



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Intitulé :

**Valorisation phytochimique et biologique des déchets des
fruits de *Punica granatum L.* et *Opuntia ficus indica L.***

Présenté et soutenu par : *BOULACEL FERIAL et DADOUCHE AICHA*

Jury d'évaluation :

Président du jury	MAAMERI. Z. MCA-UFMC1
Rapporteur	ZEGHAD. N. MCB-UFMC1
Examineur	MADI. A. MCB-UFMC1

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Je tiens à remercier avant tout Dieu le tout puissant de m'avoir guidé durant toutes ces années et m'a permis de réaliser ce mémoire en me donnant la force, la patience et la volonté.

J'adresse tout d'abord mes remerciements les plus sincères, mes respects et ma profonde gratitude à mon encadreur Madame ZEGHAD NADIA, Maitre de Conférences B à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, qui a mis toutes ses connaissances et son expérience à notre disposition, en nous faisant part de ses suggestions les plus judicieuses et de ses critiques les plus constructives. Nous avons vraiment apprécié sa façon de travailler, son efficacité et son enthousiasme. Bref, une directrice de recherche digne de ce nom.

On tient à remercier Madame MAAMERI ZINEB, Maitre de Conférences A à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. On remercie vivement Madame MADI AICHA, Maitre de Conférence B à l'université des frères Mentouri-Constantine 1 d'avoir accepté de juger mon travail.

Nos remerciements vont aussi à tout le corps académique de l'université des Frères Mentouri-Constantine 1 en général et en particulier ceux de l'institut des Sciences Vétérinaire, Constantine 1 et en particulier son directeur le Professeur BRAREHI AHCENE

On remercie également, Dr. BENSUICI, Maitre de recherche au CRBT de Constantine, Et Dr. MEHDI Pour leur aide et leurs conseils précieux durant la réalisation de ce travail.

On remercie tous les enseignants de la faculté des sciences de la Nature et de la vie à l'université des Frères Mentouri-Constantine 1, qui nous ont enseignées durant les cinq ans d'études.

On ne peut pas nous empêcher d'avoir une pensée pour ceux et celles qui nous ont répondu présents et nous ont offert leur soutien moral dans les moments difficiles et qu'ils ont été à nos côtés

Dédicaces

C'est avec une immense joie et un grand honneur que je dédie ce modeste travail :

*A ma mère **ABADLI Ghania.**, qui représente toute ma vie, qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Rien n'aurait sans votre compréhension et votre amour.*

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous ma chère Maman que je le dois, que Dieu te garde.

*A mon père **DADOUCHE Messaoud.**, qui est toujours dans mon cœur et son mémoire qui est toujours dans mes pensées, et je l'oublierai jamais, j'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie, que dieu le protège dans ces vastes Paradies.*

*A mes chères et adorables sœurs, **Farida, Laila et Dallel.** et à toute MA*

FAMILLE

*A mon cher **BENMAGHSOULA.Y.** Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes, ton amour et ton affection remplissent mes jours de bonheur.*

*A mon cher cousin **AZIZI A.** Je te remercie pour ton soutien continu. Je suis chanceuse de t'avoir à mes côtés.*

*A mes amis : **NADA, SABRINA, MALEK, IMENE, DOUNIA,** En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond.*

AICHA

Dédicaces

Merci avant tous à Dieu

A mes très chers grands parents

BOULACEL RABEH, AMIOUR FATMA

A mes parents

BOULACEL HOUCINE, MOKHTARI DALILA

*Je vous dois ce que je suis aujourd'hui grasse a votre amour, a votre puissance
et vos innombrables sacrifices.*

*Que ce modeste travail soit pour vous une petite compensation et
reconnaissance envers ce que vous avez fait d'incroyable pour moi.*

*Que Dieu le tout puissant, vous préservé et vous procure santé et longue vie afin
que je puisse à mon tour vous comblé.*

A mon mari

SOUDANI MOHAMMED RIDHA

*Merci mon amour pour tous que vous avez fait pour moi et merci pour ton aide
et ton soutien sans oublier notre petit fils AYHEM.*

