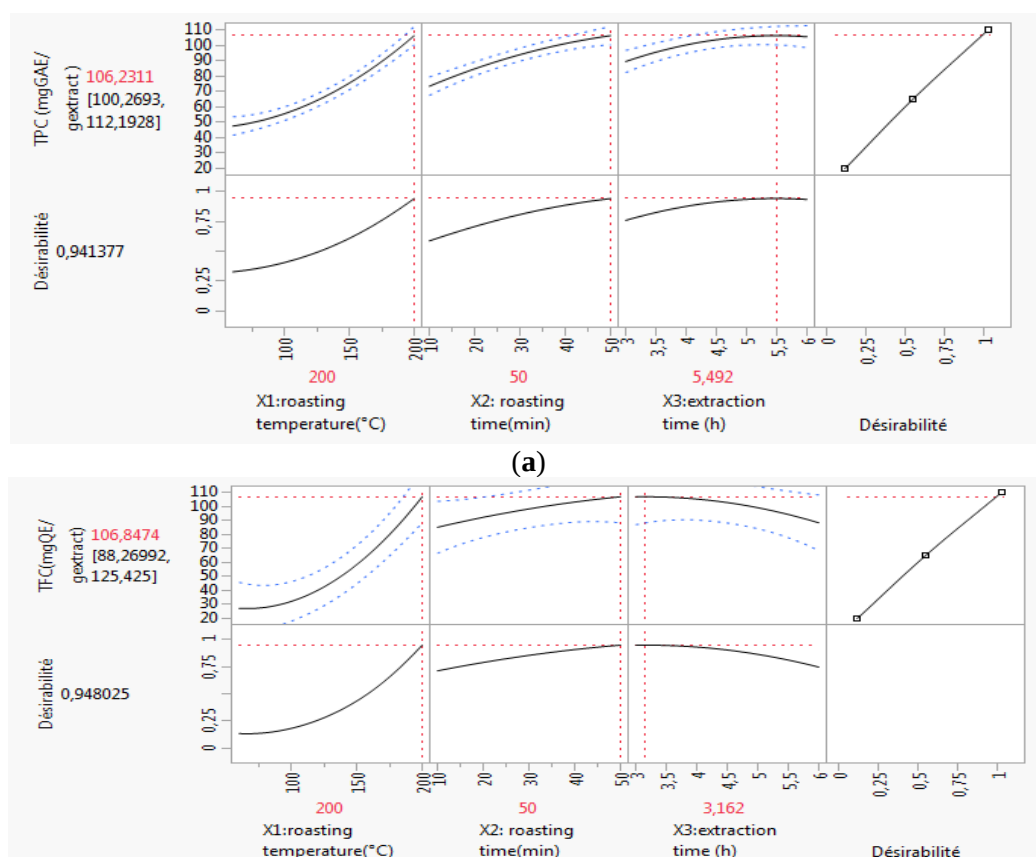
Ces résultats peuvent être justifiés comme suit: lors de la torréfaction, les caractéristiques antioxydantes peuvent être améliorées par une réaction entre les acides aminés et les sucres réducteurs; cette réaction a produit une nouvelle molécule appelée produits de réaction de Maillard (MRP), ainsi que la dégradation des composés antioxydants thermolabilisants [207]. De plus, pendant le traitement thermique, le phénol antioxydant lié et les composés polymères liés des plantes peuvent être dégradés et libérés, ce qui conduit à une augmentation de la capacité antioxydante [208]. De plus, les produits de réaction de la mélanoidine et de Maillard résultants avaient une activité antioxydante plus élevée, qui dépend de la présence de structures de type réductone [209], ainsi que la torréfaction améliore la solubilité des molécules non phénoliques [210].

8. Vérification et comparaisons des résultats prédits et expérimentales

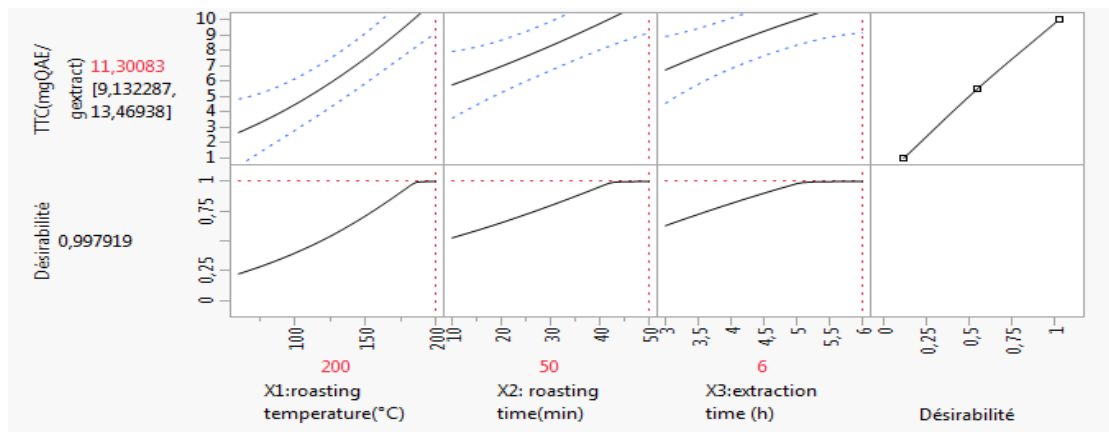
Tableau 20 : Résultats expérimentaux et prévus aux conditions optimales

Responses	X ₁ température torréfaction (°C)	X ₂ temps torréfaction (min)	X ₃ temps d'extraction (h)	Réponse prédite	Réponse expérimentale
TPC (mgGAE/gextract)	200°C	50min	5.49 h	106.23	103.5±0.76
TFC(mgQE/gextract)	200°C	50min	3.16h	106.85	104.29±0.54
TTC (mgQAE/gextract)	200°C	50min	6h	11.30	10,16±0.89
TSC (mg D-Glu E/gextract)	60°C	50min	5.12h	38.86	40.35±0.99
DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	200°C	47.85min	4.91h	73.21	75.48±0.85
ABTSIC ₅₀ (µg/mL)	200°C	49.69min	5.28h	305.57	306.59±0.90

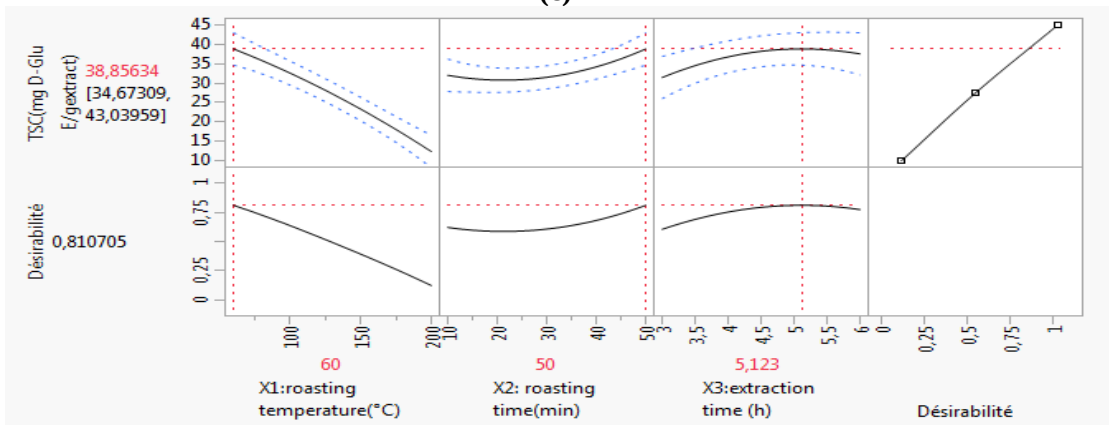
La validité des modèles prédictifs a été vérifiée en comparant les résultats prédits et expérimentales. Cette vérification a été effectuée en utilisant les conditions expérimentales des valeurs de réponse maximales (Figure 36). D'après les données du tableau 20, les résultats prévus sont proches à ceux expérimentaux.



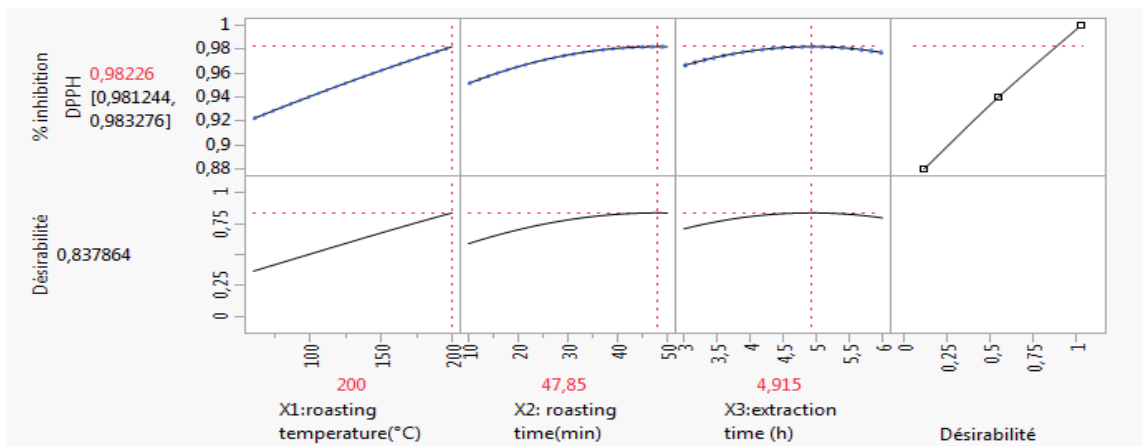
(b)



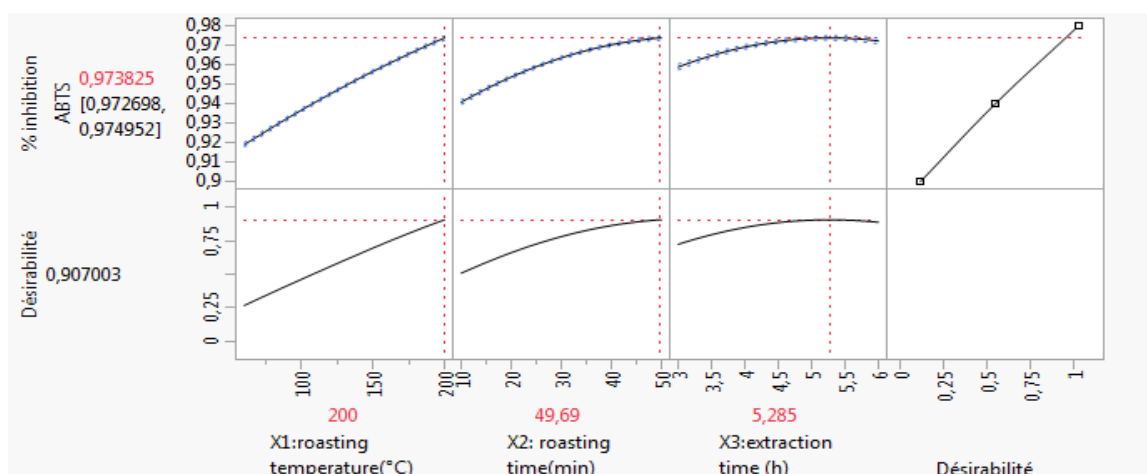
(c)



(d)



(e)



(f)

Figure 44 : Résultats de désirabilité pour :a: TPC, b: TFC, c: TTC, d:TSC, e: DPPH, and f:ABTS.

9. Matrice de corrélation

Les coefficients de corrélation et les p-values de toutes les réponses étudiées ont été présentés respectivement dans les tableaux 21 et 22. De plus, les activités antioxydantes (ABTS ($1 / IC_{50}$); DPPH ($1 / IC_{50}$)) exprimaient le pouvoir d'inhiber respectivement les radicaux ABTS et DPPH; ils sont inversement proportionnels à IC_{50} .

Tableau 21 : Matrice de corrélation de Pearson entre les activités antioxydantes et les composés bioactifs.

Variable	TPC	TFC	TTC	TSC	DPPH ($1/IC_{50}$)	ABTS($1/IC_{50}$)
TPC	1					
TFC	0.917	1				
TTC	0.949	0.831	1			
TSC	-0.560	-0.358	-0.607	1		
DPPH ($1/IC_{50}$)	0.917	0.836	0.891	-0.650	1	
ABTS ($1/IC_{50}$)	0.920	0.802	0.907	-0.695	0.992	1

Les résultats en gras sont différents de 0 à un niveau de signification $\alpha = 0,05$.

Tableau 22 :p-value de la matrice de corrélations des coefficients.

Variables	TPC	TFC	TTC	TSC	DPPH($1/IC_{50}$)	ABTS($1/IC_{50}$)
TPC	0					
TFC	< 0.0001	0				
TTC	< 0.0001	0.000	0			
TSC	0.030	0.191	0.016	0		
DPPH ($1/IC_{50}$)	< 0.0001	0.000	< 0.0001	0.009	0	
ABTS($1/IC_{50}$)	< 0.0001	0.000	< 0.0001	0.004	< 0.0001	0

Les résultats en gras sont différents de 0 à un niveau de signification $\alpha = 0,05$.

Selon les tableaux 21 et 22, les fortes corrélations positives (p -value $< 0,0001$) entre les composés phénoliques (TPC, TFC, TTC) et le pouvoir antioxydant ont été enregistrées. Les coefficients de corrélation de polyphénols (TPC) étaient respectivement de 0,917 et 0,920 avec DPPH et ABTS. Ces corrélations positives signifient que l'activité antioxydante des extraits de graines d'*Opuntia ficus indica* peut être attribuée à la présence de polyphénol (TPC). Une forte corrélation positive significative entre les flavonoides (TFC) et le pouvoir antioxydant avec DPPH ($1 / IC_{50}$) ($r^2 = 0,836$) et ABTS ($1 / IC_{50}$) ($r^2 = 0,802$) a été observée. De plus, il a été constaté que les tanins (TTC) avaient également une corrélation positive significative (p -value $< 0,0001$) avec DPPH ($1 / IC_{50}$) et avec ABTS ($1 / IC_{50}$). En conséquence, ces corrélations sont confirmées par des corrélations significatives positives élevées (valeur p -value $< 0,05$) entre TPC, TFC et TTC. Nous avons également observé que les sucres (TSC) n'étaient pas significatifs avec l'activité antioxydante (p -value $> 0,05$). De plus, une corrélation positive élevée était significative entre les deux activités antioxydantes ($r^2 = 0,992$), ce qui a montré que les mêmes composés antioxydants dans nos échantillons sont responsables de l'activité de piégeage de deux radicaux libres ABTS et DPPH.

10. Analyse en composantes principales PCA

La figure 45 montre les projections des résultats expérimentaux (15 extraits) par le plan factoriel (F1-F2), selon PCA. Le premier composant essentiel F1 explique 83,38% de l'information, et le second explique 11,64% de l'information. Ainsi, le pourcentage cumulé était de 95,02% ; il est supérieur à 50%, ce qui indique que la combinaison linéaire est bien représentative des variables. Ainsi, le pourcentage cumulé était de 95,02% ; il est supérieur à 50%, ce qui indique que la combinaison linéaire est bien représentative des variables. Les corrélations entre toutes les réponses sont représentées sur la figure 45 par le plan formé par les axes F1 et F2. Par conséquent, le plan F1 a été construit par les corrélations positives entre TFC, TPC, TTC, ABTS ($1 / IC_{50}$) et DPPH ($1 / IC_{50}$). Mais le plan F2 a été formé par TSC (Figure 45). Les extraits de cette étude ont été séparés en 3 groupes en fonction des résultats des réponses Figure 46.

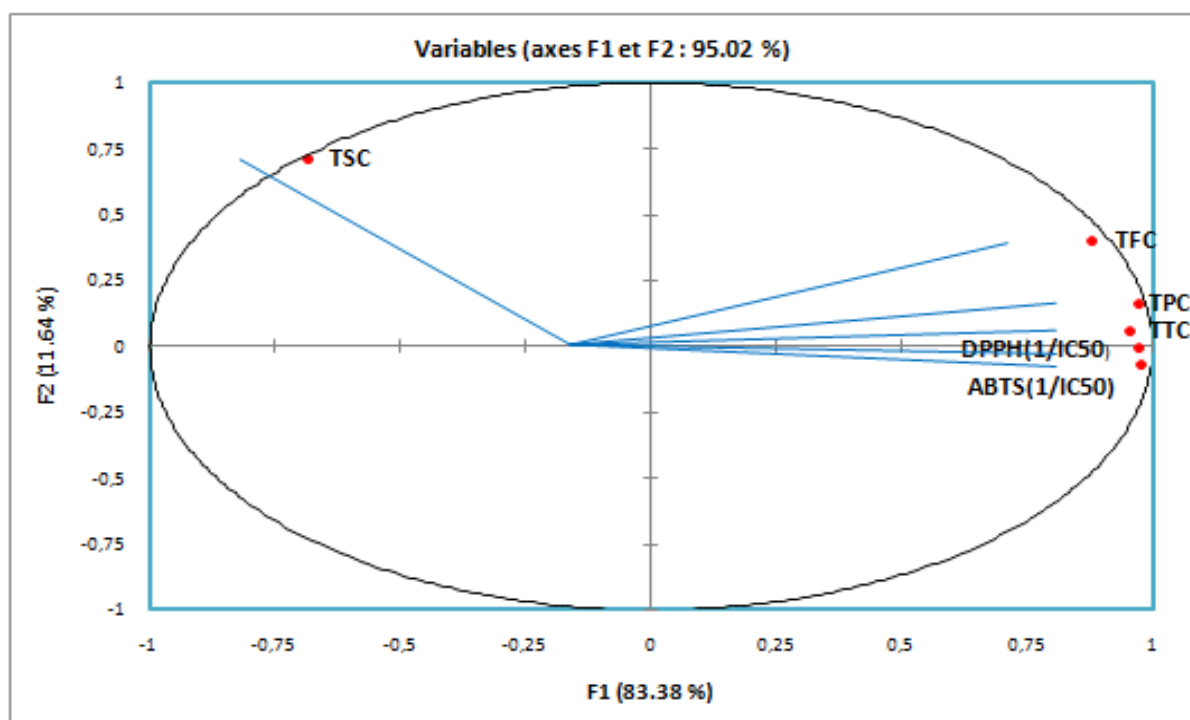
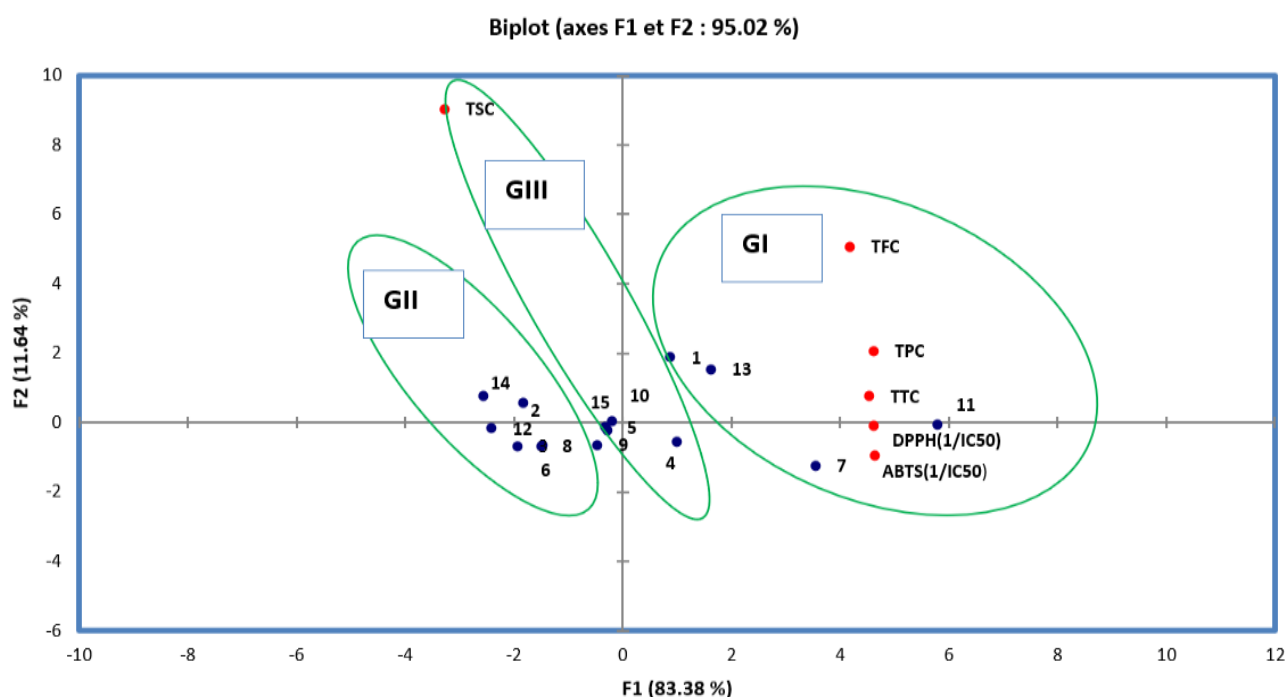


Figure 45: Plan factoriel d'analyse des composants principaux réalisé sur les valeurs (TFC, TPC, TSC, TTC, ABTS (1 / IC₅₀) et DPPH (1 / IC₅₀)).



DPPH (1/ IC₅₀); ABTS (1/ IC₅₀), GI: Group I; GII: Group II; G III ;Group III

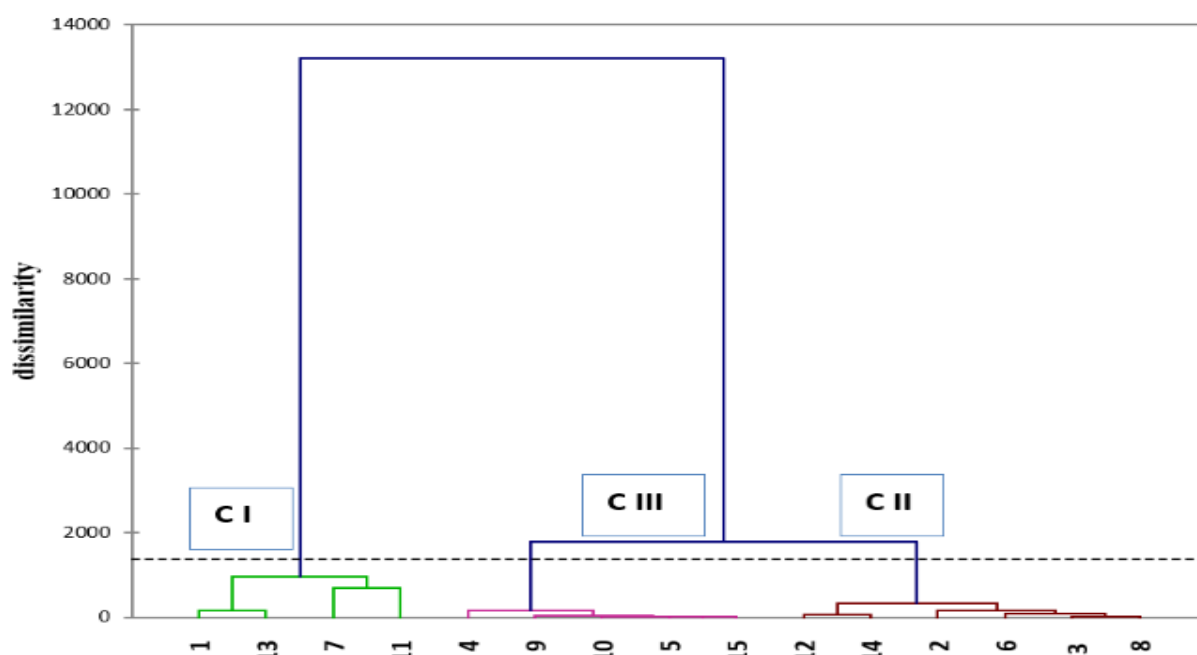
Figure 46: Projection du plan factoriel (F1 × F2) de la variable de l'individu.

Le groupe I est composé de quatre extraits (1, 13, 7, 11); ces extraits avaient des valeurs élevées de TPC, TFC, et TCC; en outre, ils avaient une capacité antioxydante élevée par les tests ABTS

et DPPH. Au contraire, ils avaient une valeur inférieure de TSC. Le groupe II contient 6 extraits (8, 3, 6, 2, 12 et 14). Les extraits de ce groupe sont caractérisés par les faibles valeurs de TPC, TFC et TTC, mais ils avaient une valeur plus élevée de TSC, donc leur capacité antioxydante est faible par rapport à d'autres groupes. Le groupe III est formé par 5 extraits (5, 10, 9, 4, 15). Les extraits de ce groupe sont caractérisés par une valeur plus élevée de TSC et par des valeurs moyennes de TPC, TFC et TTC. Par conséquent, leur capacité antioxydante est moyenne par rapport à G 1. Le groupe I contient des extraits caractérisés par une forte température de torréfaction de 200 ° C, ce qui indique que leur activité antioxydante est plus forte que les extraits du G II et G III. Par conséquent, la torréfaction peut augmenter l'extraction des molécules bioactives responsables de l'activité antioxydante.

11. Analyse de clustering hiérarchique HCA

Selon HCA, les extraits ont été classés par la méthode Euclidienne au carré et de Wards pour estimer la mesure de similarité. HCA a été utilisé pour évaluer la corrélation entre les extraits et pour présenter les similitudes de 15 extraits (tests expérimentaux) selon les données de teneur en composés antioxydants et d'activité antioxydante, comme indiqué dans le dendrogramme (figure 47). Selon les molécules bioactives, les 15 extraits ont été regroupés en trois clusters. Le cluster I contient 4 extraits (1, 13, 7, 11) représentant 26,66% des extraits caractérisés par une moyenne élevée respectivement, de TPC(87,74 mg GAE / g d'extrait), TFC(90,36 mg QE / g d'extrait), et TTC(7,06 mg de QAE / g d'extrait), ainsi qu'ils avaient une capacité antioxydante plus forte. Cluster II, le plus grand cluster formé à partir de 6 extraits, à savoir 8, 3, 6, 2, 12 et 14 représentaient 40% du extraits ; ces extraits avaient la valeur moyenne la plus basse respectivement de TPC(35,57 mg d'extrait GAE / g), TFC(33,60 mg QE / g d'extrait) et TTC(1,62 mg d'extrait QAE / g). En outre, ils avaient un taux moyen élevé de TSC 33,73 mg d'extrait de D-Glu E / g, et ils sont caractérisés par une faible activité antioxydante par DPPH et ABTS. À partir de l'analyse des grappes, le cluster III contenait quatre extraits, à savoir 5, 10, 9, 4 et 15 représentant 33,33% du extraits, avec des valeurs moyennes de composés antioxydants respectivement de TPC (57,91 mg GAE / g d'extrait), TFC(44,46 mg d'extrait QE / g), TTC(4,06 mg d'extrait QAE / g), et TSC(28,06 mg d'extrait D-Glu E / g), ainsi qu'un pouvoir antioxydant moyen. Ces résultats sont en accord avec les données du PCA, dans lequel la distribution de tous les extraits sur le graphique de score indique une tendance similaire. De plus, les résultats de l'ACP étaient cohérents avec ceux du HCA.



CI: groupe I; CII: groupe II; C III; Groupe III.

Figure 47 : Dendrogramme des extraits testés fondés par HCA en utilisant des capacités antioxydantes et antioxydantes.

12. Conclusion

La RSM (méthode de surface de réponse) a été utilisée pour optimiser les conditions du traitement thermique à sec, afin de déterminer les niveaux optimaux des teneurs en composés bioactives et leurs activités antioxydantes à partir des extraits de graines d'*Opuntia ficus indica*. Les résultats ont montré que les niveaux de molécules bioactives augmentaient considérablement avec l'augmentation de la température de torréfaction et du temps de torréfaction. De plus, les valeurs expérimentales générées sur la base des facteurs de torréfaction optimisés ont été trouvées proches des valeurs prédites. Par conséquent, ce travail suggère que les modèles obtenus peuvent être utilisés pour optimiser la température de torréfaction, le temps de torréfaction et le temps d'extraction pour l'extraction de molécules bioactives à partir de graines d'*Opuntia ficus indica*. Le PCA a indiqué une corrélation positive entre les molécules bioactives et les activités antioxydantes (ABTS, DPPH). En outre, HCA a montré que l'interdépendance entre les extraits. Par conséquent, les graines torréfiées d'*Opuntia ficus indica* peuvent être considérées comme des aliments traditionnels avec un fort pouvoir antioxydant pour la production d'aliments fonctionnels.

Chapitre III. Activité antioxydante, Docking moléculaire contre l'enzyme Peroxiredoxine humaine 5 (PDB ID: 1HD2), ADMET, prédiction PASS pour les constituants majeurs de l'huile végétale de graines d'opuntia ficus indica

1. Introduction

Les huiles végétales font partie intégrante de l'alimentation. Ils sont riches en composés phytochimiques et en nutriments tels que les phytostérols, les acides gras. Ils peuvent servir de vitamines liposolubles. De plus, les huiles végétales peuvent être utilisées dans plusieurs coproduits tels que les industries cosmétiques et les huiles alimentaires (margarines, chocolat et cuisson) [211]. L'*Opuntia ficus Indica* est une plante originaire du Mexique, elle est considérée un aliment nutritif essentiel pour les populations indigènes [212-213]. Cette plante appartient à la famille des cactus et se trouve surtout dans les continents aride (Afrique) et semi-aride (Amérique du Sud et centrale) [214]. De plus, cette plante est riche en composés antioxydants tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les tanins et les acides gras, ainsi que, elle est riche en valeur nutritionnelle comme la vitamine C, le sucre et les pigments, pour cela, elle a été recommandé comme aliment chez l'homme. [215-216]. Les graines sont jetées comme déchets après l'extraction de la pulpe. Ils représentent environ 10 à 15% de la pulpe comestible. L'huile végétale est obtenue à partir de ces graines, elle représente environ 7 à 15% du poids des graines entières [217]. Récemment, l'huile de pépins d'*Opuntia ficus-Indica* a été présentée comme un nouvel ingrédient qui peut trouver sa place dans le domaine des ingrédients cosmétiques grâce à sa composition chimique adaptée aux applications cosmétiques [218,219]. Le fruit du cactus constitue environ 300 graines par fruit [220] qui était considéré comme un déchet par l'industrie alimentaire. Cependant, les graines de cactus peuvent être valorisées en récupérant leur huile. Dans la littérature, elles suggèrent que l'huile transformée à partir des graines constitue 7 à 15% du poids de la graine entière et se caractérise par un degré élevé d'insaturation où l'acide linoléique (56,1 à 77%) qui est le principal acide gras [217]. Le rendement en huile de graines de cactus peut atteindre 6,5% lorsque les graines sont pressées à froid, bien qu'une certaine variabilité en fonction de l'origine géographique des graines ait été signalée [221]. Dans cette étude, nous avons déterminé la composition en acides gras et en stérols des huiles de graines

d'*Opuntia ficus indica* extraites par extraction à froid. De plus, nous avons évalué les activités antioxydantes des huiles de graines, ainsi qu'une approche in silico (Docking moléculaire) contre une protéine (peroxiredoxine humaine 5) impliquée dans le stress oxydatif. En parallèle, des études de prédiction in silico tels ADMET (absorption, distribution, métabolisme et excrétion), Pass, et pharmacocinétique ont été réalisés pour les constituants majeurs de cette huile végétale..

