



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**



**Centre universitaire El-Wancharissi de Tissemsilt**  
**Institut des Sciences et de la Technologie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de  
Master académique en

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par:

**Nekki Nadjat**

**Nait Slimani Amel**

**Ould Amrouche Kenza**

Thème :

**Étude de l'activité anti-diabétique in vitro de  
certains métabolites secondaires des jeunes  
cladodes d'Opuntia ficus-indica de la région  
tissemsilt .**

Soutenu le, .....

**Devant le jury:**

|                       |              |        |               |
|-----------------------|--------------|--------|---------------|
| Kehili Houssef        | Président    | M.C.B. | CU-Tissemsilt |
| Moussaoui Badreddine  | Encadreur    | M.A.A. | CU-Tissemsilt |
| Imessaoudane Asmahane | Examinatrice | M.C.B. | CU-Tissemsilt |

**Année universitaire : 2019-2020**

## **Remerciements**

*En premier lieu, on remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à M. MOUSSAOUI Badr Eddine, notre promoteur. Qu'il trouve ici l'expression de notre très vive reconnaissance pour sa patience et sa disponibilité, son aide, conseils, sa confiance ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines très agréables.*

*Un remerciement spécial et sincère à M.EL AFFER Mohamed, ingénieur de laboratoire pour nous y avoir permis de mener ce travail dans de bonnes conditions.*

*Enfin que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de nos vifs remerciements.*

## *Dédicaces*

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

*A mes chers parents*

*A mes frères*

*Ma cousine Manel*

*A mes professeurs*

*A mes amis et tous ceux qui m'ont été d'un  
soutien moral ou matériel*

*Amel*

## *Dédicaces*

*A mes parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études*

*A mes sœurs et mes frères*

*A mes chères nièces Najlaa, Ratil, Assinat*

*A mes professeurs, je tiens à témoigner mon respect et ma reconnaissance*

*A tous mes amies et collègues*

Nadjet

## *Dédicaces*

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

*A mes chers parents*

*A mes frères*

*A mes professeurs*

*A mes amis et tous ceux qui m'ont été d'un  
soutien moral ou matériel*

**Kenza**

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1:</b> Composition chimique et phytochimique des cladodes d' <i>Opuntia Ficus indica</i> ...                     | 12 |
| <b>Tableau 2:</b> Appareillage, verreries et produits utilisés.....   | 21 |
| <b>Tableau 3:</b> Effet des polyphénols et du métronidazole sur l'absorption du glucose par la levure exprimé en IC50 ..... | 26 |
| <b>Tableau 4:</b> Effet des polyphénols et de l'acarbose sur l'a-amylase exprimé en IC50.....                               | 29 |

## Liste des figures

- Figure 1 :** Translocation des transporteurs GLUT4 vers la membrane cytoplasmique et augmentation du transport de glucose dans les cellules musculaire suite à la stimulation par l'insuline ..... 2
- Figure 2 :** Représentation schématique a) du mécanisme de sécrétion de l'insuline, et de la physiologie de régulation glycémique chez b) un sujet sain et c) un sujet diabétique type 2 ..... 4
- Figure 3 :** Les différentes parties du Figuier de barbarie a) la plante, b) les cladodes, c) les fleurs, d) les fruits, e) les graines, f) la poudre des grains ..... 11
- Figure 4 :** Structure des acides phénoliques..... 14
- Figure 5 :** Structure de base des flavonoïdes..... 17
- Figure 6 :** Structure de quelques classes des flavonoïdes ..... 17
- Figure 7 :** Structure de base d'un anthocyane ..... 17
- Figure 8 :** La voie de shikimate..... 18
- Figure 9 :** Le figuier de barbarie de la région d'échantillonnage..... 19
- Figure 10 :** protocole expérimental adopté durant l'étude..... 20
- Figure 11 :** Droite d'étalonnage de l'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols de nopals..... 29
- Figure 12 :** Comparaison de l'inhibition d'absorption du glucose (utilisé à 5, 10 et 15 µg/ml) par la levure en présence de polyphénols de nopals et Métronidazole à 100, 200 et 300 µg/ml. .... 27
- Figure 13 :** Comparaison de l'inhibition d'a amylase par les polyphénols de nopals et l'Acarbose à 100, 200 et 300 µg/ml. .... 29

## **Liste des abréviations**

|              |                                   |
|--------------|-----------------------------------|
| <b>A</b>     | Absorbance                        |
| <b>CI50</b>  | Concentration inhibitrice médiane |
| <b>DKA</b>   | Diabetic keto acidosis            |
| <b>G6P</b>   | Glucose 6 phosphate               |
| <b>GS</b>    | Glycogène synthétase              |
| <b>HbA1c</b> | Hémoglobine glyquée               |
| <b>MS</b>    | Matière sèche                     |
| <b>OFI</b>   | Opuntia ficus indica              |
| <b>OMS</b>   | Organisation Mondiale de la Santé |
| <b>R</b>     | Rendement                         |
| <b>UV</b>    | Ultra-violet                      |
| <b>V</b>     | Volume                            |
| <b>%</b>     | Pour cent                         |
| <b>µL</b>    | Microlitre                        |

---

## Table des matières

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction**

### *Chapitre I: Le diabète*

|  |   |
|--|---|
| I. Le diabète.....   | 2 |
| I.1. Définition: .....                                     | 2 |
| I.2. Physiopathologie:.....                                | 2 |
| I.3. Classification.....                                   | 3 |
| I.3.1. Le diabète de type 1 (insulinodépendants) .....     | 3 |
| I.3.2. Le diabète de type 2 (non insulinodépendants) ..... | 3 |
| I.3.3. Diabète gestationnel .....                          | 5 |
| I.4. Diagnostic: .....                                     | 6 |
| I.4.1. Hémoglobine glyquée (HbA1c).....                    | 6 |
| I.5. Symptômes et complications: .....                     | 6 |
| I.6. Le traitement du diabète de type 2 .....              | 6 |
| I.6.1. Traitement non pharmacologique .....                | 7 |
| I.6.2. Monothérapie orale.....                             | 7 |
| I.6.3. Bithérapie orale.....                               | 7 |
| I.6.4. Insulinothérapie .....                              | 7 |
| I.7. Phytothérapie du diabète .....                        | 8 |

### *Chapitre II: Le figuier de Barbarie*

|  |    |
|--|----|
| II. <i>L'Opuntia ficus indica</i> (Figuier de barbarie)..... | 9  |
| II.1. Généralités: .....                                     | 9  |
| II.2. Description de la plante .....                         | 9  |
| II.3. La partie d'intérêt: les cladodes.....                 | 11 |
| II.3.1. Morphologie .....                                    | 11 |
| II.3.2. Composition chimique .....                           | 11 |
| II.3.3. Intérêts et utilisations des cladodes :.....         | 12 |

|  |    |
|--|----|
| II.3.3.1. Intérêt nutritionnel :.....            | 12 |
| II.3.3.2. Intérêt médicinal et cosmétique: ..... | 12 |
| II.3.3.3. Autres utilisations:.....              | 12 |

***Chapitre III: Les composés phénoliques***

|   |    |
|---|----|
| III. Les composés phénoliques .....                 | 13 |
| III.1. Définition:.....                             | 13 |
| III.2. Classification des polyphénols : .....       | 13 |
| III.2.1. Les acides phénoliques: .....              | 13 |
| III.2.1.1. Les acides hydroxy-benzoïques: .....     | 13 |
| III.2.1.2. Les acides hydroxy-cinnamiques:.....     | 13 |
| III.2.2. Les flavonoïdes: .....                     | 14 |
| III.2.3. Les anthocyanes : .....                    | 14 |
| III.3. Biosynthèse des polyphénols:.....            | 16 |
| III.4. Propriétés biologiques des polyphénols ..... | 17 |

***Chapitre IV:Matériel et méthodes***

|   |    |
|---|----|
| IV. Matériels et méthodes .....   | 18 |
| IV.1. Objectif :.....   | 18 |
| IV.2. Matériels:.....   | 18 |
| IV.2.1. Matériel du laboratoire : .....   | 18 |
| IV.2.2. Matériel végétal: .....   | 19 |
| IV.3. Méthodes : .....  | 19 |
| IV.3.1. Préparation de la poudre de nopals:.....                                  | 20 |
| IV.3.2 Humidité et matière sèche: .....   | 20 |
| IV.3.3. Extraction des polyphénols:.....  | 20 |
| IV.3.4. Dosage des polyphénols .....  | 21 |
| IV.3.5. Etude de l'Activité antidiabétique .....                                  | 21 |
| IV.3.5.1. Détermination de la capacité d'absorption du glucose par la levure..... | 21 |
| IV.3.5.1.1. Préparation de la suspension de levure .....                          | 22 |
| IV.3.5.1.2. Effet des extraits sur l'absorption du glucose par la levure: .....   | 22 |
| IV.3.5.2. Activité inhibitrice d'alpha-amylase: .....                             | 23 |
| IV.3.5.2.1. Préparation des solutions : .....                                     | 23 |

|   |    |
|---|----|
| IV.3.5.2.2. Effet des polyphénols de nopals sur l'a-amylase:..... | 24 |
| IV.4. Analyse statistique.....                                    | 24 |

**Chapitre V:Résultats et discussions**

|  |    |
|--|----|
| V. Résultats et Discussion.....  | 25 |
| V.1.Taux d'humidité : .....  | 25 |
| V.2. Teneur des polyphénols dans les nopals de Tissemsilt.....                 | 25 |
| V.3. Activité antidiabétique des polyphénols de nopals de Tissemsilt .....     | 26 |
| V.3.1 Détermination de la capacité d'absorption du glucose par la levure ..... | 26 |
| V.3.2. Test d'inhibition d'alpha amylase:.....                                 | 29 |
| Conclusion.....  | 31 |

Référence bibliographique

Résumé

Abstract

ملخص

# *Introduction*

## Introduction

Le diabète est un groupe hétérogène de maladies métabolique qui résulte d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou des deux anomalies associées (**Fagot-Campagana et al., 2010**). Selon l'**Organisation mondiale de la santé (2019)**, l'Algérie ne fait pas l'exception et sa population n'est pas épargnée vis-à-vis a cette pathologie très émergente, où la prévalence est estimée à 14 ,4%en 2019 selon le rapport de la journée mondiale de diabète.

Le traitement actuel de cette maladie consiste à contrôler le niveau de la glycémie des malades par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou par l'insulinothérapie selon le type du diabète (**Charbonel et al., 1997**). La phytothérapie ou plus simplement le traitement par les plantes, est une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques comme le diabète, au moyen de végétaux, de parties de végétaux ou de préparation à base de ceux-ci, qu'ils soient consommés ou utilisés en voie externe (**Brundo, 1999; Wicht et Anton, 2003**).

L'*Opuntia ficus indica* ou figuier de barbarie en fait partie de ces plantes remèdes qui doit connaitre obligatoirement un regain d'intérêt local, non seulement en raison de son adaptation à divers climats et sols capable de contribuer efficacement à la mise en valeur des zones arides et semi-arides, mais aussi grâce à sa polyvalence d'utilisation; agroalimentaire, cosmétique et pharmacologique.

Les rameaux succulents de ce cactus en stade précoce de développement nommés souvent nopals et issus de la wilaya de Tissemsilt font l'objet de cette étude, dont l'intérêt global est de revaloriser le figuier de barbarie en domaine phytopharmaceutique, en vue d'attirer l'attention vers la possibilité d'une exploitation socio-économique à profit de cette région à vocation rurale.

Ce travail comporte une partie bibliographique qui regroupe l'état de connaissance actuel sur le diabète, l'*Opuntia ficus indica* et les compositions phénolique bioactifs localisés dans les nopals de cette dernière. La deuxième partie; la partie pratique, comprend le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail, suivis d'une discussion des résultats obtenus, pour aboutir finalement à une conclusion qui assemble l'indispensable à retenir de cette étude.