A mes sœur DOUNIA, NESRINE et mon frère ABDERRAHMEN

Qui m'avaient soutenu et encouragé durant ces année d'études

*Sans oublier le reste de ma famille mes tante NORA, RIMA et ses enfants et
tous mes oncles RIADHE, ADEL, CHAOUKI et à tous ses enfants
spécialement HADIR.*

FERIAL

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées

1/ La grenade (<i>Punica granatum L.</i>)	4
1.1/ Description botanique.....	4
1.2/ Systématique botanique	5
1.3/ Origine et distribution géographique.....	5
1.4/ Usages traditionnels et empiriques de <i>Punica granatum L.</i>	6
1.5/ Composition chimique de la grenade.....	7
2/ La figue de barbarie (<i>Opuntia ficus indica L.</i>)	9
2.1/ Description botanique	9
2.2/ Systématique botanique	10
2.3/ Origine et distribution géographique	10
2.4/ Usages traditionnels et empiriques d' <i>Opuntia ficus indica L.</i>	11
2.5/ Composition chimique de figue de barbarie.....	12

Chapitre 2 : Synthèse bibliographique sur les composés phénoliques

1/ Introduction	14
2/ Classification	15
2.1/ Acides phénoliques	16
2.2/ Flavonoïdes (C6-C3-C6).....	17
2.3/ Tanins	19
2.3.1/ Tanins hydrolysables	20

2.3.2/ Tanins condensés (C6-C3-C6) n	21
2.4/ Lignines (C6-C3) n	22
3/ Biosynthèse des composés phénoliques	23
3.1/ Voie de Shikimate	23
3.2/ Voie d'acétate malonate	27
3.3/ Voie mixte de biosynthèse des flavonoïdes	28
4/ Activités biologiques des composés phénoliques	30
4.1/ Activité antioxydante chez les végétaux	30
4.2/ Définition d'un antioxydant.....	30
4.3/ Les principaux antioxydants.....	31
4.3.1/ Les antioxydants synthétiques.....	31
4.3.2/ Les antioxydants naturels.....	32
4.4/ Protections cellulaires (pouvoir antioxydant).....	32
4.4.1/ Systèmes antioxydants enzymatiques.....	32
4.4.2/ Systèmes antioxydants non-enzymatiques.....	33
4.4.2.1/ Systèmes antioxydants endogènes.....	33
4.4.2.2/ Systèmes antioxydants exogènes.....	34
4.4.2.2.1/ Vitamine C.....	34
4.4.2.2.2/ Vitamine E.....	34
4.4.2.2.3/ Caroténoïdes.....	34
4.4.2.2.4/ Composés phénoliques.....	35
4.5/ Activité cicatrisante des composés phénoliques.....	36

Partie II : Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

1/ Matériel végétal	37
---------------------------	----

2/ Méthode d'extraction	37
3/Analyses quantitatives par spectrophotométrie (UV-Visible).....	37
3.1/Dosage des phénols totaux (PT).....	37
3.2/Dosage des flavonoïdes totaux	38
3.3/ Dosage des flavonols totaux	39
4/ Evaluation des activités biologiques	39
4.1/ Activité antioxydante au DPPH	39
4.2/Activité antioxydante à l'ABTS	40
4.3/Activité antioxydante au FRAP	41
4.4/Capacité de réduction l'ion cuprique (CUPRAC).....	42
4.5/Capacité de réduction du radical galvinoxyl (GOR).....	42
4.6/ Mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE).....	43
4.7/Activité inhibitrice d' α amylase.....	44
4.8/ Evaluation de la capacité antisolaire des extraits (facteur de protection Solaire (FPS)).....	45
4.9/Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits.....	47
4.9.1/Test d'excision.....	47
4.9.2/Test de brûlure.....	48

Résultats et discussion

1/ Estimation des contenus en composés phénoliques.....	49
2/ Evaluation des activités biologiques.....	50
2.1/ Activité antioxydante au DPPH.....	50
2.2/ Activité antioxydante à l'ABTS.....	52
2.3/ Pouvoir antioxydant ferrique-réducteur (FRAP).....	55
2.4/ Capacité de réduction d'ion cuprique (CUPRAC).....	57
2.5/ Activité antioxydante au radical galvinoxyl (GOR).....	59

2.6/ Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et d'α amylase.....	61
2.7/ Facteur de protection solaire (SPF).....	62
2.8/ Activité cicatrisante <i>in vivo</i>	63
2.8.1/ Activité cicatrisante <i>in vivo</i> (test brûlure).....	63
2.8.2/ Activité cicatrisante <i>in vivo</i> (test incision).....	66

Conclusion générale

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

ABTS : 2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique].