2. Composition des acides gras

La composition en acides gras est un indicateur important de la valeur nutritionnelle de l'huile végétale. De plus, l'huile de cactus est particulièrement riche en acides gras insaturés [222,223]. Le tableau 23 présente les résultats du pourcentage relatif d'acides gras d'huile de graines d'*Opuntia ficus indica*. L'acide gras majeur était un acide gras polyinsaturé (acide linoléique) constituant jusqu'à 60,1% de la teneur en acides gras.

Tableau 23 : Pourcentage relatif d'acides gras de l'huile de graines d'*Opuntia ficus indica*.

Acide gras (%)	Huile d' <i>Opuntia ficus indica</i>
L'acide myristique [C14:0]	0.12 ±0.01
L'acide palmitique [C16:0]	13.21 ±0.03
Acide stéarique [C18:0]	3.68 ±0.05
Acide arachidique [C20:0]	0.3 ±0.00
ΣSFA	17.31±0.04
Acide palmitoléique [C16:1]	0.86 ±0.02
Acideheptadécénoïque [C17:1]	0.03 ±0.00
L'acide oléique [C18:1]	21.03 ±0.03
Acide eicosénoïque [C20:1]	0.26 ±0.02
Σ MUFA	22.18±0.06
L'acide linoléique [C18:2]	60.1 ±0.08
Acide linolénique [C18:3]	0.31 ±0.02
Σ PUFA	60.41±0.07

Acides gras saturés SFA, acides gras monoinsaturés MUFA, acides gras polyinsaturés AGPI. Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type (n = 3)

La teneur cumulée en acides gras insaturés était de 82,59%, ce qui a montré que l'huile de graines d'*Opuntia ficus indica* était riche en d'acides gras insaturés et améliorait son utilisation (industries cosmétique et alimentaire). L'acide linoléique était un composant mineur avec une concentration inférieure à 0,31%. L'huile d'*Opuntia ficus indica* contient également deux acides gras saturés primaires: l'acide palmitique (13,21%) et l'acide stéarique (3,68%). La composition en acides gras de l'huile extraite et la teneur en acides gras se situait dans la marge des valeurs précédemment publiées pour l'huile de graines d'*Opuntia ficus indica* du Maroc [224,225] et d'autres pays mentionnés dans la littérature, notamment les huiles de graines italiennes [126] et tunisiennes [223].

3. Composition de stérols

La composition des phytostérols est un paramètre essentiel de l'authenticité et de la qualité des huiles végétales. [127]. Les résultats obtenus par le dosage par chromatographie en phase gazeuse de la composition des phytostérols sont présentés dans le tableau 23. Les résultats ont été exprimés en milligrammes par 100 grammes d'huile de graines d'*Opuntia ficus indica* (mg / 100 g). Le β -sitostérol et le campestérol représentent environ 74% de la teneur totale en phytostérol. Les pourcentages de Δ -7-stigmastérol, Δ -5-avénastérol et de stigmastérol étaient respectivement de 4,01, 4,55 et 3,36%. Il est intéressant de noter que le Δ -5-avénastérol est connu pour agir comme un antioxydant et un agent anti-polymérisation dans les huiles de friture [142, 143].

Tableau 24 : Teneur en stérols (mg / 100 g) d'huile de graines d'*Opuntia ficus indica*.

Stérols [mg/100 g]	Huile d' <i>Opuntia ficus indica</i>
Cholestérol	0.65 $\pm$ 0.03
Campestérol	9.58 $\pm$ 0.05
Stigmastérol	3.36 $\pm$ 0.04
β -sitostérol	67.73 $\pm$ 0.46
Δ -5-avénastérol	4.55 $\pm$ 0.03
Δ -7-Stigmastérol	4.01 $\pm$ 0.05
Δ -7-avénastérol	0.39 $\pm$ 0.45

Comme indiqué dans la littérature, le β -sitostérol et le campestérol sont les principaux composés identifiés dans l'huile de graines *d'opuntia ficus indica*. Ramadan et Mörsel, 2003 [228] ont constaté que le β -sitostérol représente 72% de la composition totale de stérols, et les autres composés dominants étaient le campestérol, le stigmastérol, le lanostérol et le $\Delta 5$ -avénastérol. Le β -sitostérol (71,60%), le stigmastérol (5,10%) et le $\Delta 5$ -avénastérol (4,72%) étaient les principaux phytostérols de l'huile d'*opuntia ficus indica* tunisienne[229]. De même, le β -sitostérol était présent à un taux de 75,3% [230] et il représente 79,1% de la fraction stérolique totale de l'huile de graines *d'opuntia ficus indica* [231]. Le β -sitostérol et le campestérol sont également les majeurs stérol de l'huile *d'opuntia ficus indica*, ils représentent respectivement 70,8% et 10,1% des stérols totaux [232] .

4.Teneur en polyphénols (TPC), chlorophylle, caroténoïdes et l'activité antioxydante (DPPH).

Les classes les plus abondantes de constituants végétaux sont les métabolites secondaires (composés phénoliques), ils ont de multiples effets biologiques et sont produits en défense contre divers facteurs externes tels que le stress, les infections, les polluants, etc. [233]. Le TPC des extraits méthanoliques de l'huiles végétale a été exprimé en équivalents d'acide gallique (GAE) pour 100 g d'huile (tableau 25).

La teneur de composés phénoliques totaux était de $54,57,8 \pm 0,02$ mg de GAE / 100 g, et l'activité antioxydante(IC_{50}) obtenue à partir de cette huile était de $62,99 \pm 02$ mg/ml par le test DPPH. Ces résultats sont proche à ceuxobtenus parChougui et al., 2013 [234]qui révéla que les huiles d'Algérie (OFI) ont des teneurs en phénoliques (48–89 mg / 100 g) qui varient d'une variété à l'autre et sont cohérentes avec les résultats de notre étude. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Brahmi et al [235], ils ont montré que l'extrait d'huile de graine OFI présenté une activité anti-radicalaire très imprtante ($37,0 \pm 4,2\%$).

Tableau 25 : Composés polyphénols totaux et capacité antioxydante des extraits d'huile de graines
d'*Opuntia ficus indica*

	TPC(mgEGA/100g oil)	DPPH IC ₅₀	Chlorophylle670	Caroténoïdes470
<i>Opuntia ficus indica</i> huile végétale	54.57±0,3	62.99±0.1	0.205±0.01	0.214±0.02

D'autre part, El-Mostafa et al., 2014[236] dans leur revue sur OFI, ont rapporté que ce sont essentiellement les écorces de fruits et les fleurs qui contiennent des quantités très élevées de polyphénols et de flavonoïdes. La faible teneur polyphénols de notre huile peut être attribuée à la teneur en humidité du fruit [237] au l'ajout d'eau lors de la procédure d'extraction traditionnelle [238]. Par contre, selon Kammoun et al., 1999[239], l'évolution de la teneur totale en polyphénols de l'huile lors de la maturation du fruit passe par un maximum qui se situe au début de la véraison.

Nos résultats semblent inférieurs à ceux rapportés par d'autres auteurs tels, l'huile OFI dérivée par pression à froid a enregistré une puissance prometteuse par le test DPPH (IC₅₀ de 0,96 mg / mL)[134], ainsi que l'huile d'OFI extraite par Soxhlet présentait la plus forte activité anti-DPPH (266,60 ± 1,97 µmol TE / 100 g) en comparaison avec d'autres procédures d'extraction [239]. Loizzo et al., 2019 [241], ont montré que les huiles rouges et jaunes d'OFI extraites par Soxhlet ont un effet important sur le DPPH*, et les valeurs IC₅₀ étaient respectivement de 40,9 et 50,2 mg / mL. En ce qui concerne la chlorophylle et les caroténoïdes, ils sont des paramètres de qualité importants car ils sont en corrélation avec la couleur, qui est un critère de base pour la qualité d'une huile. La teneur en chlorophylle de notre huile végétale était 0.205 mg / kg. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par El Mannoubi et al. [229] que la teneur en chlorophylle chez l'huile OFI était faible et inférieure à ce niveau (2,403 mg / 100 g). En plus, Kammoun et al [239] ont montré que la teneur en chlorophylle de l'huile de graine AS n'a pas été déterminée et était inférieure à la limite de détection.

La teneur en caroténoïdes était 0.214 mg / 100g, elle inférieure à celle rapportée par Ramadan et Mörsel, [228], et à celle trouvée par El Mannoubi et al [229], dans laquelle, ils ont indiqué que l'huile OFI a une teneur en carotène (8,01 ± 0,06 mg / kg). Les teneurs en pigments dépendent de divers facteurs, tels que le stade de maturité, le processus d'extraction et les conditions de stockage[239].

5.Évaluation in silico de la ressemblance du médicament, des propriétés ADME / toxicité

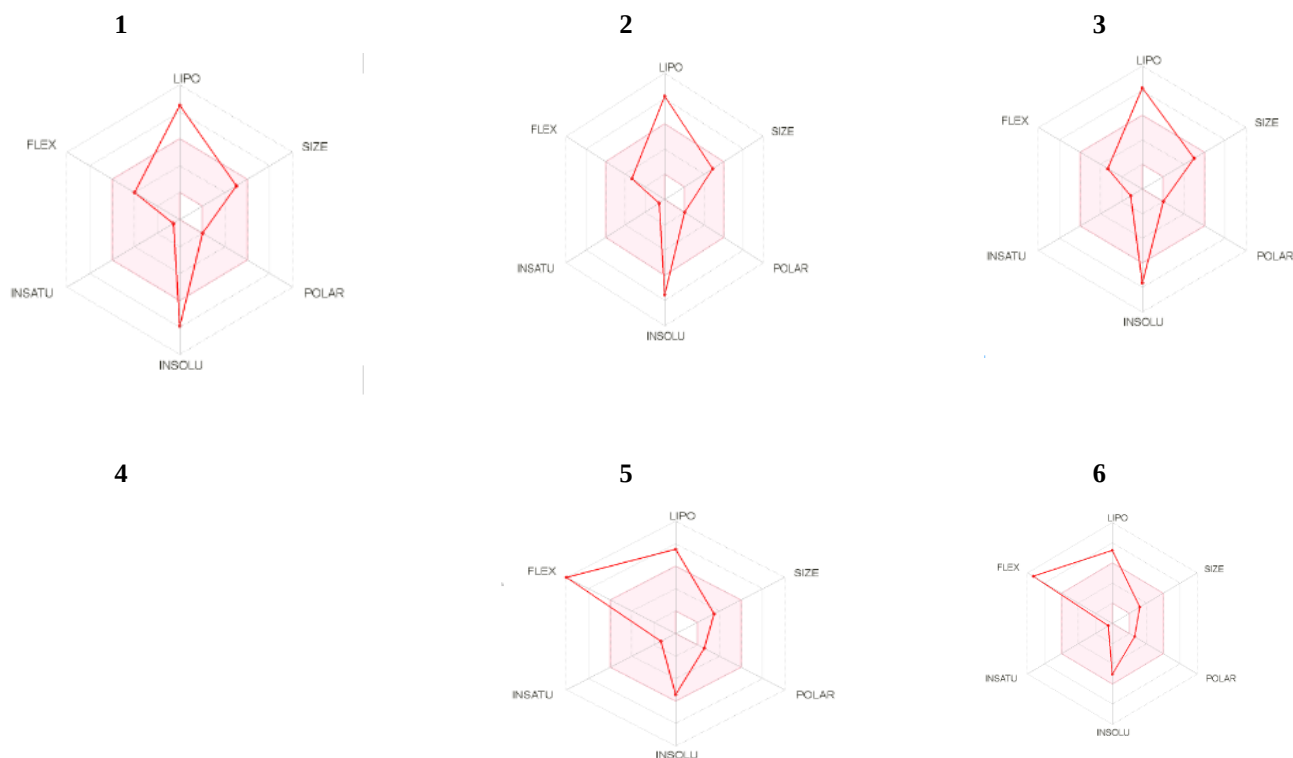
Tableau 26: Propriétés physicochimiques, pharmacocinétique, ressemblance avec les médicaments et chimie médicinale de six composés sélectionnés, selon le logiciel Swiss ADME.

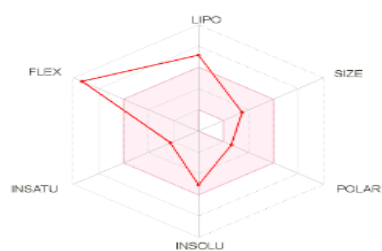
<i>Entryn</i>	<i>β-sitostérol</i>	<i>Campestérol</i>	<i>Δ-5-avénastérol</i>	<i>Acide linolique</i>	<i>L'acide oléique</i>	<i>L'acide palmitique</i>
<i>Pharmacokinetics/Druglikeness</i>						
<i>Lipinski</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>
<i>TPSA (Å²)</i>	<i>20.23 Å²</i>	<i>20.23 Å²</i>	<i>20.23 Å²</i>	<i>37.30 Å²</i>	<i>37.30 Å²</i>	<i>37.30 Å²</i>
<i>Consensus Log Po/w</i>	<i>7.24</i>	<i>6.91</i>	<i>7.08</i>	<i>5.45</i>	<i>5.71</i>	<i>5.20</i>
<i>Bioavailability Score</i>	<i>0.55</i>	<i>0.55</i>	<i>0.55</i>	<i>0.85</i>	<i>0.85</i>	<i>0.85</i>
<i>GI absorption</i>	<i>Low</i>	<i>Low</i>	<i>Low</i>	<i>High</i>	<i>High</i>	<i>High</i>
<i>BBB permeant</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>oui</i>	<i>No</i>	<i>oui</i>
<i>P-gp substrate</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>CYP1A2 inhibitor</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>oui</i>	<i>oui</i>	<i>oui</i>
<i>CYP2C19 inhibitor</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>CYP2C9 inhibitor</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>oui</i>	<i>oui</i>	<i>oui</i>
<i>CYP2D6 inhibitor</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>CYP3A4 inhibitor</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>Log Kp (cm/s) a</i>	<i>-2.20 cm/s</i>	<i>-2.50 cm/s</i>	<i>-2.53 cm/s</i>	<i>-3.05 cm/s</i>	<i>2.60 cm/s</i>	<i>-2.77 cm/s</i>

La prévision des propriétés pharmacocinétiques et de type médicamenteux des composés sélectionnés est considérée comme le meilleur filtre dans le criblage virtuel de molécules bioactives. Afin d'être un médicament efficace au début du développement préclinique. L'ADME suisse a été utilisé pour cette prévision. Les ligands sélectionnés (tableau 26) se sont avérés

répondre correctement à la règle de Lipinski de cinq. Les bons résultats peuvent être observés lorsque les valeurs de la surface polaire totale (TPSA) étaient plus faibles. Le TPSA s'est avéré être dans la gamme de 20,23 à 37,30 Å², ce qui suggère clairement que toutes les molécules peuvent facilement passer la membrane cellulaire et une bonne pénétration cérébrale, et un bon comportement de lipophilicité, qui est exprimé par le consensus Log Po / w dans la gamme 2,25 –4,75. Car, le bon comportement de lipophilicité, qui est exprimé par le consensus Log Po / w, s'il est compris entre 5,2 et 7,24, montre que les composés peuvent être facilement absorbés par l'organisme. Les scores de biodisponibilité compris entre 0,55 et 0,85 indiquent que ces constituants majeurs ont des propriétés plus semblables à celles des médicaments. Notamment, il n'y a pas de substrat de la glycoprotéine P (P – gp) justifiant la bonne absorption et biodisponibilité intestinales de ces molécules. Les composés acides linolique, acide oléique et acide palmétique présentaient une absorption gastro-intestinale élevée (IG) (sauf le β -sitostérol, le campestérol et le Δ -5-avénastérol), et seuls l'acide oléique et le palmétique ne traversaient pas la barrière hémato-encéphalique (BBB). Cependant, les autres molécules passent facilement la barrière hémato-encéphalique (BBB) et peuvent se lier à des récepteurs spécifiques. Les composants de l'étude ont interagi au plus avec deux isoenzymes de la famille des cytochromes P (CYP), confirmant leur meilleure efficacité avec une toxicité insignifiante.

A





B

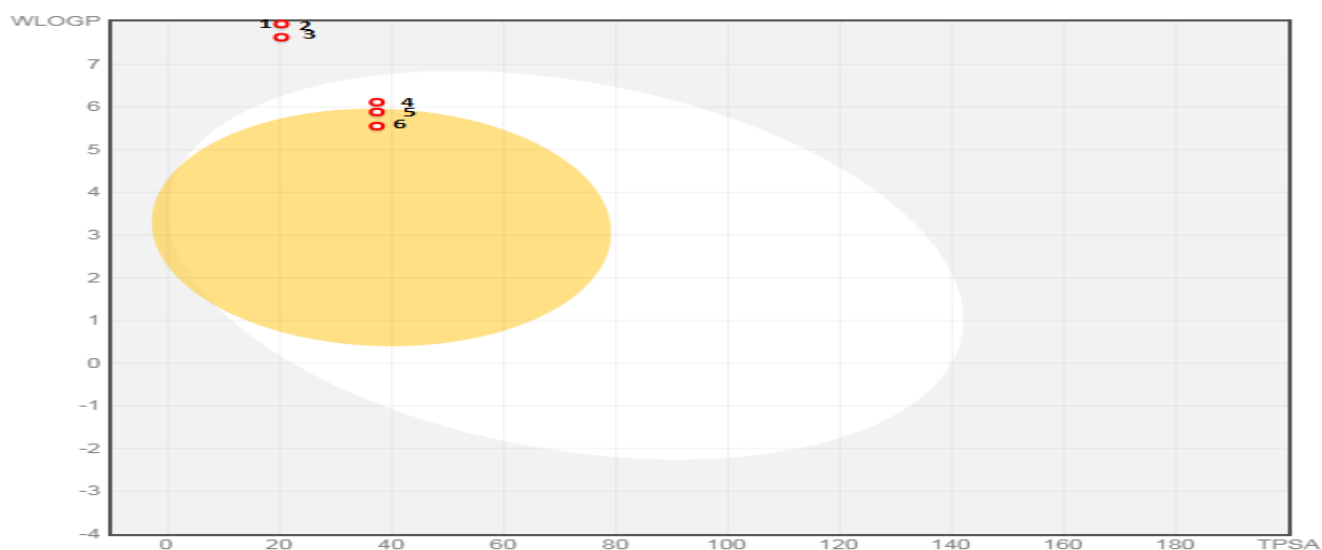


Figure48 :Bioavailability radar (A) et boiled-egg graphe (B) pour les constituants majeurs. 1: β -sitosterol , 2: Campesterol, 3: Δ -5-avenasterol , 4: Linolic acid 5: Oleic acid , 6: Palmetic acid

Le tracé radar (figure 48A) indique que tous les composés phytochimiques sélectionnés sont à l'intérieur et à l'extérieur de la zone rose, indiquant leur ressemblance moyenne avec un médicament seul et avec un bon profil de biodisponibilité. De plus, la pharmacocinétique a été évaluée par le modèle de l'œuf bouilli (figure 48B). L'acide oléique et l'acide palmétique sont apparus dans la région jaune (jaune) avec un point rouge, ce qui confirme leur forte probabilité de pénétration cérébrale agissant comme un non-substrat de la P – gp (PGP–).

Tableau 27 :Résultats ADMET du composé actif le plus élevé de toutes les données et des composés prédits

Class	Properties	β -sitostérol	Campestérol	Δ -5-avénastérol	L'acide linoléique	L'acide oléique	L'acide palmitique

<i>Absorption</i>	<i>Water solubility(log mol/L)</i>	-7.11	-7.076	-7.163	-6.766	-6.859	-6.364
	<i>Caco2 permeability(log Papp in 10⁻⁶ cm/s)</i>	1.232	1.237	1.25	1.566	1.56	1.555
	<i>Intestinal absorption (human) (% Absorbed)</i>	95.395	95.249	95.001	90.41	89.904	90.085
	<i>Skin Permeability(log Kp)</i>	-2.836	-2.864	-2.858	-2.719	-2.733	-2.678
	<i>P-glycoprotein substrate</i>	No	NO	No	No	No	No
	<i>P-glycoprotein I inhibitor</i>	Yes	Yes	Yes	No	No	No
	<i>P-glycoprotein II inhibitor</i>	Yes	Yes	Yes	No	No	No
<i>Distribution</i>	<i>BBB permeability(log BB)</i>	0.789	0.767	0.776	-0.308	-0.335	-0.278
	<i>blood-brain barrier penetration</i>	19.8883	19.7042	19.5425	7.31647	7.48966	8.21885
	<i>plasma protein binding (%)</i>	100	100	100	100	100	100
<i>Metabolism</i>	<i>CYP2D6 substrate</i>	NO	No	No	No	No	No
	<i>CYP3A4 substrate</i>	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
	<i>CYP1A2 inhibitor</i>	NO	Non	No	Yes	Yes	Yes
	<i>CYP2C19</i>	NO	No	No	No	No	No

	<i>inhibitor</i>						
	<i>CYP2C9 inhibition</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
	<i>CYP2D6 inhibition</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
	<i>CYP3A4 inhibition</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>Excretion</i>	<i>Total Clearance(log ml/min/kg)</i>	<i>0.628</i>	<i>0.572</i>	<i>0.619</i>	<i>1.932</i>	<i>1.88</i>	<i>1.759</i>
	<i>Renal OCT2 substrate</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
<i>Toxicity</i>	<i>AMES toxicity</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
	<i>hERG I inhibitor</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>
	<i>hERG II inhibitor</i>	<i>NO</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>Yes</i>	<i>No</i>
	<i>Hepatotoxicity</i>	<i>NO</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>

Le médicament oral idéal est celui qui est rapidement et complètement absorbé, distribué, métabolisé et correctement éliminé sans causer de dommages. Par conséquent, la prédiction in silico des propriétés de l'ADMET, à savoir l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité (ADMET) est un moyen important de sélectionner des molécules prometteuses en termes de propriétés pharmacocinétiques en tant que candidat-médicament. Pour ce faire, les propriétés in silico ADMET des composés sélectionnés et du composé le plus élevé de toute la base de données ont été prédites à l'aide d'un serveur Web pré-ADMET et les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 27. Dans la partie Absorption, les composés sélectionnés présentent une perméabilité Caco-2 optimale. Ce test est effectué pour vérifier si le médicament sera facilement absorbé dans l'intestin ou non. En conséquence, nous pouvons voir que tous les composés sélectionnés présentent des valeurs calculées positives et élevées d'absorption intestinale humaine (HIA), indiquant que ces molécules peuvent être facilement absorbées par l'intestin et circulées dans le sang. L'inhibition de la glycoprotéine Pgp facilite le transport de nombreux médicaments à l'intérieur de la cellule, selon nos résultats, le β -sitostérol, le campestérol et le Δ -5-avénastérol sont les seuls inhibiteurs de la pgp, ils seront donc facilement absorbés par les cellules. En outre, dans la partie distribution, la liaison des médicaments aux

protéines plasmatiques est également un paramètre pharmacologique important; De plus, tous les composés présentaient une faible pénétration de la barrière hémato-encéphalique ($\text{Log BBB} > -1$) [242] et des valeurs élevées de liaison aux protéines plasmatiques (PPB) ($> 80\%$). Dans notre étude, le médicament des composés sélectionnés donne une bonne capacité et un test positif pour se lier aux protéines plasmatiques afin qu'ils soient capables de traverser la barrière hémato-encéphalique. Toujours dans la partie métabolisme, le cytochrome P450 est une famille d'enzymes qui métabolise les médicaments, donc dans notre test, tous les composés sélectionnés sont le substrat du CYP450A4, ils peuvent donc être métabolisés par ces enzymes, et dans notre test, seuls l'acide linoléique, l'oléique, l'acide et l'acide palmétique qui sont l'inhibiteur du CYP1A2. Concernant la partie toxicité, HERG est un canal K^+ présent dans le muscle cardiaque et assure le bon rythme cardiaque, si HERG est bloqué par certains médicaments, il peut provoquer une arythmie cardiaque et la mort [243], le médicament des composés sélectionnés (à l'exception du β -sitostérol) utilisé pour le traitement des maladies est un inhibiteur de HERG donc il peut provoquer une arythmie cardiaque et la mort mais le bétasétostérol n'est pas un inhibiteur de HERG ce qui donne de bons résultats en tant que médicament. Pour le H-HT, AMES, les molécules sélectionnées donnent des tests négatifs dans la partie toxicité. Dans cette partie ADMET, on peut suggérer que les molécules sélectionnées avaient de meilleures propriétés médicamenteuses.

6.Prédiction in silico PASS

Tableau 28 :Les résultats de la prédiction PASS des activités biologiques de la série des ligands

Sln0	Activités biologiques	<i>β</i> -sitostérol		Activités biologiques	Campestérol		Activités biologiques	Δ-5-avénastérol	
		Pa	Pi		Pa	Pi		Pa	Pi
1	DELTA14-sterol reductase inhibitor	0.965	0.001	DELTA14-sterol reductase inhibitor	0.973	0.000	DELTA14-sterol reductase inhibitor	0.946	0.001
2	Antihypercholesterolemic	0.960	0.002	Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0.962	0.002	Antihypercholesterolemic	0.941	0.002
3	Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0.959	0.002	Antihypercholesterolemic	0.962	0.002	Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0.938	0.003
4	Cholesterol antagonist	0.957	0.001	Cholesterol antagonist	0.955	0.001	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.935	0.003
5	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.952	0.002	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.955	0.002	Cholesterol antagonist	0.927	0.002
6	Alkylacetylglucophosphatase inhibitor	0.945	0.002	Alkylacetylglucophosphatase inhibitor	0.947	0.002	Alkylacetylglucophosphatase inhibitor	0.924	0.003
7	Acylcarnitine hydrolase inhibitor	0.928	0.003	UGT1A4 substrate	0.941	0.001	Testosterone 17β-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	0.915	0.005
8	Hypolipemic	0.924	0.004	Testosterone 17β-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	0.940	0.003	UGT1A4 substrate	0.902	0.002
9	Testosterone 17β-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	0.924	0.004	UGT1A substrate	0.934	0.002	Acylcarnitine hydrolase inhibitor	0.900	0.004
10	UGT1A4 substrate	0.917	0.001	CYP7 inhibitor	0.929	0.929	UGT1A substrate	0.884	0.003

	Activités biologiques	L'acide linoléique		Activités biologiques	L'acide oléique		Activités biologiques	L'acide palmitique	
		Pa	Pi		Pa	Pi		Pa	Pi
1	Phosphatidylglycerophosphatase inhibitor	0.951	0.001	CYP2J substrate	0.974	0.001	Acylcarnitine hydrolase inhibitor	0.973	0.001
2	Acylcarnitine hydrolase inhibitor	0.950	0.002	CYP2J2 substrate	0.973	0.001	Alkylacetylgllycerophosphatase inhibitor	0.966	0.001
3	Mucomembranous protector	0.949	0.003	Mucomembranous protector	0.958	0.003	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.963	0.002
4	Alkylacetylgllycerophosphatase inhibitor	0.943	0.002	Acylcarnitine hydrolase inhibitor	0.956	0.002	CYP2J substrate	0.962	0.002
5	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.940	0.003	Alkylacetylgllycerophosphatase inhibitor	0.949	0.002	CYP2J2 substrate	0.961	0.001
6	Lipoprotein lipase inhibitor	0.938	0.002	Antieczematic	0.947	0.003	Acrocyndropepsin inhibitor	0.961	0.002
7	Linoleate diol synthase inhibitor	0.936	0.002	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0.947	0.003	Saccharopepsin inhibitor	0.961	0.002
8	Chymosin inhibitor	0.935	0.003	Saccharopepsin inhibitor	0.942	0.003	Chymosin inhibitor	0.961	0.002
9	Saccharopepsin inhibitor	0.935	0.003	Chymosin inhibitor	0.942	0.003	Dextranase inhibitor	0.957	0.001
10	Acrocyndropepsin inhibitor	0.935	0.003	Acrocyndropepsin inhibitor	0.942	0.003	Carboxypeptidase Taq inhibitor	0.954	0.001

Le spectre d'activité biologique des composés sélectionnés (P2) est prédit à l'aide du programme PASS, qui montre la probabilité que le composé soit actif (Pa) et la probabilité d'activités inactives (Pi). Les 10 activités prédites des composés sélectionnés, ainsi que les valeurs de Pa et Pi, sont présentées dans le tableau 28.

Dans l'ensemble, les propriétés ADMET prévues pour les nouveaux dérivés conçus pourraient être prises en compte pour le processus de développement de médicaments caractéristiques.