# *Chapitre I: Le diabète*

## I. Le diabète

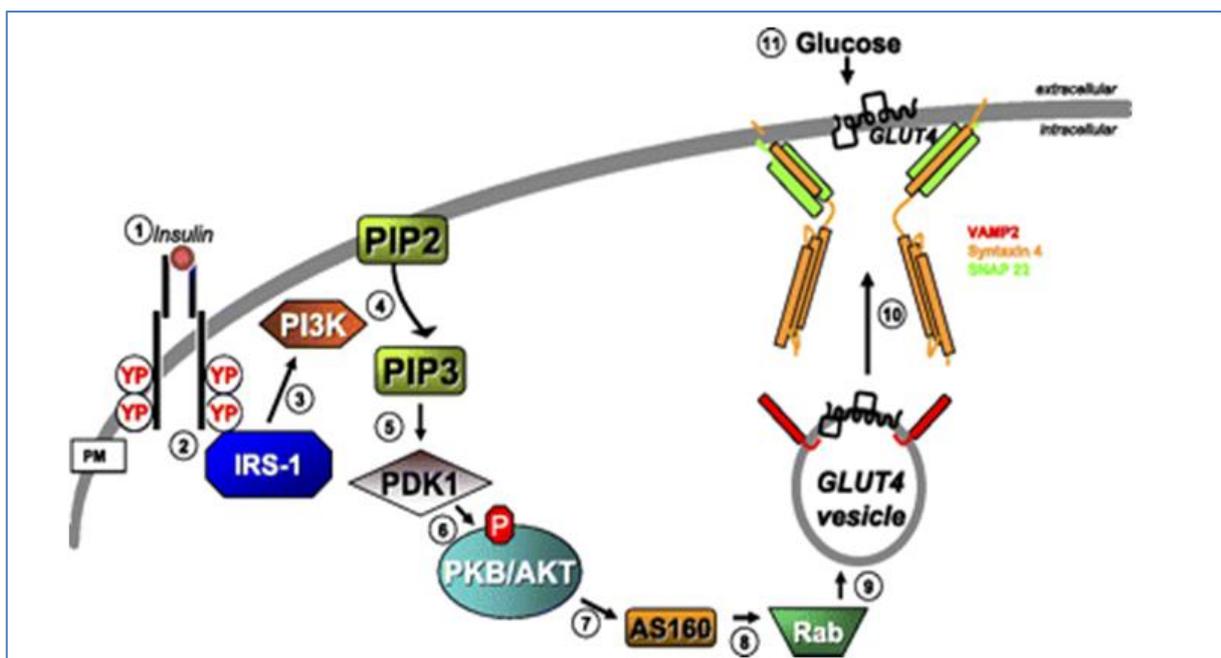
### I.1. Définition:

Le diabète est défini comme une affection métabolique, précisée par une hyperglycémie liée à une carence de la sécrétion ou de l'action de l'insuline, ou bien des deux à la fois (Summary, 2012).

### I.2. Physiopathologie:

La physiologie de régulation glycémique normale implique une sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas, comme une réponse à l'accroissement du taux de glucose dans le sang (OMS, 1999). Une fois que l'insuline se lie à son récepteur, il stimule la translocation des principaux transporteurs de glucose ou GLUT4 vers la membrane cytoplasmique, pour augmenter le transport de glucose chez les cellules (James et al., 1989; Pessin et al., 1999).

Après sa pénétration, le glucose sera phosphorylé sous l'action de la glucokinase pour donner du G6P qui servira alors de substrat pour l'enzyme GS retrouvée dans les cellules musculaires afin de synthétiser le glycogène, ou sera métabolisé par la voie de la glycolyse pour fournir de l'énergie à la cellule (Roach, 2002).



**Figure 1:** Translocation des transporteurs GLUT4 vers la membrane cytoplasmique et augmentation du transport de glucose dans les cellules musculaires suite à la stimulation par l'insuline (Jewell et al., 2010).

Ce mécanisme permet alors de rééquilibrer la glycémie légèrement augmentée et de convertir le glucose en réserves et en énergie dans les cellules de l'organisme: muscles, tissus adipeux et foie (**OMS, 1999**). En cas de diabète, cette régulation minutieuse est perturbée par des facteurs variables seuls ou associés, pour conduire à une perte de l'équilibre glycémique en faveur de son accentuation (**OMS, 1999**).

### **I.3. Classification**

Deux formes majeures du diabète sont généralement identifiés, à savoir le diabète de type 1 connu également sous le nom de "diabète juvénile", et le diabète de type 2 anciennement appelé "diabète de l'adulte" (**William et Cefalu, 2006**). Alors que la proportion des patients souffrant du diabète 1 (insulinodépendant) est relativement faible (10%), celle des patients diabétiques non insulinodépendants demeure la majeure selon **Rochette et al. (2014)**.

On doit noter que ce chapitre, comme c'est le cas de toute cette étude, s'intéresse d'avantage au diabète de type 2.

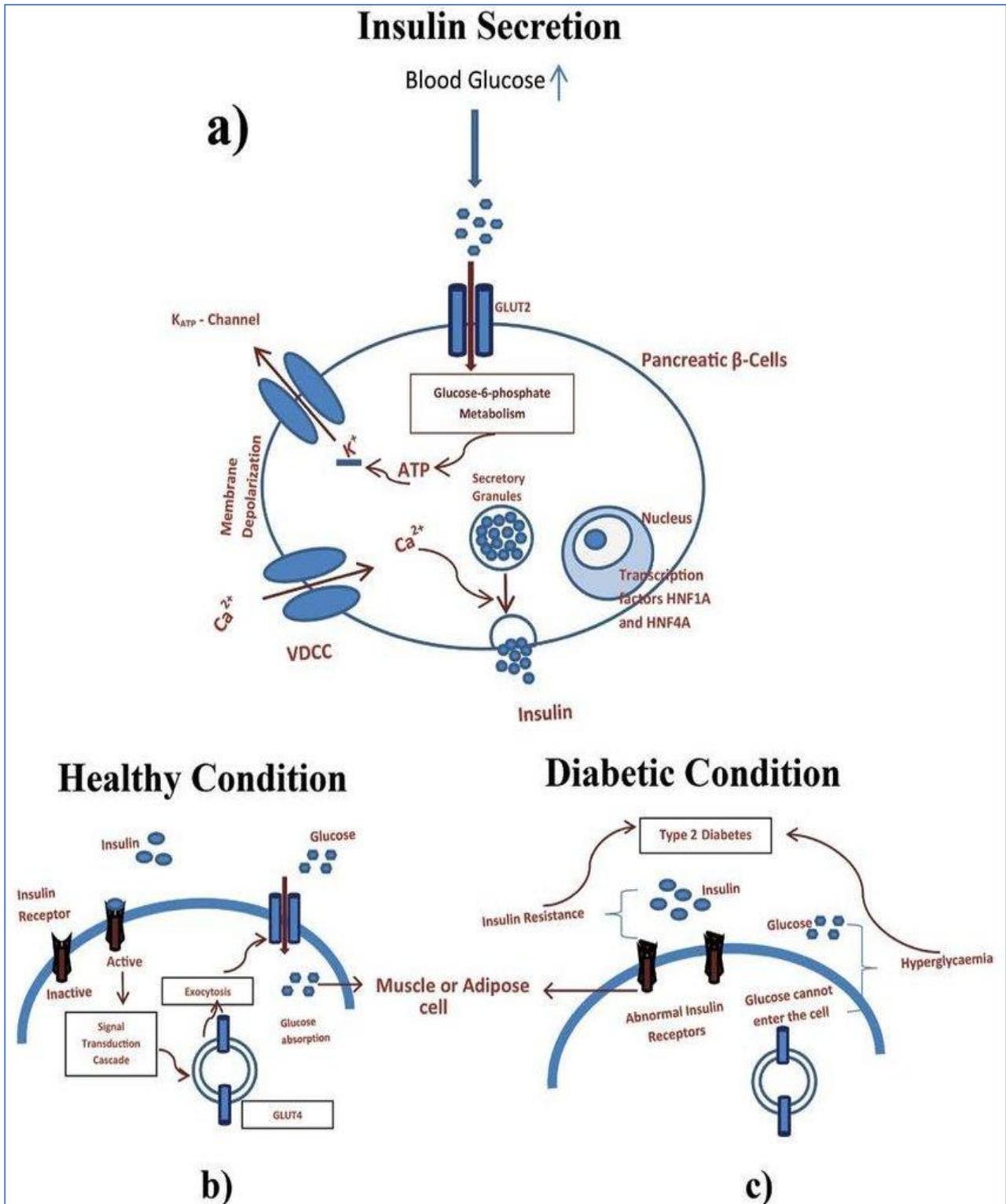
#### **I.3.1. Le diabète de type 1 (insulinodépendants)**

Cette forme est une maladie auto-immune qui survient principalement chez les enfants et les personnes adultes (**Summary, 2012; Usher-Smith et al., 2012**). Les cellules bêta productrices d'insuline des îlots pancréatiques sont attaquées par les propres anticorps du corps, ce qui conduit à l'apparition du diabète lorsque le taux de destruction atteint 90% (**OMS, 1999**).

Malheureusement, le diabète n'est habituellement diagnostiqué que lorsque 70-80% des cellules bêta ont été détruites. Effectivement, la physiopathologie du diabète de type 1 est complexe et multifactorielle puisque la réaction immunitaire, la prédisposition génétique mais aussi les facteurs environnementaux sont tous considérés comme déterminants dans l'émergence clinique de ce type (**Summary, 2012**).

#### **I.3.2. Le diabète de type 2 (non insulinodépendants)**

Cette forme la plus fréquente du diabète, est caractérisée par la coexistence d'une insulino-résistance et d'un développement progressif de la carence de l'insulino-sécrétion, conduisant à un état d'hyperglycémie (**Summary, 2012; Wenzhen et al., 2018**).



**Figure 2 :** Représentation schématique a) du mécanisme de sécrétion de l'insuline, et de la physiologie de régulation glycémique chez b) un sujet sain et c) un sujet diabétique type 2 (Vss-Prasad et al., 2018)

Elle peut évoluer sans symptômes pendant plusieurs années et produire des complications sans avoir été diagnostiquée (**Fagot, 2010**).

Dans ce cas-là, les récepteurs de l'insuline deviennent non fonctionnels et le GLUT4 cytoplasmique ne se transfère pas sur la membrane, ce qui entraîne une résistance à l'insuline, un déficit en absorption de glucose et à l'hyperglycémie (**Vss-Prasad et al., 2018**). De plus, l'altération de la fonction des cellules  $\beta$  entraîne une altération de la sécrétion d'insuline suite à la diminution de la réactivité de ces cellules au glucose (**kohei, 2010**). La persistance de cette condition entraînerait un surmenage des  $\beta$ -cellules pancréatiques, conduisant à la progression de l'apoptose qui diminue la masse de ces cellules (**Cantley et Ashcroft, 2015**).

Le diabète de type 2 résulte essentiellement de facteurs liés au mode de vie (stress, sédentarité...), ainsi de la combinaison de facteurs génétiques et environnementaux (**American Diabetes Association, 2008**)

D'après **Mercaldo et al. (2017)**, la cause principale du diabète de type 2 est l'obésité chez les sujets qui sont génétiquement prédisposés à la maladie. Ici, l'obésité entraîne une résistance à l'insuline, qui exige une surproduction insulinaire par le pancréas jusqu'à son épuisement. La carence relative d'insuline s'installe et provoque une hyperglycémie de façon continue. Au-delà, l'âge de plus 45 ans est un autre facteur impliqué dans l'apparition du diabète (**Benkherrou et Younici, 2014**).

### **I.3.3. Diabète gestationnel**

Ce type se caractérise par une hyperglycémie chez la femme pendant la grossesse. Il se développe uniquement chez environ 4% des femmes enceintes dans le monde comme il disparaît en habituel après l'accouchement, mais en conséquence les femmes et leur bébés présenteront un risque de développer le diabète de type 2 plus tard dans leur vie (**Kim et Lee, 2005; IDF, 2013**).

### **I.3.4. Autres types:**

Les autres cas de diabète sont généralement des types plus spécifiques liés à des anomalies génétiques des cellules  $\beta$ , des défauts génétiques de l'action de l'insuline, des endocrinopathies, des maladies du pancréas exocrine, secondaire à la prise de

médicaments, de substances chimiques ou à une infection, des formes non communes de diabètes immuns ou des diabètes associés à des syndromes génétiques (**Kharroubi et Darwish, 2015**).

#### **I.4. Diagnostic:**

Le seuil glycémique définissant le diabète est estimé par une glycémie à jeun supérieure à 1.26g/l (7mmol/l), ou une glycémie postprandiale dépassant les 2g/l (11.1mmol/l) (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

##### **I.4.1. Hémoglobine glyquée (HbA1c)**

L'hémoglobine glyquée est la céto-amine stable résultant de la fixation du glucose sur la valine N terminale de ces chaînes  $\beta$ . Elle s'accumule dans les hématies, tout au long de leur 120 jours de vie, et constitue un enregistrement de la glycémie durant la période de 4 à 8 semaines précédant le prélèvement (**Procopiou, 2006; Gillery, 2014**). Son dosage permet d'estimer la glycémie moyenne au cours des deux à trois derniers mois de suivi d'un patient. Un niveau supérieur ou égal à 6.5%, est intégré aux critères de diagnostic du diabète par l'**American Diabetes Association (2008)**.

#### **I.5. Symptômes et complications:**

Les symptômes cliniques sont la polydipsie, la polyurie, la perte inexplicée de poids corporel, la faiblesse et la susceptibilité à certaines infections (**Canivell et al., 2014**). Les patients atteints de diabète de type 2 peuvent présenter aussi une acidocétose diabétique (DKA) (**William et Cefalu, 2015**). La chronicité de l'hyperglycémie est responsable de plusieurs complications à long terme affectant particulièrement les yeux, le cœur, les reins, les nerfs et les vaisseaux (**Summary, 2012**).

#### **I.6. Le traitement du diabète de type 2**

Au fil des années, plusieurs traitements différents en mode d'action, ainsi qu'en composition chimique ont été élaborés (**Abbas et Saidi, 2018**). Le traitement d'un diabétique non insulino-dépendant vise non seulement à baisser et maintenir normales les valeurs glycémiques, mais aussi à corriger les autres facteurs de risque vasculaire souvent

associés (**Benkerrou et Younici, 2014**). Selon **Benkerrou et Younici (2014)**, la stratégie de prise en charge se résume en quatre étapes:

### **I.6.1. Traitement non pharmacologique**

Après avoir diagnostiqué le diabète, le patient diabétique est soumis à un régime hygiéno-diététique strict pendant 4 à 6 mois lui permettant de perdre du poids, et par conséquent réduire de manière significative les valeurs glycémiques, tensionnelles et lipidiques. Si l'objectif requis n'est pas atteint après cette période, un traitement médicamenteux s'avère indispensable (**Paulweber et al., 2010**).