CUPRAC: Cupric reducing antioxidant capacity.

GOR assay: Galvinoxyl scavenging assay.

FRAP : Pouvoir Antioxydant de Réduction Ferriques.

AchE : Acétylcholinestérase.

EAG : Equivalent en Acide Gallique.

EQ : Equivalent en Quercétine.

IC50 : Concentration Inhibitrice à 50%.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

HHV-3 : Virus de l'herpès humain-3.

Liste des tableaux

Tableau I :	Classification botanique de <i>Punica granatum L.</i>	5
Tableau II :	Classification botanique d' <i>Opuntia ficus indica L.</i>	10
Tableau III :	Principales classes des composés phénoliques.....	15
Tableau IV :	Principaux dérivés d'acide benzoïque	16
Tableau V :	Principaux dérivés d'acide cinnamique	16
Tableau VI :	Principaux dérivés de coumarines	17
Tableau VII :	Principales classes des flavonoïdes	18
Tableau VIII :	Caractérisation du matériel végétal d'étude.....	37
Tableau IX :	Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF	46
Tableau X :	Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés	47
Tableau XI :	Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits.....	49
Tableau XII :	Pourcentage d'inhibition d'acétylcholinestérase (AChE) en présence des extraits.....	61
Tableau XIII :	Pourcentage d'inhibition d' α amylase en présence des extraits.....	61
Tableau XIV :	Les facteurs de protections solaires en présence des extraits et des standards témoins.....	62
Tableau XV :	Chronologie de la cicatrisation des brûlures traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.....	64
Tableau XVI :	Evolution du pourcentage de contraction des plaies de brûlure chez le lapin traité et non traité.....	64
Tableau XVII :	Chronologie de la cicatrisation des plaies d'incision traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.....	66
Tableau XVIII :	Evolution du pourcentage de contraction des plaies de brûlure chez le lapin traité et non traité.....	66

Liste des figures

Figure 1 :	Présentation de <i>Punica granatum L.</i>	4
Figure 2 :	Présentation d' <i>Opuntia ficus-indica L.</i>	9
Figure 3 :	Structure chimique des composés phénoliques.....	14
Figure 4 :	Structure de base des flavonoïdes	17
Figure 5 :	Structure des tannins hydrolysable (cas d'acide gallique).....	20
Figure 6 :	Structure des tanins condensés (cas de tanins condensés à base de flavan-3-ols)	21
Figure 7 :	Structure chimique d'une unité de phénylpropanoïde (C6-C3) (A) et d'un lignane(B)	22
Figure 8 :	Voie de biosynthèse de Shikimate	24
Figure 9 :	Voie de biosynthèse de phénylpropanoïde	25
Figure 10 :	Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes.....	26
Figure 11 :	Condensation de la voie d'acide shikimique et de malonate	27
Figure 12 :	Voie de biosynthèse des flavonoïdes	29
Figure 13 :	Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène	33
Figure 14 :	Mécanismes d'actions antioxydantes des composés phénoliques.....	35
Figure 15 :	Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	39
Figure 16 :	Mécanisme réactionnel intervenant entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).....	41
Figure 17 :	Teneurs en composés phénoliques dans les extraits de déchets des fruits de <i>Punica granatum L.</i> et <i>Opuntia ficus indica L.</i>	49
Figure 18 :	Evolution du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits et des standards.....	50
Figure 19 :	Valeurs des IC50 (DPPH) des extraits et des standards.....	51
Figure 20 :	Evolution du pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations des extraits et des standards.....	53
Figure 21 :	Valeurs des IC50 (ABTS) des extraits et des standards.....	54
Figure 22 :	Cinétique de réduction du fer ferrique (Fe+3) en fer ferreux (Fe+2) par les extraits et les standards.....	55
Figure 23 :	Valeurs des EC50 (FRAP) des extraits et des standards.....	56