7.Docking Moléculaire

Les peroxiredoxines définissent une famille émergente de peroxydases capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes d'alkyle à l'aide d'équivalents réducteurs dérivés de

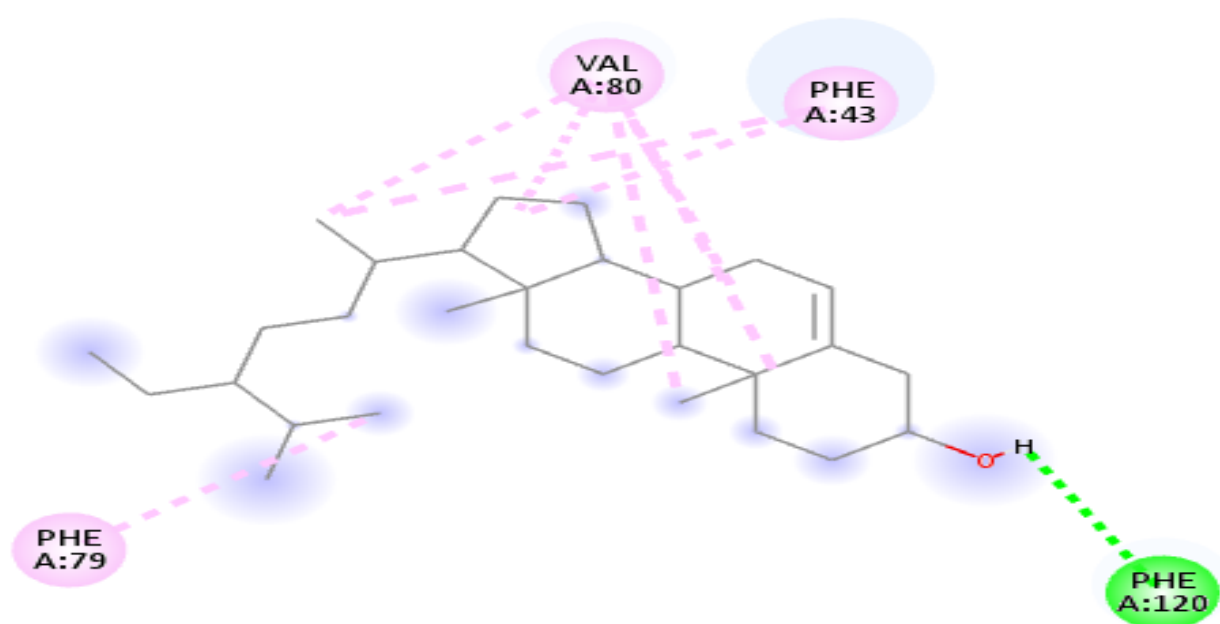
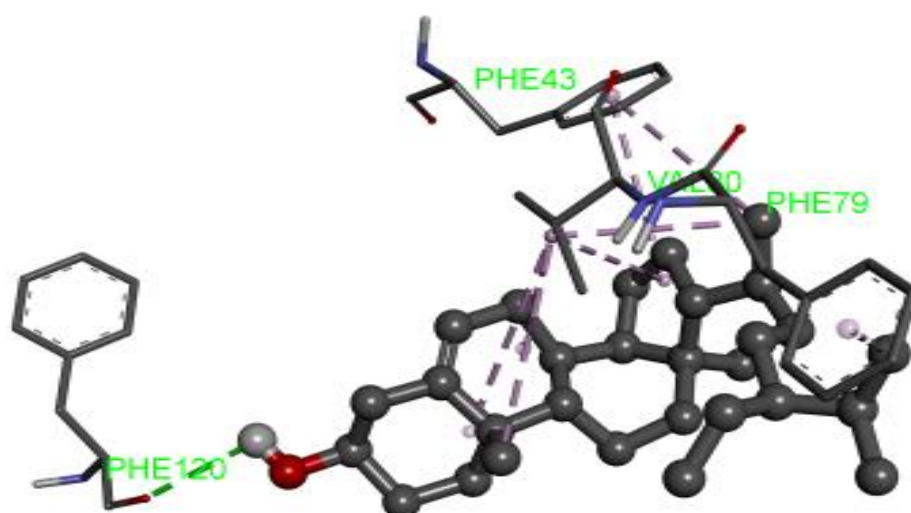
molécules donneuses contenant du thiol telles que la thiorédoxine, le glutathion, le trypanothione et l'AhpF [244]. Les peroxiredoxines ont été identifiées chez les procaryotes ainsi que chez les eucaryotes. La peroxiredoxine 5 (PRDX5) est un nouveau type de thiorédoxine peroxydase de mammifère largement exprimée dans les tissus et localisée dans les cellules des mitochondries, des peroxisomes et du cytosol. Fonctionnellement, PRDX5 a été impliqué dans les mécanismes de protection antioxydants ainsi que dans la transduction du signal dans les cellules[244,246]. Afin de corroborer les données expérimentales et de comprendre le mécanisme possible derrière l'activité antioxydante, des études d'amarrage moléculaire (docking) ont été examinées en utilisant cible de protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) qui a une activité plus large contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et était principalement impliqué dans les mécanismes de protection contre le stress et dans la différenciation cellulaire. Le but du Docking moléculaire est de déterminer le mode d'interaction du complexe protéine-ligand. Les meilleures orientations spatiales et les conformations favorables ont été évaluées en deux étapes : Docking et Scoring en Kcal / mol. La première étape (Docking) est l'étape de sélection, où le ligand est placé dans le site actif de la protéine en utilisant les dimensions de la grille déjà optimisée dans la phase de préparation du récepteur, les résultats de cette étape sont présentés sous les formes des images qui illustrent les types d'interactions existant entre les ligands et la poche protéique du récepteur étudié. La deuxième étape (scoring) est l'étape de classification, qui consiste à évaluer l'affinité entre les ligands (β -sitostérol, Campestérol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique, et acide palmitique) contre la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5). Le Tableau 29 ci-dessous présente les scores du Docking moléculaire en termes d'énergie par l'unité Kcal / mol pour les six ligands.

Tableau29 :Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5)

Détail d'interaction					
Inhibiteurs	Docking Score (Kcal/mol)	Ligand	La poche protéinique	Les types d'interactions	Distance(Å)
		C	PHE120	Liaison hydrogène	2,71277
		C	VAL80	Hydrophob	5,2624
		C	VAL80	Hydrophob	4,00601
		C	VAL80	Hydrophob	4,65209
		C	VAL80	Hydrophob	4,9386
β-sitostérol	-7.2	C	VAL80	Hydrophob	4,40946
		C	PHE43	Hydrophob	4,48738
		C	PHE43	Hydrophob	5,17232
		C	APHE79	Hydrophob	4,49959
		C	PHE120	Liaison hydrogène	2,75819
		C	VAL80	Hydrophob	5,36059
		C	VAL80	Hydrophob	3,99241
		C	VAL80	Hydrophob	4,50635
		C	VAL80	Hydrophob	5,1179
Campestérol	-6.9	C	VAL80	Hydrophob	4,32322
		C	PHE43	Hydrophob	4,52011
		C	PHE79	Hydrophob	5,10262
		C	PHE79	Hydrophob	4,32731
		C	PHE120	Liaison hydrogène	2,84373
		C	VAL80	Hydrophob	5,08908
		C	VAL80	Hydrophob	4,12057
		C	VAL80	Hydrophob	5,03862
		C	VAL80	Hydrophob	4,50871

Δ-5- avénastérol	-7.2	C	PHE43	Hydrophob	4,34024
		C	PHE43	Hydrophob	4,53442
		C	PHE79	Hydrophob	5,16207
		C	PHE79	Hydrophob	5,23897
Acide linoléique	-6.4	C	PRO45	Hydrophob	4,44622
		C	ARG124	Liaison hydrogène	2,41847
Acide oléique	-6.3	C	ARG124	Liaison hydrogène	2,02688
Acide palmitique	-5.8				

A

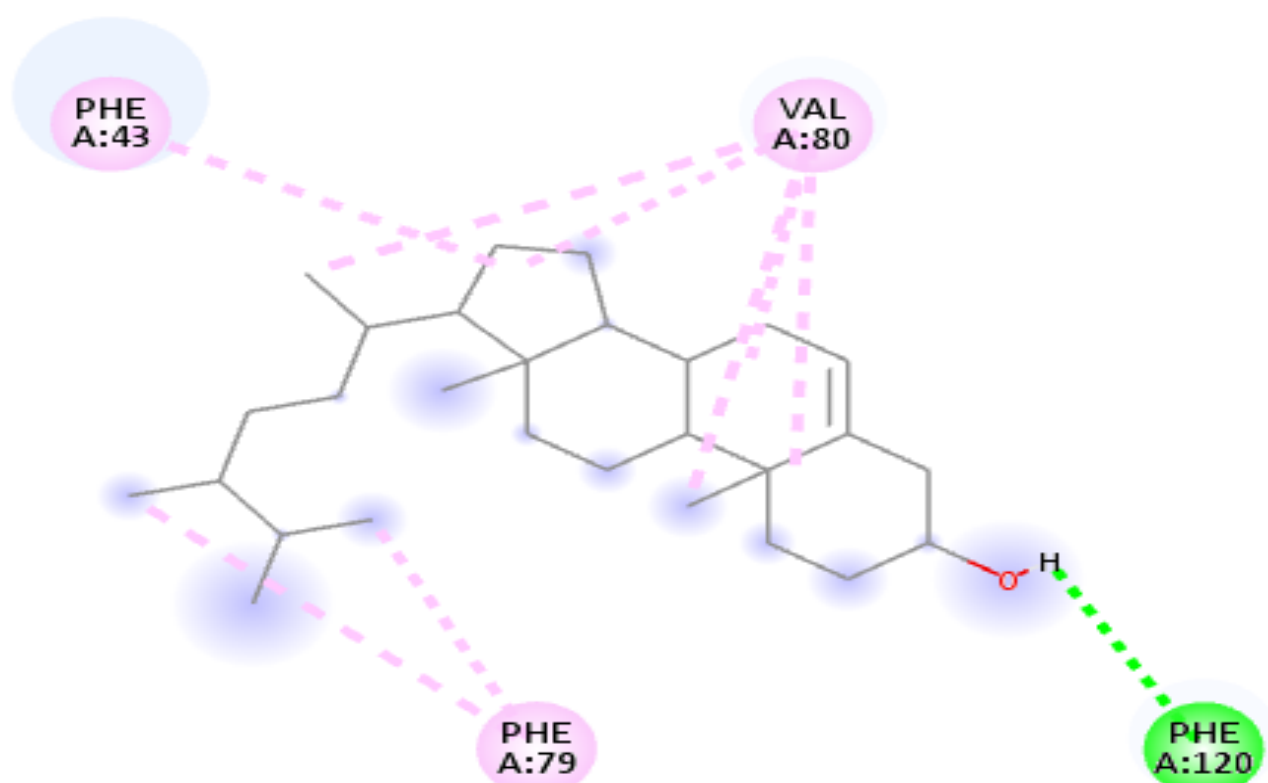
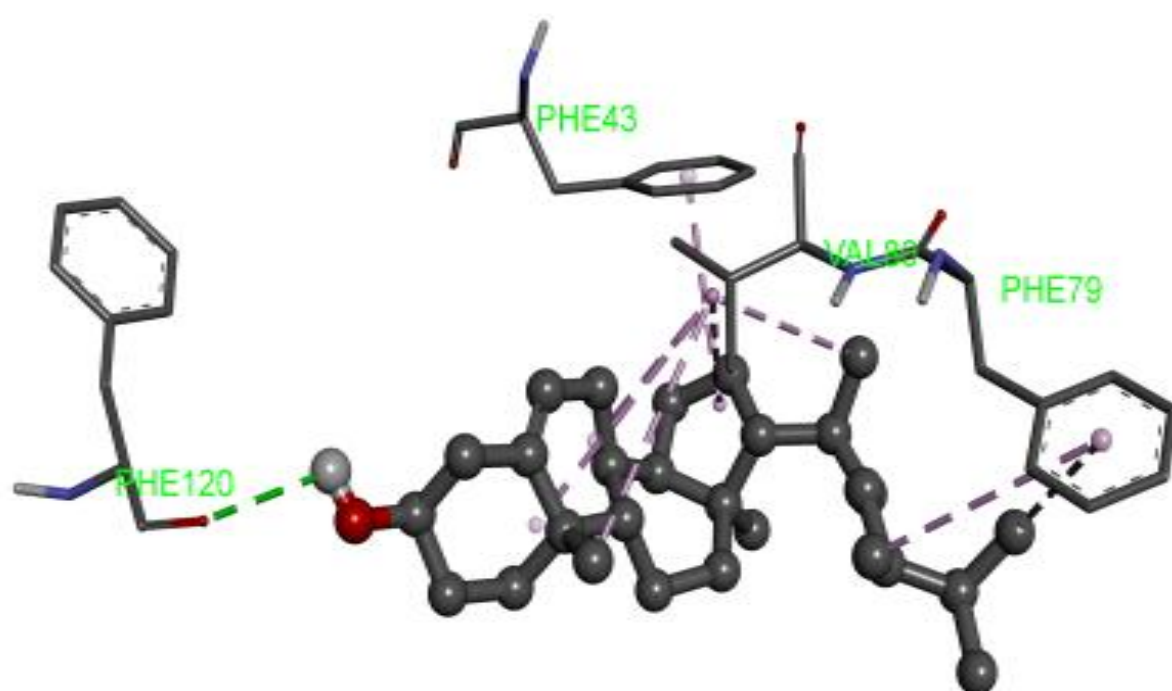


Interactions

Conventional Hydrogen Bond
Alkyl

Pi-Alkyl

B



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond

 Alkyl

 Pi-Alkyl

c

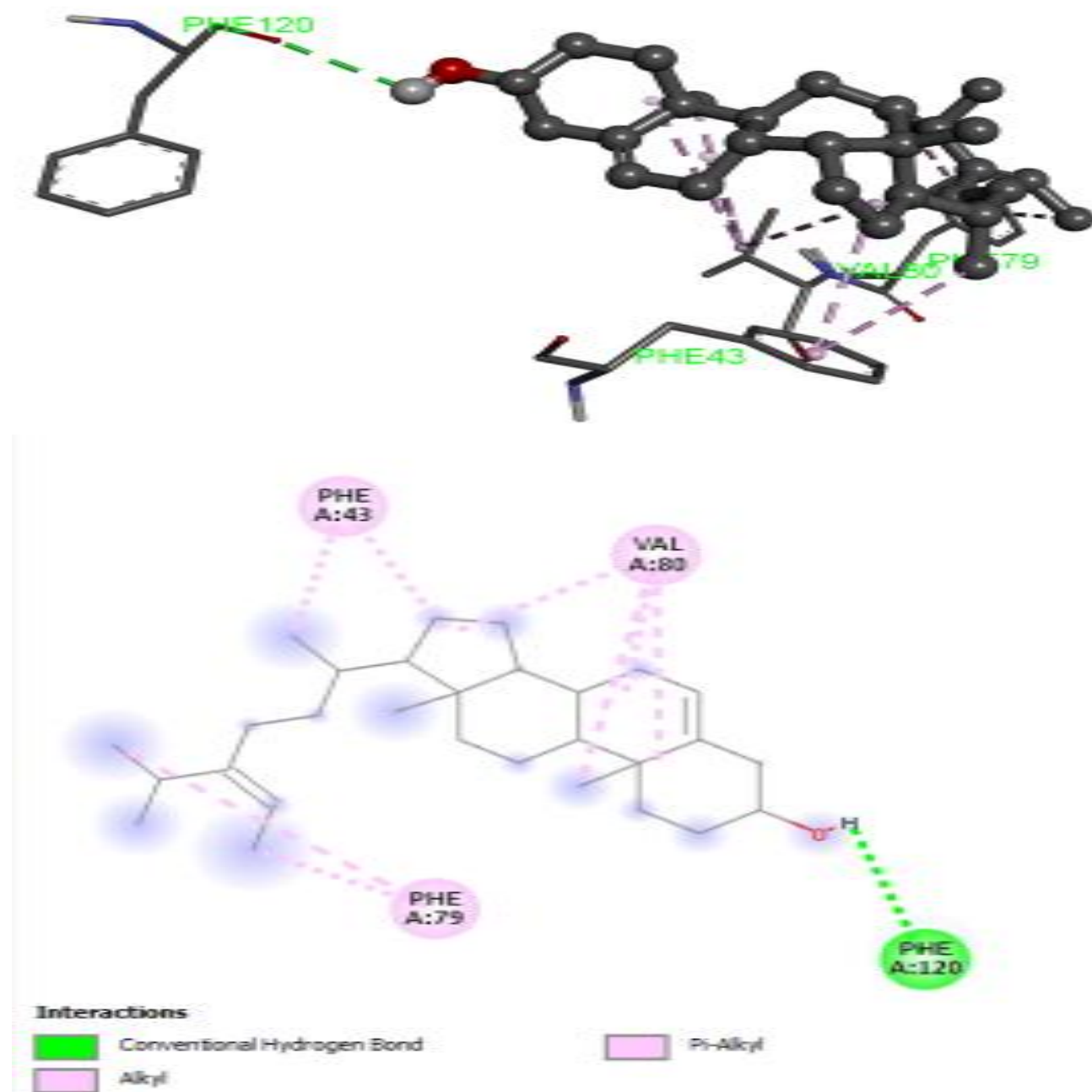
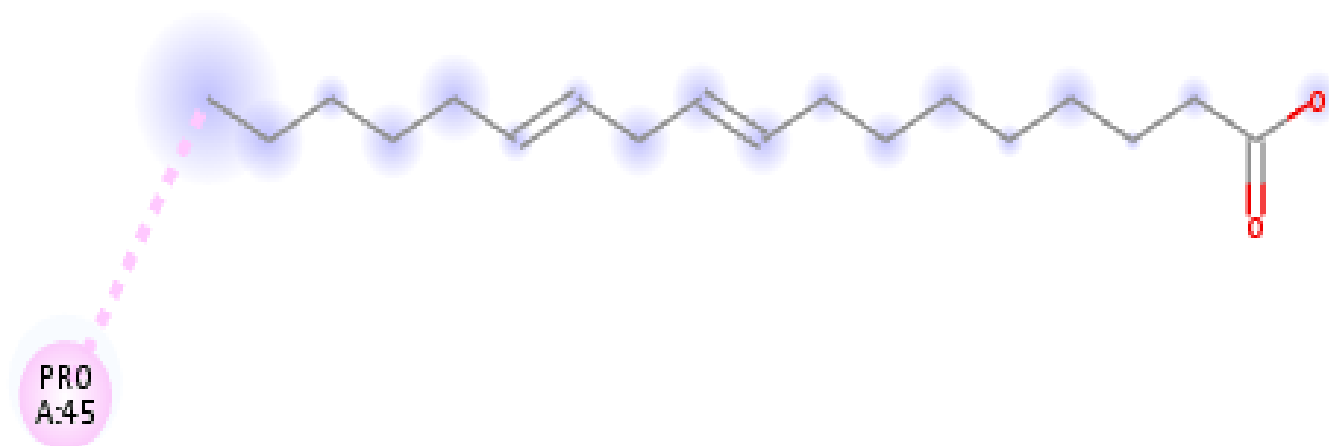


Figure49 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) avec les ligands : a : β -sitostérol,b : Campesterol,c : Δ -5-avénastérol.

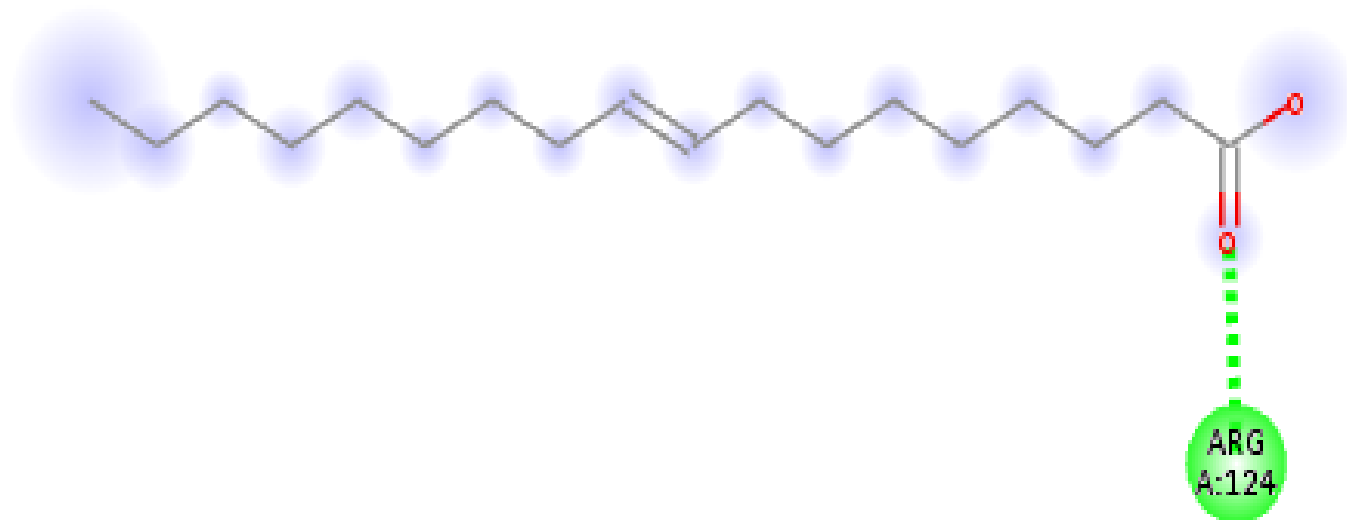
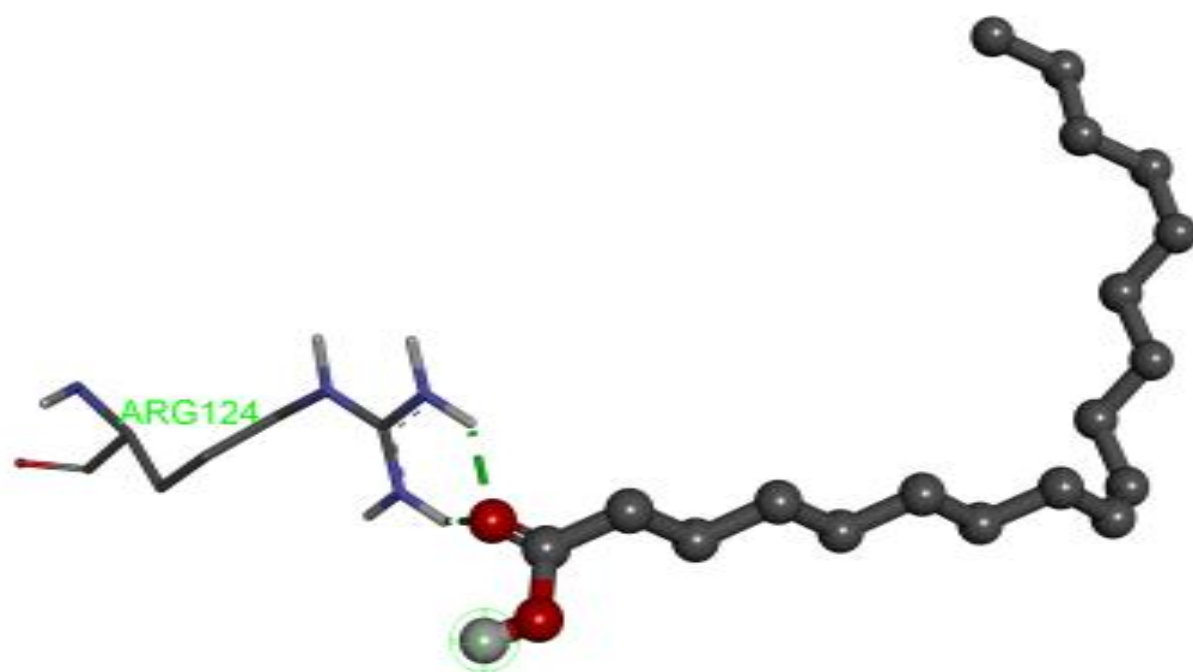
D



Interactions

 Alkyl

E



Interactions



Conventional Hydrogen Bond

F

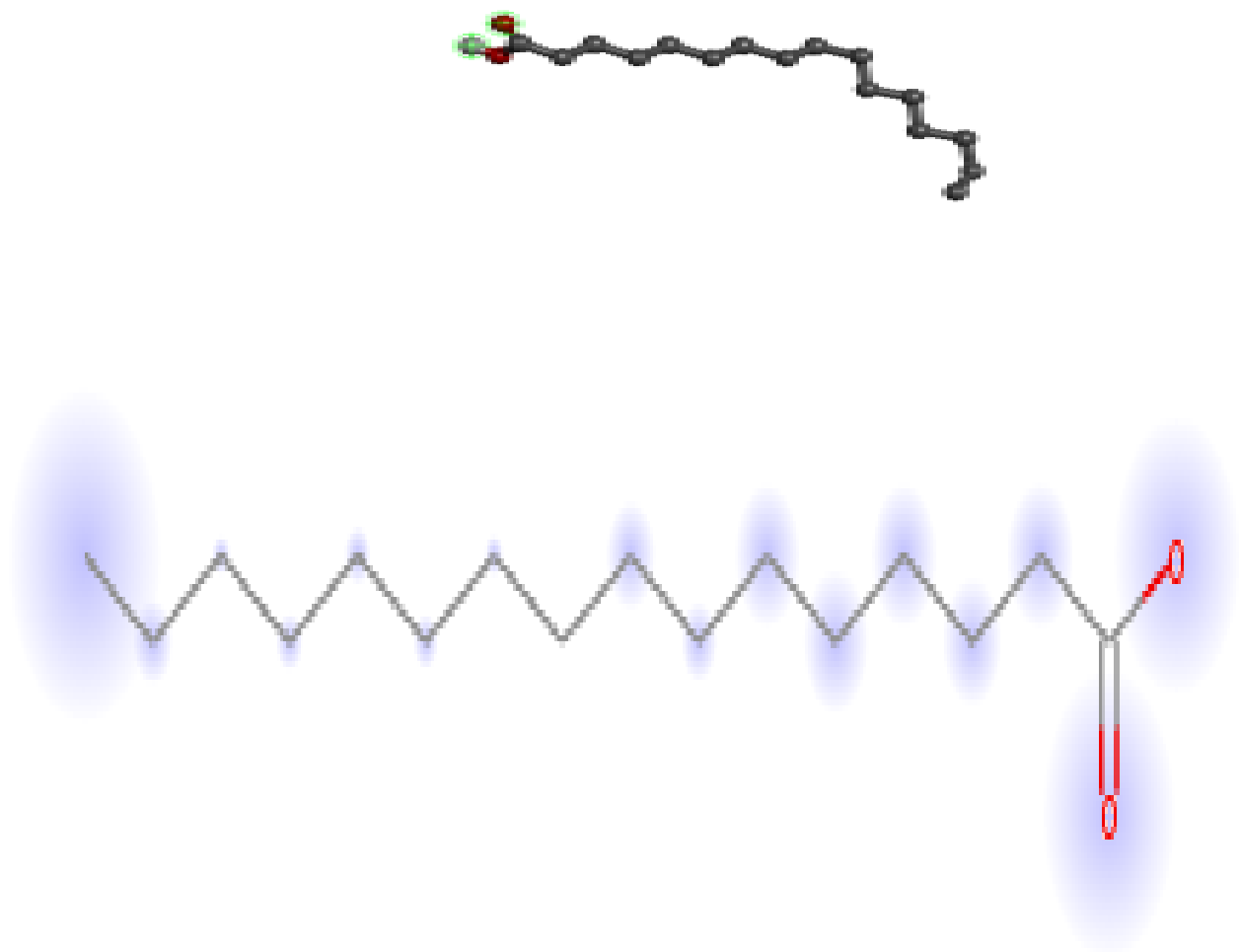


Figure50 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5)avec les ligands : d :linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique

Le tableau 29 présente les scores d'amarrage en termes d'énergie par l'unité Kcal / mol pour les six ligands β -sitostérol, Campesterol, Δ -5-avénastérol, acide linoléique, acide oléique et acide palmitique (principaux constituants de l'huile d'*Opuntia ficus indica*). Les scores d'amarrage (poses d'énergie minimale) avec tous les ligands ancrés dans le récepteur utilisé ont été fournis dans le tableau 29. L'énergie de liaison d'amarrage pour tous les composés variait de -5,8 kcal / mol à -7,2 kcal / mol. Les composés Campesterol, β -sitostérol et Δ -5-avénastérol ont montré respectivement les plus faibles énergies de liaison -6,9, -7,2 et -7,2 Kcal / mol (tableau 29). Au contraire, les composés acide palmitique, acide linoléique et acide oléique avaient respectivement des énergies de liaison les plus élevées -5,8, -6,8 et -6,3 kcal / mol. Ces résultats indiquent que ces composés sont maintenus dans la poche active par une combinaison d'interactions hydrophobes et liaison hydrogène. Des contacts hydrophobes majeurs se sont produits entre la protéine et la chaîne latérale VAL80, PHE43, APHE79, PHE79, et PRO45. L'interaction des liaisons hydrogène a été observée avec des résidus d'acides aminés comme PHE120 et ARG124. À partir de nos résultats d'amarrage moléculaire, il a été constaté que le β -sitostérol interagissant favorablement avec son site catalytique via huit interactions hydrophobes avec les acides aminés suivants : VAL80 (5,2624Å), VAL80 (4,00601Å), VAL80 (4,65209Å), VAL80 (4,9386Å), VAL80 (4,40946Å), PHE43 (4,48738Å), PHE43 (5,17232Å), et APHE79 (4,49959Å), ainsi que il a des interactions hydrogène avec PHE120 (2,71277Å). Le composé campesterol a réalisé plusieurs interactions huit hydrophobes avec les résidus suivants : VAL80 (5,36059Å), VAL80 (3,99241Å), VAL80 (4,50635Å), VAL80 (5,1179Å), VAL80 (4,32322Å), VAL80 (4,52011Å), VAL80 (5,10262Å), VAL80 (4,32731Å). Il a également fait des interactions hydrogène avec PHE120 (2,75819Å). Les interactions impliquées entre le Δ -5-avénastérol et la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) sont 8 interactions hydrophobes avec VAL80 (5,08908Å), VAL80 (4,12057Å), VAL80 (5,03862Å), VAL80 (4,50871Å), VAL80 (4,34024Å), VAL80 (4,53442Å), VAL80 (5,16207Å), VAL80 (5,23897Å). Il a également fait des interactions hydrogène avec le résidu PHE120 (2,84373Å). L'acide linoléique a réalisé une interaction hydrophobe avec le résidu PRO45 (4,44622Å). Les interactions impliquées entre l'acide oléique et la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) sont deux liaisons hydrogène avec ARG124 (2,41847Å) et ARG124 (2,02688Å). Le composé (acide palmitique) n'a réalisé aucune interaction avec la protéine humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5). Les auteurs K. Ganapathi et al [247] ont démontré que le site actif de l'enzyme sont, le résidu Cys47 situé à la partie N-terminale de l'hélice coudée α 2, à l'intérieur d'une petite cavité, était directement impliqué dans l'activité de la peroxyde réductase en formant un intermédiaire disulfure intramoléculaire dans

l'enzyme oxydée. De plus, l'acide aminé Arg127, interagissant avec l'atome de soufre de Cys47 à une distance de 3,3 Å, semble être responsable de la poche du site actif chargé positivement.