### **I.6.2. Monothérapie orale**

Les médicaments antidiabétiques actifs par voie orale à action hypoglycémiante sont disponibles actuellement. Les Biguanides améliorent la sensibilité à l'insuline, les Sulfamides hypoglycémiants plus efficaces stimulent la sécrétion d'insuline, les inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases ont une activité hypoglycémiante plus faible, tandis que les insulino-sécrétagogues (Glinidines) sont surtout actifs sur l'hyperglycémie postprandiale.

Ils permettent d'obtenir un contrôle glycémique correct qui est évalué tous les 4 mois, mais en cas d'échec, une modification du traitement est recommandée (**Benkerrou et Younici, 2014**).

### **I.6.3. Bithérapie orale**

Elle consiste à prescrire deux classes d'hypoglycémiants en association: Biguanides et sulfamides, Biguanides et inhibiteurs des  $\alpha$  –glucosidases ou Sulfamides et inhibiteurs des  $\alpha$  –glucosidases (**Benkerrou et Younici, 2014**).

### **I.6.4. Insulinothérapie**

Si les différents traitements précédents se montrent inefficaces pour un diabétique de type 2, un traitement par l'insuline est obligatoire. L'insulinothérapie -potentialisée parfois par les biguanides- permet donc d'obtenir une amélioration nette du contrôle glycémique (**Paulweber et al., 2010**).

Outre la ré-stabilisation de la glycémie, la prise en charge globale du risque cardiovasculaire via l'arrêt impératif du tabac, le traitement des anomalies lipidiques et de l'hypertension artérielle même légère est plus que nécessaire. Si le diabétique est atteint de complications cardiovasculaires, il doit bénéficier d'un traitement antiagrégant plaquettaire (Aspirine). De même, la prévention et le traitement de la rétinopathie et la néphropathie diabétiques sont accompagnés par un contrôle strict de la tension (**Benkerrou et Younici, 2014**). Les traitements du diabète s'avèrent donc difficiles et coûteux d'où la prise de conscience de la nécessité de la prévention (**Paulweber et al., 2010**).

### **I.7. Phytothérapie du diabète**

Depuis les temps anciens, le remède végétal a été largement utilisé pour aider à soigner le diabète (**Eddouks et al., 2007**). Un nombre de 1200 plantes médicinales, couvrant 725 genres différents et 183 familles de plantes dans le monde sont jugées plus ou moins bénéfiques pour les diabétiques et sont utilisées à travers le monde (**Borm et al., 2012**). Cependant, les affirmations des propriétés hypoglycémiantes de ces plantes sont pour la plupart du temps isolées, et peu d'entre elles ont fait l'objet d'une vérification scientifique (**Mammeri et Tairi, 2012**).

***CHAPITRE II:***  
***Le figuier de Barbarie***

---

## II. *L'Opuntia ficus indica* (Figuier de barbarie)

### II.1. Généralités:

Selon **Ginestra et al. (2009)**, Le figuier de Barbarie est une plante grasse appartenant à la famille des cactées et plus précisément au genre *Opuntia*. Originaire du Mexique, il a été introduit d'abord en Espagne avant d'arriver au Nord de l'Afrique, où il s'est répandu dans le bassin méditerranéen au point de devenir un élément caractéristique de paysage de la Tunisie, Algérie et Maroc (**Houerou, 1996; Bensalem et al., 2002 ; Arba, 2009**). Selon **Wallace et Gibson (2002)**, sa classification botanique est la suivante:

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Tracheobionta

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Sous-classe :** Caryophyllidae

**Ordre :** Caryophyllales

**Famille :** Cactaceae

**Sous-famille :** Opuntioideae

**Genre :** *Opuntia*

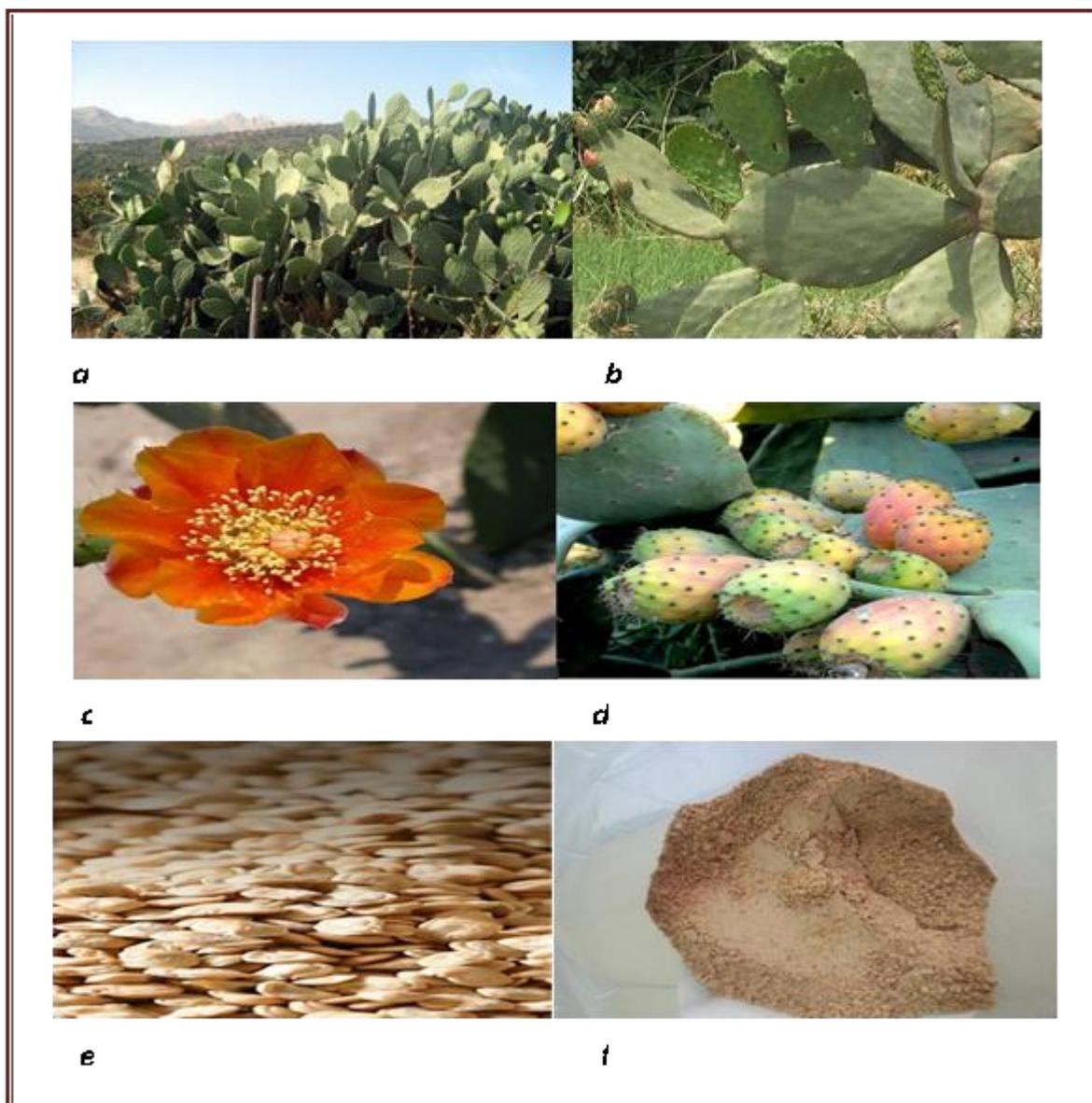
**Sous genre :** *Platyopuntia*

**Espèce :** *Opuntia ficus-indica*

- **Nom commun :** Figuier de Barbarie.
- **Nom latin:** *Opuntia ficus-indica*.
- **Autres noms :** Cactus, figuier des Indes, figue du désert, nopal, semelle du pape, Figuier d'Espagne.

### II.2. Description de la plante

Le figuier de barbarie est une plante arborescente vivace et érigée de 3 à 5 m de haut (**Habibi et al., 2004**), à tiges charnues, caliciformes, apparemment aphyllées. Elle possède un tronc épais et ligneux, une organisation en articles aplatis, de forme elliptique ou ovoïdale de couleur vert mat appelés cladodes ou raquettes (**Caruso et al., 2010**), ayant une longueur de 30 à 50 cm, une largeur de 15 à 30 cm et une épaisseur de 1.5 à 3 cm (**Neffar, 2012 ; Temagoult, 2017**).



**Figure 3** : Les différentes parties du Figuier de barbarie a) la plante, b) les cladodes, c) les fleurs, d) les fruits, e) les graines, f) la poudre des grains (**Benattia, 2018**)

Les épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm. Les glochides sont de fines épines brunâtres de quelques millimètres, facilement décrochables de la peau (**Neffar, 2012**).

Au printemps, le bord des raquettes se pare de jolies fleurs de couleur jaunâtre et à l'approche de la sénescence deviennent rougeâtres (**Schweizer, 1997**). Les fruits ou figes de barbarie sont ovoïdes, épineux et riches en sucres, en fibres, en vitamine C, en potassium, magnésium, fer et cuivre.

### II.3. La partie d'intérêt: les cladodes

#### II.3.1. Morphologie

Les cladodes sont composées d'un parenchyme blanc (tissu de base) contenant de la chlorophylle, au sein du chlorenchyme (tissu de cortex). Ce dernier est recouvert de feuilles modifiées en épines et de poils ou trichomes multicellulaires formant l'aréole, et caractérisant les membres de la famille des cactacées (**Anderson, 2001**).

Ces cladodes assurent la fonction chlorophyllienne et sont recouvertes d'une cuticule cireuse appelée cutine qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs (**Wallace et Gibson, 2002; Schweizer, 1997**). Les méristèmes des cladodes produisent des épines, des glochides, des racines adventives, de nouvelles cladodes ou des fleurs (**Sutton et al., 1981**).

#### II.3.2. Composition chimique

Les jeunes cladodes ont des valeurs élevées en glucides et protéines, en calcium et en fibres. La teneur en eau des cladodes varie entre 88 à 95% pour leur donner une valeur alimentaire pauvre en calories (27 kcal/100 g) (**Stinzing et Carle, 2005**).

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

**Tableau 1:** composition chimique et phytochimique des cladodes d'*Opuntia Ficus indica* (**Hadj Sadok et al., 2008 ; El-Mostafa et al., 2014**)

| Composant          |    | Valeur                 |
|--------------------|----|------------------------|
| Teneur en eau      |    | 91 à 93%               |
| Minéraux           | Ca | 5.64 – 17.95mg/100g    |
|                    | Mg | 8.80mg/100g            |
|                    | K  | 2.35 -55.20mg/100g     |
| Sucres totaux      |    | 1.66-8.79% (MS)        |
| Fibres             |    | 08-11%                 |
| Vitamine C         |    | 9-15 mg/100g (MF)      |
| Polyphénols totaux |    | 41.6-23mg/100g(MF)     |
| Tanins             |    | 6.45 -6.93mg/100g (MF) |

---

### **II.3.3. Intérêts et utilisations des cladodes :**

#### **II.3.3.1. Intérêt nutritionnel :**

Traditionnellement, les cladodes du figuier de barbarie contribuaient de manière importante à l'alimentation humaine. Les principaux produits élaborés sont les cladodes au vinaigre, les cladodes en saumure, la confiture de cladodes, les cladodes confites et les frites de cladodes (Arba, 2009). La farine des cladodes peut remplacer la farine de blé dans les cookies (Saenz, 2000).

#### **II.3.3.2. Intérêt médicinal et cosmétique:**

Les cladodes du figuier de barbarie sont utilisés en médecine populaire, pour traiter la gastrite, la fatigue, la dyspnée et des maladies hépatiques dues à l'abus d'alcool (Stinzing et Carle, 2005). Les cladodes chauffées s'avèrent très efficaces contre le rhumatisme, les érythèmes et les infections chroniques de la peau, mais également pour faciliter la digestion (Munoz de Chavez et al., 1995).

Les cladodes sont utilisés en cosmétique pour la fabrication des shampoings, des assouplissants des cheveux, des lotions, des savons et des crèmes hydratantes (Fernandez et al., 1990; Cherif Bensmail et al., 2000).

#### **II.3.3.3. Autres utilisations:**

Les cactus sont considérés comme une réserve fourragère importante; ils peuvent constituer un support alimentaire très bénéfique pour les périodes de transition essentiellement en été et durant les années de sécheresse (Aknouche et Ariche, 2018).

Par ailleurs, les cladodes présentent une source de production du rouge carmin; un colorant naturel produit par l'élevage des cochenilles hôtes de ce cactus (les *Dactylopius coccus* et *Dactylopius opuntiae*). Ce colorant est très recherché par les industries alimentaires et cosmétiques pour ses caractères biochimiques (Pimienta-Barrios, 1994).