Figure 24 :	Cinétique de réduction du Cu ⁺² en Cu ⁺¹ par les extraits et les standards antioxydants.....	57
Figure 25 :	Valeurs des EC50 (CUPRAC) des extraits et des standards.....	58
Figure 26 :	Evolution du pourcentage d'inhibition du radical glavoxy1 (GOR) en fonction des concentrations des extraits et des standards.....	59
Figure 27 :	Valeurs des IC50 (GOR) des extraits et des standards.....	60
Figure 28 :	Valeurs de protection solaire des extraits et destémoins.....	62

Introduction

Introduction générale

Les plantes peuvent être considérées comme des bibliothèques de petites molécules de métabolites secondaires et des composés organiques avec une diversité structurale qui, autrement, ne pourrait pas être disponibles dans un laboratoire de synthèse chimique (Bindseil *et al.*, 2001 ; Koehn et Carter, 2005).

Cependant, l'ingestion de ces métabolites secondaires sous forme de polyphénols, contenus dans les fruits et les légumes pourrait permettre à notre organisme de renforcer ses moyens de défense contre les processus d'oxydation qui menacent quotidiennement nos cellules, même si les mécanismes mis en jeu dépassent sans doute largement la réduction directe des espèces oxygénées réactivées par les polyphénols (Espin *et al.*, 2007 ; Dembitsky *et al.*, 2011). Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006).

Les fruits et les légumes possèdent une importance comme matière de nutrition, de santé et d'économie, ce sont eux qui transportent le mieux les vitamines, les minéraux essentiels, les fibres alimentaires, les antioxydants phénoliques, les glucosinolates et autres substances bioactives. Ils présentent aussi un potentiel biologique élevé qui pourrait être utilisé dans les formulations de nutraceutiques, d'aliments fonctionnels ou industrie pharmaceutique (Battistella Lasta, 2019). D'autre part, Les déchets de fruits sont une alternative intéressante pour les minéraux et les antioxydants (Grigoraş, Destandau, Lazăr & Elfakir, 2012). Cependant, de grandes quantités des déchets de fruits sont générées par les processus agricoles dans le monde entier. Ces déchets sont souvent simplement jetés dans des décharges ou dans l'océan (Kowalska 2017). Ne pas oublier, les traitements fréquents et non respectueux de l'environnement des bio-déchets agro-industriels qui provoquent une grave pollution due à la pollution de l'air et aux effluents résiduels et solides. Ces bio-déchets peuvent contenir des composés phénoliques, des formes d'acides phénoliques et des flavonoïdes dans les plantes spécifiquement. Parce qu'elles constituent la classe la plus abondante de nombreux composés phytochimiques et ont suscité un grand intérêt en raison de leur avantage sanitaire et de leur valeur économique élevée (Zalazar-García, 2020).

Les déchets de fruits et légumes ont le potentiel d'être transformés en produits comestibles et doivent être considérés comme une matière première pouvant être développée pour la récupération de composants de valeur. Ils peuvent être trouvés dans l'industrie alimentaire comme antioxydants pour éviter le brunissement et l'oxydation des lipides ou comme

ingrédients alimentaires fonctionnels. Peuvent également être utilisées comme source de nourriture additifs ou compléments alimentaires (Kowalska, 2017).

Dans ce contexte, nous avons exploré le potentiel antioxydant et biopharmacologique des extraits hydroalcooliques des déchets (écorces) des fruits largement disponibles et consommés en Algérie ; à savoir *Punica granatum L* (Grenadier) et *Opuntia ficus-indica L* (Figuier de Barbarie). Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des déchets des fruits et se fixe comme objectif sur :

- Extraction et caractérisation du profil en composés phénoliques des extraits des plantes étudiées (phénols totaux, flavonoïdes et flavonols) ;
- Evaluation *in vitro* du potentiel antioxydant sur plusieurs modèles expérimentaux (DPPH[•], ABTS^{•+}, FRAP, CUPRAC, GOR) des extraits testés ;
- Evaluation *in vitro* du potentiel enzymatique sur deux modèles expérimentaux (α amylase et acétylcholinestérase) des extraits étudiés ;
- Evaluation *in vitro* du pouvoir de protection solaire vis-à-vis des rayonnements solaires UV (Facteur de Protection Solaire ; SPF) des extraits des plantes étudiées ;
- Evaluation *in vivo* des effets cicatrisants des extraits testés sur deux modèles expérimentaux (tests d'excision et de brûlure) ;