D'autre part, Thr44 est présent dans la cavité du site actif de la peroxiredoxine humaine 5, avec son atome d'oxygène interagissant clairement avec l'atome de soufre du résidu cystéine catalytique (Cys47) à une distance de 3,0 Å. Comme indiqué, de nombreuses interactions entre les composés phytocomposés (ligands) et de la peroxiredoxine 5 humaine ne sont pas proches du site actif de l'enzyme (Cys47 et Arg127) qui sont impliqués dans l'activité de la peroxyde réductase. De plus, les composés sélectionnés présentait des énergies de liaison plus élevée. L'étude de l'interaction entre les acides aminés du site actif de l'enzyme humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5) avec les inhibiteurs (ligands) pour former un complexe stable. Les résultats de cette étude montrent que les énergies des complexes enzyme-ligand sont plus élevées. Donc ces ligands ne sont pas des inhibiteurs de l'enzyme humaine Peroxiredoxin 5 (PRDX5).

8. Conclusion

La présente étude a examiné la composition en termes d'acides gras, et de stérols de l'huile de graines d'opuntia ficus indica. L'huile de graines d'opuntia ficus indica contient de concentrations très élevées en d'acides linoléique, oléique et palmitique. Les principaux composés qui avaient des concentrations élevées de phytostérols sont le β -sitostérol, le campestérol et le Δ -5-avénastérol. L'huile avait une teneur considérable en polyphénols totaux et une capacité antioxydante moyennement importante. La prédiction in silico et l'études d'amarrage moléculaire ont montré une bonne corrélation entre l'activité inhibitrice observée et l'amarrage moléculaire in silico. Ces résultats obtenus contribuent au fait que les huiles d'opuntia ficus indica pourraient convenir à des fins culinaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Chapitre IV. Activité antibactérienne, antidiabétique, et Docking moléculaire pour les constituants majeurs de l'huile végétale de graines d'*Opuntia ficus indica*

1. Introduction

Le développement rapide de la résistance bactérienne aux médicaments antibactériens reste l'un des principaux problèmes de la santé publique dans le monde, ce qui constitue un défi pour la découverte d'agents antibactériens pour lutter contre cette résistance croissante. De nos jours, les plantes médicinales à forte action antimicrobienne deviennent des agents antimicrobiens importants pour le traitement de plusieurs maladies humaines. Cette importance antimicrobienne des plantes médicinales provient du fait que la médecine verte est facilement accessible et avec moins d'effets secondaires [248]. *Opuntia ficus indica* est l'une des plantes médicinales utilisées dans la médecine populaire traditionnelle en raison de son rôle dans le traitement d'un certain nombre de maladies et d'affections, notamment les actions antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires [249]. Cependant, l'utilisation des huiles végétales joue un rôle important contre la résistance bactérienne. Plus de 90% des patients diabétiques souffrent de diabète de type 2 mellitus (DT2), qui est un trouble métabolique multifactoriel caractérisé par une hyperglycémie chronique incontrôlée, liée à une insuffisance de la fonction insulinaire (résistance à l'insuline) périodes prolongées dans les tissus périphériques [250]. Cette glycémie chronique élevée entraîne une grave complication telle que les maladies cardiovasculaires, la neuropathie, les reins secs et l'obésité [251]. Cela rend nécessaire de maintenir une glycémie normale, en particulier l'hyperglycémie postprandiale, comme solution pour le contrôle de cette pathologie et éviter leurs complications. L'une des approches pour gérer le diabète consiste à améliorer la fonctionnalité de l' α -amylase pancréatique et de l' α -glucosidase intestinale [252], qui sont deux enzymes positionnées dans le système digestif. Ces enzymes sont responsables du processus de dégradation de l'amidon et des oligosaccharides respectivement en monosaccharides tels que le glucose et le fructose [252]. À cet égard, l'inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase joue un rôle critique dans la modulation de l'absorption des glucides et la prévention de l'hyperglycémie postprandiale, ce qui rend l'inhibition une solution utile dans la gestion du diabète de type 2 [253]. De plus, *Opuntia ficus-indica* est réputé antidiabétique. Les huiles de graine de cette plante réduisaient les taux de glucose plasmatique, amélioreraient le profil lipidique hépatique et plasmatique et réduisaient la cholestérolémie et le glycogène hépatique et musculaire chez les

rats sains traités de manière subchronique [254]. Le but(i) de cette étude consiste à évaluer le profil antidiabétique in vitro de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica* en montrant leur potentiel à réduire l'hyperglycémie sanguine postprandiale par l'inhibition des enzymes digestives (α -glucosidase et α -amylase), les études d'amarrage moléculaire ont été réalisées sur les deux enzymes pour prédire le mécanisme d'inhibition et l'orientation au sein d'un site de liaison ciblé. Le deuxième but (ii) était d'évaluer l'activité antibactérienne contre six souches bactériennes. Une étude théorique par la méthode de Docking moléculaire contre l'enzyme Déshydrosqualène synthase (CrtM) (PDB = 3ACX) a été aussi mis en œuvre pour ces inhibiteurs étudiés.

2. Activité antidiabétique

Tableau.30 : Resultats de l'activité inhibitrices de l' α -glucosidase et de l' α -amylase.

	α -glucosidase	α -amylase
	IC ₅₀ (μ g/mL)	IC ₅₀ (μ g/mL)
Huile végétale	512.61 $\pm$ 3.03 ^a	438.13 $\pm$ 0.30 ^a
Acarbose	97,90 $\pm$ 1,35 ^b	48.47 $\pm$ 3.02 ^b

À la recherche de nouveaux composés antidiabétiques avec inhibition enzymatique, nous avons testé notre huile végétale, comme activité inhibitrice de l' α -amylase pancréatique. Le tableau 30 montre les résultats de l'effet de notre huile végétale sur l'activité de l' α -amylase pancréatique in vitro. En effet, l'activité de l'enzyme α -amylase pancréatique a été significativement inhibée en présence de notre huile végétale. L'effet d'inhibition de l'enzyme α -amylase pancréatique est proportionnel à la concentration de notre huile végétale, avec une IC₅₀ = 512.61 $\pm$ 3.03 μ g/mL par rapport au test témoin. En outre, cet effet inhibition de l' α -amylase par notre huile est significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui de l'acarbose. Ces résultats sont mieux a ceux obtenus par Bouhrim et al pour l'huile de graines d'*Opuntia dillenii* (α -amylase IC₅₀ = 0.81 $\pm$ 0.09 mg/mL). Ensuite, nos résultats sont moins a ceux trouvés par Loizzo et al[149] pour deux variétés différentes d'*Opuntia ficus-indica* (Sanguigna et Surfarina) (α -amylase IC₅₀ = 61.4 $\pm$ 3.7-32.7 $\pm$ 3.5 μ g/mL).

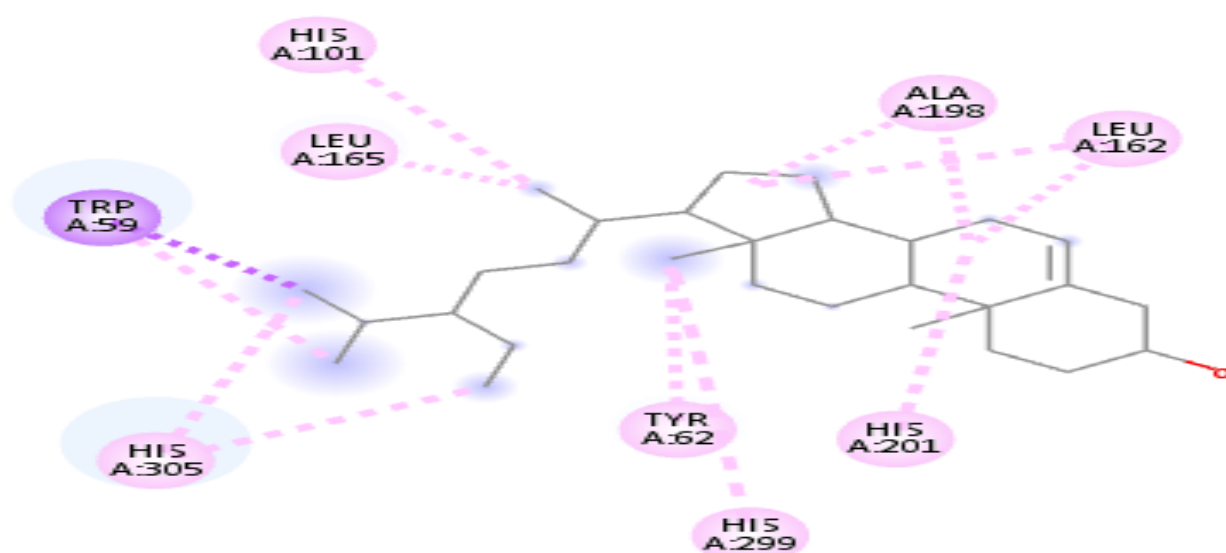
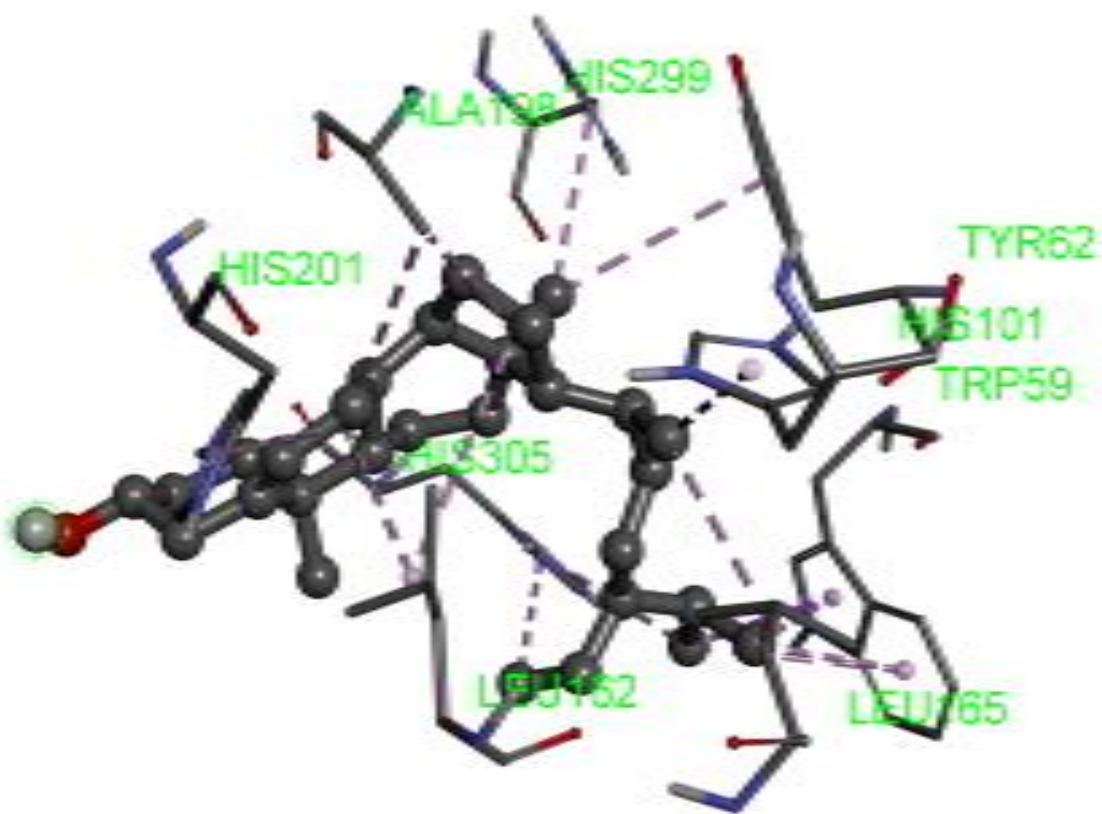
2.1. L'inhibition de α -amylase

Tableau31 : Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur α amylase.

Détail d'interaction					
Inhibiteurs	Docking Score (Kcal/mol)	Ligand	La poche protéinique	Les types d'interactions	Distance(Å)
		C	TRP59	Hydrophobic	3,57286
β -sitostérol	-10.3	C	LEU162	Hydrophob	4,54634
		C	ALA198	Hydrophob	5,3797
			ALA198	Hydrophob	4,32832
			LEU162	Hydrophob	5,42849
			LEU165	Hydrophob	4,38681
			TRP59	Hydrophob	4,57812
			TRP59	Hydrophob	4,37621
			TRP59	Hydrophob	4,29608
			TYR62	Hydrophob	4,481
			HIS101	Hydrophob	4,30097
			HIS201	Hydrophob	5,46256
			HIS299	Hydrophob	5,23283
			HIS305	Hydrophob	5,29082
			HIS305	Hydrophob	4,79079
			LEU162	Hydrophob	4,71385
			ALA198	Hydrophob	4,13542
			ALA198	Hydrophob	3,73153
Campestérol	-9		LEU162	Hydrophob	5,01457
			LEU165	Hydrophob	4,87236
			LEU165	Hydrophob	4,16372
			LEU162	Hydrophob	4,46701
			TRP59	Hydrophob	4,32237
			TRP59	Hydrophob	4,60743
			HIS101	Hydrophob	4,33427
			162		

			LEU162	Hydrophob	4,78666
			ALA198	Hydrophob	4,23008
			ALA198	Hydrophob	4,28482
Δ -5- avénastérol	-9.5		LEU162	Hydrophob	4,9385
			LEU162	Hydrophob	4,59063
			LEU165	Hydrophob	5,36257
			LEU165	Hydrophob	4,28209
			TRP58	Hydrophob	4,8553
			TRP59	Hydrophob	4,82131
			HIS101	Hydrophob	4,20164
			HIS305	Hydrophob	4,52784
L'acide linoléique	-8.6		GLY104	Liaison hydrogène	3,34108
			ALA198	Hydrophob	4,11831
			ILE235	Hydrophob	4,95894
			HIS201	Hydrophob	4,56796
L'acide oléique	-7.9		TRP59	Hydrophob	3,74942
			ARG195	Liaison hydrogène	2,61103
L'acide palmitique	-8.0		ARG195	Liaison hydrogène	2,45316
			HIS299	Liaison hydrogène	2,22673
			GLU233	Liaison hydrogène	2,58193
			ASP300	Liaison hydrogène	2,27376
			ALA106	Hydrophob	3,75891

A

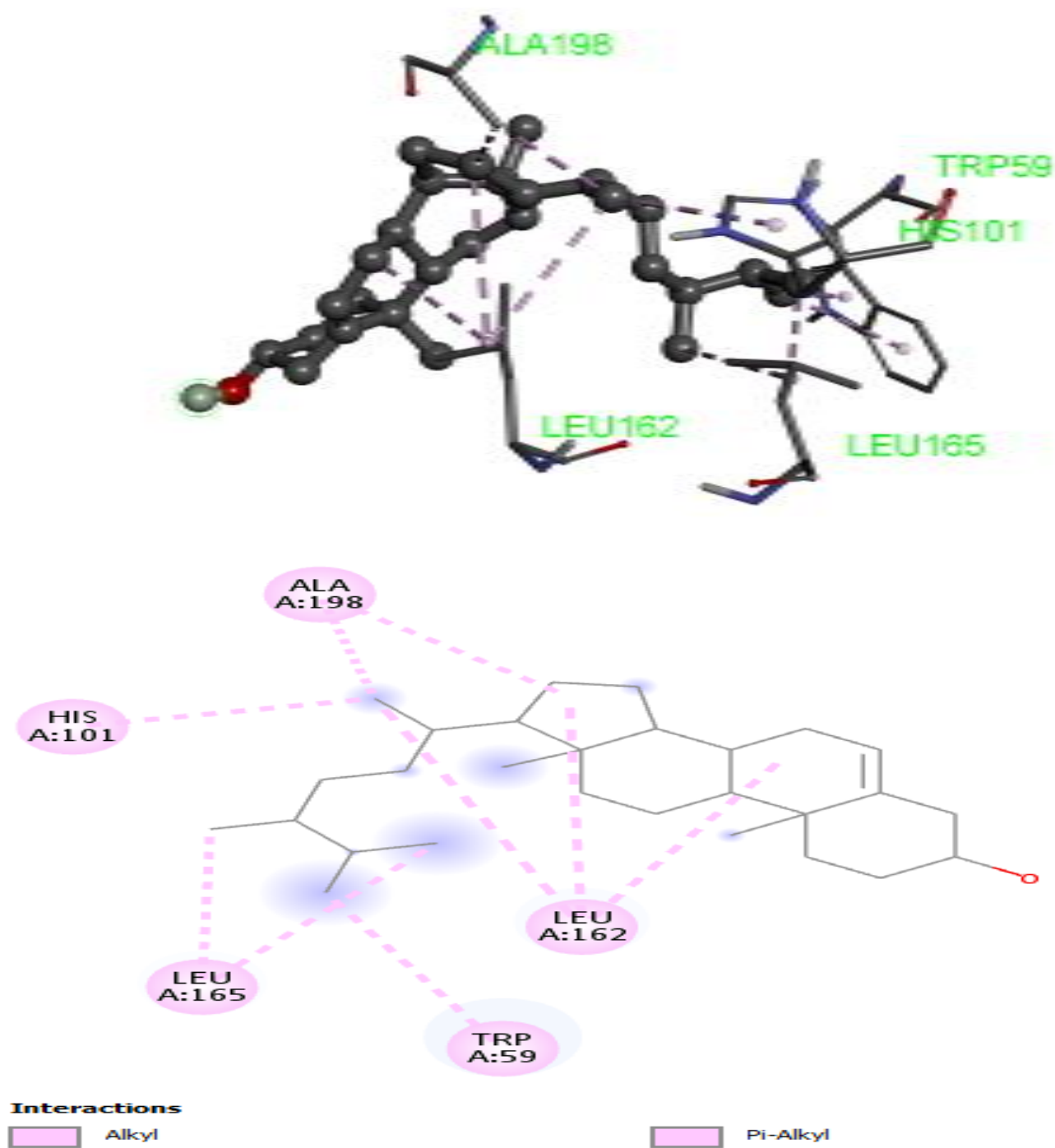


Interactions

Pi-Sigma
 Alkyl

Pi-Alkyl

B



C

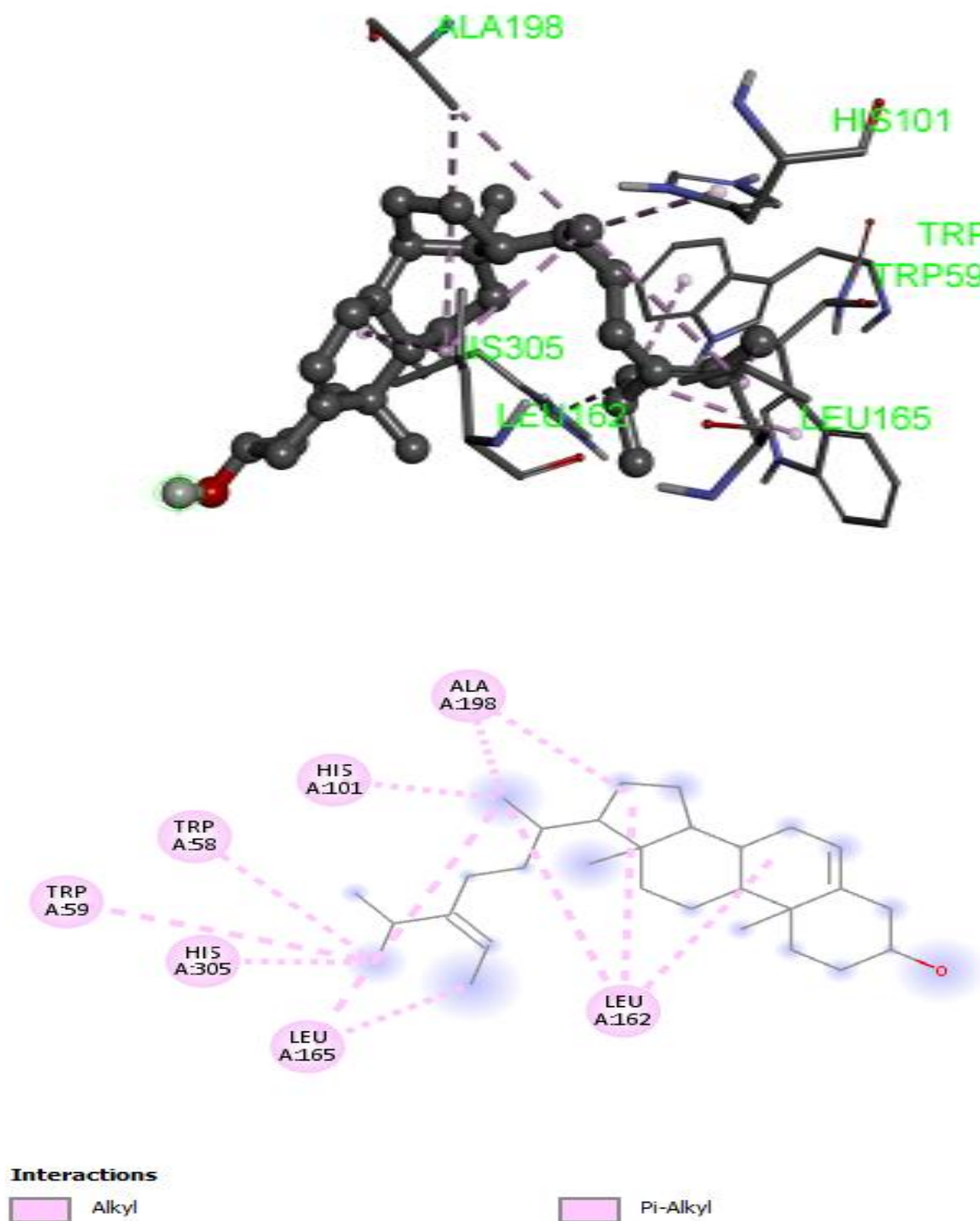
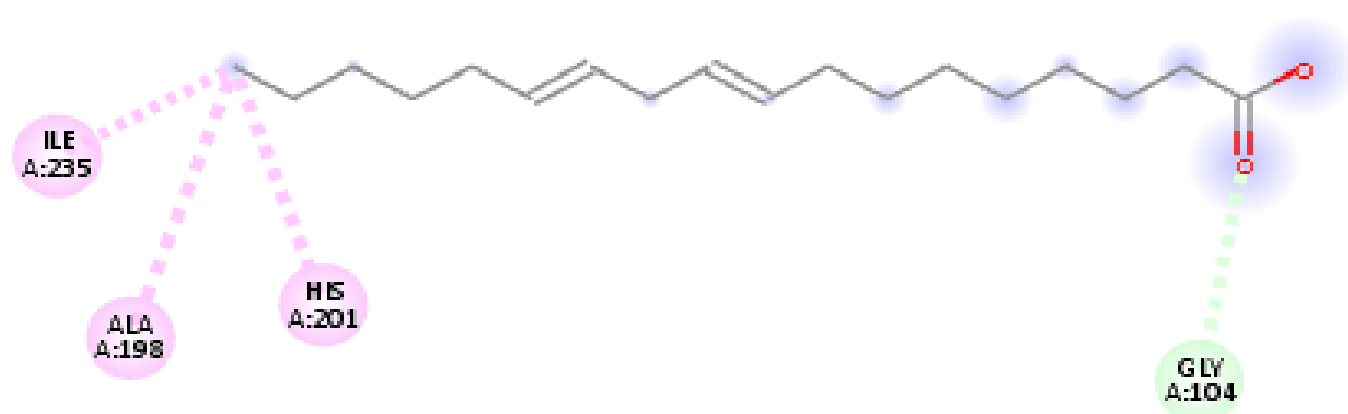
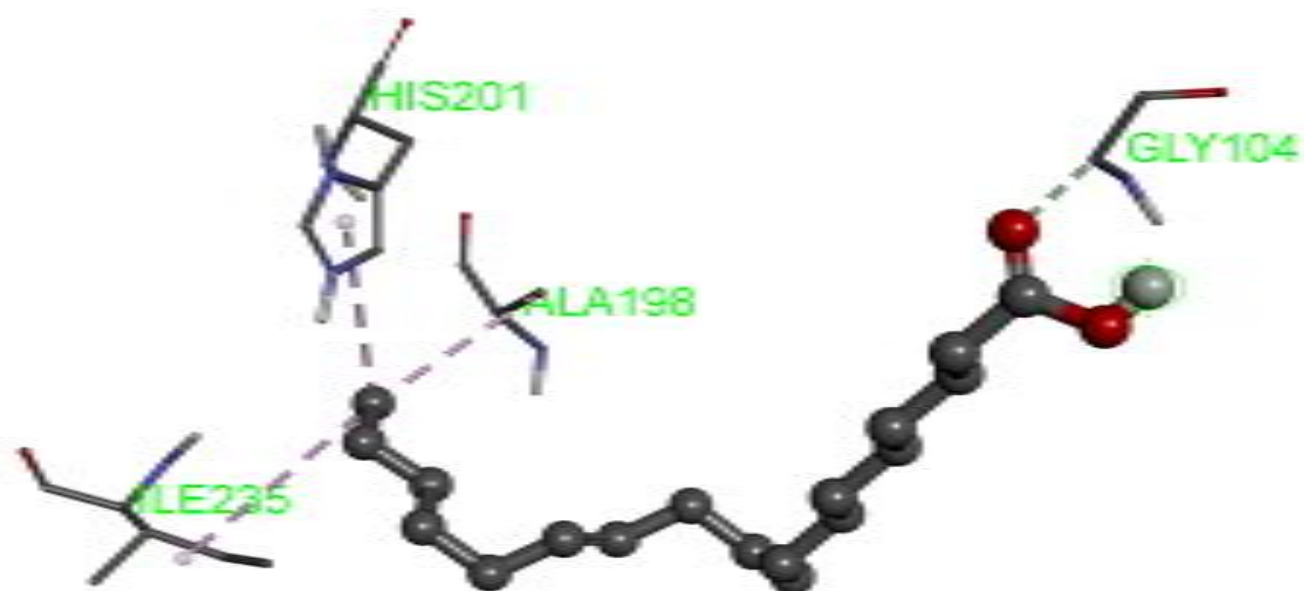


Figure51 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de l'enzyme α amylase avec les ligands : a : β -sitostérol,b : Campestérol,c : Δ -5-avénastérol.