***CHAPITRE III:***  
***Les composés phénoliques***

### III. Les composés phénoliques

#### III.1. Définition:

Les polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal, actuellement au nombre de 8000 molécules isolés et identifiés (**Mompon et al., 1998**). Leur point commun est la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux où ils assurent des effets protecteurs contre le rayonnement UV, un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs et des propriétés antifongique et antibactérienne (**Heimeur et al., 2004**). Ils interviennent aussi dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant la saveur et la couleur (**Dubois et al., 1977**).

Les principales sources alimentaires sont les fruits et légumes, les boissons (le thé, le café, les jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs (**Macheix et al., 2005**).

#### III.2. Classification des polyphénols :

Ce groupe renferme trois grandes familles de molécules de structures voisines; les acides phénoliques, les flavonoïdes et les anthocyanes (**Mehinagic et al., 2011**). Néanmoins, de nombreuses autres structures existent, tels que les tanins hydrolysables, coumarines, anthocyanidines, lignanes, quinones et autres phloroglucinols (**Edeas, 2007**)

##### III.2.1. Les acides phénoliques:

###### III.2.1.1. Les acides hydroxy-benzoïques:

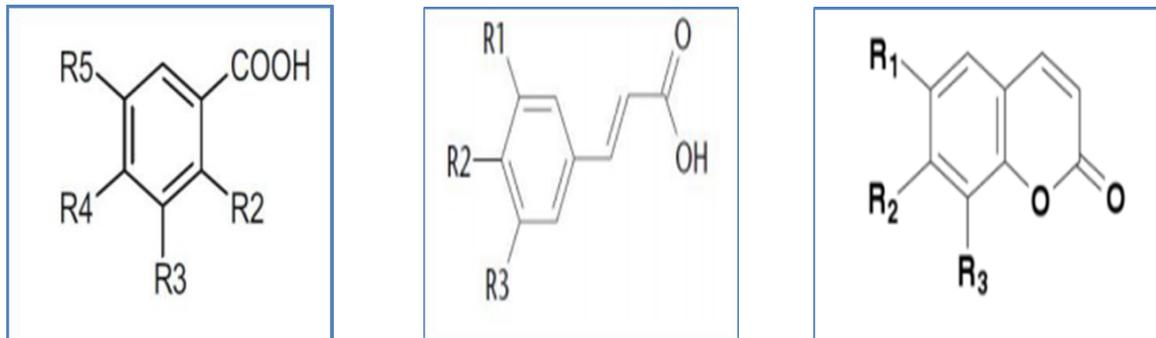
Ces acides phénols en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (exp: acide gallique) (**Bruneton, 1993**).

###### III.2.1.2. Les acides hydroxy-cinnamiques:

Les plus connus de ces C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, sont l'acides *p*-coumarique, caféique et férulique (**Bruneton, 1993**). Les coumarines sont une sous classe qui dérive de la cyclisation

interne de la chaîne latérale des acides hydroxy-cinnamiques. Ces substances sont synthétisées par la fusion des noyaux benzènes et  $\alpha$ -pyrone (**Bruneton, 1999**).

Différents dérivés coumariniques ont été isolés, à savoir l'ombelliférone, L'hierniarine, l'aesculétine, la scopolétine, l'osthenol, l'osthol) (**Cazes, 2001**).



L'acide benzoïque

L'acide hydroxycinnamique

La coumarine

**Figure 4:** Structure des acides phénoliques (**Laguerre et al., 2007; Chira et al., 2008; Bruneton, 2009**).

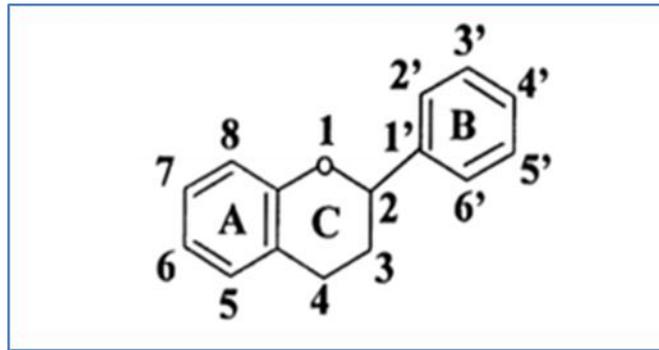
### III.2.2. Les flavonoïdes:

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane (**Yao et al., 2004**).

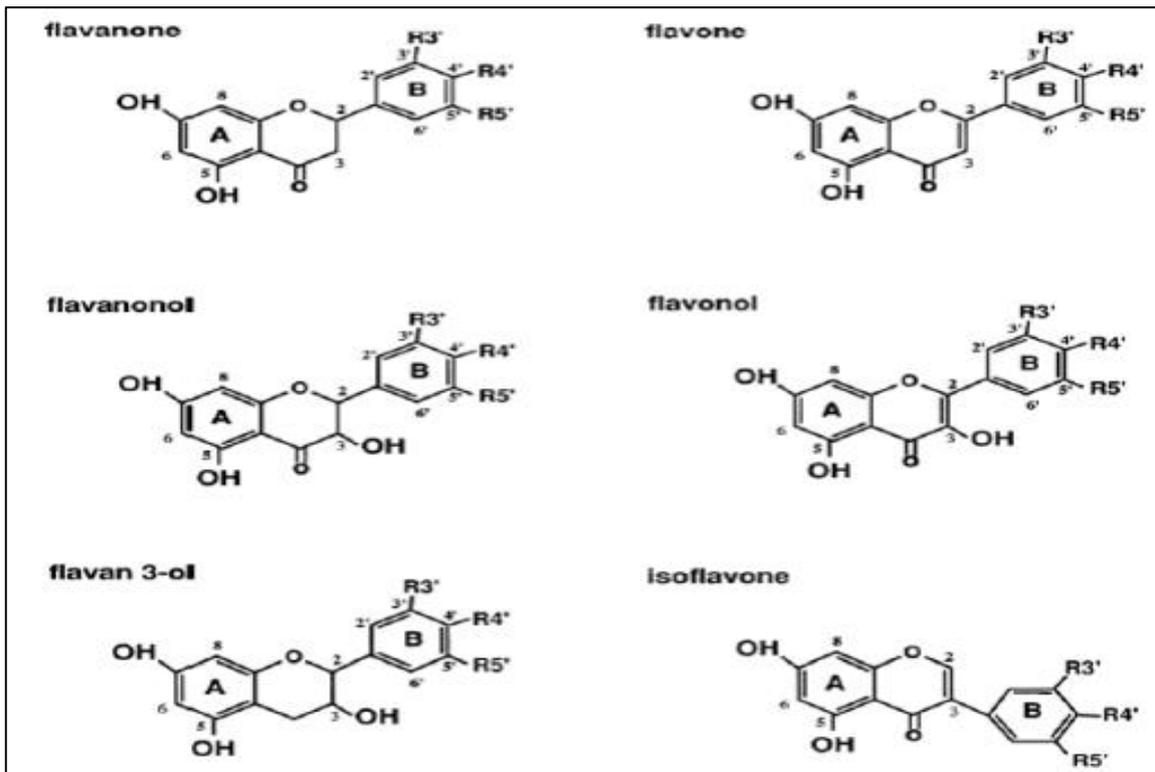
En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines; flavonoles; isoflavonoles; flavones; isoflavones; flavanes; isoflavanes; flavanols; isoflavanols; flavanones; isoflavanones; auronnes (**Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003**).

### III.2.3. Les anthocyanes :

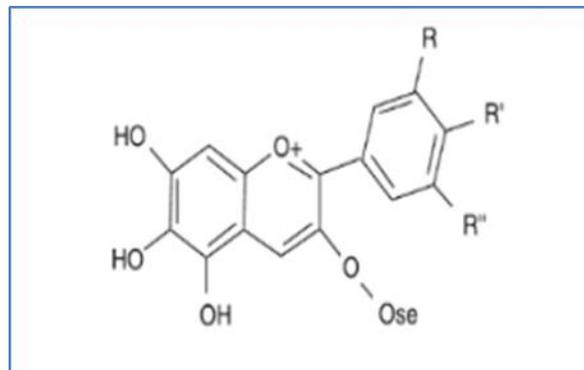
Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (**Bruneton, 1993**). Les anthocyanes sont des flavonoïdes porteurs d'une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle C dont la structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C (**Macheix et al., 2005**).



**Figure 5:** Structure de base des flavonoïdes (Chabaane et al., 2011)



**Figure 6:** Structure de quelques classes des flavonoïdes (Gamet-Payrastreet al., 1999)



**Figure 7:** Structure de base d'un anthocyane (Samouelian et al., 2009)

### III.3. Biosynthèse des polyphénols:

La voie de shikimate est la voie principale de biosynthèse des composés phénoliques (**Kening et al., 1995**). A travers le précurseur commun; l'acide shikimique, cette voie conduit à la formation acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés; acides benzoïques, acétophénonnes, lignanes et lignines, coumarines par désamination des acides aminées aromatiques phénylalanines et tyrosine (**Bruneton, 1993**).

L'autre voie, celle de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de la lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**Zeghad, 2009**).

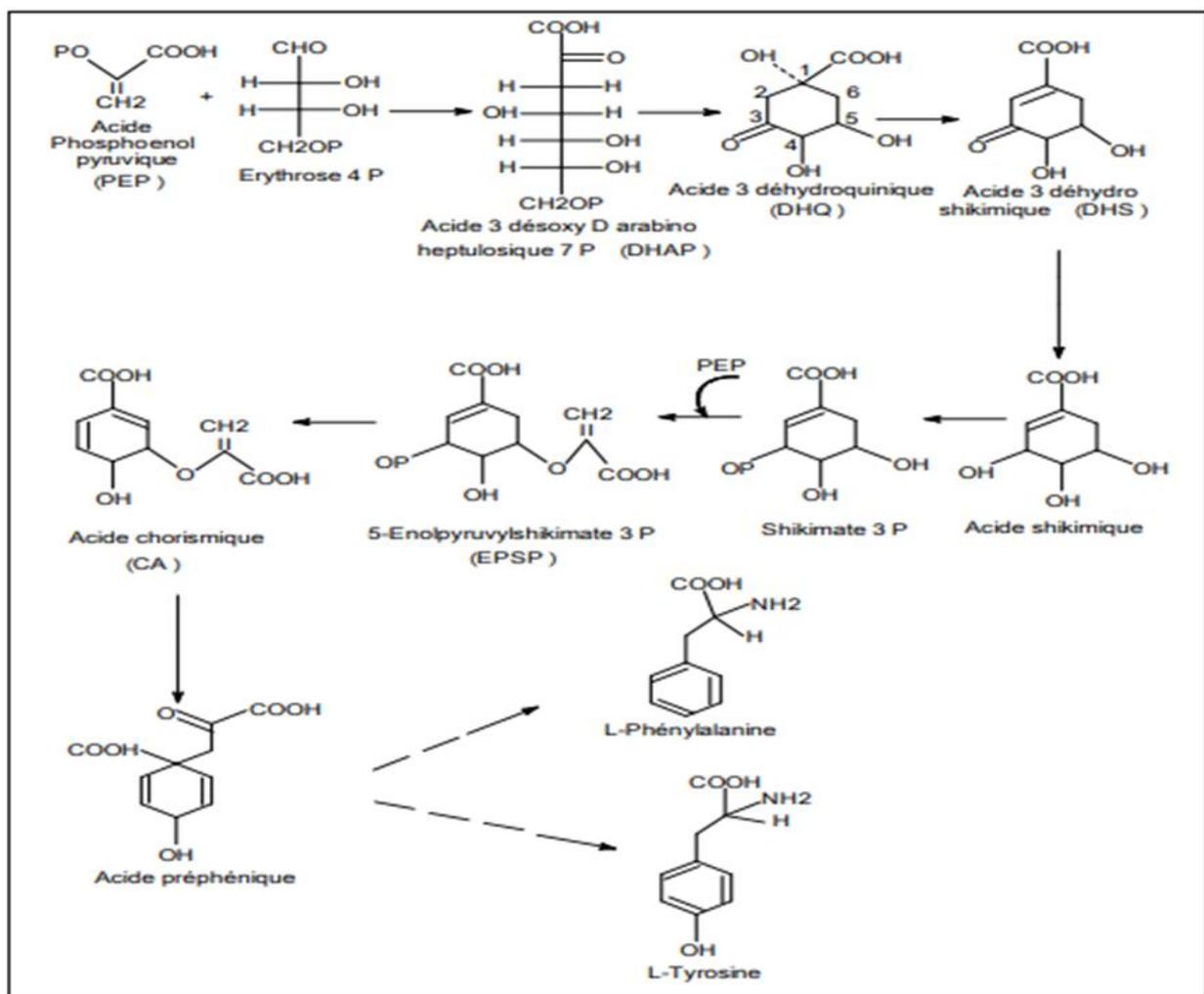


Figure 8: La voie de shikimate (**Floss, 1997**)

### III.4. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier, sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouriet al., 2007**).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en neutralisant des radicaux libres, piégeant de l'oxygène, ou décomposant des peroxydes (**Nijveldt et al., 2001**). De même, ils peuvent chélater les métaux d'initiation des réactions radicalaires (Fe, Cu) et inhiber les enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Van Acker et al., 1996; Benavente-Garcia et al., 1997**).

En plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau (**Hennebelle et al., 2004**).

Une hypothèse explique les effets hypoglycémiantes des polyphénols par une augmentation de la captation du glucose par les tissus périphériques. Cet effet est démontré par une augmentation de l'absorption du glucose par des cellules musculaires, ou des adipocytes de rats ou de souris mises en culture en présence d'acide caféique ou d'épigallocatechine gallate (**Hamza, 2011**).

***Chapitre IV:***  
***Matériel et méthodes***

## IV. Matériels et méthodes

### IV.1. Objectif :

Notre étude s'articule principalement au tour de deux axes:

- L'extraction et la quantification des polyphénols des nopals du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) de Tissemsilt,
- L'étude de leur activité antidiabétique par des tests in vitro.

### IV.2. Matériels:

#### IV.2.1. Matériel du laboratoire :

Le matériel du laboratoire utilisé pour ce travail est réuni dans le tableau suivant:

**Tableau 2:**Appareillage, verreries et produits utilisés

| Appareillages   | Verreries et autres  | Produits chimiques  |
|---|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Broyeur électrique</li> <li>- pH-mètre</li> <li>- Balance analytique</li> <li>- Centrifugeuse</li> <li>- Etuve</li> <li>- Evaporateur rotatif</li> <li>- Pompe à vide</li> <li>- Vortex</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Ballons</li> <li>-Béchers</li> <li>-Éprouvettes</li> <li>-Erlenmeyers</li> <li>-Filtre en nylon (0.45 µm)</li> <li>-Fioles jaugées</li> <li>-Flacons</li> <li>-Micropipette</li> <li>-Papier filtre</li> <li>-Pipettes graduée</li> <li>-Tamis</li> <li>-Tubes à essais</li> <li>-Verre de montre</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Acarbose (C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>18</sub>)</li> <li>-Acétone (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O)</li> <li>-Amidon</li> <li>-Amylase pancréatique porcine</li> <li>-Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)</li> <li>-Diméthylsulfoxyde (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS)</li> <li>-Eau distillée</li> <li>-Ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)</li> <li>-Folin-Ciocalteu</li> <li>-Glucose</li> <li>-HCl</li> <li>-Hexane (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>)</li> <li>-idoine</li> <li>-Acide gallique</li> <li>-Levure de boulangerie</li> <li>-Méthanol (CH<sub>3</sub>OH)</li> <li>-Métronidazole (C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>)</li> <li>-Tampon citrate-phosphate</li> </ul> |

#### IV.2.2. Matériel végétal:

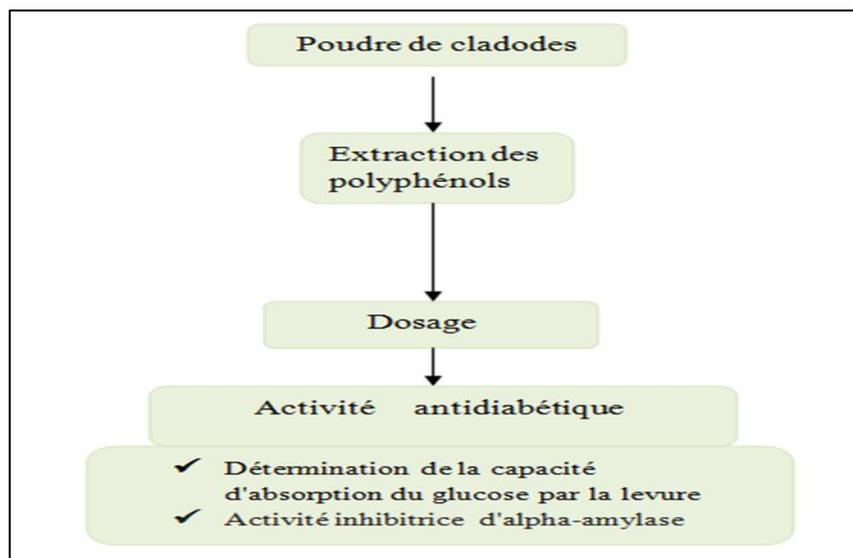
Les nopals de 03 mois (12-20 cm de longueur et 6-9 cm de largeur) du Figuier de barbarie inerme de la région d'Ouled Bessem, située au Nord Est de la wilaya de Tissemsilt, ont été récoltés durant le mois de novembre 2019. Au même jour de la récolte, les cladodes ont été nettoyés des épines et des tâches noires, désinfectés à l'hypochlorite de sodium 10% puis rincés à l'eau distillée, avant d'être séchés et congelés jusqu'à leur utilisation.



**Figure 9:** Le figuier de barbarie de la région d'échantillonnage.

#### IV.3. Méthodes :

La pratique effectuée dans ce travail comporte une étape d'extraction et de dosage des polyphénols des nopals, suivie de l'analyse de leur influence sur la capacité d'absorption de glucose par la levure et sur l' $\alpha$ -amylase. Le protocole expérimental adopté est résumé dans le diagramme de la **Figure10**.



**Figure 10** : protocole expérimental adopté durant l'étude.

### IV.3.1. Préparation de la poudre de nopals:

Les nopals prélevés sont séchés dans l'étuve à 45°C pendant 6 jours, puis broyés et tamisés jusqu'à l'obtention d'une poudre fine homogène. La poudre est ensuite conservée à l'abri de l'air et de la lumière.

### IV.3.2 Humidité et matière sèche:

Le contenu de nopals en humidité a été déterminé par le procédé d'étuvage à 105°C pendant 24h. Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H \% = [M_0 - M_1] / M_0 \times 100$$

Avec: **H%**: Taux d'humidité exprimé en pourcentage, **M<sub>0</sub>** : Masse de l'échantillon avant séchage, **M<sub>1</sub>** : Masse de l'échantillon après séchage.

La teneur en matière sèche (**MS**) en pourcentage est calculée selon la relation suivante :

$$\text{Matière sèche MS}\% = 100 - H\%$$

### IV.3.3. Extraction des polyphénols:

Le protocole d'extraction décrit par **Merghem et al.(1995)** est suivi pour extraire les polyphénols. 10 g de poudre ont été macérés par le méthanol (87%), à un rapport de 1/10 (m/v) pendant 72 h avec renouvellement de solvant chaque 24 heures et agitation de temps en temps. Les macéras sont réunis puis filtrés sur un papier filtre, pour aboutir à un filtrat qui

sera débarrassé de solvant par évaporation à 40°C sous pression réduite au moyen d'un évaporateur rotatif.

L'extrait sec obtenu est ensuite pesé et reconstituer dans de l'eau distillée, puis conservé à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur. Le rendement d'extraction est calculé comme suit (**Bruneton, 1999**):

$$R\% = \frac{P2 - P1}{M}$$

Dont : **P1**: Poids du ballon vide, **P2** : Poids du ballon et de l'échantillon après l'évaporation, **M** : la masse initiale d'échantillon

#### IV.3.4. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Rsaissi et al. (2013)**. Brièvement, 1ml d'extrait alcoolique a été ajouté à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Le mélange est incubé pendant 4 minutes, avant d'être additionné par 8ml de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75g/l). Le mélange final a été secoué puis incubé pendant 2h dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (5-200µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g).

#### IV.3.5. Etude de l'Activité antidiabétique

##### IV.3.5.1. Détermination de la capacité d'absorption du glucose par la levure

L'absorption de glucose par la cellule de levure est un outil important pour l'évaluation de la propriété antidiabétique des composés à base de plantes ou synthétiques (**Boubekeur, 2019**).

Les cultures de levure nécessitent le glucose comme nutriment organique, pour leur croissance, une fois utilisées, les molécules de cet hexose sont, pour un bon nombre d'entre

elles, immédiatement dégradées pour en extraire l'énergie soit par la respiration (processus aérobie), soit par la fermentation (processus anaérobie). Les mécanismes de transport du glucose de la levure sont similaires à ceux rencontrés chez les humains (Abbas et Saidi, 2018).

Ce test a été réalisé selon la méthode bien définie de Cirillo (1962):

#### IV.3.5.1.1. Préparation de la suspension de levure

La levure de boulangerie commerciale a été dissoute dans de l'eau distillée pour préparer une suspension à 1%, qui a été maintenue pendant une nuit à température ambiante de 25°C. Le jour suivant, la suspension de levure a été centrifugée à 4200 tr/min pendant 5 minutes, le surnageant a été ensuite éliminé et le culot a subi un lavage par l'eau distillée.

Le processus centrifugation/lavage a été répété jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, dont 10 fractions ont été mélangées avec 90 parties d'eau distillée pour obtenir une suspension à 10% (v/v) des cellules de levure.

#### IV.3.5.1.2. Effet des extraits sur l'absorption du glucose par la levure:

100µl de polyphénols de nopals préparés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) à raison de 100, 200 et 300 µg/ml, ont été complétés avec 1 ml de solution de glucose à diverses concentrations (5, 10 et 25 µg/ml) et incubés pendant 10 min à 37°C.

La réaction a été initiée par le versement de 100 µl de suspension de levure sur le mélange de glucose et d'extrait. Le mélange (glucose-extrait-levure) a été vortexé puis incubé à 37°C/60 min. Après incubation, les tubes ont été centrifugés pendant 5 minutes à 3800 tr/min et le glucose a été estimé en utilisant un spectrophotomètre à 520 nm.

Le contrôle négatif est exempt de l'échantillon d'essai, alors que le métronidazole a été utilisé comme standard positif. Le pourcentage de l'absorption de glucose a été calculé par la formule ci-après:

$$\% \text{ absorption de glucose} = \frac{A_s - A_c}{A_s} \times 100$$

Où : **As** : absorbance de l'extrait ou du standard, **Ac**: absorbance du contrôle négatif.

#### IV.3.5.2. Activité inhibitrice d'alpha-amylase:

Le modèle d'inhibition d' $\alpha$ -amylase in vitro est aussi utilisé dans cette étude pour cribler les extraits de nopals de Tissemsilt et évaluer leurs effets hypoglycémiants.

L'inhibition de l'hydrolyse  $\alpha$ -amylasique des hydrates de carbone en glucose dans le tractus digestif abaisse son niveau plasmatique; conséquence du retardement de son digestion et de réduction de son absorption (Hong et al., 2008; Megh-Raj et al., 2008). Si les extraits testés montrent une activité anti- $\alpha$ -amylasique significative in vitro, ils seront considérés comme des prétendants hypoglycémiants in vivo.

Cette analyse a été réalisée selon la méthode standard modifiée légèrement par Ademiluyi et Oboh (2013).

##### IV.3.5.2.1. Préparation des solutions :

###### -Solution tampon phosphate (0.02 M, pH=6.9) :

On prépare la solution tampon par mélange de la solution A monobasique ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ) ( $M=119.98 \text{ g/l}$ ) et la solution B dibasique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ( $M=141.96\text{g/l}$ ) pour avoir un pH=6.9

###### - Solutions d'extraits:

Les polyphénols de nopals ont été préparés dans la solution tampon phosphate précédente afin d'obtenir différentes concentrations 100, 200 et 300  $\mu\text{g/ml}$ .

###### - Solution d' $\alpha$ -amylase

Un comprimé de médicament Mégamylase (3000 unités  $\alpha$ -amylase/comprimé) a été débarrassé de son enrobage à l'aide d'un couteau fin puis écrasé dans un mortier contenant le tampon phosphate. Le filtrat obtenu après passage de la solution sur papier Wattman, a été additionné de 1ml de chlorure de calcium 0.1 % pour améliorer la solubilité de l'enzyme, avant d'être centrifugé à 4000 tr/10min. Le surnageant récupéré est ajusté à 3U/ml puis conservé à 4°C pour utilisation immédiate ou bien à -20°C pour utilisation ultérieure.

###### - Solution d'amidon

Une solution fraîche d'amidon 1% a été préparée dans le tampon phosphate sodique 0.02M (pH 6.9), tout en chauffant le mélange à 50-70°C sous agitation.

### - Solution de l'acarbose

Ce médicament anti  $\alpha$ -amylasique joue le rôle de standard positif dans notre étude, il est préparé dans la même gamme de concentration que l'extrait de nopals.

### - Indicateur idoïne:

Le réactif iodure a été préparé en mélangeant une solution d'I<sub>2</sub> (5 mM) et de KI (5mM) dans 250 mL de tampon acétate (pH=7.2). Le réactif iodé obtenue doit être conservé à l'abri de la lumière (Ashoket al., 2011).

#### IV.3.5.2.2. Effet des polyphénols de nopals sur l' $\alpha$ -amylase:

10  $\mu$ l de solution d'amylase à 3 U/ml, ont été mélangés avec 30 $\mu$ l de chaque extrait de nopals. Après une pré-incubation à 37°C/10 minutes, 40 $\mu$ l de solution d'amidon fraîchement préparée (1%) ont été ajoutés pour initier la réaction et incubé le mélange à 37 °C pendant 30 min. Après le chauffage, la réaction est stoppée par versement de 20 $\mu$ l de HCl (1M) et 75  $\mu$ l d'iode, et l'absorbance du mélange a été mesurée à 580 nm.