Le manuscrit est organisé en deux grandes parties :

La première partie du manuscrit traite des données bibliographiques regroupant les aspects botaniques, taxonomiques et pharmacologiques sur les espèces étudiées. Cette partie décrit aussi les composés phénoliques, leur biosynthèse, leur diversité structurale ainsi que leurs propriétés biologiques qui sont abordés. Le principe du stress oxydant, les structures biomoléculaires cibles ainsi que les maladies qui ont résultent sont aussi passés en revue

La deuxième partie est organisée en deux sous parties ; la première sous partie présente le matériel et les méthodes (partie expérimentale), alors que la seconde sous partie englobe les principaux résultats obtenus et leur discussion.

Le manuscrit comprend aussi une conclusion générale suivie des références bibliographiques situées en fin de ce manuscrit, en tirant les principaux résultats obtenus. Ces derniers pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des déchets des fruits à large consommation.

Synthèse
bibliographique

*Chapitre I : Synthèse
bibliographique sur
les plantes étudiées*

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur les plantes étudiées**1/ La grenade (*Punica granatum* L.) الرمان****1.1/ Description botanique**

Punica granatum L. appartenant à la famille Lythraceae est plus communément appelé grenade. Le nom de genre, Punica, est dérivé du nom romain de Carthage. Le mot grenade signifie pomme « pomum » et ensemencé « granatus » (Jurenka, 2008). Le fruit du grenadier est un balauste, baie complexe (Chakass *et al.*, 2007). Elle mesure entre 6 et 12 cm de large alors que le poids varie entre 200 et 650 grammes (Holland *et al.*, 2009). Le péricarpe du fruit est une coque épaisse, de consistance dure, de saveur amère et astringente qui varie selon les cultivars poussant dans différentes régions du monde. Il est très coloré, généralement de teinte brun-rougeâtre (Chakass *et al.*, 2007). Le fruit contient de nombreuses graines séparées par un péricarpe membraneux blanc. Le grenadier est considéré comme une espèce monoïque et développe (sur le même arbre) deux sortes de fleurs : des fleurs mâles (stérile) en « cloche », et des fleurs hermaphrodites (fertile) en forme de « vase » (Derin et Eti, 2001). La dominance revient généralement aux fleurs mâles avec un taux de 60 à 70 % (Oukabli, 2004). C'est une baie renfermant de nombreuses graines recouvertes de pulpe rouge acidulée et sucrée, constitue la partie comestible de la Grenade (Iserin, 2001 ; Fabre et Ermosilla, 2008).



Figure 1 : Présentation de *Punica granatum* L.

1.2/ Systématique botanique

Le grenadier est un arbre fruitier appartenant à la famille des Punicacées qui comprend trois espèces différentes, *Punica protopunica*, *Punica nana* et *Punica granatum*, espèce la plus commune. Le nom du genre, *Punica*, a été l'appellation romaine de la ville de Carthage où poussaient les meilleurs grenadiers (Jurenka, 2008).

Au 19^{ème} siècle le père de taxonomie Carl Von Linnée introduit et décrit dans sa classification le grenadier. Cependant la famille des Punicacées n'existe plus. Lors d'une nouvelle classification qui a été créée en 1998 par un groupe de chercheurs botanistes, en se basant sur les critères moléculaires notamment à l'ADN (classification phylogénétique), le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées, comportant 30 genres et 600 espèces (**Tableau I**) (Spichiger *et al.*, 2004).

Tableau I : Classification botanique de *Punica granatum* L. (Spichiger *et al.*, 2004)

Embranchement	Angiospermes
Sous-embranchement	Dicotylédones vraies
Classe	Rosidées
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i> L.

1.3/ Origine et distribution géographique

Le grenadier (*Punica granatum* L.) est originaire du moyen orient, il s'est propagé à travers la mer méditerranéenne, vers l'extrême orient en Chine et en Inde et dans le nouveau monde en Californie et Mexique (Lansky et Newman, 2007). Ainsi, on le trouve fréquemment en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie et en Inde. Il est aussi beaucoup cultivé dans le bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Grèce, Algérie, Tunisie et Maroc. On le rencontre déjà plus rarement dans le midi de la France, au Portugal, en Bulgarie et en Crimée. De même en Amérique, la culture du grenadier reste très sporadique (Wald, 2009).