D

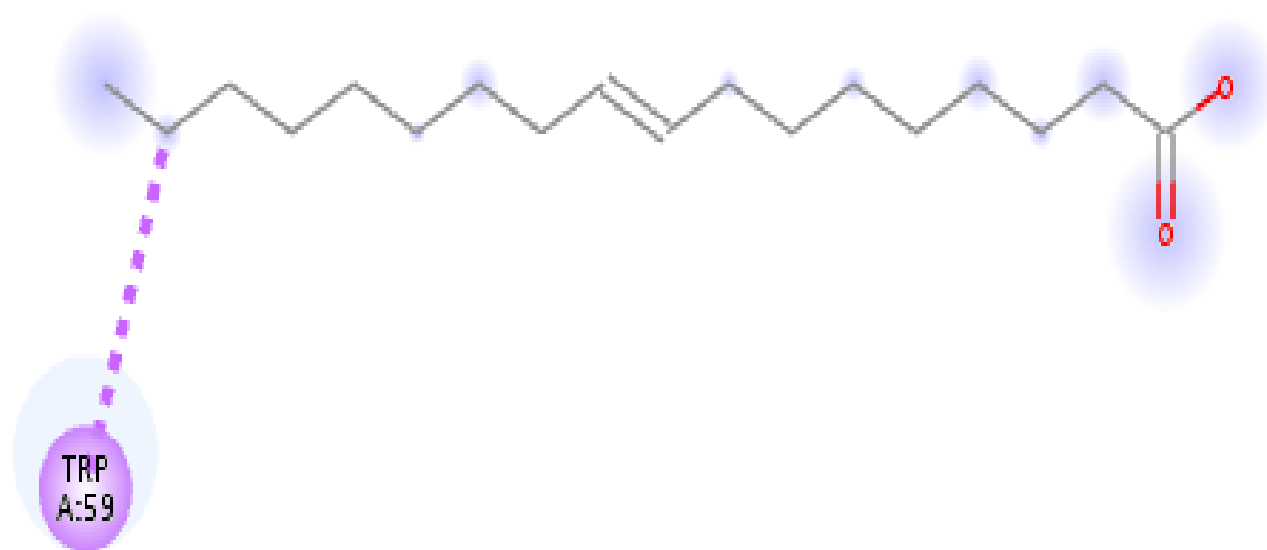
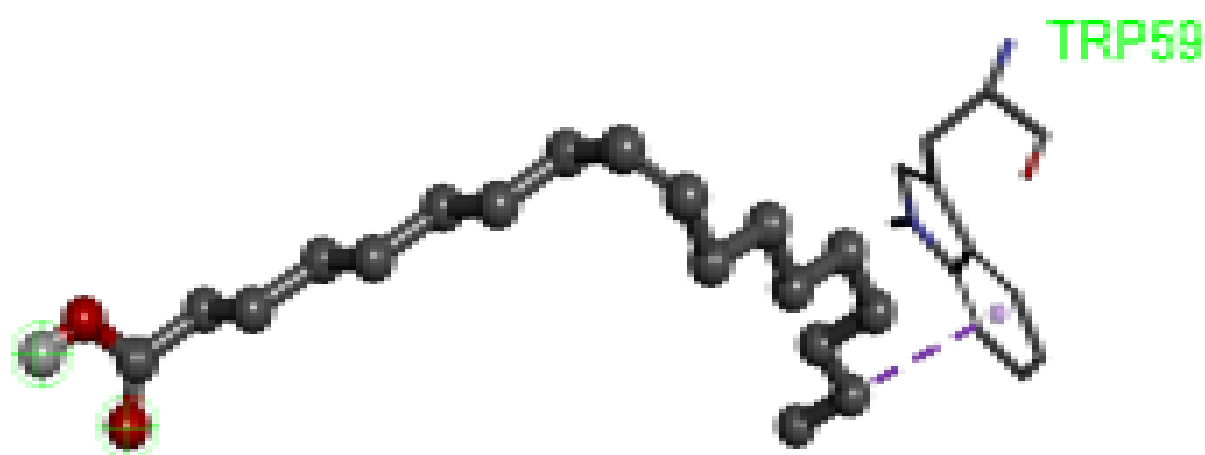


Interactions

- Carbon Hydrogen Bond
- Alkyl

- Pi-Alkyl

E



Interactions

 Pi-Sigma

F

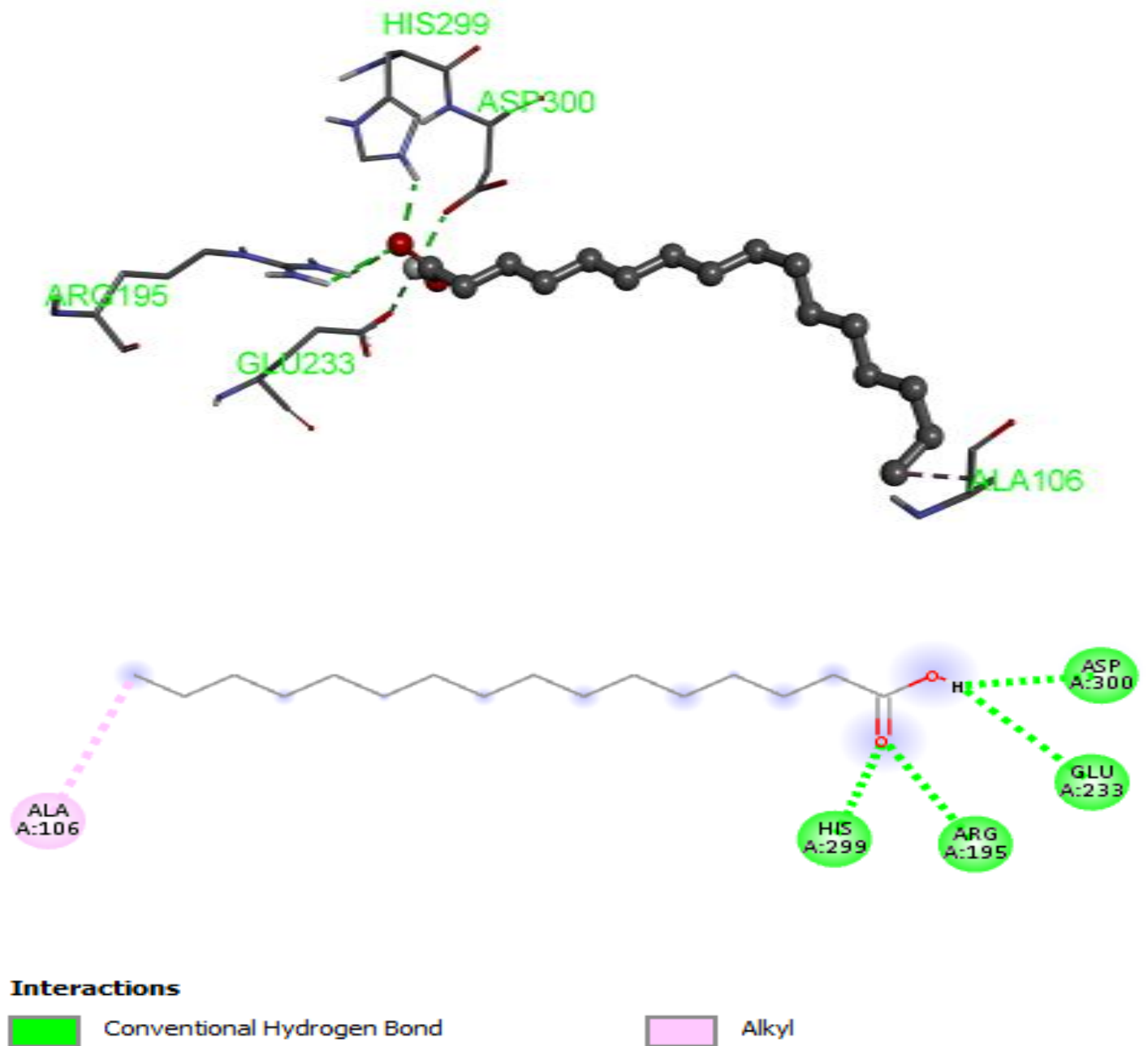


Figure52 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif l'enzyme α amylase avec les ligands : d : linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique

L'étude d'interaction entre les acides aminés du site actif des enzymes avec ces inhibiteurs pour former un complexe stable a été faite à l'aide du logiciel AutoDock Vina. La prédiction du mode d'interaction consiste à déterminer le positionnement correct de ligand par rapport à son récepteur. Les interactions entre les sites actifs de l'enzyme α -amylase et ces inhibiteurs sont calculées lors de Docking moléculaire, les valeurs sont présentées dans le tableau 31. Les résultats de cette étude montrent que les énergies des complexes Enzyme-ligands varie entre $-10,3$ Kcal/mol et $-7,9$ Kcal/mol. L'interaction des liaisons hydrogène a été observée avec des résidus d'acides aminés comme : GLY104, ARG195, HIS299, GLU233, et ASP300. Ces résultats ont révélé l'importance de la liaison hydrogène et des interactions hydrophobes dans l'activité antidiabétique de ces molécules de l'huile d'*Opuntia ficus Indica*.

À partir de nos résultats d'amarrage moléculaire, il a été constaté que le β -sitostérol a été identifié comme l'inhibiteur le plus puissant de l'enzyme α -amylase, interagissant favorablement avec son site catalytique via des interactions hydrophobes avec TRP59, LEU162, ALA198, LEU162, LEU165, TRP59, HIS101, HIS201, HIS299, et HIS305. Également, il a constaté que l'acide palmitique a fait des interactions d'hydrogène avec les résidus ARG195, HIS299, GLU233, et ASP300.

2.2. L'inhibition de α glucosidase

Les résultats de l'effet de l'huile végétale sur l'activité de l' α -glucosidase intestinale in vitro sont présentés dans le tableau 30. En effet, l'activité de l'enzyme α -glucosidase intestinale était significativement ($p < 0,001$) inhibée en présence de huile végétale par rapport au contrôle. L'effet inhibition de l'activité α -glucosidase intestinale était proportionnel à la concentration de notre huile végétale, avec une $IC_{50} = 438 \pm 0,30$ μ g / mL par rapport au test témoin.

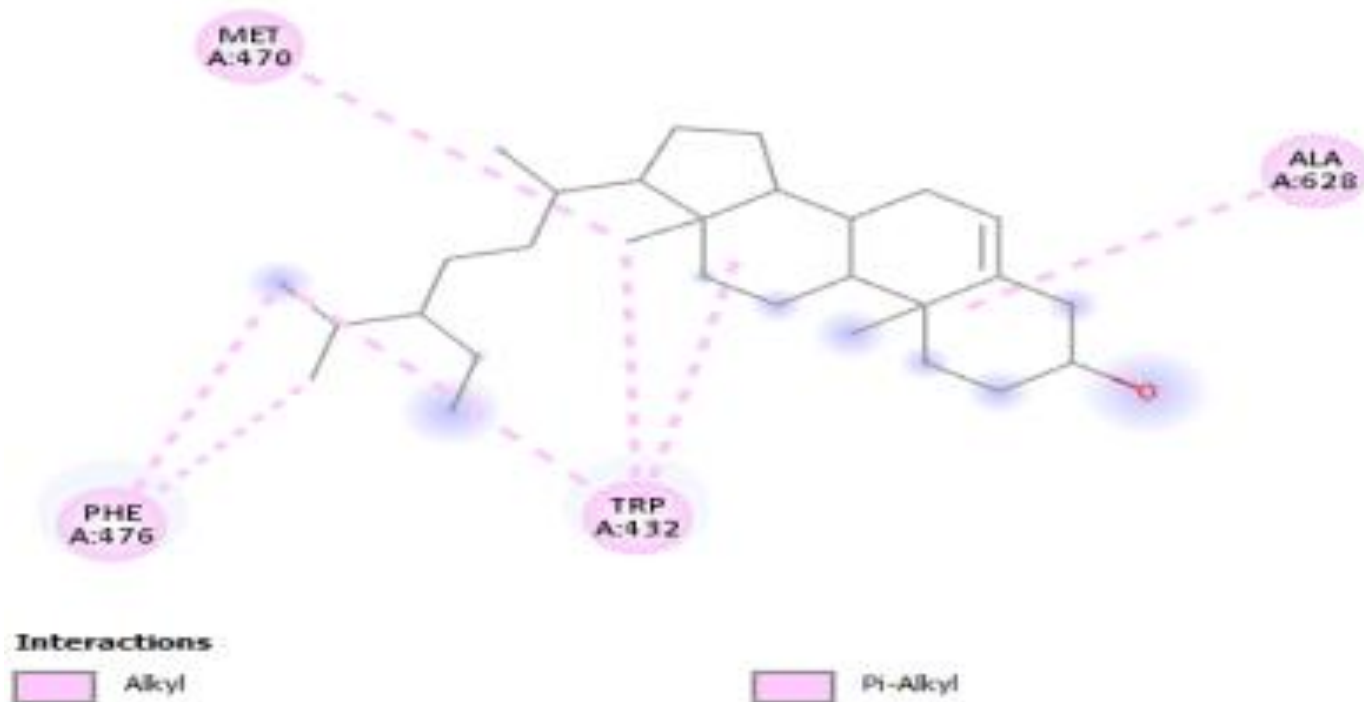
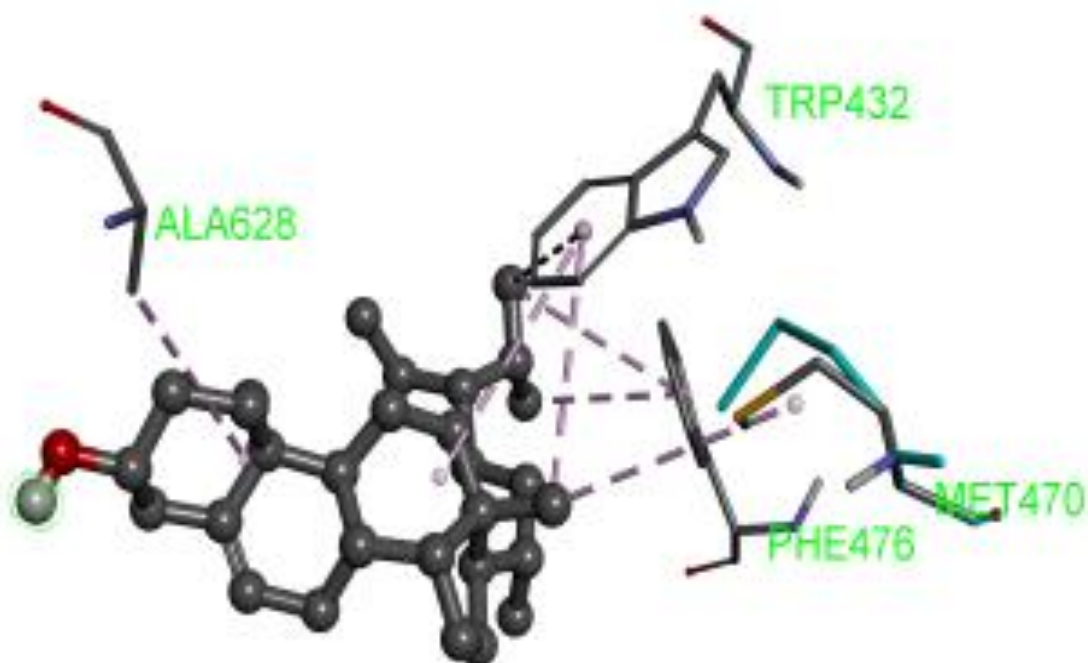
Par ailleurs, cet effet inhibition de l' α -glucosidase intestinale de notre huile végétale était significativement ($p < 0,001$) inférieur à celui de l'acarbose ($IC_{50} = 48,47 \pm 3,02$ μ g / mL). Ensuite, nos résultats sont moins à ceux trouvés par Bouhrim et al pour l'huile de graines d'*Opuntia dillenii* (α - glucosidase $IC_{50} = 278 \pm 0.01$ μ g/mL). En plus, nos résultats sont moins à ceux trouvés par Loizzo et al [255] pour deux variétés différentes d'*Opuntia ficus-indica* (Sanguigna et Surfarina) (α glucosidase $IC_{50} = 88.5 \pm 3.7-42.4 \pm 3.3$ μ g/mL).

Tableau32 :Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur α glucosidase

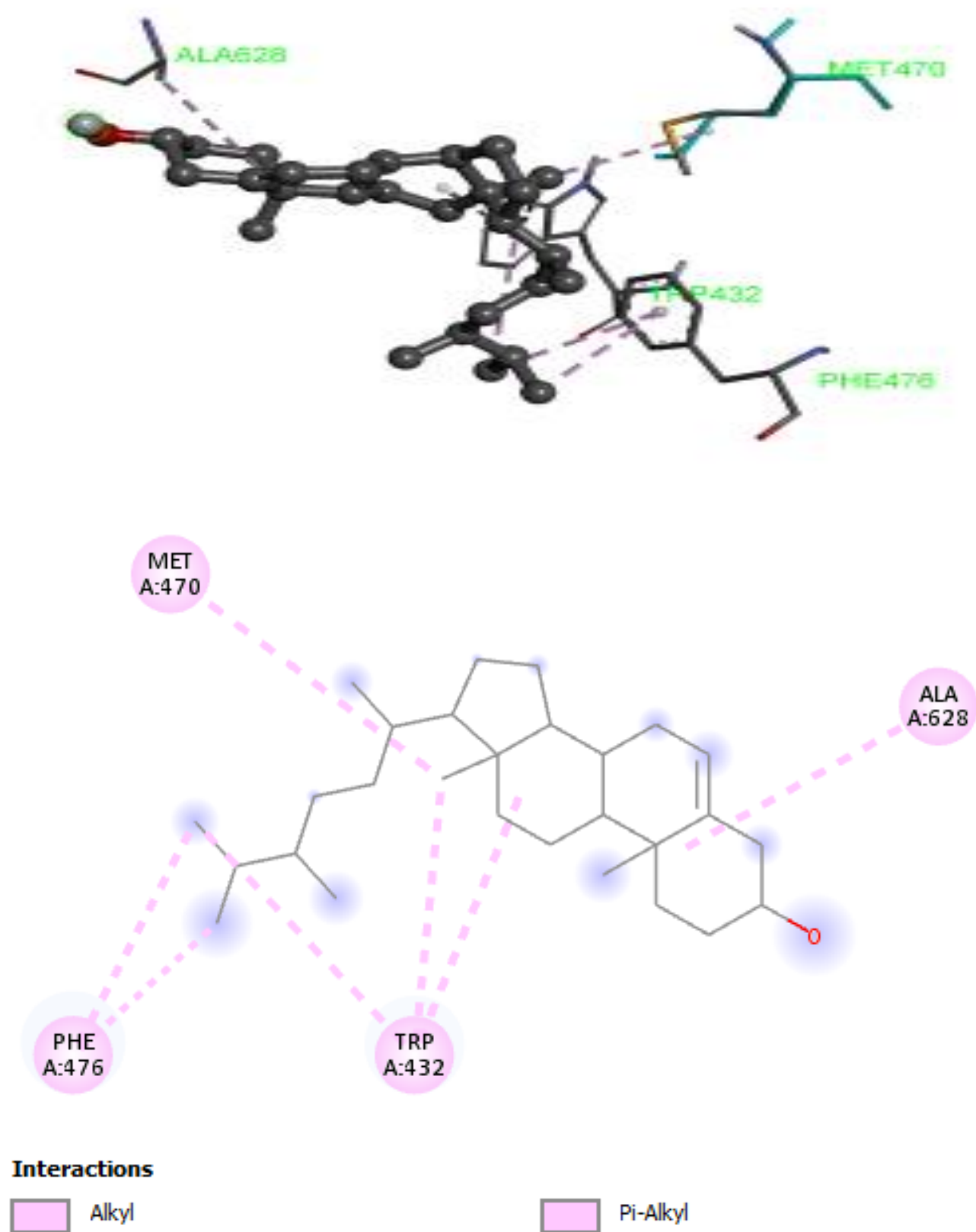
Détail d'interaction					
Inhibiteurs	Docking Score (Kcal/mol)	Ligand	La poche protéinique	Les types d'interactions	Distance(Å)
		c	ALA628	Hydrophob	5,14516
β -sitostérol	-8.6	c	MET470	Hydrophob	5,2907
		c	TRP432	Hydrophob	5,38055
			TRP432	Hydrophob	4,9268
			TRP432	Hydrophob	5,07638
			A:PHE476	Hydrophob	4,23294
			PHE476	Hydrophob	4,56256
Campestérol	-8.4		ALA628	Hydrophob	5,07609
			MET470	Hydrophob	5,2982
			TRP432	Hydrophob	5,37522
			TRP432	Hydrophob	5,19813
			TRP432	Hydrophob	5,00018
			PHE476	Hydrophob	4,24043
			PHE476	Hydrophob	4,43867
			ALA602	Hydrophob	3,78096
			ALA602	Hydrophob	3,72083
			ALA628	Hydrophob	3,88157
Δ -5-avénastérol	-8.7		PHE236	Hydrophob	5,15673
			PHE236	Hydrophob	4,69265
			TRP329	Hydrophob	5,43703
			TRP329	Hydrophob	5,1027
			TRP432	Hydrophob	5,27346
			TRP432	Hydrophob	4,74465
			PHE476	Hydrophob	5,13861
			PHE601	Hydrophob	4,71668
L'acide linoléique	-8.3		SER604	Liaison hydrogène	2,28371
			PHE601	Hydrophob	4,6627
L'acide oléique	-8		HIS626	Liaison hydrogène	1,92768
L'acide palmitique	-7.8		HIS626	Liaison hydrogène	2,16561

--	--	--	--	--	--

A



B



C

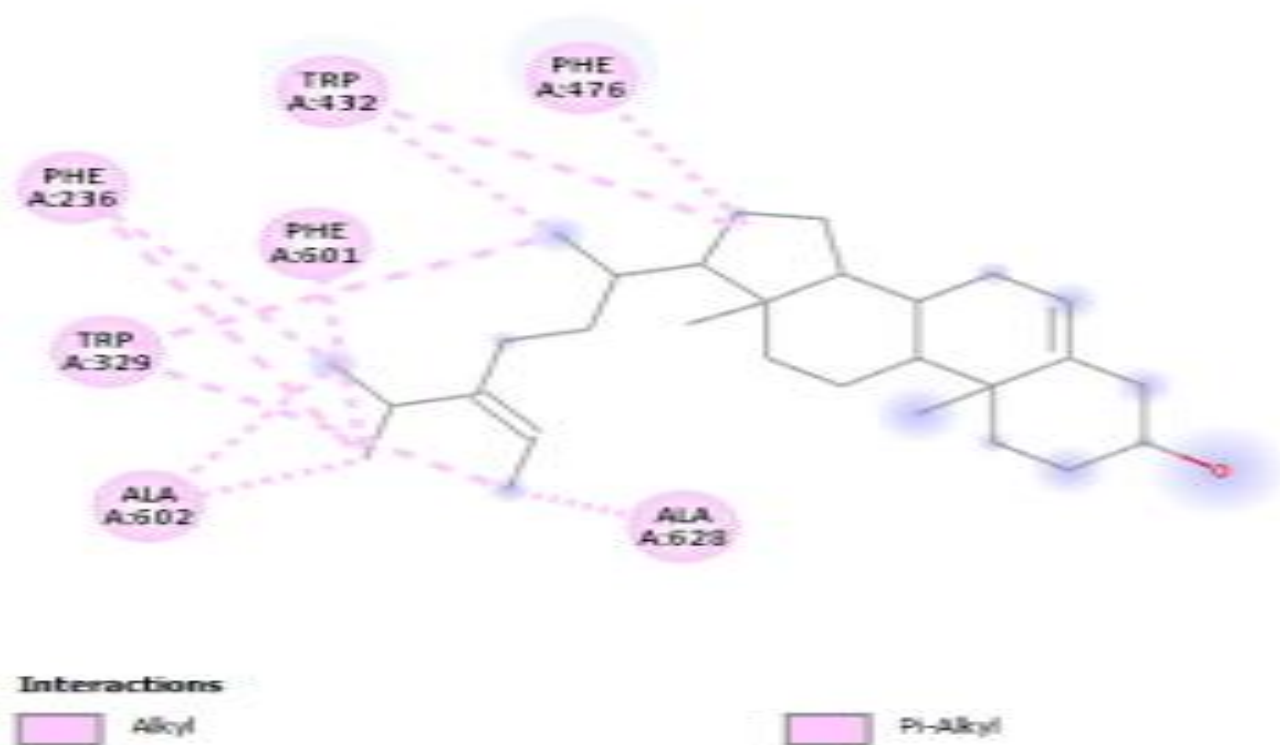
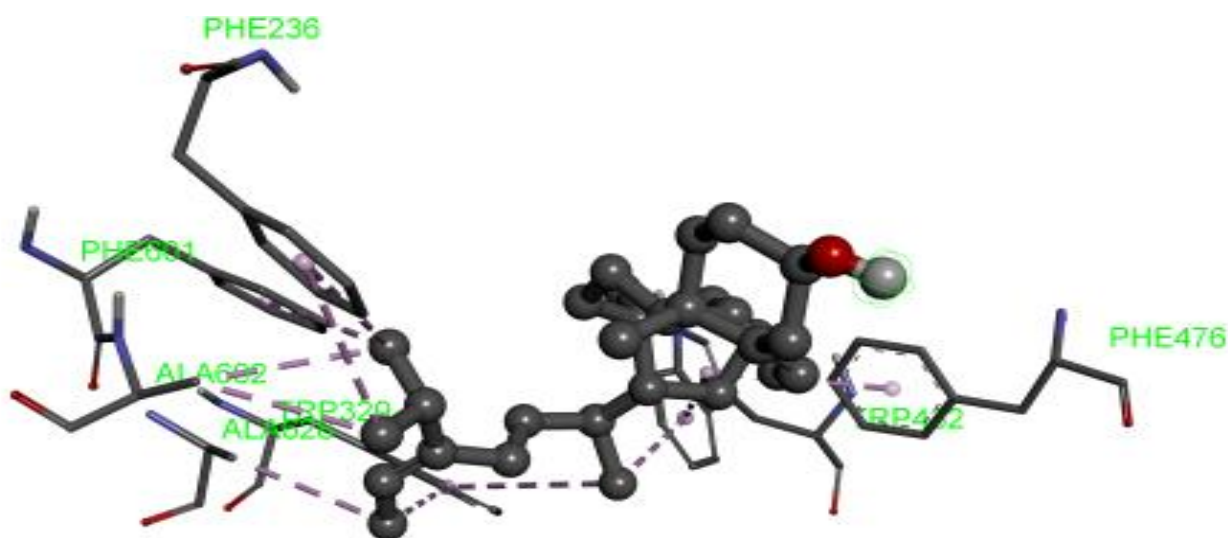
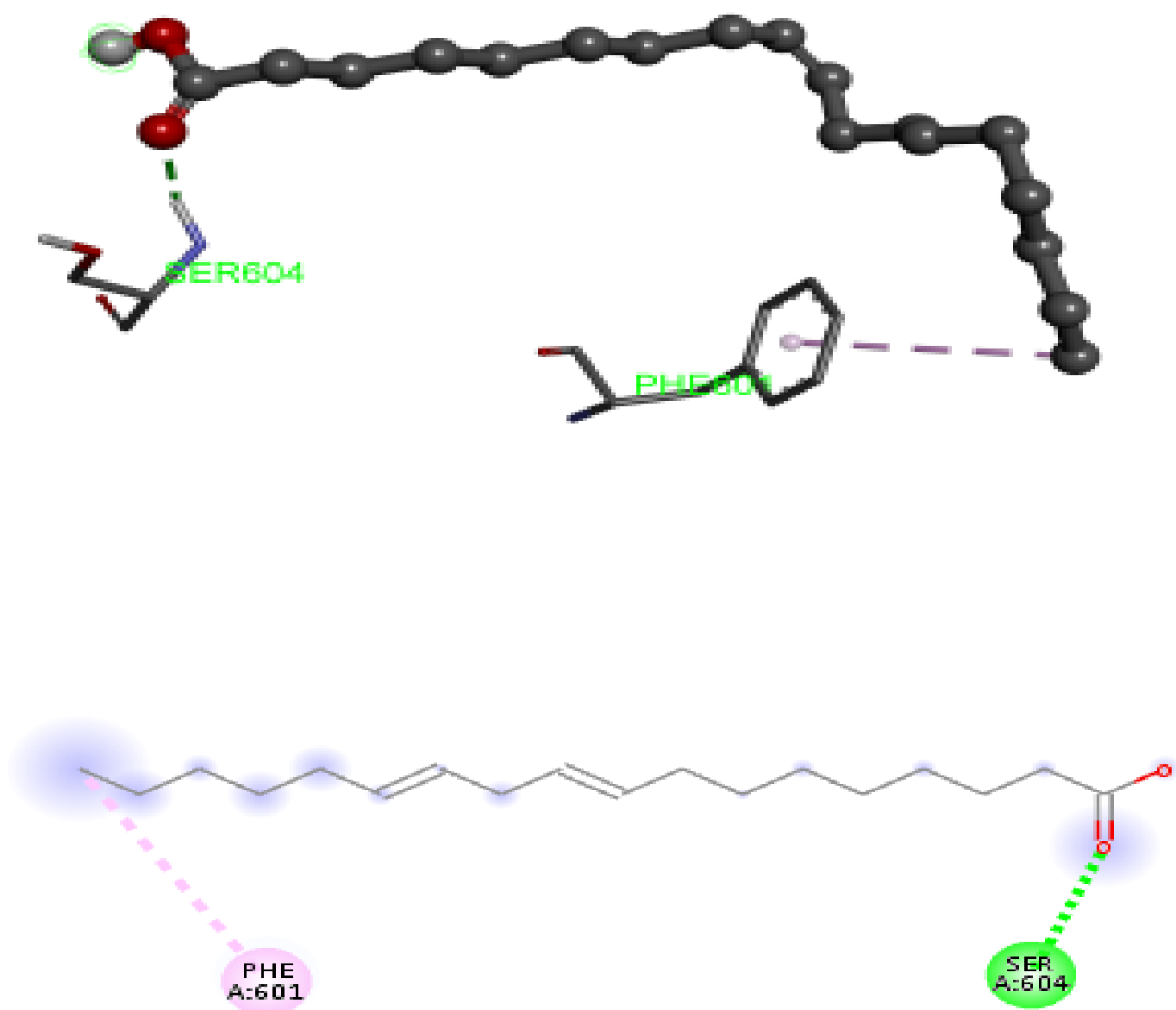
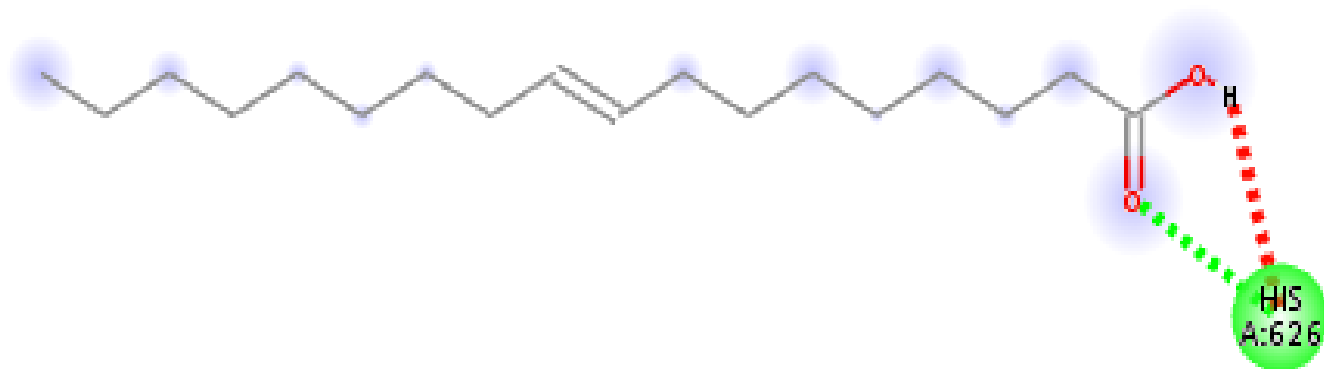
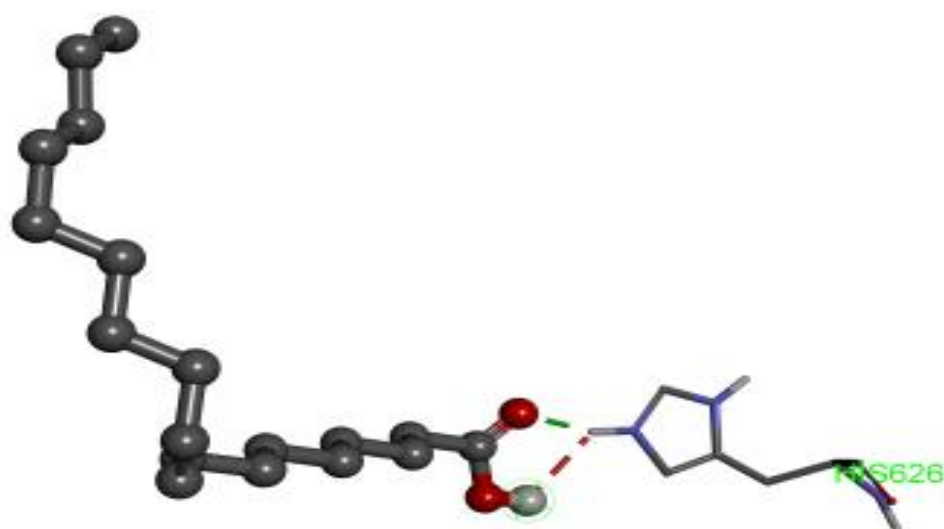


Figure53 :Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif α -glucosidase avec les ligands :
d :linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique

D



E



Interactions

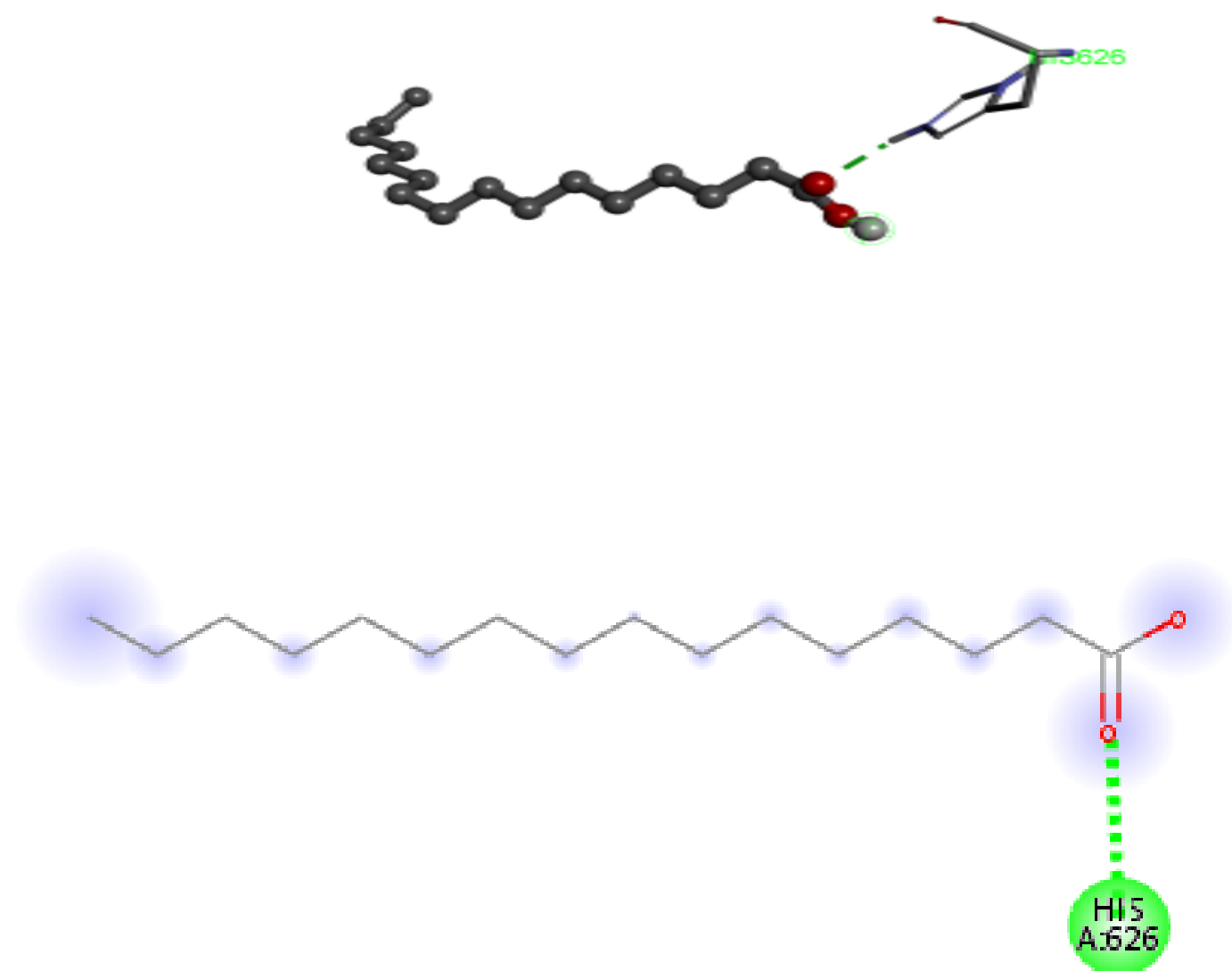


Conventional Hydrogen Bond



Unfavorable Donor-Donor

F



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond

Figure54 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de l'enzyme α glucosidase avec les ligands : a : β -sitostérol, b : Campesterol, c : Δ -5-avénastérol.