Le tampon phosphate (pH =6.8) et l'acarbose sont des contrôles négatif et positif de ce test.

$$\% \text{inhibition } \alpha - \text{amylase} = \left[ 1 - \left( \frac{A}{B} \right) \right] \times 100$$

Où : A = absorbance d'extrait de plante ou de standard, B = absorbance du contrôle négatif

#### IV.4. Analyse statistique

Les résultats présentent la moyenne  $\pm$ écart type de trois répétitions indépendantes. La comparaison des moyennes a été faite par le test t de Student pour P < 0.05.

*Chapitre V:*  
*Résultats et discussion*

## V. Résultats et Discussion

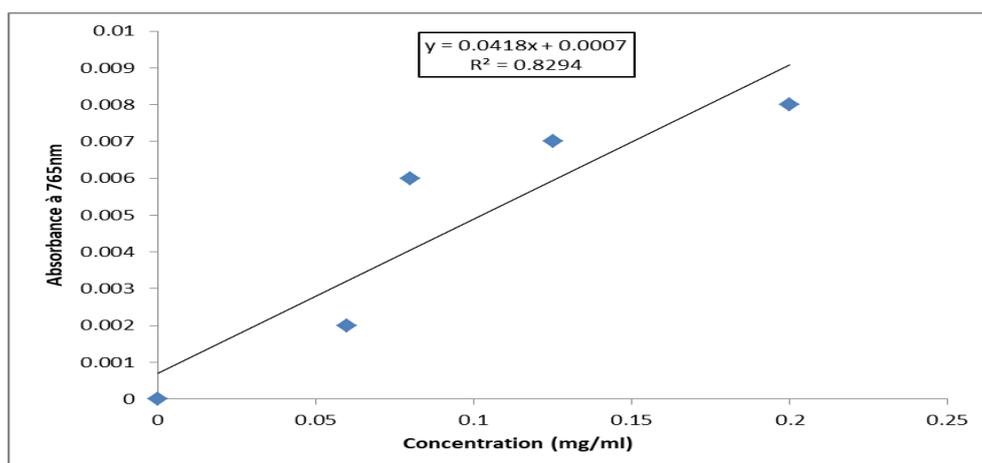
### V.1. Taux d'humidité :

Les résultats d'analyse de notre échantillon ont révélés que la teneur en eau des jeunes raquettes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) de Tissemsilt est de  $95.93 \pm 1.54\%$ . La matière sèche est par conséquent ne représente que  $4.07\%$ . Cette teneur est supérieure a la valeur donnée par **Abdessemed et al., (2014)**, qui a été  $91.9\%$ . Tout de même, elle est proche de l'intervalle  $80-95\%$  rapporté par **Ulises-Osuna et al., (2014)**.

L'humidité des cladodes fluctue en général en fonction des espèces, des conditions pédoclimatiques et de la répartition géographique. Une proportion importante qui peut être expliquée en partie par le fait que ces organes assurent un rôle de stockage d'eau, qui entre dans les mécanismes d'adaptation de cette plante xérophytique aux régions arides et semi-arides (**Murillo-Amadore et al., 2002; Mulas et al., 2004; Gungoret Sengul, 2008**).

### V.2. Teneur des polyphénols dans les nopals de Tissemsilt

La **Figure 11** illustre la courbe d'étalonnage utilisée pour déterminer le taux de polyphénols dans l'extrait de nopals de Tissemsilt. Ces nopals contiennent un taux de  $9.24 \pm 0.02$  mg/g MS de polyphénols totaux. Une valeur supérieure à celle de  $1.589$  mg/g MS trouvée par **Jaramillo-Flores et al. (2003)** pour les raquettes du Maroc, et dépasse l'intervalle  $2.69$  et  $3.71$  mg/g MS noté par **Bensadón et al. (2010)**



**Figure 11:** Droite d'étalonnage de l'acide gallique utilisée pour le dosage des polyphénols de nopals

Cette variation en quantité de composés phénoliques dans les cladodes s'explique essentiellement par la différence dans l'origine et les conditions climato-environnementales, mais principalement par les facteurs reliés à la plante comme sa variété, la saison de récolte, les différentes maladies qui l'ont affecter, sa maturité et la durée de conservation (Goli et al., 2005 ;Naczk et Shahidi, 2006).

Le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction présentent d'autres paramètres qui peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques (Goli et al., 2005 ;Naczk et Shahidi, 2006).

### V.3.Activité antidiabétique des polyphénols de nopals de Tissemsilt

#### V.3.1 Détermination de la capacité d'absorption du glucose par la levure

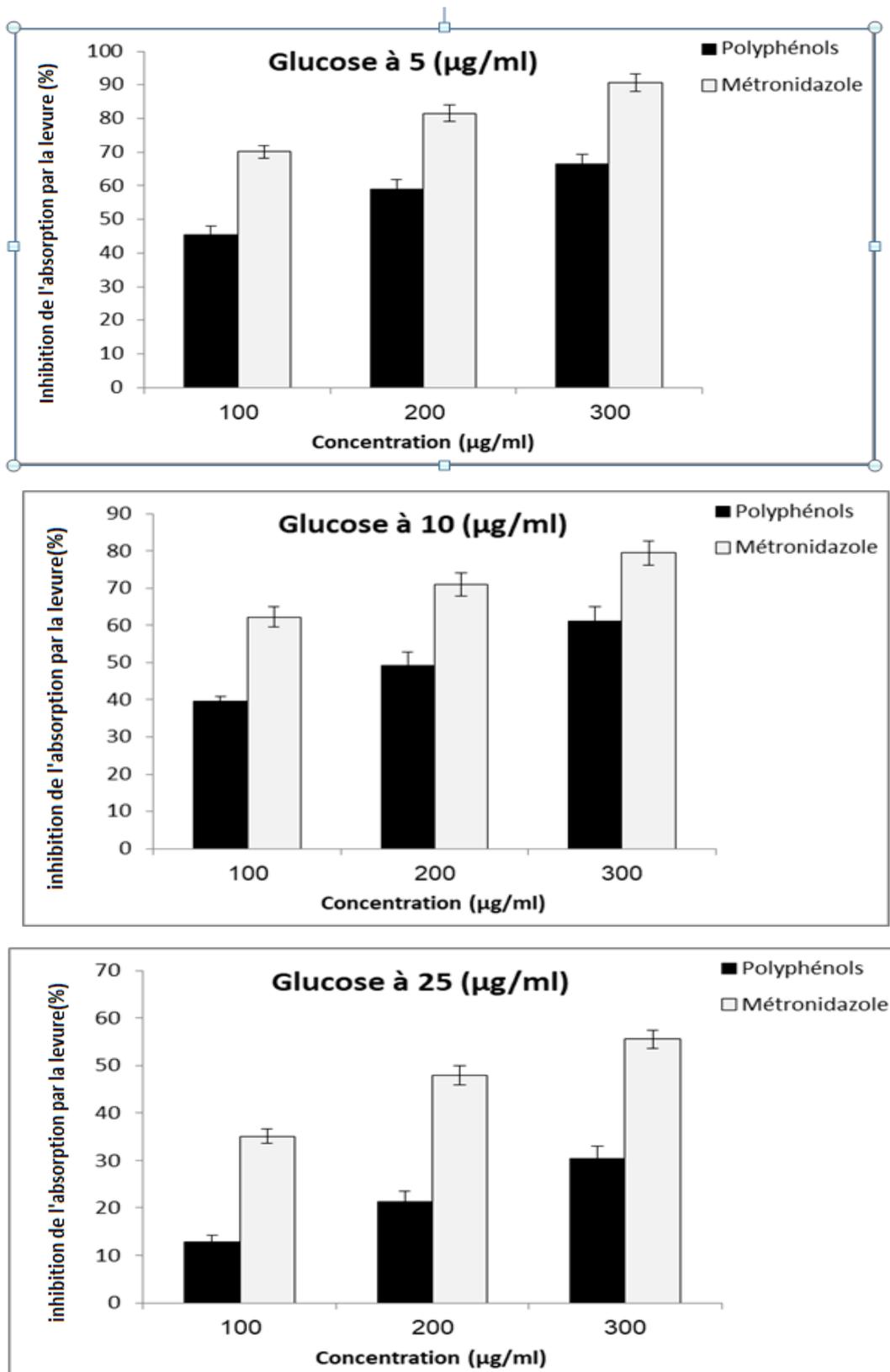
La **Figure12** montre les résultats de l'effet des polyphénols de nopals sur la capacité d'absorption du glucose par la levure.

On peut remarquer que ces métabolites secondaires ont une action inhibitrice dose dépendante, qui s'améliorent en mode inversement proportionnel à la concentration de glucose ajoutée. Les valeurs maximales étaient  $66.34 \pm 3.04$ ,  $61.07 \pm 3.9$  et  $30.47 \pm 2.5$  % pour les doses 100,200 et 300  $\mu\text{g/ml}$ . L'inhibition d'absorption du glucose par les levures est similairement remarquée par **Abbas et Saidi (2018)** pour un extrait des graines de *Hyoscyamus albus*.

D'un autre côté, le métronidazole utilisé comme molécule de référence affiche une action inhibitrice significativement ( $p < 0.05$ ) supérieure à notre extrait. Le top d'inhibition respectif à 100,200 et 300  $\mu\text{g/ml}$ , a été  $90.74 \pm 2.64$ ,  $79.41 \pm 3.17$  et  $55.51 \pm 1.88\%$ .

**Tableau 3:** Effet des polyphénols et du métronidazole sur l'absorption du glucose par la levure exprimé en IC50

|                      | IC50 ( $\mu\text{g/ml}$ ) |        |        |
|----------------------|---------------------------|--------|--------|
|                      | 5                         | 10     | 25     |
| <b>Polyphénols</b>   | 133.04                    | 200.46 | 522.81 |
| <b>Métronidazole</b> | -98.57                    | -43.27 | 237.27 |



**Figure 12:** Comparaison de l'inhibition d'absorption du glucose (utilisé à 5, 10 et 15 µg/ml) par la levure en présence de polyphénols de nopals et Métronidazole à 100, 200 et 300 µg/ml.

La comparaison des IC50 des différentes concentrations de polyphénols mentionnées dans le **Tableau 3**, nous mènent à dire que la quantité nécessaire en ces phytomolécules d'*Opuntia* s'accroît en fonction de la dose de glucose ajouté. En outre, la comparaison des polyphénols et Métronidazole en termes des IC50, reflète la supériorité du standard remarqué dans la **Figure 12**.

Les valeurs IC50 négatives pour le métronidazole à 5 et 10 µg/ml de glucose reflète une hyperactivité de ce standard dans ces conditions, au point où des quantités infimes proches de 0, donnent des inhibitions dépassant les 50%.

Le transport de glucose à travers la membrane cellulaire de levure se produit par diffusion facilitée, un mécanisme passif sans apport d'énergie, qui continue de se dérouler si le glucose intracellulaire est efficacement réduit ou utilisé (**Abirami et al., 2014**).

Certains travaux scientifiques montrent que le GLUT 2 apical ou luminale, la voie majoritaire de l'absorption intestinale du glucose, est une cible attrayante pour certains agents inhibiteurs d'origine végétale (**Oran et al., 2006**). Les données actuelles suggèrent que les extraits des plantes sont capables de contrôler efficacement le taux du glucose sanguin par diminution de son absorption comme s'était suggéré par **Cletus et Jude (2018)**.

En plus, la plupart des études ont indiqué que les polyphénols pouvaient inhiber l'absorption de glucose des cellules intestinales par l'inhibition potentielle de transporteurs de glucose, y compris SGLT1 et GLUT2 (**Manzano et Williamson, 2010; Farrell et al., 2013; Villa-Rodriguez et al., 2017; Muller et al., 2018**).

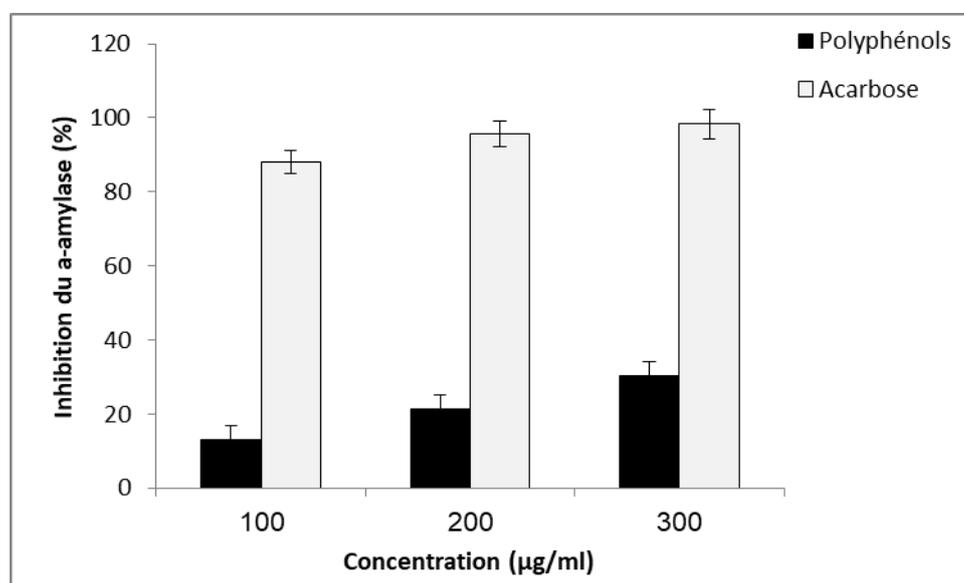
Certaines substances végétales agissent selon un mécanisme compétitif à cause de leur analogie structurale avec le glucose (**Biastoff et Drager, 2007**). Cependant l'étude du mécanisme d'action des flavonoïdes, montre qu'ils interviennent par inhibition non compétitive (**Oran, 2006**).