En Algérie, il existe de nombreuses variétés de grenades, de qualités très différentes. Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat. Plusieurs sortes de grenadier sont signalées surtout dans le nord d'Algérie qui est caractérisée par le climat subhumide ; dans les petits jardins en Kabylie, le plaine de Mitidja (Chelif, Tipaza, Blida, Ain Defla) et on le trouve aussi au sud du pays (Ouargla, Adrar...etc.) (Kaci Meziane *et al.*, 2015).

1.4/ Usages traditionnels et empiriques de *Punica granatum*

La grenade (*Punica granatum* L.) est connue comme un fruit dense en nutriments et riche en substances phytochimiques (Miguel *et al.*, 2010) présente une grande variété de bioactifs (Ravikumar *et al.*, 2019). Chaque partie de cette plante a des effets thérapeutiques. La fleur de *Punica granatum* a été utilisée pour traiter les pharyngites et les bronchites (Khare *et al.*, 2004 ; Bekir *et al.*, 2013). Diverses parties de la grenade ont été utilisées pour traiter la fièvre, la bronchite, les infections des voies respiratoires, le paludisme, etc. (Siban *et al.*, 2012). Les fleurs de grenade sont utilisées dans le traitement du diabète, de l'hématurie, des hémorroïdes, de l'hémoptysie et la dysenterie (Mithun *et al.*, 2012). Le péricarpe du fruit de la grenade contient des composés pourraient évidemment jouer un rôle majeur dans les activités antibactériennes contre certaines bactéries intestinales et certains agents pathogènes d'origine alimentaire (Ganeshkumar *et al.* 2013). L'extrait de la fleur de *Punica granatum* a un effet inhibiteur sur le facteur nucléaire kappa-light-chain-enhancer des cellules B activées (NF-kB) qui est un facteur de transcription des cytokines et des molécules d'adhésion des leucocytes (Sarker., 2012). L'extrait d'écorce de *Punica granatum* peut être un trait promoteur pour réduire l'émergence du clone épidémique facilitant le traitement de la dysenterie, diarrhée, acidose et hémorragie (Ganeshkumar *et al.*, 2013).

Plusieurs études récentes sur la grenade, soulignant principalement son rôle de vasculoprotecteur attribué à la présence de tannins hydrolysables, ellagitannins et acide ellagique réduisaient le stress oxydatif et l'agrégation plaquettaire, réduisaient l'absorption des lipides par les macrophages (Dongdong, 2018). Révèlent aussi que les grenades pourraient être mises en œuvre dans le processus de soins de santé bucco-dentaire. En outre, il a été utilisé comme thérapie réussie pour renforcer les gencives et fixer les dents lâches. Auparavant, Abdollahzadeh et ses collaborateurs (2011) rapportés dans l'extrait d'écorces du *Punica granatum* comme antibactérien puissant contre les agents pathogènes oraux comme *Streptococcus mutans* et *Staphylococcus aureus* (Al-Obaidi *et al.*, 2017). Les extraits de zeste

de grenade ont été les plus efficaces pour inhiber la croissance d'un nombre de bactéries comme *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (Karthikeyan et Vidya, 2019). L'extrait du grenadier produit un effet anti-inflammatoire potentiel en modulant la synthèse de plusieurs médiateurs et cytokines impliqués dans le processus inflammatoire tel que NO, PGE 2, d'IL- 6 IL- et TNF- α dans des cellules RAW 264,7 (Jianjun xu, 2017). Ainsi que l'extrait aqueux des feuilles de *Punica granatum* a démontré une efficacité antivirale supérieure au HHV-3 (Virus de l'herpès humain-3) dont l'activité *in vitro* était comparable à celle de l'acyclovir. Comme les substances phytochimiques foliaires ont interagi avec l'acyclovir. Les feuilles de *Punica granatum*, a un mécanisme antiviral potentiel contre le HHV- 3. Les feuilles de *Punica granatum*, doivent donc être explorées plus avant pour l'isolement de substances phytochimiques antivirales actives. Les substances phytochimiques des feuilles de *Punica granatum* interagissent avec le site catalytique du HHV-3 protéase et donc ces produits phytochimiques pourraient être développés comme une autre cible médicamenteuse pour le traitement des infections à HHV 3 (Angamuthu *et al.*, 2019).