Les interactions entre les sites actifs de l'enzyme α -glucosidase et ces inhibiteurs sont calculées lors de Docking moléculaire, les valeurs sont présentées dans le tableau 32. Les résultats de cette

étude montrent que les énergies des complexes enzyme-ligand varient entre $-8,7$ Kcal/mol et $-7,8$ Kcal/mol. D'après ces résultats, le ligand (Δ -5-avenasterol) était le meilleur inhibiteur. La visualisation de résultat du Docking moléculaire réalisée avec le ligand (Δ -5-avenasterol) montre la bonne pénétration de cet inhibiteur dans le site actif α -glucosidase. Ce complexe formé est stabilisé au sein de l'enzyme par des interactions hydrophobes entre l'inhibiteur et les acides aminés suivants : ALA602, ALA628, PHE236, TRP329, TRP432, PHE476, et PHE601.

3. Activité antibactérienne et Docking moléculaire contre l'enzyme Déhydroqualéne synthase (CrTm)

Tableau 33 : Activité antibactérienne in vitro : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Concentration Minimale Bactéricide (CMB), exprimées en (mg/ml)

Les souches bactériennes	Type	CMI Mg/ml	CMB
<i>Proteus mirabilis</i>	Gram-negative	100	> 100
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 6633	Gram-positive	> 100	ND
<i>Escherichia coli</i> K12	Gram-negative	> 100	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram-negative	100	> 100
<i>Listeria innocua</i>	Gram-positive	100	>100
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 976	Gram-positive	> 100	ND

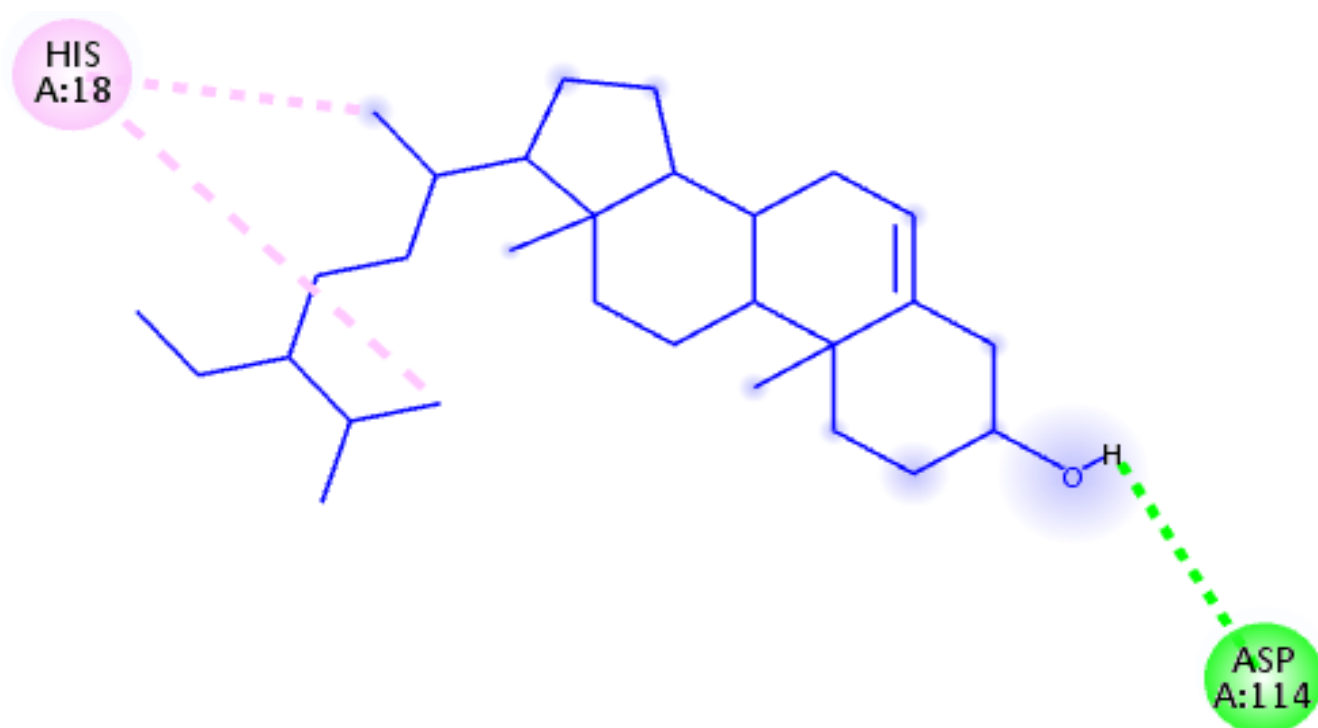
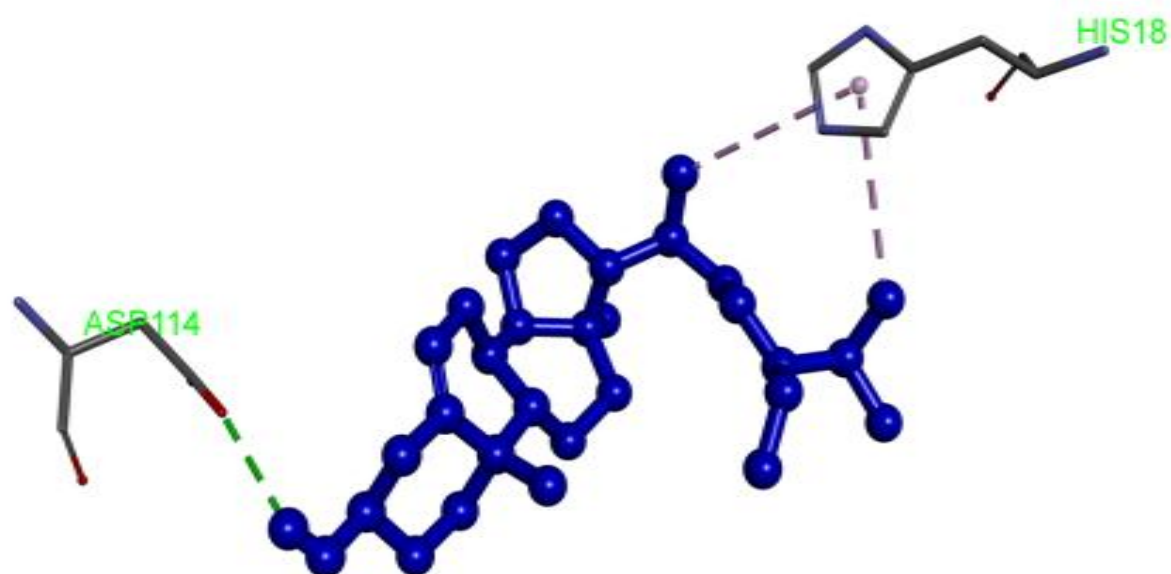
Des tests de dépistage de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica* a été étudiés contre 6 souches bactériennes (Tableau 33) en utilisant la méthode microplaque. Notre huile végétale étudiée a montré une forte activité antimicrobienne contre les bactéries *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Listeria innocua*. D'après ces résultats, cette huile végétale était considérée comme une huile bactériostatique contre ces trois souches bactériennes. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Filomena Nazzaro et al [256], ils ont montré que L'huile d'*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill était capable d'inhiber à 38,75% le biofilm d'*Escherichia coli*, et à 71,84% de *Pseudomonas aeruginosa*. Ensuite, Ortega-Ortega et al, [257] ont indiqué que l'activité antimicrobienne de l'huile de pépins de poire de cactus vert a un effet significatif contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

4.Docking moléculaire

Tableau34 :Résultats de l'énergie de liaison et détails des interactions des constituants majeurs contre le récepteur l'enzyme Déhydroqualénesynthase (CrTm)

Détail d'interaction					
Inhibiteurs	Docking Score (Kcal/mol)	Ligand	La poche protéinique	Les types d'interactions	Distance(Å)
		c	ASP114	Hydrogen Bond	2,88642
β-sitostérol	-7.6	c	HIS18	Hydrophobic	4,31384
		c	HIS18	Hydrophobic	4,48312
			ASP114	Hydrogen Bond	2,91562
Campestérol	-7.4		HIS18	Hydrophobic	4,33132
			HIS18	Hydrophobic	4,50234
Δ-5-avénastérol	-7.00		ARG181	Hydrophobic	4,51497
			VAL111	Hydrophobic	4,68577
			VAL133	Hydrophobic	4,61879
			TYR129	Hydrophobic	5,16288
			TYR183	Hydrophobic	5,13882
L'acide linoléique	-7.8		ASP176	Hydrogen Bond	2,78798
			LEU141	Hydrophobic	5,17421
L'acide oléique	-7.9		TYR248	Hydrophobic	5,25874
L'acide palmitique	-8.1		GLY138	Hydrogen Bond	3,4004

A

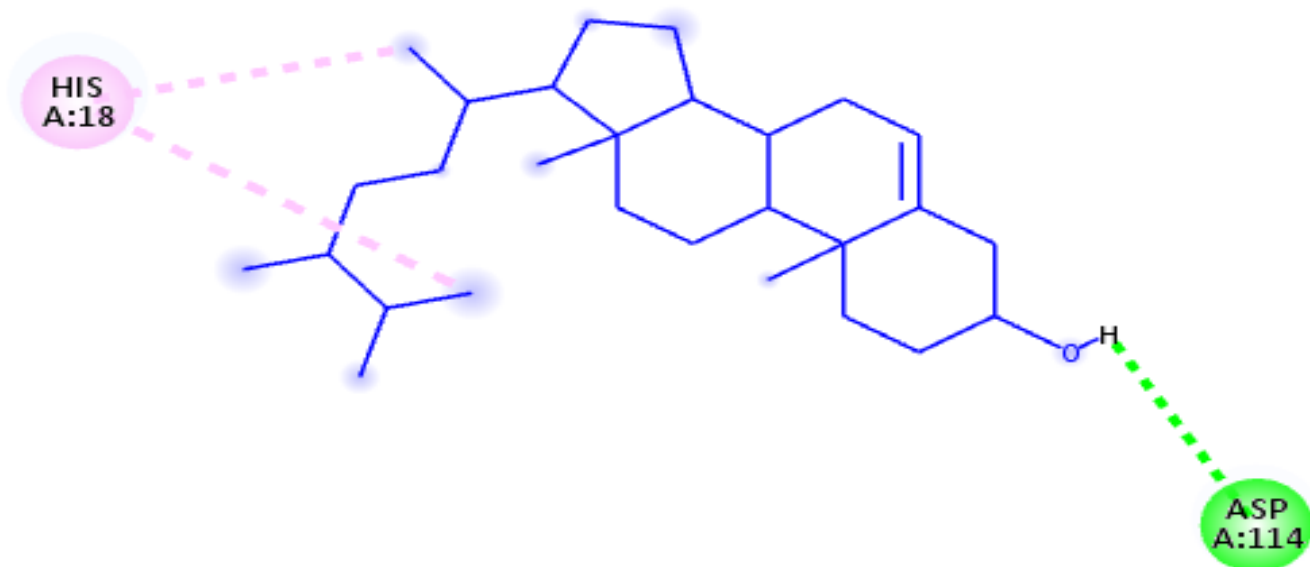
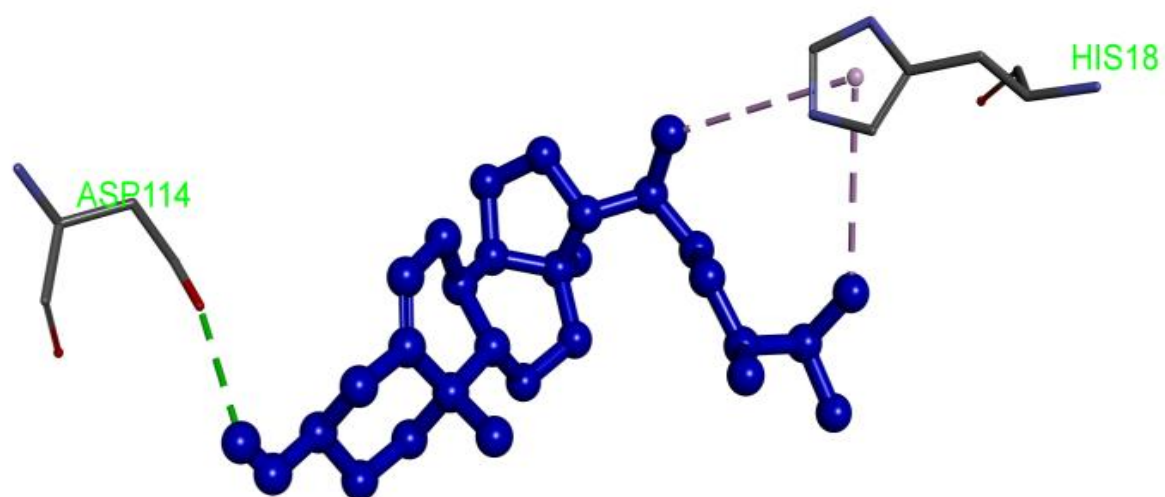


Interactions

 Conventional Hydrogen Bond

 Pi-Alkyl

B



Interactions

 Conventional Hydrogen Bond

 Pi-Alkyl

C

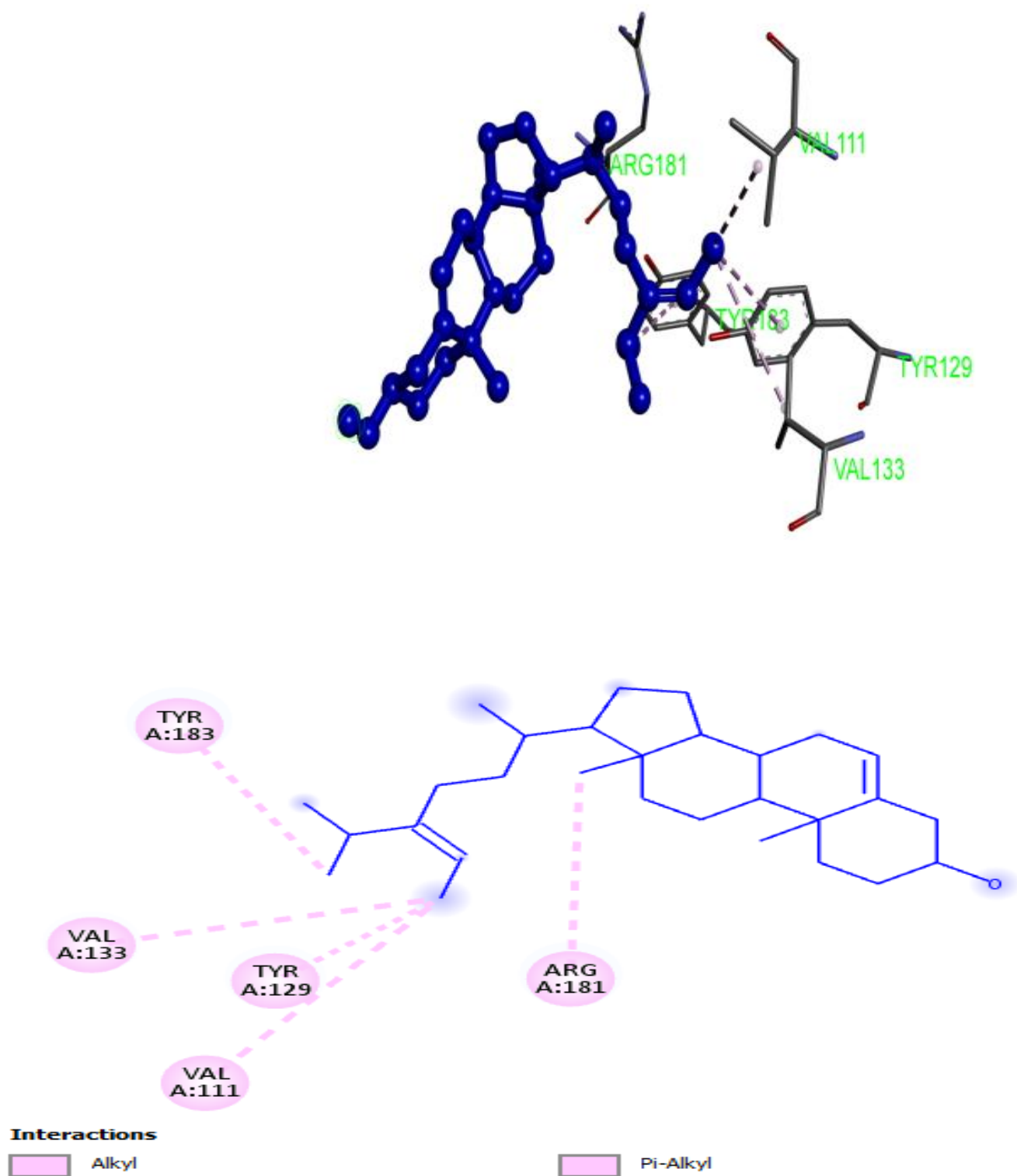
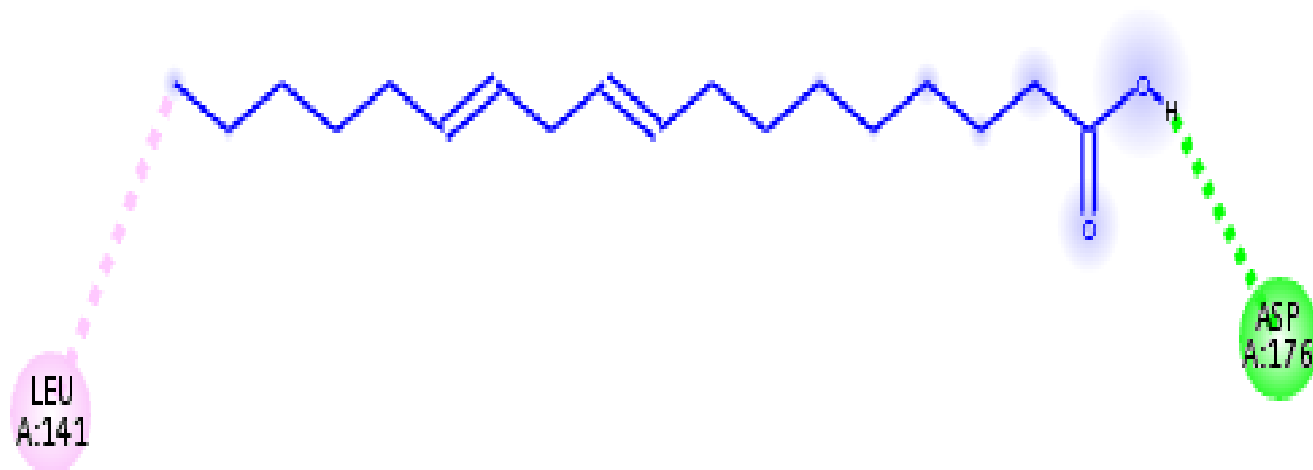
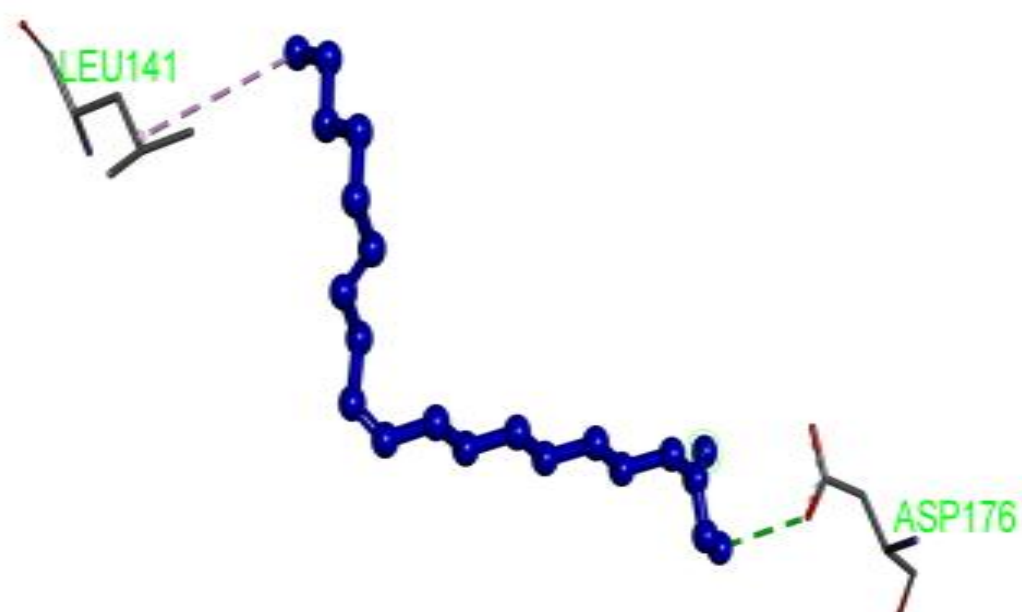


Figure55 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif de l'enzyme l'enzyme Déhydrosqualénesynthase (CrTm)avec les ligands : a : β -sitostérol,b : Campestérol,c : Δ -5-avénastérol.

D



Interactions

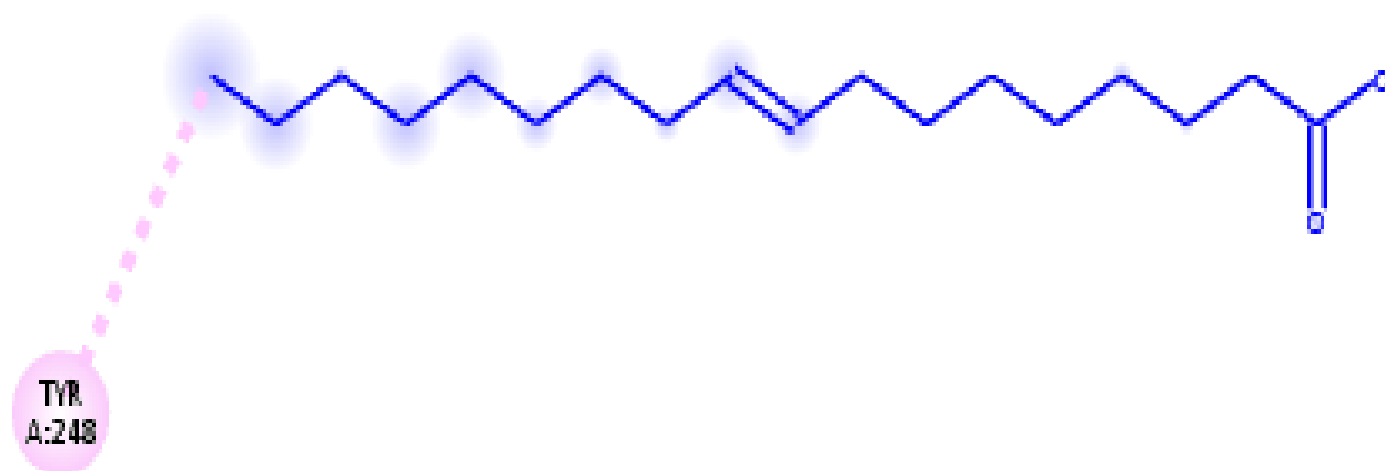
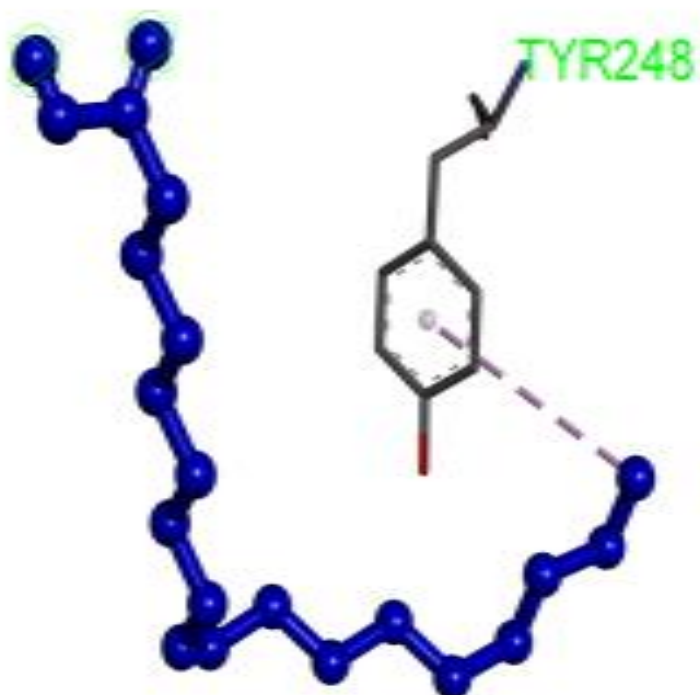


Conventional Hydrogen Bond



Alkyl

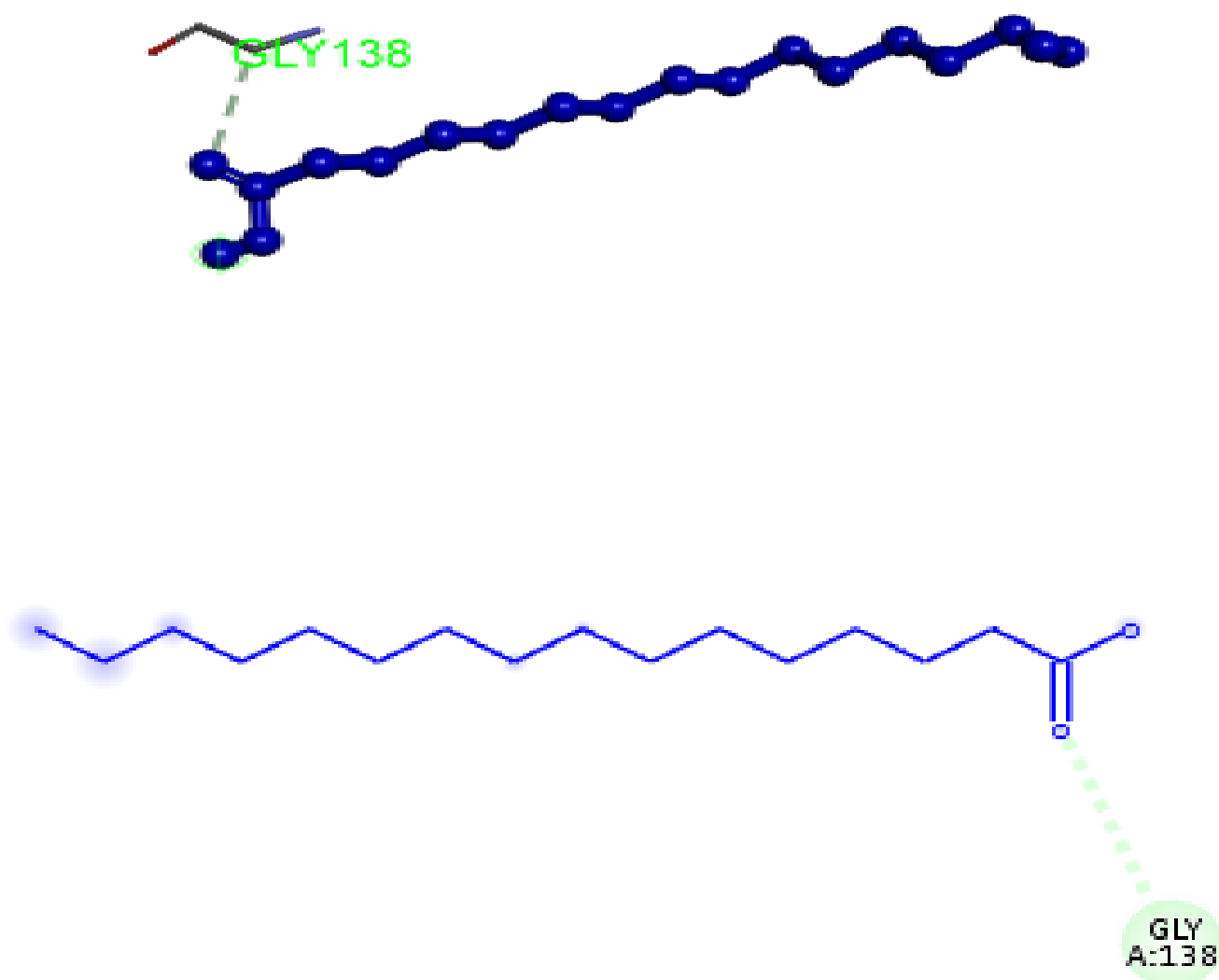
E



Interactions



F



Interactions

 Carbon Hydrogen Bond

Figure 56 : Interactions tridimensionnelles (3D) entre les résidus de site actif l'enzyme Déhydrosqualéne synthase (CrTm) avec les ligands : d : linoléique, e :acide oléique , f :acide palmitique..