Donc, il est biologiquement plausible de dire que la consommation de flavonoïdes ou des aliments riches en flavonoïdes peut réduire le risque de diabète en modulant l'absorption de glucose et la sécrétion d'insuline pour prévenir du diabète (**Achouche et Azouzi, 2019**).

### V.3.2. Test d'inhibition d'alpha amylase:

La **Figure 13** montre l'effet des polyphénols de nopals de Tissemsilt comme inhibiteurs naturels de l'enzyme  $\alpha$ -amylase, comparé à l'action d'un médicament dont cette activité est reconnue, l'Acarbose.

Nous remarquons que le pourcentage d'inhibition de l'enzyme augmente linéairement à la concentration des polyphénols d'*Opuntia* pour donner un maximum de  $39.06 \pm 3.47\%$  à  $300 \mu\text{g/ml}$ . L'acarbose est significativement ( $p < 0.05$ ) plus efficace que les polyphénols où il donne un maximum de  $98.35 \pm 3.99\%$  à la même concentration. Son  $\text{IC}_{50}$  négative prouve un effet très important à une très faible dose.



**Figure 13:** Comparaison de l'inhibition d' $\alpha$  amylase par les polyphénols de nopals et l'Acarbose à 100, 200 et 300  $\mu\text{g/ml}$ .

**Tableau 4:** Effet des polyphénols et de l'acarbose sur l' $\alpha$ -amylase exprimé en  $\text{IC}_{50}$ .

|                    | $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|--------------------|---------------------------------------|
| <b>Polyphénols</b> | 430.42                                |
| <b>Acarbose</b>    | -656.28                               |

Conformément à nos polyphénols, l' $\alpha$ -amylase a été efficacement inhibé par la Naringénine, le kaempferol, la lutéoline, l'apigénine, le catéchine, l'épicatchine, le diadzéine et les gallates d'épigallocatechines. (Tadera et al., 2006). Les composés polyphénoliques extraits par Tundis et al., (2010), montrent aussi une certaine activité inhibitrice de ces enzymes.

Les inhibiteurs de l'alpha amylase d'origine naturelle sont efficaces pour prolonger le temps total de la digestion et l'absorption des glucides au niveau du tractus gastro-intestinal chez l'homme, et donc minimiser le risque de l'hyperglycémie (Antony et al., 2013)

Les mécanismes réactionnels de l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase par les polyphénols restent encore mal élucidés. L'effet anti  $\alpha$ -amylasique peut être expliqué par le fait que l'extrait de nopals possède des composés portant des groupements fonctionnels proches de ceux du substrat qui est l'amidon, ce qui occupe le site actif de l'enzyme (Boudjedour et Bertil, 2016)

Par ailleurs, Sales et al., (2012) et Kandra et al., (2014) montrent que les flavonoïdes et les tanins peuvent créer un changement conformationnel sur le site actif de l'enzyme par complexation, ce qui inhibent son activité biologique. Le potentiel d'inhibition des flavonoïdes et des tanins est corrélé avec le nombre de groupements hydroxyles dans leurs cycles B. Ces composés inhibent l' $\alpha$  amylase par la formation de liaison hydrogènes entre ses groupements hydroxyles et les résidus du site actif de cette enzyme (Sales et al., 2012).

L'inhibition de cet enzyme par ces produits bio a une forte option dans la prévention du diabète, comme substituants des inhibiteurs synthétiques à effets secondaires graves comme l'hépatotoxicité, les douleurs abdominales, les maladies cardiovasculaires, les maladies cérébrovasculaires et l'hypoglycémie (Bhat et al., 2011).

# *Conclusion*

## Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qu'ils sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours (**Laraba et al., 2016**).

Dans ce travail nous avons testé l'activité antidiabétique in vitro des polyphénols, extraits à partir des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* de la willaya de Tissemsilt. Les résultats obtenus ont montré que ces nopals contiennent des taux considérables en polyphénols totaux.

Ces polyphénols ont été moyennement actifs comme hyperglycémifiants. Leur action in vitro sur l'absorption du glucose par la levure, présentant un modèle mimétique de cet effet sur les entérocytes, était aux alentours de 67%. Un pourcentage faible par rapport au médicament standard, mais qui reste très prometteur.

L'effet de cette classe sur l' $\alpha$ -amylase a été dose dépendant, allant à la barre de 40%. Là aussi, le standard positif était plus efficace d'une manière significative, mais sans éclipser la valeur remarquable notée par l'extrait de nopals.

L'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seraient nécessaires et devraient pouvoir confirmer les performances mises en évidence. De même, des études approfondies sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de ces principes actifs seraient utiles pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.

# *Références bibliographiques*

## Références bibliographique

1. **Abbas, M., & Saidi, I. (2018).** Etude de l'activité antidiabétique des alcaloïdes nortropaniques de *Hyoscyamus albus* (mémoire de master). Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.
2. **Abdessemed, D., Nezari, M., Mohamed, H. A., Abdessemed, D., Bahadi, F., & Halitim, A. (2014).** Emulsifying effect of pectin from *Opuntia ficus-indica* cladode. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6, 198-201
3. **Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014).** Measurement of functional properties and health promoting aspects-glucose retardation index of peel, pulp and peel fiber from *Citrus hystrix* and *Citrus maxima*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 4(1), 16-26
4. **Achouche, M., & Azouzi, A. (2019).** Evaluation in vitro du pouvoir hypoglycémiant des extraits des feuilles de *Punicagranatum L.* (mémoire de master). Université Djilali BOUNAAMA de Khemis-Miliana.
5. **Ademiluyi, A. O., & Oboh, G. (2013).** Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(3), 305-309.
6. **American Diabetes Association. (2008).** Standards of medical care in diabetes-. *Diabetes Care*, 31(1): 12–54.
7. **Antony Kam., Kong, M. Li., Valentina Razmovski-Naumovski., Srinivas Nammi., Jeffrey Shi., Kelvin Chan., et George, Q. Li., (2013).** A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ glucosidase. *Phytother. Res.* 27: 1614–1620.
8. **Aknouche, S., & Ariche, A. (2018).** Bioactivités de biomolécules extraites à partir de biomasse de coproduits agricoles: propolis, cladodes du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) et grignons d'olives (Doctoral dissertation). Université Mouloud Mammeri.
9. **Anderson E. F. (2001).** *The Cactus Family*. Timber Press, Portland.
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. **Benattia, F. K. (2018.)** Analyse et Application des Extraits de pépains de Figues de Barbarie (Doctoral dissertation). Université AboubekrBelkaid de Tlemcen.
  12. **Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F.R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (1997).** Uses and properties of *Citrus* flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45: 4505–4515.
  13. **Benkerrou, Z., & Younici, S. (2014).** Evaluation in vitro de l'activité anti- $\alpha$ amylase et antilipase des extraits de la pulpe de Citrus limon (Mémoire de Master). Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
  14. **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
  15. **Bensalem et al., 2002; Ben Salem H., Nefzaoui A., Ben Salem L., 2002.** Supplementing spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* f. *inermis*) based diets with urea-treated straw or old man saltbush (*Atriplex nummularia* L.). Effects on intake, digestion and sheep growth. *J. Agric. Sci. Camb.* Pp85-92
  16. **Bhandari, M. R., Jong-Anurakkun, N., Hong, G., & Kawabata, J. (2008).**  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chemistry*, 106(1), 247-252.
  17. **Bhat, M., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., Kumar, A. R., & Joshi, B. N. (2011).** Antidiabetic Indian plants: a good source of potent amylase inhibitors. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
  18. **Bonnefont-Rousselot D, Beaudeau J, Therond P, Perynet J, Legrand A, Delattre J. (2004).** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm, Fr*, 62: 147-157.
  19. **Borm, K., Luscher, S & Muller, B. (2012).** Premières étapes du traitement du diabète de type 2 nouvellement diagnostiqué – conseils pratiques. *Forum medsuiss* 48:929-935.
  20. **Boudjedour., N. E. H & Bertil, A. (2016).** L'activité inhibitrice des composés phénoliques de *Dictyopteris polypodioides* sur l' $\alpha$ -amylase salivaire libre et immobilisée in vitro (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri Constantine.
  21. **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
  22. **Bruneton, J. (1999).** Composés phénoliques Shikimates-acétates. In

- Pharmacognosiephytochimie plantes médicinales. Ed Tec and Doc lavoisier. 3<sup>e</sup> édition. Paris. p.225-460.
- 23. Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier
- 24. Canivell, S., &Gomis, R. (2014).** Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. *Autoimmunity Reviews*. vol 149 (153): 405p a. *Cassia nemophila* Pods
- 25. Cantley, J., & Ashcroft, F. M. (2015).** Q&A: insulin secretion and type 2 diabetes: why do  $\beta$ -cells fail?. *BMC biology*, 16(1), 33.
- 26. Cazes, J. (2001).** Encyclopedia of Chromatography (Print). Edition Marcel Dekker, p 206.
- 27. Charbonnel B, Cariou B. (1997).** Diabète non insulino-dépendant indication thérapeutique médecine thérapeutique ; 3.hs :103-11
- 28. CherifBenismail, M., Mokhtari, M., Arba, M., (2000).** The Cactus Pear (*Opuntia* spp.) in Morocco: Main Species and Cultivar Characterization, IV International Congress on Cactus Pear and Cochineal 581, pp. 103-109
- 29. Chira, K., Suh, j. H., Saucier, C., &Teissédre, P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 ,75 – 82.
- 30. Cirillo, V. P. (1962).**Mechanism of glucose transport across the yeast cell membrane. *Journal of bacteriology*, 84(3), 485-491.
- 31. Caruso, M., Currò, S., Las Casas, G., La Malfa, S., & Gentile, A. (2010).** Microsatellite markers help to assess genetic diversity among *Opuntia ficus-indica* cultivated genotypes and their relation with related species. *Plant systematics and evolution*, 290(1-4), 85-97.
- 32. Cletus, A., Ukwubile. et Jude, A., Odugu., (2018).**Evaluation of antibacterial and in vitro antidiabetic activities of *Phyllanthus amarus* Linn. (*Phyllanthaceae*) leaf ethanol extract. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 6(4):254–258.
- 33. Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P. (1977).** Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195: 397-399.
- 34. Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, A., Moufid, A., Khalidi, A. ET Lemhadri, A. (2007).** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc.

- Phytothérapie, 5 : 194-203.
35. **Edeas, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols du thé. *Phytothérapie* **5**: 264-270.
  36. **Edenharder, R., &Grünhage, D. (2003).** Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butylhydroperoxide or cumenehydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. *Mutation Research/GeneticToxicology and EnvironmentalMutagenesis*, *540*(1), 1-18
  37. **El-Mostafa, K., El Kharrassi, Y., Badreddine, A., Andreoletti, P., Vamecq, J., El Kebbaj, M., ...&Cherkaoui-Malki, M. (2014).**Nopal cactus (*Opuntiaficus-indica*) as a source of bioactive compounds for nutrition, health and disease. *Molecules*, *19*(9), 14879-14901.
  38. **Fagot, A., Isabelle, R., Fosse, S., Roudier, C., & Institut de veille sanitaire. (2010).** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France. *Maladies chroniques et traumatismes*.1p
  39. **Farrell, T. L., S. L. Ellam, T. Forrelli, and G. Williamson. (2013).** Attenuation of glucose transport across caco-2 cell monolayers by a polyphenol-rich herbal extract: Interactions with SGLT1 and GLUT2 transporters. *Biofactors* *39* (4):448–456
  40. **FERNANDEZ M.L., TREJO A ET MC NAMARA D.J. (1990).**Pectin isolated from prickly pear (*Opuntia sp.*) modifies low density lipoprotein metabolism in Cholesterol-fed guinea pigs. *Journal Nutritionnel*. *120*(11), 1283-1290.
  41. **Floss H. G. (1997).** Natural products derived from unusual variants of the shikimate pathway. *Natural Product Reports.*, *14* : 433-434.
  42. **Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M. P., Tulliez, J., Chap, H., &Payrastre, B. (1999).**Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology: The Vascular System*, *32*(3), 279-286.
  43. **Giestra G, Parker M.L, Bennett R.N, Robertson J, Mandalari G, Narbard A, Lo curto R.B, Bisignano G, Fauldsc B. et Waldron K.W. (2009).** Anatomical, chemical, and biochemical Characterization of cladodes from Prickly Pear (*Opuntiaficus-indica* (L.) Mill.). *Journal of Agriculture Food Chemistry*.*57* (21), 10323-10330.
  44. **Gillery, P. (2014, September).** Dosage de l'HbA1c et des produits d'Amadori en biologie humaine. In *Annalespharmaceutiquesfrançaises* (Vol. 72, No. 5, pp. 330-336). Elsevier Masson.

45. Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food chemistry*, 92(3), 521-525.
46. Gungor, N., & Sengul, M. (2008). Antioxidant activity, total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Properties*, 11(1), 44-52.
47. Habibi, Y., Mahrouz, M., Marais, M. F., & Vignon, M. R. (2004). An arabinogalactan from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*, 339(6), 1201-1205.
48. Hamza N (2011). Effets préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez la souris C57BL/6J. thèse doctorat, Université Mentouri Constantine 1.
49. Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Ph
50. Heimeur, N., Idrissi Hassani, L. M., & Amine Serghini, M. (2004). Les polyphénols de *Pyrus mammosalis* (Rosaceae). *Reviews in biology and biotechnology*, 3, 37-42.
51. Hennebelle, T., Sahpaz, S & Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p. 3-6.
52. Houerou, 1996 Le Houerou H.N., (1996). The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments*. Pp135-159.
53. IDF, I. (2013). Diabetes atlas. International Diabetes Federation
54. James, D. E., M. Strube, et al. (1989). "Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter." *Nature* 338(6210): 83-87.
55. Jaramillo-Flores, M. E., González-Cruz, L., Cornejo-Mazon, M., Dorantes-Alvarez, L., Gutierrez-Lopez, G. F., & Hernandez-Sanchez, H. (2003). Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food science and technology international*, 9(4), 271-278.
56. Jewell, J. L., E. Oh, et al. (2010). "Exocytosis mechanisms underlying insulin release and glucose uptake: conserved roles for Munc18c and syntaxin 4."

- Am J PhysiolRegulIntegrCompPhysiol**298**(3): R517-531.
- 57. Kandra, L., Gyémánt, G., Zajác, Á., & Batta, G. (2004).** Inhibitory effects of tannin on human salivary  $\alpha$ -amylase. *Biochemical and biophysical research communications*, 319(4), 1265-1271.
- 58. Kening Y., Vincenzo D. L. et Normand B. 1995.** Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.*, 7 : 1787-1799.
- 59. Kharroubi A, Darwish H. (2015).** Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*, 6(6): 850–67.
- 60. Kim, M. S. and K. U. Lee (2005).** "Role of hypothalamic 5'-AMP-activated protein kinase in the regulation of food intake and energy homeostasis." *J Mol Med (Berl)* 83(7): 514520
- 61. Kohei, K. A. K. U. (2010).** Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. *JMAJ*, 60(1), 361 -368.
- 62. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., Abdely. C. (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant. Physiol Bioch*, 45: 244-249
- 63. Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007).** Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46, 244 – 282
- 64. Laraba, M., Serrat, A., & Ouassaa, G. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydant des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de master en toxicologie et santé, Université des Frères Mentouri Constantine. P, 40-41.
- 65. Macheix J.J., Fleuriet A et Jay Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique presse Polytechniques et universitaire romandes.
- 66. Mammeri, A., Tairi, O. (2012).** Évaluation de l'activité anti hyperglycémiant des extraits de feuilles de *Rosmarinus officinalis* (le romarin). Mémoire de Master. Université Abderrahmane Mira de Bejaia.
- 67. Manzano, S., and G. Williamson. 2010.** Polyphenols and phenolic acids from strawberry and apple decrease glucose uptake and transport by human intestinal caco-2 cells. *Molecular Nutrition & Food Research* 54:1773–1780

- 68. Mehinagic, E., Bourles, E & Jourjon, F. (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Arboriculture* 43: 364-368.
- 69. Mercaldo, F., Nardone, V., & Santone, A. (2017).** Diabetes mellitus affected patients classification and diagnosis through machine learning techniques. International Conference on Knowledge Based and Intelligent Information and Engineering. 2519p.
- 70. Merghem R., Jay M., Viricel M. R., Bayet C. et Voirin B. 1995.** Five 8-C benzylated flavonoids from *Thymus hirtus* (Labiatae). *Phytochemistry.*, **38** (3) : 637-640
- 71. Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839
- 72. Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M. (1998).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris (les Colloques, N° 87)
- 73. 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.
- 74. Muller, U., F. St ubl, B. Schwarzingler, G. Sandner, M. Iken, M. Himmelsbach, C. Schwarzingler, N. Ollinger, V. Stadlbauer, and O. Hoglinger. 2018.** In vitro and in vivo inhibition of intestinal glucose transport by guava (*Psidium guajava*) extracts. *Molecular Nutrition & Food Research* 62:1701012.
- 75. Munoz de Chavez M, Chavez A, Valles V. et Roldan J. A. (1995).** The nopal: a plant of manifold qualities. *World Review of Nutrition and Dietetics.* **77**, 109–134
- 76. Murillo Amador, B., & García, A. (2002).** El nopal cultivado forrajero sostenible para el noroeste de México (No. F/634.775 N6).
- 77. Naczki, M., & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1523-1542.
- 78. Neffar, 2012.** Etude de l'effet de l'âge des plantations de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica* L. Miller) sur la variation des ressources naturelles (sol et végétation) des

- steppes algériennes de l'Est. Cas de Souk- ahra et Tébessa .thèse de doctorat en biologie végétale. Université BADJI MOKHTAR. Annaba. 236 p
- 79. Nijveldt, R. J., Nood, E., Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Norren, K., Leeuwen, P. (2001).** Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am.J. ClinNutr*, 74 : 418–425
- 80. Oran, K., Peter, E., Shenglin, C., Christopher, P., Michael, K. et Mark, L., (2006).** Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids, *The FASEB Journal*. 21(2):366-77
- 81. Organisation mondiale de la santé.** (1999). Definition, diagnosis and classification of diabete mellitus and its complication. Report of a WHO consultation (PDF) Geneve, 66.
- 82. Osuna-Martínez, U., Reyes-Esparza, J., &Rodríguez-Fragoso, L. (2014).** Cactus (Opuntia ficus-indica): A Review on its Antioxidants Properties and Potential Pharmacological Use in Chronic Diseases. *Nat Prod Chem Res* 2: 153. doi: 10.4172/2329-6836.1000153 Page 2 of 8.
- 83. Paulweber, B., Lindstrom, J., Valensi, P., et al. (2010).** *Metab. Res.* 42 (Suppl. 1) S3.
- 84. Pessin, J. E., Thurmond, D. C., Elmendorf, J. S., Coker, K. J., & Okada, S. (1999).** Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking Location! Location! Location!. *Journal of Biological Chemistry*, 274(5), 2593-2596.
- 85. PDB (protein data base) 2006.** Alpha-amylases
- 86. 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
- 87. Procopiou, M. (2006).** Hémoglobine glyquée: mise au point et nouveautés. *Revue médicale suisse*, 68, 1473.
- 88. Roach, P. J. (2002).** "Glycogen and its metabolism. *Curr Mol Med*, 2(2): 101-120.
- 89. Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., Vergely, C. (2014).** Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2079p.
- 90. Sadok, T. H., Aid, F., Bellal, M., & HUSSAIN, M. S. A. (2008).** Composition chimique des jeunes cladodes d'opuntia ficus indica et possibilités de valorisation alimentaire. *Agricultura*, 65(1-2).
- 91. Saenz, (2000).** Processing technologies: an alternative for cactus pear (Opuntia spp.) fruits and cladodes. *Journal of arid environments* 46, 209-225.

92. Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., &Silveira, D. (2012). $\alpha$ -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141-183.
93. Samouelian, F., Gaudin, V., &Boccaro, M. (2009). Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae, p 21, 22
94. Schweizer, (1997). Schweizer M. Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu. Clamecy; PARIS (France). ImprimerieLaballery, 81 p.
95. Stintzing F.C.et Carle R. (2005). Cactus stems (*Opuntiaspp*): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49, 175-194.
96. Summary E. (2012). Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 35: S4–10
97. Sutton B.C, Ting I.P. etSuttonr. (1981). Carbohydrate metabolism of cactus in a desert environment. *Plant Physiology*. 68, 784-787.
98. Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2006).Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase by flavonoids. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 52(2), 149-153.
99. Temagoult A. (2017),Caractérisation et Transformation de la Figue de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica L.*), Elaboration d'une Confiture et d'une Gelée Extra. MEMOIRE de magister.
- 100.Tundis, R., Loizzo, M. R., &Menichini, F. (2010).Natural products as  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors and their hypoglycemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini reviews in medicinalchemistry*, 10(4), 315-331
- 101.Usher-Smith JA, Thompson M, Ercole A, Walter FM. (2012). Variation between countries in the frequency of diabetic ketoacidosis at first presentation of type 1 diabetes in children: a systematic review. *Diabetologia*, 55(11):2878–94.
- 102.Van Acker, S., van Balen, G.P., van den Berg, D.J., van der Vijgh, and W.J.F. (1996).Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol*, 56:935– 943.
- 103.VSS, P., Adapa, D., Vana, D. R., Choudhury, A., Asadullah, J., &Chatterjee, A. (2018). Nutritional components relevant to type-2-diabetes: Dietary sources, metabolic functions and glycaemiceffects. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 6(5), 52-75.

- 104. Wallace R.S. and Gibson A.C. (2002).** Cacti evolution and systematics. In: Cacti, Biology and Uses. Pp.1-21 (Nobel, P.S. Ed.).University of California Press, Berkeley, California, United States of America
- 105. Wenzhen, L., Wenyu, R., Ying, P., Dongming, W. (2018).** Soy and the risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta analysis of observational studies. Diabetes Research and Clinical Practice.3p
- 106. Wichlt H, Anton R. (2003).** Plante thérapeutique-tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed.TEC&DOC, 2003
- 107. William, T., Cefalu. (2006).** Animal Models of Type 2 Diabetes: Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. ILAR Journal .Robertson Library University of Prince Edward Island.186p.
- 108. Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004).** Flavonoids in Food and their health benefits. Plant. Food Hum.Nutr, 59:113-122.
- 109. Zeghad, N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine: université Mentouri.

## Résumé

Cette étude a pour l'objectif d'extraire et d'évaluer l'activité antidiabétique des polyphénols des jeunes cladodes ou nopals d'*Opuntia ficus indica* de la région de Tissemsilt. L'extraction hydro-méthanolique donne une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de  $9.24 \pm 0.02$  mg/g MS. Les résultats de l'activité antidiabétique mise en évidence par des tests in vitro montrent une action positive moyenne concentration-dépendante de ces molécules. L'inhibition maximale de l'absorption du glucose par la levure en présence de 100, 200 et 300  $\mu\text{g/ml}$  de polyphénols a été  $66.34 \pm 3.04$ ,  $61.07 \pm 3.9$  et  $30.47 \pm 2.5\%$ , respectivement. L'action anti-amylasique maximale enregistrée a été  $39.06 \pm 3.47\%$  pour la dose la plus élevée 300  $\mu\text{g/ml}$ .

**Mots clés :** *Opuntia*, nopals, polyphénols, antidiabétique, glucose,  $\alpha$ -amylase.

## Abstract

The aim of this study is to extract and evaluate the anti-diabetic activity of polyphenols from young cladodes or nopals of *Opuntia ficus indica* of the region of Tissemsilt. The content of total polyphenols obtained by hydromethanol extraction was  $9.24 \pm 0.02$  mg/g DM. The results of the anti-diabetic activity on these molecules, demonstrated by in vitro tests, show a medium positive effect in a concentration-dependent manner. Maximum inhibition of the uptake of glucose by yeast in the presence of 100, 200 and 300  $\mu\text{g/ml}$  of polyphenols; was  $66.34 \pm 3.04$ ,  $61.07 \pm 3.9$  and  $30.47 \pm 2.5\%$ , respectively. The maximum reported anti- $\alpha$  amylasic action was  $39.06 \pm 3.47\%$ , recorded for the highest dose 300  $\mu\text{g/ml}$ .

**Keywords:** *Opuntia*, nopals, polyphenols, antidiabetic, glucose,  $\alpha$ -amylase.

## الملخص

تهدف هذه الدراسة الى استخلاص البوليفينولات من الفروع الصغيرة لنبات الصبار الشوكي المتواجد بمنطقة تسميلت وتقييم نشاطها المضاد لمرض السكري. أعطى الاستخراج الميثانولي المائي ما يعادل  $0.02 \pm 9.24$  ملغ من البوليفينولات لكل جرام من المادة الجافة. اظهرت نتائج فحص النشاط المضاد لمرض السكري لهذه البوليفينولات من خلال الاختبارات المخبرية، قدرة علاجية متوسطة مرتبطة بشكل مباشر بتركيز هذه الجزيئات، حيث ان الحد الأقصى لتثبيط امتصاص الجلوكوز بواسطة الخميرة في حضور 100؛ 200 و 300 ميكروغرام/مل من البوليفينول؛ كان  $66.34 \pm 3.04$ ،  $61.07 \pm 3.9$  و  $2.5 \pm 30.47$ %، على التوالي. في المقابل، فان الحد الأقصى لتثبيط انزيم الالفا اميلاز بلغ  $39.06 \pm 3.47$ % عند الجرعة الأعلى للبوليفينولات و 300 ميكروغرام/مل.

**الكلمات المفتاحية :** الصبار الشوكي، الفروع اليانعة، البوليفينولات، مضادالسكري، الجلوكوز، ألفاأميلاز.