En ce qui concerne le traitement du cancer, il a été signalé que *Punica granatum* a un taux élevé des activités contre le cancer (Mustafa *et al.*, 2020). De la vessie humaine cellule T24 (Masci *et al.*, 2016), le cancer du col de l'utérus (Guo *et a.*, 2016), les cellules cancéreuses de la prostate (Deng *et al.*, 2017), cellules de cancer du sein (Dikmen *et al.*, 2011), de cancer du côlon (Moreira *et al.*, 2017) et de cancer de la thyroïde (Li *et al.*, 2016). L'utilisation de cette espèce fournie une alternative phytothérapeutique pour prévenir les dommages à l'ADN et minimiser les effets secondaires oxydatifs liés aux chimiothérapies utilisées dans le traitement du cancer (Mahmoudieh *et al.*, 2019). Le jus du fruit entier de *Punica granatum* pourrait être utilisée comme matrice pour la culture des probiotiques.

1.5/ Composition chimique de la grenade

Punica granatum est également utilisé dans la médecine traditionnelle contre plusieurs maladies. Des études antérieures ont indiqué plusieurs activités biologiques de la grenade comme anticarcinogène, antimicrobienne, antioxydante et antivirale (Malik et 2005 ; Turfan *et al.*, 2011). D'un point de vue chimique, les précédentes études menées sur la grenade ont montré que ses écorces, ses fleurs et son jus contenaient différents types d'antioxydants, notamment des anthocyanes, les catéchines et les ellagitannines (Duman *et al.*, 2009 ; Hayrapetyan *et al.*, 2012). Rajoutant à cela d'autres composés tels que les alcaloïdes, ainsi que la présence des sucres, des acides organiques (notamment, l'acide citrique, malique, tartrique, succinique,

fumarique et ascorbique), des acides aminés, des stéroïdes et des sels minéraux tels que le calcium, le magnésium, le phosphore, le potassium et le sodium (Douaouri, 2018). L'acide éllagique, l'acide gallique et la punicalagine ont potentiellement inhibé la production de NO, de PGE-2 et d'IL-6 induite par le LPS (Ben Saad, 2017). Les graines sont aussi une source riche en lipides, qui correspondent de 12 à 20% du poids total des graines (Elfalleh *et al.*, 2011 ; Fernandes *et al.*, 2015).

La grenade pourrait être considérée comme une riche source de composés phénoliques bioactifs. Les groupes de composés polyphénoliques dans l'écorce étudiée de la grenade tunisienne étaient des anthocyanes et des ellagitannins (Wafa *et al.*, 2017). Environ 50 % du poids total du fruit est constitué par la peau, qui est également une source importante de composés bioactifs tels que composés phénoliques, flavonoïdes, ellagitannines, proanthocyanidines et minéraux, principalement le potassium, l'azote, le calcium, le phosphore, le magnésium et le sodium (Sreekumar *et al.*, 2014). La fleur de *Punica granatum* contient au moins six des composés efficaces distincts, notamment l'acide maslinique, le daucostérol, l'acide ursolique, l'acide ellagique, l'éthyle l'acide carboxylate de brevifoline, et l'acide tri-O-méthyléllagique (Bekir., 2013).