Il a été rapporté que la staphyloxanthine (STX) est associée à l'amélioration de la survie bactérienne dans des environnements difficiles et lors d'infections [258-259]. La STX, un pigment caroténoïde jaune-orange, est l'un des facteurs de virulence importants chez les bactéries [260]. Il a été rapporté aussi 36% que 90% des isolats de *S. aureus* provenant d'infections humaines sont pigmentés. Le pigment membranaire favorise la résistance aux espèces réactives de l'oxygène telles que H_2O_2 et $HOCl$ générées par les neutrophiles de l'hôte [260-261]. Il a été démontré que l'organisme bactérien est protégé contre le stress oxydatif grâce au STX, qui est catalysé biosynthétiquement par l'enzyme Déhydroqualéne synthase (CrtM).

Une stratégie alternative qui permet en intérêt à inhiber la synthèse des facteurs de virulence bactérienne essentiels à la croissance et / ou à la survie des bactéries chez les hôtes infectés [262-263]. Le blocage de la biosynthèse de la STX nécessite de trouver des inhibiteurs de la Déhydroqualéne synthase comme une cible thérapeutique potentiellement intéressante [257]. Afin de compléter le pouvoir antibactérien des inhibiteurs testés, nous ferons appel à la méthode du Docking moléculaire en considérant l'enzyme Déhydroqualéne synthase comme une cible.

D'après le tableau 34, On note que l'énergie de liaison du Docking pour tous les composés varient de -8,1 kcal/mol à -7 kcal/mol. Il est à noter aussi que les six inhibiteurs testés contre la Déhydroqualéne synthase présentent deux types d'interaction : hydrogène et hydrophobe. On note ici que tous les inhibiteurs présentent un nombre différent d'interactions. Ces résultats indiquent que ces composés sont maintenus dans la poche active par une combinaison d'interactions hydrophobes et liaison hydrogène. Des contacts hydrophobes majeurs se sont produits entre la protéine et la chaîne latérale HIS18, ARG181, VAL111, VAL133, TYR129, TYR183, LEU141, et TYR248. L'interaction des liaisons hydrogène a été observée avec des résidus d'acides aminés comme ASP114, ASP176 et GLY138. Ces résultats ont révélé l'importance de la liaison hydrogène et des interactions hydrophobes dans l'activité antibactérienne du constituant de l'huile d'*Opuntia ficus Indica*. À partir les résultats d'amarrage moléculaire, il a été constaté que le β -sitostérol a été identifié comme l'inhibiteur le plus puissant de l'enzyme, interagissant favorablement avec son site catalytique via deux Alkyl / Pi – Alkyl interactions avec HIS18 (4,31384Å) et HIS18 (4,48312Å), le résidu ASP114 interagit par une interaction d'hydrogène avec une distance 2,88642 Å avec ce composé. Le composé campestérol a fait deux interactions hydrophobes avec les résidus suivants de l'enzyme, qui sont interactions Alkyl / Pi – Alkyle avec HIS18 (4,31384Å) et HIS18 (4,48312Å) résidus d'acides aminés, et il a

fait une aussi une interaction d'hydrogène avec le résidu ASP114 avec une distance 2,91562Å. Les interactions impliquées entre le Δ -5-avénastérol et l'enzyme sont deux interactions Alkyl / Pi – Alkyl avec TYR129 (5,16288Å), et TYR183 (5,13882Å), et trois interactions avec ARG181 (4,51497Å), VAL111 (4,68577Å), et VAL133 (4,61879Å). Les résidus ASP176 et LEU141 interagissent uniquement avec le composé l'acide linoléique par une interaction de type hydrogène et une interaction hydrophobes avec des distances de 2,78798Å et 5,17421 Å. Les résidus TYR248 et GLY138 interagissent par des interactions d'hydrogène et hydrophobes avec des distances proches entre 3,4004Å et 5,25874 Å respectivement avec l'acide palmitique et l'acide oléique.

5. Conclusion

Cette étude d'abord a exploré l'effet antidiabétique de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*, cette huile a exercé un effet à l'inhibition de α -glucosidase et α -amylases. Ensuite, ces résultats ont démontré que l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica* a une activité antimicrobienne importante contre les bactéries gram-positives et gram-négatives. L'étude de prédiction in silico (d'amarrage moléculaire) a montré une bonne corrélation entre l'activité inhibitrice observée et l'amarrage moléculaire in silico pour les composés majeurs de cette huile. Cette recherche fournit des incitations supplémentaires pour développer des additifs pour les secteurs alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, et à la recherche de composés naturels ayant une activité antimicrobienne et antidiabétique.

CONCLUSION GENERALE

Ce mémoire a pour objectif de contribuer à la valorisation pharmacologique et chimique du figuier de barbarier et s'inscrit dans une démarche de développement durable. Le Maroc grâce à son climat (méditerranéen et atlantique, avec une saison sèche et chaude doublée d'une saison froide et humide), possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier deux espèces figuier de barbarier à savoir *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha*, qui appartiennent respectivement à la famille des cactées. Ces plantes présentent un intérêt très important dans la médecine traditionnelle et dans le domaine alimentaire pour les populations Marocaines. Pour réaliser notre objectif, plusieurs étapes, souvent dépendantes entre-elles, ont été réalisées pour caractériser ces extraits végétaux tels que : la détermination de la composition chimique, l'étude des activités antioxydantes, antibactériennes et antidiabétique. La comparabilité des études in vitro et in vivo a été confirmée par la méthode docking moléculaire. La démarche pour étudier ces propriétés s'est articulée autour de quatre axes principaux.

Le premier axe a été consacré autour d'une étude comparative des différents extraits méthanoliques des trois parties (fleur, graine et cladodes) des deux espèces *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha* collectés dans des régions différentes. La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux, flavonoïdes, et tanins. Les résultats obtenus ont montré que les fleurs des deux espèces de figuier de barbarier possèdent des teneurs très élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes par rapport à celles des autres parties de la plante (graine et cladodes), ainsi que leur activité antioxydante était importante par les deux méthodes FRAP et DPPH. L'étude de la corrélation entre composition chimique, teneurs en phénols totaux et l'activité antioxydante a confirmé qu'il y a une corrélation positive entre ces derniers.

Les conditions environnementales (type de sol, climat...) influent sur la composition en composés antioxydants.

Le deuxième axe a été consacré à l'optimisation des conditions de la torréfaction (température de torréfaction, temps de torréfaction, et temps d'extraction) des grains d'*Opuntia ficus indica* en utilisant la méthodologie des plans d'expérience, les résultats ont montré que la température très élevée de la torréfaction augmente les teneurs en composé bioactif sauf les sucres, ainsi que les activités antioxydantes par les méthodes ABTS et DPPH étaient très importantes avec l'augmentation de la température de la torréfaction.

Le troisième axe a été consacré à l'étude de la composition chimique de l'huile végétale des graines de figier de barbarier par CPG-SM comme moyen d'analyse. Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence du β -sitostérol comme composé majoritaire (67.73), suivie du campestérol et le Δ -5-avénastérol. En ce qui concerne les acides gras, l'acide Linoléique est le composé majoritaire (60.1), suivie du l'acide oléique et l'acide palmitique.

Les études in silico (ADMET, PASS,) de ces constituants majoritaires montre qu'ils présentent des caractéristiques physico-chimique et pharmacologiques très important en tant que candidat médicament. La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux et l'activité antioxydante de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*. L'évaluation de l'activité antioxydante par le pouvoir de piégeage des radicaux libres DPPH exercé par les extraits de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*. Cette, l'huile végétale, présente une inhibition moyenne au piégeage des radicaux libres DPPH (IC_{50} huile = 5,141 μ g/ml). La même influence a été également observée pour les mêmes inhibiteurs contre l'enzyme Déshydrosqualène synthase lors de l'étude de docking. Le quatrième axe a été consacré à l'étude des activités antidiabétique et antibactériennes de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica*. Les activités antimicrobiennes de cette huile végétale a été testée sur six micro-organismes différents d'origine, par la méthode micro plaque. Les résultats obtenus montrent que cette huile a une meilleure activité antibactérienne (bactéricide) vis-à-vis de *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Listeria innocua*. Elle a également une meilleure activité antibactérienne (bactériostatique) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* CECT 976, *Bacillus subtilis* DSM 6633, et *Escherichia coli* K12. Cette huile a exercé un effet à l'inhibition de α -glucosidase et α -amylases respectivement. Ensuite, Les résultats ont démontré que l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica* a une activité antimicrobienne notable contre les bactéries gram-positives et gram-négatives. L'étude de prédiction in silico (d'amarrage moléculaire) a montré une bonne corrélation entre l'activité inhibitrice observée et l'amarrage moléculaire in silico avec les composés majeurs de cette huile.

REFERENCES

- [1] Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. *Editions Larousse, Paris*, 15.
- [2] Inngjerdingen, K., Nergård, C. S., Diallo, D., Mounkoro, P. P., Paulsen, B. S. (2004). An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Journal of ethnopharmacology*, 92(2-3), 233-244.
- [3] Anthony, J. P., Fyfe, L., Smith, H. (2005). Plant active components—a resource for antiparasitic agents. *Trends in parasitology*, 21(10), 462-468.
- [4] Ferrari, J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: "Gnidia involucrata" Steud. ex A. Rich (Doctoral dissertation, *Université de Lausanne, Faculté des sciences*).
- [5] Bindseil, K. U., Jakupovic, J., Wolf, D., Lavayre, J., Leboul, J., van der Pyl, D. (2001). Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discovery Today*, 6(16), 840-847.
- [6] Koehn, F. E., Carter, G. T. (2005). The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*, 4(3), 206-220.
- [7] Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *In Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83).
- [8] Bérubé-Gagnon, J. (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. *Université du Québec à Chicoutimi*.
- [9] Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N., Ignacimuthu, S. (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and ethnomedicine*, 2(1), 1-10.
- [10] Arba, M. (2009, May). Le cactus *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. In *Actes du Symposium International AGDUMED-durabilité des systèmes de culture en zone méditerranéenne et gestion des ressources en eau et en sol* (pp. 14-16). *Rabat: Cana Print*.
- [11] Gommès, R., El Hairech, T., Rosillon, D., Balaghi, R., Kanamaru, H. (2009). Impact of climate change on agricultural yields in Morocco. World Bank-Morocco study on the impact

of climate change on the agricultural sector. *Food and Agriculture Organization of the United Nations(FAO)*. Roma, Italy. 105p.

[12] Ginestra, G., Parker, M. L., Bennett, R. N., Robertson, J., Mandalari, G., Narbad, A., Rosario B. Lo Curto, Giuseppe B, Craig B. Faulds, Keith,Waldron, K. W. (2009). Anatomical, chemical, and biochemical characterization of cladodes from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10323-10330.

[13] Pimienta-Barrios, E. (1994). Prickly pear (*Opuntia* spp.): a valuable fruit crop for the semi-arid lands of Mexico. *Journal of Arid Environments*, 28(1), 1-11.

[14] Hegwood, D. A. (1990). Human health discoveries with *Opuntia* sp.(prickly pear). *HortScience*, 25(12), 1515-1516.

[15] Curiel, A. Á., Levy, T. S., Villasana, A. C., & Gómez, C. G. *ENURBAL* 2002.

[16] Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., Goñi, I. (2010). By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant foods for human nutrition*, 65(3), 210-216.

[17] Stintzing, F. C., Carle, R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular nutrition & food research*, 49(2), 175-194.

[18] MACE TONY, MACE SUZANNE. Cactées et succulentes. *Hachette livre*, 2003, p.12-20.

[19] LAMB B. Le guide des cactus dans le monde. *Delachaux et Niestlé*, 1991, 2-144.

[20] Mulas, M., Mulas, G. (2004). Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification. Short and Medium-Term Priority Environmental Action Programme (SMAP). Université des études de SASSAR.

[21] Rapport du Ministere De L'agriculture Et De La Peche Maritime. Etude du marché national et international des produits issus du cactus (fruits frais, raquettes pour aliments de bétail, huiles) et l'exploration des opportunités offertes pour l'exportation. *Midfac*, 2010, p. 6-53.

[22] Rapport FAO. El Nopal (*Opuntia* spp.) *Como Forraje*, 2003.

[23] REYNOLDSS.G.,ARIAS-JIMENEZ E., MONDRAGO N-JACOBO C.,PEREZ-GONZALEZ S. El nopal (*Opuntia* spp.) como forraje, *Estudio FAO Produccion y Proteccion Vegetal*, 2003, 169, 344–345.

[24] Hernández-Urbiola, M. I., Pérez-Torrero, E., & Rodríguez-García, M. E. (2011). Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (*Opuntia ficus indica*) at varied ages

in an organic harvest. *International journal of environmental research and public health*, 8(5), 1287-1295.

[25] Reyes-Agüero, J. A., Aguirre R, Valiente-Banuet, A. (2006). Reproductive biology of Opuntia: A review. *Journal of arid environments*, 64(4), 549-585.

[26] Britton, N. L., Rose, J. N. (1963). The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family (Vol. 3). *Courier Corporation*.

[27] Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A. (2009). Agroforestry Database: a tree reference and selection guide. Version 4. *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide*. Version 4.

[28] Le Houérou, H. N. (1996). The role of cacti (Opuntiaspp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments*, 33(2), 135-159.

[29] Salem, H. B., Nefzaoui, A., Salem, L. B. (2002). Supplementing spineless cactus (Opuntia ficus-indica f. inermis) based diets with urea-treated straw or oldman saltbush (Atriplex nummularia). Effects on intake, digestion and sheep growth. *The Journal of Agricultural Science*, 138(1), 85.

[30] BOUDECHICHE, L. (2012). Valorisation du figuier de barbarie en alimentation animale. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, (19).

[31] NATURE ET SANTE. Le figuier de barbarie et son huile. *Nature et Santé, Phytothérapie*, 2011, 40-42

[32] Stintzing, F. C., Carle, R. (2005). Cactus stems (Opuntia spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular nutrition & food research*, 49(2), 175-194.

[33] Goldstein, G., Andrade, J. L., Nobel, P. S. (1991). Differences in water relations parameters for the chlorenchyma and the parenchyma of Opuntia ficus-indica under wet versus dry conditions. *Functional Plant Biology*, 18(2), 95-107.

[34] LOUDYI, D. W. (1995). Quelques espèces fruitières d'intérêt secondaire cultivées au Maroc. *Cahiers Options Méditerranéennes*, (13), 47-62.

[35] Laughton, M. J., Evans, P. J., Moroney, M. A., Hault, J. R. S., Halliwell, B. (1991). Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochemical pharmacology*, 42(9), 1673-1681.

[36] You, B. R., Park, W. H. (2010). Gallic acid-induced lung cancer cell death is related to glutathione depletion as well as reactive oxygen species increase. *Toxicology in Vitro*, 24(5),

1356-1362.

[37] Nakayama, M., Aihara, M., Chen, Y. N., Araie, M., Tomita-Yokotani, K., Iwashina, T. (2011). Neuroprotective effects of flavonoids on hypoxia-, glutamate-, and oxidative stress–induced retinal ganglion cell death. *Molecular vision*, 17, 1784.

[38] El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., Norbert L ,Gérard L,Boubker N., Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19(9), 14879-14901.

[39] Kim, J. E., Lee, D. E., Lee, K. W., Son, J. E., Seo, S. K., Li, J.,Lee, H. J. (2011). Isorhamnetin suppresses skin cancer through direct inhibition of MEK1 and PI3-K. *Cancer prevention research*, 4(4), 582-591.

[41] Charrouf, Z.,Guillaume, D. J. A. J. F. T. (2007). Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*. *American Journal of Food Technology*, 2(7), 679-683.

[42] Ramadan, M. F.,Mörsel, J. T. (2003). Recovered lipids from prickly pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill] peel: a good source of polyunsaturated fatty acids, natural antioxidant vitamins and sterols. *Food Chemistry*, 83(3), 447-456.

[43] Psomiadou, E.,Tsimidou, M. (2001). Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(7), 640-647.

[44] Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Ascherio, A., Giovannucci, E., Colditz, G. A., Willett, W. C. (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *New England Journal of Medicine*, 328(20), 1450-1456.

[45] Kallio, H., Yang, B., Peippo, P., Tahvonen, R.,Pan, R. (2002). Triacylglycerols, Glycerophospholipids, Tocopherols, and Tocotrienols in Berries and Seeds of Two Subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3004-3009.

[46] Yang, B., Kallio, H. P. (2001). Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries of different origins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(4), 1939-1947.

[47] Ntanos, F. (2001). Plant sterol- ester- enriched spreads as an example of a new functional food. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(2), 102-106.

[48] El Kossori, R. L., Villaume, C., El Boustani, E., Sauvaire, Y.,Méjean, L. (1998). Composition of pulp, skin and seeds of prickly pears fruit (*Opuntia ficus indica* sp.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 52(3), 263-270.

- [49] Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci*, 11(1), 2574-2589.
- [50] Medina, E. D., Rodríguez, E. R., Romero, C. D. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. *Food chemistry*, 103(1), 38-45.
- [51] Gibson, A. C., Nobel, P. S. (1986). The cactus primer Harvard University Press. *Cambridge, MA*.
- [52] Lahsasni, S., Kouhila, M., Mahrouz, M., Jaouhari, J. T. (2004). Drying kinetics of prickly pear fruit (*Opuntia ficus indica*). *Journal of Food Engineering*, 61(2), 173-179.
- [53] Sáenz, C., Sepúlveda, E., Matsuhira, B. (2004). *Opuntia* spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of arid environments*, 57(3), 275-290.
- [54] Goldstein, G., Ortega, J. K., Nerd, A., Nobel, P. S. (1991). Diel patterns of water potential components for the crassulacean acid metabolism plant *Opuntia ficus-indica* when well-watered or droughted. *Plant Physiology*, 95(1), 274-280.
- [55] Fernandez, M. L., Trejo, A., McNamara, D. J. (1990). Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *The Journal of nutrition*, 120(11), 1283-1290.
- [56] Ennouri, M., Evelyne, B., Laurence, M., Hamadi, A. (2005). Fatty acid composition and rheological behaviour of prickly pear seed oils. *Food Chemistry*, 93(3), 431-437.
- [57] Habibi, Y. (2004). Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux: caractérisation et modification chimique (Doctoral dissertation, *Université Joseph-Fourier-Grenoble I*).
- [58] Monjaube, A., le Houerou, H. N. (1966). Le rôle des *Opuntia* dans l'économie agricole Nord Africaine.
- [59] Linnemann, A. R., Azam-Ali, S. N., Williams, J. T. (1993). Underutilized crops. Pulses and vegetables. *Bambara groundnut*, 13-57.
- [60] Barbera, G., Carimi, F., Inglese, P. (1992). Past and present role of the Indian-fig prickly-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, Cactaceae) in the agriculture of Sicily. *Economic botany*, 46(1), 10-20.
- [61] Lahsissene, H., Kahouadji, A., Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.
- [62] Sepúlveda, E. S. C. A. E., Sáenz, C., Aliaga, E., Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of arid environments*, 68(4), 534-545.

- [63] Fernandez, M. L., Trejo, A., McNamara, D. J. (1990). Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *The Journal of nutrition*, 120(11), 1283-1290.
- [64] Frati-Munari, A. C., Gordillo, B. E., Altamirano, P., Ariza, C. R. (1988). Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care*, 11(1), 63-66.
- [65] Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- [66] Potterat, O. (1997). Antioxidants and free radical scavengers of natural origin. *Current organic chemistry*, 1(4), 415-440.
- [67] Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta.
- [68] Atawodi, S. E. (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2), 128-133.
- [69] Hu, S. G., Li, L., He, X. W. (2005). Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of Chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of chromatography*, 1062(1), 31-37.
- [70] Ko, F. N., Cheng, Z. J., Lin, C. N., Teng, C. M. (1998). Scavenger and antioxidant properties of prenylflavones isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Free Radical biology and medicine*, 25(2), 160-168.
- [71] Cavin, A. (1999). Investigation phytochimique de trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires: *Tinospora crispa* (Menispermaceae) *Merremia emarginata* (Convolvulaceae) et *Orophea enneandra* (Annonaceae) (*Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences*).
- [72] Mahakunakorn, P., Tohda, M., Murakami, Y., Matsumoto, K., Watanabe, H. (2004). Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(1), 38-46.
- [73] Virot, S. (2004). Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire: étude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G del'[alpha] B-cristalline (*Doctoral dissertation, Lyon 1*).
- [74] Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

- [75] Halliwell, B. (1990). How to characterize a biological antioxidant. *Free radical research communications*, 9(1), 1-32.
- [76] Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées) (*Doctoral dissertation*).
- [77] Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.
- [78] Delattre, J., Beaudeau, J. L., Bonnefont-Rousselot, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant(*aspects biologiques et pathologiques*).
- [79] Packer, L., Kraemer, K., Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), 888-895.
- [80] McCall, M. R., Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(7-8), 1034-1053.
- [81] Retsky, K. L., Chen, K., Zeind, J., Frei, B. (1999). Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(1-2), 90-98.
- [82] Lee, S. H., Oe, T., Blair, I. A. (2001). Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*, 292(5524), 2083-2086.
- [83] Yoshida, H., Kajimoto, G., Emura, S. (1993). Antioxidant effects of d-tocopherols at different concentrations in oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(10), 989-995.
- [84] Dreher, D., Junod, A. F. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of cancer*, 32(1), 30-38.
- [85] Leopoldini, M., Russo, N., Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.
- [86] Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of aging*, 23(5), 861-880.
- [87] Kang, J. H., Liu, G., Shi, F., Jones, A. D., Beaudry, R. M., Howe, G. A. (2010). The tomato odorless-2 mutant is defective in trichome-based production of diverse specialized metabolites and broad-spectrum resistance to insect herbivores. *Plant physiology*, 154(1), 262-272.

- [88] Munnik, T., Vermeer, J. E. (2010). Osmotic stress- induced phosphoinositide and inositol phosphate signalling in plants. *Plant, cell & environment*, 33(4), 655-669.
- [89] Boulter, D., Parthier, B. (1982). Nucleic Acids and Proteins in Plants I - Structure, Biochemistry. *Encyclopedia of Plant Physiology*. vol.14 / A 1982
- [90] Turner, B. L., Harborne, J. B. (1967). Distribution of canavanine in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 6(6), 863-866.
- [91] Rosenthal, G. A. (2001). L-Canavanine: a higher plant insecticidal allelochemical. *Amino acids*, 21(3), 319-330.
- [92] Harborne, J. B. (1983). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (Springer Science & Business Media).
- [93] Kittakoop, P., Mahidol, C., Ruchirawat, S. (2014). Alkaloids as important scaffolds in therapeutic drugs for the treatments of cancer, tuberculosis, and smoking cessation. *Current topics in medicinal chemistry*, 14(2), 239-252.
- [94] Russo, P., Frustaci, A., Del Bufalo, A., Fini, M., Cesario, A. (2013). Multitarget drugs of plants origin acting on Alzheimer's disease. *Current medicinal chemistry*, 20(13), 1686-1693.
- [95] Shi, Q. I. U., Hui, S. U. N., Zhang, A. H., Hong-Ying, X. U., Guang-Li, Y. A. N., Ying, H. A. N., Xi-Jun, W. A. N. G. (2014). Natural alkaloids: basic aspects, biological roles, and future perspectives. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(6), 401-406.
- [96] Harborne, J. B. (1967). *Comparative biochemistry of the flavonoids* (London; New York: Academic Press).
- [97] Dufresne, C. J., Farnworth, E. R. (2001). A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *The Journal of nutritional biochemistry*, 12(7), 404-421.
- [98] Dickens, C. W. S., & Staden, J. V. (1990). The in vitro flowering of *Kalanchoë blossfeldiana* Poellniz. II. The effects of growth regulators and gallic acid. *Plant and cell physiology*, 31(6), 757-762.
- [99] Schijlen, E. G., De Vos, C. R., van Tunen, A. J., Bovy, A. G. (2004). Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 65(19), 2631-2648.
- [100] www.meristemi.wordpress.com
- [101] PCM, J., aÿd D, C. ;†66q□. Pdota : >essoudDes |GgGtales de lAfdiDue tdopiDale †: DolođaYts et tanins — AgriCultures Network. Ed. *PROTA Foundation*. ISBN: 90 5782 164
- [102] Tanaka, Y., Tsuda, S., Kusumi, T. (1998). Metabolic engineering to modify flower color. *Plant and cell physiology*, 39(11), 1119-1126.

- [103] Mahapatra, D.K., Bharti, S.K., Asati, V. (2015b). Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *Eur. J. Med. Chem.* 98, 69–114.
- [104] Mahapatra, D.K., Bharti, S.K., Asati, V. (2015c). Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *Eur. J. Med. Chem.* 101, 496–524.
- [105] Chung, K. T., Jr, S. S., Lin, W. F., Wei, C. I. (1993). Growth inhibition of selected food- borne bacteria by tannic acid, propyl gallate and related compounds. *Letters in Applied Microbiology*, 17(1), 29-32.
- [106] Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 38(6), 421-464.
- [107] Thorington, R. W., Thorington Jr, R. W., Ferrell, K. E. (2006). Squirrels: the animal answer guide. *JHU press*.
- [108] L. El ajhar, D.El khachine, A. El bakouri, K. El kharrim, D. Belghyti, Rainfall evolution from 1960 to 2015 in Morocco, *International journal of Research Science and Management* 5(10) (2018) 47-56.
- [109] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F. Jahurulb K A, Ghafoorc N, Norulaini N, Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- [110] AFNOR, "Huiles essentielles: recueil de normes françaises". Association française de normalisation, *Paris*, p 139-140;(1986).
- [111] Association de pharmacie hospitalière de l'Ile-de-France. (1992). L'analyse pratique du médicament. *Éd. médicales internationales*.
- [112] Regulation, H. (1991). Commission Regulation (EEC) No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis *Official Journal L* 248, 5 September 1991. Offic. JL, 248, 1-83.
- [113] The International Organization for Standardization ISO 6799, "Animal and vegetable fats and oils-determination of composition of the sterol fraction-method using gas chromatography," 1991.
- [114] Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

- [115] S. Halmi, A. Madi, N. Zeghad, K. Berouel, R. Lemoui, B. Benlakssira, H. Pacha, Phytochemical Screening Creening and Analgesic Activity of Opuntia Ficus Indica Cladods Extract in Wistar Rats, *Int. J. Phytomed.* 8(2) (2016) 28-86
- [116] Y. Karumi, P.A. Onyeyili, V.O. Ogugbuaja, Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract, *J. Med. Sci.* 4(3) (2004) 179-182.
- [117] N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G. N., Traoré, D., Aké-Assi, L. (2009). Phytochemical screening of some medicinal plants used in Ivory Coast country Krobou (Agboville, Ivory Coast). *Sciences and nature*, 6(1), 1-15.
- [118] Portes, E. (2008). Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle (*Doctoral dissertation, Bordeaux 1*).
- [119] Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [120] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- [121] Boudiaf, K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigella sativa. Mémoire de magister en biologie, *Université de Ferhat Abbas Sétif*.
- [122] Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, É., Sudraud, P., Riberau-Gayon, P. (1972). *Traité d'oenologie: sciences et techniques du Vin*.
- [123] Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4267-4274.
- [124] Chaiwut, P., Pintathong, P., Thitipramote, N., Sangthong, S. (2019). Optimization of polysaccharide extraction from Okra (*Abelmoschus esculentus*) by using response surface methodology. *Journal of Food Science and Agricultural Technology (JFAT)*, 5, 99-105.

- [125] Pokorny, J., Kalinova, L., Dysseler, P. (1995). Determination of chlorophyll pigments in crude vegetable oils: Results of a collaborative study and the standardized method (Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 67(10), 1781-1787.
- [126] Salvador, M. D., Aranda, F., Fregapane, G. (2001). Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality a study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73(1), 45-53.
- [127] Lister, E., Wilson, P. (2001). Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity (personal communication). *Crop Research Institute*, Lincoln, New Zealand, 7, 235-239.
- [128] Wootton-Beard, P. C., Moran, A., Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food research international*, 44(1), 217-224.
- [129] Maataoui, B. S., Hmyene, A., Hilali, S. (2006). Activites antiradicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie [*Opuntia ficus indica*]. *Lebanese science journal*, 7(1), 3-8.
- [130] Wu, H. (2007). Isolation and characterization of natural products from ginger and *Allium ursinum*. *Rutgers The State University of New Jersey-New Brunswick*.
- [131] Sharififar, F., Moshafi, M. H., Mansouri, S. H., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food control*, 18(7), 800-805.
- [132] Chun, O. K., Kim, D. O., Moon, H. Y., Kang, H. G., Lee, C. Y. (2003). Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7240-7245.
- [133] Yıldırım, A., Mavi, A., Kara, A. A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 4083-4089.
- [134] Fettach, S., Mrabti, H. N., Sayah, K., Bouyahya, A., Salhi, N., Cherrah, Y., El Abbes, F. M. (2019). Phenolic content, acute toxicity of *Ajuga iva* extracts and assessment of their

antioxidant and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects. *South African Journal of Botany*, 125, 381-385.

[135] Ferland, Mc., "Manual of clinical laboratory method" ,92, p 113; (2004).

[136] Carson, C. F., Riley, T. V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of applied bacteriology*, 78(3), 264-269.

[137] Linder, R. (2005). Les plans d'expériences: un outil indispensable à l'expérimentateur. Presses des Ponts.

[138] Laib, I., Barkat, M. (2018). Optimization of conditions for extraction of polyphenols and the determination of the impact of cooking on total polyphenolic, antioxidant, and anticholinesterase activities of potato. *Foods*, 7(3), 36.

[139] Tomšik, A., Pavlič, B., Vladić, J., Ramić, M., Brindza, J., Vidović, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 29, 502-511.

[140] Chen, F., Wang, Z., Wang, C., Xu, Q., Liang, J., Xu, X., Yu, R. (2017). Application of reverse docking for target prediction of marine compounds with anti-tumor activity. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 77, 372-377.

[141] Lin, F. Y., Liu, C. I., Liu, Y. L., Zhang, Y., Wang, K., Jeng, W. Y., Oldfield, E. (2010). Mechanism of action and inhibition of dehydrosqualene synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(50), 21337-21342.

[142] Bietz, S., Urbaczek, S., Schulz, B., Rarey, M. (2014). Protoss: a holistic approach to predict tautomers and protonation states in protein-ligand complexes. *Journal of cheminformatics*, 6(1), 1-12.

[143] <https://www.xlstat.com/fr/>

[144] Biswas, A., Dey, S., Li, D., Liu, Y., Zhang, J., Huang, S., Deng, Y. (2020). Comparison of phytochemical profile, mineral content, and in vitro antioxidant activities of *Corchorus capsularis* and *Corchorus olitorius* leaf extracts from different populations. *Journal of Food Quality*, 2020.

- [145] Pires, D. E., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, 58(9), 4066-4072.
- [146] Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Gloriozova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444-457.
- [147] M. Arba, The Opuntia cactus, a fruit and fodder species for sustainable agriculture in Morocco, *Proceedings of the AGDUMED International Symposium-sustainability of farming systems in the Mediterranean area and management of water and soil resources, Rabat, Morocco* (2009)14-16.
- [148] Piga, A. (2004). Cactus pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 6, 9-22.
- [149] Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.
- [150] de Wit, M., du Toit, A., Osthoff, G., Hugo, A. (2019). Cactus pear antioxidants: A comparison between fruit pulp, fruit peel, fruit seeds and cladodes of eight different cactus pear cultivars (*Opuntia ficus-indica* and *Opuntia robusta*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2347-2356.
- [151] Abdel-Hameed, E. S. S., Nagaty, M. A., Salman, M. S., Bazaid, S. A. (2014). Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food chemistry*, 160, 31-38.
- [152] Shahidi, F., Janitha, P. K., Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical reviews in food science & nutrition*, 32(1), 67-103.
- [153] Bouzoubaâ, Z., Essoukrati, Y., Tahrouch, S., Hatimi, A., Gharby, S., Harhar, H. (2016). Phytochemical study of prickly pear from southern Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15(2), 155-161.
- [154] Boutakiout, A., Elothmani, D., Hanine, H., Mahrouz, M., Le Meurlay, D., Hmid, I., Ennahli, S. (2018). Effects of different harvesting seasons on antioxidant activity and phenolic

content of prickly pear cladode juice. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 471-480.

[155] Lee, J. C., Kim, H. R., Kim, J., Jang, Y. S. (2002). Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(22), 6490-6496.

[156] Allai, L., Karym, E. M., El Amiri, B., Nasser, B., Essamad, A., Terzioğlu, P., Öztürk, M. (2017). Evaluation of antioxidant activity and phenolic composition of *Opuntia ficus-indica* cladodes collected from Moroccan Settat region. *Eurasian J. Anal. Chem*, 12, 105-117.

[157] Blando, F., Russo, R., Negro, C., De Bellis, L., Frassinetti, S. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus* of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladode polyphenolic extracts. *Antioxidants*, 8(5), 117.

[158] Izuegbuna, O., Otunola, G., Bradley, G. (2019). Estimation of Phytochemical, Vitamins Composition and Antioxidant Activity of *Pelargonium inquinans* Leaves. *Pharmacognosy Journal*, 11(2).

[159] Aruwa, C. E., Amoo, S. O., Kudanga, T. (2019). Extractable and macromolecular antioxidants of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial activities. *South African Journal of Botany*, 125, 402-410.

[160] Dib, H., Belarbi, M., Beghdad, M. C., Seladji, M. (2014). Antioxidant activity of *Opuntia ficus-indica* flowers phenolic extracts. *Int J Pharm Sci Res*, 5(10), 4574-82.

[161] Alimi, H., Hfaiedh, N., Bouoni, Z., Sakly, M., Rhouma, K. B. (2011). Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(3), 406-416.

[162] Ouerghemmi, I., Harbeoui, H., Aidi Wannes, W., Bettaieb Rebey, I., Hammami, M., Marzouk, B., Saidani Tounsi, M. (2017). Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian cactus pear (*Opuntia ficus indica* L.) flower. *Journal of Food Biochemistry*, 41(5), e12390.

[163] Berrabah, H., Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Boussaid, M. (2019). Phytochemical composition and antioxidant properties of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers from the Algerian germplasm. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1166-1174.

- [164] De Leo, M., De Abreu, M. B., Pawlowska, A. M., Cioni, P. L., Braca, A. (2010). Profiling the chemical content of *Opuntia ficus-indica* flowers by HPLC–PDA-ESI-MS and GC/EIMS analyses. *Phytochemistry Letters*, 3(1), 48-52.
- [165] Cardador-Martínez, A., Jiménez-Martínez, C., Sandoval, G. (2011). Revalorization of cactus pear (*Opuntia* spp.) wastes as a source of antioxidants. *Food Science and Technology*, 31(3), 782-788.
- [166] Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., De Barros, J. P. P. Miche P, Atanas G.A, Khodir M ,Lila B ,Lizard, G. (2020). Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products*, 151, 112456.
- [167] Ross, J. A., Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, 22(1), 19-34.
- [168] Lepengué, A. N., Mouaragadja, I., Aké, S., M'batchi, B. (2012). Quelques aspects biochimiques de la réaction de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au stress salin. *Journal of Applied Biosciences*, 49, 3452-3458.
- [169] Skadhauge, B., Gruber, M. Y., Thomsen, K. K., Von Wettstein, D. (1997). Leucocyanidin reductase activity and accumulation of proanthocyanidins in developing legume tissues. *American Journal of Botany*, 84(4), 494-503.
- [170] Yeddes, N., Chérif, J. K., Guyot, S., Sotin, H., Ayadi, M. T. (2013). Comparative study of antioxidant power, polyphenols, flavonoids and betacyanins of the peel and pulp of three Tunisian *Opuntia* forms. *Antioxidants*, 2(2), 37-51.
- [171] De Pooter, H. L., De Buyck, L. F., Schamp, N. M. (1986). The volatiles of *Calamintha nepeta* subsp. *glandulosa*. *Phytochemistry*, 25(3), 691-694.
- [172] Četković, G. S., Čanadanović-Brunet, J. M., Djilas, S. M., Tumbas, V. T., Markov, S. L., Cvetković, D. D. (2007). Antioxidant potential, lipid peroxidation inhibition and antimicrobial activities of *Satureja montana* L. subsp. *kitaibelii* extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(10), 1013-1027.

- [173] Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. L. W. T. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6), 609-615.
- [174] Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., Ismail, N. (2009). Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 116(1), 306-312.
- [175] Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., Chen, F. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), 385-390.
- [176] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562..
- [177] Siddhuraju, P., Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food chemistry*, 101(1), 10-19.
- [178] Bougandoura, N., Bendimerad, N. (2013). Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) *Briq. Nature Technologie*, 9.
- [179] Bari, M. N., Zubair, M., Rizwan, K., Rasool, N., Bukhari, I. H., Akram, S., Ahmad, V. U. (2012). Biological activities of *Opuntia Monacantha* cladodes. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 34(4).
- [180] Amri, O., Elguiche, R., Tahrouch, S., Zekhnini, A., Hatimi, A. (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of chemical and pharmaceutical Research*, 7(7), 672-678.
- [181] Guettaf, S., Abidli, N., Kariche, S., Bellebcir, L., Bouriche, H. (2016). Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharae* (Coss. & Dur.). *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 50-60.
- [182] Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Uslu, N., Ghafoor, K., Babiker, E. E. (2018). Effect of microwave heating on phenolic compounds of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seeds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13437.

- [183] Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., De Barros, J. P. P., Lizard, G. (2020). Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products*, 151, 112456.
- [184] Fikry, M., Yusof, Y. A., M Al-Awaadh, A., Abdul Rahman, R., Chin, N. L., Ghazali, H. M. (2019). Antioxidative and quality properties of full-fat date seeds brew as influenced by the roasting conditions. *Antioxidants*, 8(7), 226.
- [185] Carciochi, R. A., Galván D' Alessandro, L., Manrique, G. D. (2016). Effect of roasting conditions on the antioxidant compounds of quinoa seeds. *International journal of food science & technology*, 51(4), 1018-1025.
- [186] Khan, A., Saini, C. S. (2016). Effect of roasting on physicochemical and functional properties of flaxseed flour. *Cogent Engineering*, 3(1), 1145566.
- [187] Açar, Ö. Ç., Gökmen, V., Pellegrini, N., Fogliano, V. (2009). Direct evaluation of the total antioxidant capacity of raw and roasted pulses, nuts and seeds. *European Food Research and Technology*, 229(6), 961-969.
- [188] Sharma, K., Ko, E. Y., Assefa, A. D., Ha, S., Nile, S. H., Lee, E. T., Park, S. W. (2015). Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *Journal of food and drug analysis*, 23(2), 243-252.
- [189] Vujasinovic, V., Djilas, S., Dimic, E., Basic, Z., Radocaj, O. (2012). The effect of roasting on the chemical composition and oxidative stability of pumpkin oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(5), 568-574.
- [190] Alberti, A., Zielinski, A. A. F., Zardo, D. M., Demiate, I. M., Nogueira, A., Mafra, L. I. (2014). Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food chemistry*, 149, 151-158.
- [191] LI, H. Z., Tan, Y. L., Zhang, Z. J., Xia, Y. Y., Li, X. J., CUI, L. X., Chen, T. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of procyanidins from perilla seed hull and their antioxidant activities in vitro. *Food Science and Technology*, 39, 378-387.

- [192] Los, F. G. B., Zielinski, A. A. F., Wojeicchowski, J. P., Nogueira, A., Demiate, I. M. (2019). Extraction optimization of phenolic extracts from carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 12(1), 148-159.
- [193] Chandrasekara, N., Shahidi, F. (2011). Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels, and testa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 5006-5014.
- [194] Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food chemistry*, 90(1-2), 199-206.
- [195] Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Martelli, A., Stévigny, C., Arlorio, M. (2010). Total antioxidant activity of hazelnut skin (Nocciola Piemonte PGI): Impact of different roasting conditions. *Food chemistry*, 119(4), 1647-1655.
- [196] Yin, Q., Mu, H., Zeng, M., Gao, D., Qin, F., Chen, J., He, Z. (2019). Effects of heating on the total phenolic content, antioxidant activities and main functional components of simulated Chinese herb candy during boiling process. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 476-486.
- [197] Kim, S. Y., Jeong, S. M., Park, W. P., Nam, K. C., Ahn, D. U., Lee, S. C. (2006). Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food chemistry*, 97(3), 472-479.
- [198] Lin, J. T., Liu, S. C., Hu, C. C., Shyu, Y. S., Hsu, C. Y., Yang, D. J. (2016). Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel. *Food chemistry*, 190, 520-528.
- [199] Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- [200] Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food chemistry*, 90(1-2), 199-206.

- [201] Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Nam, K. C., Ahn, D. U., Lee, S. C. (2004). Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *Journal of food science*, 69(5), C377-C381.
- [202]nMaran, J. P., Manikandan, S., Mekala, V. (2013). Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box–Behnken design with desirability function. *Industrial crops and products*, 49, 304-311.
- [203] Youn, K. S., Chung, H. S. (2012). Optimization of the roasting temperature and time for preparation of coffee-like maize beverage using the response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 305-310.
- [204] Namiki, M. (1988). Chemistry of Maillard reactions: recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens. *Advances in food research*, 32, 115-184.
- [205] Yaylayan, V. A., Kaminsky, E. (1998). Isolation and structural analysis of Maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system. *Food chemistry*, 63(1), 25-31.
- [206] Gao, P., Cao, Y., Liu, R., Jin, Q., Wang, X. (2019). Phytochemical content, minor-constituent compositions, and antioxidant capacity of screw-pressed walnut oil obtained from roasted kernels. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(1), 1800292.
- [207] Nicoli, M. C., Anese, M., Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 10(3), 94-100.
- [208] Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 81-86.
- [209] Hayase, F., Hirashima, S., Okamoto, G., Kato, H. (1989). Scavenging of active oxygens by melanoidins. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(12), 3383-3385.
- [210] Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.

- [211] Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., De Barros, J. P. P., Lizard, G. (2020). Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products*, 151, 112456.
- [212] Mulas, M., D'hallewin, G., Canu, D. (1992). Osservazioni sulla radicazione di cladodi di un anno di *Opuntia ficus-indica* Mill. *Rivista di frutticoltura e di ortofloricoltura*, 54(10), 67-70.
- [213] Barbera, G., Inglese, P., Pimienta-Barrios, E. (Eds.). (1995). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear (Vol. 132). *Italy: FAO*.
- [214] Benayad, Z., Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez-Cordoves, C., Es-Safi, N. E. (2014). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan *Opuntia ficus-indica* flowers obtained by different extraction methods. *Industrial crops and products*, 62, 412-420.
- [215] Di Cagno, R., Filannino, P., Vincentini, O., Lanera, A., Cavoski, I., Gobbetti, M. (2016). Exploitation of *Leuconostoc mesenteroides* strains to improve shelf life, rheological, sensory and functional features of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit puree. *Food microbiology*, 59, 176-189.
- [216] Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Uslu, N., Ghafoor, K., Babiker, E. E. (2018). Effect of microwave heating on phenolic compounds of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seeds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13437.
- [217] Ramadan, M. F., Mörsel, J. T. (2003). Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food chemistry*, 82(3), 339-345.
- [218] Guillaume, D., Gharby, S., Harhar, H., Baba, M. (2015). *Opuntia ficus-indica* and *Balanites aegyptiaca* oils: two seed oils to watch. *Household and Personal Care Today*, 1(0), 2.
- [219] Taoufik, F., Zine, S., El Hadek, M., Idrissi Hassani, L. M., Gharby, S., Harhar, H., Matthäus, B. (2015). Oil content and main constituents of cactus seed oils *Opuntia Ficus Indica* of different origin in Morocco. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 8(2), 85-92.
- [220] Barbera, G., Inglese, P., La Mantia, T. (1994). Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia horticultruae*, 58(1-2), 161-165.

- [221] Barbera, G., Inglese, P., La Mantia, T. (1994). Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia horticultrae*, 58(1-2), 161-165.
- [222] Ciriminna, R., Delisi, R., Albanese, L., Meneguzzo, F., Pagliaro, M. (2017). *Opuntia ficus-indica* seed oil: Biorefinery and bioeconomy aspects. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(8), 1700013.
- [223] Gharby, S., Harhar, H., Farssi, M., Taleb, A. A., Guillaume, D., Laknifli, A. (2018). Influence of roasting olive fruit on the chemical composition and polycyclic aromatic hydrocarbon content of olive oil. *OCL*, 25(3), A303.
- [224] El Mannoubi, I., Barrek, S., Skanji, T., Casabianca, H., Zarrouk, H. (2009). Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(5), 616-620.
- [225] Zine, S., Gharby, S., El Hadek, M. (2013). Physicochemical characterization of *Opuntia ficus-indica* seed oil from Morocco. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(1).
- [226] Taoufik, F., Zine, S., El Hadek, M., Idrissi Hassani, L. M., Gharby, S., Harhar, H., Matthäus, B. (2015). Oil content and main constituents of cactus seed oils *Opuntia Ficus Indica* of different origin in Morocco. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 8(2), 85-92.
- [227] Loizzo, M. R., Bruno, M., Balzano, M., Giardinieri, A., Pacetti, D., Frega, N. G. Vincenzo S, Mariarosaria L, Tundis, R. (2019). Comparative chemical composition and bioactivity of *Opuntia ficus-indica* Sanguigna and Surfarina seed oils obtained by traditional and ultrasound-assisted extraction procedures. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(1), 1800283.
- [228] El Moudden, H., El Idrissi, Y., El Guezane, C., Belmaghraoui, W., El Yadini, A., Harhar, H., Tabyaoui, M. (2020). Tradition Mills' Picholine Olive Oil Physicochemical Characterization and Chemical Profiling across Different Cities in Morocco. *The Scientific World Journal*, 2020.
- [229] Ramadan, M. F., Mörsel, J. T. (2003). Oil cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.). *Food chemistry*, 82(3), 339-345.
- [230] El Mannoubi, I., Barrek, S., Skanji, T., Casabianca, H., Zarrouk, H. (2009). Characterization of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tunisia. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(5), 616-620.

- [231] Zine, S., Gharby, S., El Hadek, M. (2013). Physicochemical characterization of opuntia ficus-indica seed oil from Morocco. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(1).
- [232] Taoufik, F., Zine, S., El Hadek, M., Idrissi Hassani, L. M., Gharby, S., Harhar, H., Matthäus, B. (2015). Oil content and main constituents of cactus seed oils *Opuntia Ficus Indica* of different origin in Morocco. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 8(2), 85-92.
- [233] R'bia, O., Chkioua, C., Hellal, R., Herchi, W., Smiti, S. A. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of *Opuntia ficus indica* seed oil fractions and their bioactive compounds identification. *Turkish Journal of Biochemistry*, 42(4), 481-491.
- [234] Chougui, N., Tamendjari, A., Hamidj, W., Hallal, S., Barras, A., Richard, T., Lariat, R. (2013). Oil composition and characterisation of phenolic compounds of *Opuntia ficus-indica* seeds. *Food chemistry*, 139(1-4), 796-803.
- [235] Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., De Barros, J. P. P., Lizard, G. (2020). Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products*, 151, 112456.
- [236] El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., Cherkaoui-Malki, M. (2014). Nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, 19(9), 14879-14901.
- [237] Papoti, V., Monopati, E., Efthimiadis, F., Zinoviadou, K.G., Adamidis, T., 2015. Olive Oil Stability in the Presence of lemon balm and rosemary. *Int. J. Innov. Res. Pract.* 2, 1–9.
- [238] Demnati, D., Sánchez, S., Pacheco, R., Zahar, M., Martínez, L. (2011). Comparative study of argan and olive fruits and oils. *Actes du premier congres international de l'arganier*, Agadir 15-17 deecembre 2011.
- [239] Grati Kammoun, N., Khelif, M., Ayadi, M., Rekik, H., Rekik, B., Hamdi, M. T. (1999). Evolution des caractéristiques chimiques de l'huile au cours de la maturation des olives. *Revue Ezzaitouna* 5 (1 et 2), 30-47.
- [240] Berraaouan, A., Abderrahim, Z., Hassane, M., Abdelkhaleq, L., Mohammed, A., Mohamed, B. (2015). Evaluation of protective effect of cactus pear seed oil (*Opuntia ficus-indica*

L. MILL.) against alloxan-induced diabetes in mice. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(7), 532-537.

[241] Ortega-Ortega, M. D. L. A., Cruz-Cansino, N. D. S., Alanís-García, E., Delgado-Olivares, L., Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E., Manríquez-Torres, J. D. J. (2017). Optimization of ultrasound extraction of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) seed oil based on antioxidant activity and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Food Quality*, 2017.

[242] Ma, X. L., Chen, C., Yang, J. (2005). Predictive model of blood-brain barrier penetration of organic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(4), 500-512.

[243] Abdelli, I., Hassani, F., Bekkel Brikci, S., Ghalem, S. (2021). In silico study the inhibition of angiotensin converting enzyme 2 receptor of COVID-19 by *Ammoides verticillata* components harvested from Western Algeria. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 3263-3276.

[244] Declercq, J. P., Evrard, C., Clippe, A., Vander Stricht, D., Bernard, A., Knoops, B. (2001). Crystal structure of human peroxiredoxin 5, a novel type of mammalian peroxiredoxin at 1.5 Å resolution. *Journal of molecular biology*, 311(4), 751-759.

[245] Khamees, H. A., Mohammed, Y. H., Swamynayaka, A., Al-Ostoot, F. H., Sert, Y., Alghamdi, S., Shaukath A. Khanum, Madegowda, M. (2019). Molecular structure, DFT, vibrational spectra with fluorescence effect, hirshfeld surface, docking simulation and antioxidant activity of thiazole derivative. *ChemistrySelect*, 4(15), 4544-4558.

[246] Plaisant, F., Clippe, A., Vander Stricht, D., Knoops, B., Gressens, P. (2003). Recombinant peroxiredoxin 5 protects against excitotoxic brain lesions in newborn mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(7), 862-872.

[247]] K. Ganapathi, K. Kulkarni, Chemistry of the thiazoles, in: *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section A*, Springer, 1953, pp. 758–764.

[248] Burda, S., Oleszek, W. (2001). Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2774-2779.

[249] Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C., Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Front Biosci*, 11(1), 2574-2589.

- [250] Hameed, I., Masoodi, S. R. (2015). A Mir, S.; Nabi, M.; Ghazanfar, K.; Ganai, BA Type 2 diabetes mellitus: From a metabolic disorder to an inflammatory condition. *World J. Diabetes*, 6, 598-612.
- [251] Abbas, G., Al Harrasi, A., Hussain, H., Hamaed, A., Supuran, C. T. (2019). The management of diabetes mellitus-imperative role of natural products against dipeptidyl peptidase-4, α -glucosidase and sodium-dependent glucose co-transporter 2 (SGLT2). *Bioorganic chemistry*, 86, 305-315.
- [252] Joshi, S. R., Standl, E., Tong, N., Shah, P., Kalra, S., Rathod, R. (2015). Therapeutic potential of α -glucosidase inhibitors in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 16(13), 1959-1981.
- [253] Leroux-Stewart, J., Rabasa-Lhoret, R. (2014). Diabetic mastopathy: case report and summary of literature. *Canadian journal of diabetes*, 38(5), 305-306.
- [254] Berraaouan, A., Ziyat, A., Mekhfi, H., Legssyer, A., Sindic, M., Aziz, M., Bnouham, M. (2014). Evaluation of antidiabetic properties of cactus pear seed oil in rats. *Pharmaceutical biology*, 52(10), 1286-1290.
- [255] Loizzo, M. R., Bruno, M., Balzano, M., Giardinieri, A., Pacetti, D., Frega, N. G., Tundis, R. (2019). Comparative chemical composition and bioactivity of *Opuntia ficus-indica* Sanguigna and Surfarina seed oils obtained by traditional and ultrasound-assisted extraction procedures. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(1), 1800283.
- [256] Nazzaro, F., Fratianni, F., d'Acierno, A., Caputo, L., Feo, V. D., Coppola, R. (2021). Antibiofilm properties exhibited by the prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) seed oil. *In Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings* (Vol. 66, No. 1, p. 29).
- [257] Ortega-Ortega, M. D. L. A., Cruz-Cansino, N. D. S., Alanís-García, E., Delgado-Olivares, L., Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E., Manríquez-Torres, J. D. J. (2017). Optimization of ultrasound extraction of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) seed oil based on antioxidant activity and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Food Quality*, 2017.
- [258] Kahlon, A. K., Roy, S., Sharma, A. (2010). Molecular docking studies to map the binding site of squalene synthase inhibitors on dehydrosqualene synthase of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 28(2), 201-210.

- [259] Liu, G. Y., Nizet, V. (2009). Color me bad: microbial pigments as virulence factors. *Trends in microbiology*, 17(9), 406-413.
- [260] Lennete, E. H., Hansler, J. R., Shadomy, H. J. (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington.
- [261] Clauditz, A., Resch, A., Wieland, K. P., Peschel, A., Götz, F. (2006). Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infection and immunity*, 74(8), 4950-4953.
- [262] Wang, R., Braughton, K. R., Kretschmer, D., Bach, T. H. L., Queck, S. Y., Li, M., Otto, M. (2007). Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nature medicine*, 13(12), 1510-1514.
- [263] Escaich, S. (2008). Antivirulence as a new antibacterial approach for chemotherapy. *Current opinion in chemical biology*, 12(4), 400-408.
- [264] Janssen, D. B., Dinkla, I. J., Poelarends, G. J., Terpstra, P. (2005). Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. *Environmental microbiology*, 7(12), 1868-1882.
- [265] Amri, O., Elguiche, R., Tahrouch, S., Zekhnini, A., Hatimi, A. (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of chemical and pharmaceutical Research*, 7(7), 672-678.
- [266] Cheniany, M., Ebrahimzadeh, H., Vahdati, K., Preece, J. E., Masoudinejad, A., Mirmasoumi, M. (2013). Content of different groups of phenolic compounds in microshoots of *Juglans regia* cultivars and studies on antioxidant activity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2), 443-45.
- [267] Owen, RW. Mier, W. Giacosa, A. Hull, WE. Spiegelhalder, B. Bartsch, H.(2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: The concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol*38(8): 647–659.
- [268] Daina, A. Michielin, O. Zoete V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.

Résumé

Ce travail de thèse est une contribution à la valorisation chimique et pharmacologique de deux plantes Marocaine à savoir *Opuntia ficus indica* et *Opuntia megacantha*. En raison de leur teneur en composés phénoliques et d'autres antioxydants naturels, ces plantes pourraient être considérées comme une source potentielle de produits naturels à haute valeur additive. Le but de cette étude était de caractériser et valoriser ce co-produit. Le premier volet de ce travail a porté sur l'évaluation des teneurs en antioxydants et la capacité antioxydante des graines, des cladodes et des fleurs pour les deux plantes dans quatre régions de récolte distinctes, ainsi que la corrélation entre les composés antioxydants et leur capacité antioxydante a été réalisée par l'analyse en composants principaux. Le deuxième volet de ce travail a consisté d'appliquer la méthodologie de la surface de réponse et d'étudier l'effet de trois facteurs tels que la température du processus de torréfaction, la durée de la torréfaction et la durée de l'extraction sur les graines d'*Opuntia ficus indica*, afin d'optimiser le Total Phenolic Content, Total Flavonoids Content, Total Condensed Tannins Content, Total Sugars Content et l'activité antioxydante par les méthodes DPPH et ABTS. Le troisième volet de ce travail a été consacré à l'étude de la composition en acides gras et en stérols des huiles de graine extraites par extraction à froid. De plus, l'activité antioxydante des huiles a été évaluée. Les approches expérimentales ont été renforcées par une approche in silico (Docking moléculaire) pour les constituants majeurs de cette huile végétale. Le quatrième volet de ce travail a consisté à évaluer(i) le profil antidiabétique in vitro de l'huile végétale d'*Opuntia ficus indica* par l'inhibition d'enzymes digestives (α -glucosidase et α -amylase), les études d'amarrage moléculaire ont été réalisées sur ces enzymes, ainsi que l'évaluation (ii) de l'activité antibactérienne a été faite contre six souches bactériennes.

Mots-clés : *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*, activité antioxydante, activité antidiabétique, activité antibactérienne, méthodologie de la surface de réponse (RMS), Docking moléculaire.

Abstract

This thesis work is a contribution to the chemical and pharmacological valuation of two Moroccan plants, namely *Opuntia ficus indica* and *Opuntia megacantha*. Due to their content of phenolic compounds and other natural antioxidants, these plants could be considered as a potential source of natural products with high additive value. The aim of this study was to characterize and valorize this co-product. The first part of this work focused on the evaluation of the antioxidant content and the antioxidant capacity of seeds, cladodes and flowers for the two plants in four regions of distinct harvests, as well as the correlation between antioxidant compounds and their antioxidant capacity was carried out by principal component analysis. The second part of this work consisted in applying the response surface methodology and studying the effect of three factors such as the temperature of the roasting process, the duration of the roasting and the duration of the extraction on *Opuntia ficus indica* seeds, in order to optimize the Total Phenolic Content, Total Flavonoids Content, Total Condensed Tannins Content, Total Sugars Content and the antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods. The third part of this work was devoted to the study of the fatty acid and sterol composition of seed oils extracted by cold extraction. In addition, the antioxidant activity of the oils was evaluated. The experimental approaches were reinforced by an in silico approach (molecular docking) for the major constituents of this vegetable oil. The fourth part of this work consisted in evaluating (i) the antidiabetic profile in vitro of the vegetable oil of *Opuntia ficus indica* by the inhibition of digestive enzymes (α -glucosidase and α -amylase), the docking studies molecular studies were carried out on these enzymes, as well as the evaluation (ii) of the antibacterial activity was carried out against six bacterial strains.

Keywords: *Opuntia ficus indica*, *Opuntia megacantha*, antioxidant activity, antidiabetic activity, antibacterial activity, response surface methodology (RMS), molecular docking.