2/ La figue de barbarie (*Opuntia ficus indica* L.) التين الشوكي

2.1/ Description botanique

Le figuier de barbarie est une plante arborescente vivace et érigée de 3 à 5 m de haut, à tiges charnues, caliciformes, apparemment aphyllés. Elle possède un tronc épais et ligneux, une organisation en articles aplatis, de forme elliptique ou ovoïdale de couleur vert-mat, ayant une longueur de 30 à 50 cm, une largeur de 15 à 30 cm et une épaisseur de 1.5 à 3 cm appelés cladodes ou raquette. Ses cladodes assurent la fonction chlorophyllienne et sont recouvertes d'une cuticule cireuse (la cutine) qui limite la transpiration et les protège contre les prédateurs. Leurs méristèmes produisent des épines, des glucides, des racines adventives, de nouvelles cladodes ou des fleurs. Les épines sont blanchâtres, sclérifiées, solidement implantées et longues de 1 à 2 cm. Il y a en effet deux variétés d'*Opuntia*, la variété inerme et l'épineuse (Halmi, 2015). L'appareil racinaire est superficiel, se concentre dans les 30 premiers centimètres du sol, mais en revanche très étendu (Mulas et Mulas, 2004). Les fleurs sont à ovaire infère, avec de grandes corolles latérales jaunes, orange ou rouges. Un cladode fertile peut porter jusqu'à une trentaine de fleurs. Ce nombre varie selon la position du cladode sur la plante et les facteurs physiologiques (Reyes-aguero et al., 2006). Ces fleurs donnent naissance aux fruits ; une grosse baie (100 à 150 g) ovale ou allongée et charnue, avec une pulpe juteuse, en générale contenant de nombreuses graines (polysémique). La couleur et la forme du fruit sont variables selon les variétés : jaune, rouge, blanche (Reyes-aguero et al., 2006). Les graines sont dures, indigestes, mais riches en vitamines. On en obtient, après préparation, une huile très recherchée et une farine nourrissante (Schweizer, 1997).



Figure 2 : Présentation d'*Opuntia ficus-indica* L.

2.2/ Systématique botanique

Cette plante appartient à la famille des Cactaceae (Nharingo et Moyo, 2016), qui comprend près de 1500 espèces dans le monde. La plante indigène est répandue dans l'Amérique, et a été introduite dans d'autres parties du monde telles que l'Europe et l'Afrique (Chahdoura *et al.*, 2015). La tribu des *Opuntieae* 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, parmi lesquelles figure *Opuntia ficus indica*. Cette espèce est la cactée qui a la plus grande importance agronomique, tant pour les fruits comestibles que pour les raquettes qui peuvent être utilisées comme fourrage ou comme légumes (Dubeux *et al.*, 2006).

Tableau II : Classification botanique d'*Opuntia ficus indica* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	Spermaphyte
Division	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Caryophyllale
Famille	Cactaceae
Sous-famille	Opuntioideae
Genre	<i>Opuntia</i>
Espèce	<i>Opuntia ficus indica</i> .

2.3/ Origine et distribution géographique

Le figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*) est un Cactacée originaire des régions arides et semi-arides du Mexique, il a été introduit en Afrique du Nord vers le 16^{ème} siècle (El Kossori *et al.*, 1998 ; Araba *et al.*, 2000 ; El Mannoubi *et al.*, 2008). On compte, de nos jours, 1500 espèces de cactus appartenant au genre *Opuntia* ; et sont cultivées dans de nombreux pays, notamment : Mexique, États-Unis, Chine, Afrique et Italie ainsi que dans d'autres aires

géographiques (El kossori *et al.*, 1998 ; Feugang *et al.*, 2006). Sa diffusion fut rapide dans le bassin méditerranéen et s'y est naturalisé au point de devenir un élément caractéristique du paysage (Le Houerou, 1996 ; Erre *et al.*, 2009). Il est par essence développé sur la partie Ouest de la Méditerranée : Sud de l'Espagne, Portugal, et Afrique du Nord (Tunisie, Algérie et Maroc) (Arba *et al.*, 2009).

En Algérie, On le trouve sur les hauteurs de Chréa, Bouarfa (wilaya de Blida), Boumerdès, Tipaza, Tissemsilt, Chlef, Relizane, Mostaganem, Ain-Témouchent, Oran, Mascara, Sidi-bel Abbès, Tlemcen dont la meilleure cueillette des figues de barbarie, est celle qui se réalise sur les hauteurs des montagnes, spécialement en milieu rocailleux (Benattia., 2017).

2.4/ Usages traditionnels et empiriques d'*Opuntia ficus indica*

Le figuier de barbarie *Opuntia ficus indica* est utilisé pour lutter contre l'érosion hydrique et éolienne, il résiste au feu et peut être utilisé comme obstacle à la propagation des incendies (Araba *et al.*, 2000). En plus le cactus est considéré comme une réserve fourragère, et un apport alimentaire pour les périodes de transition (automne) et lors des années de sécheresse (Habibi, 2004). Aussi, une intensification d'élevage des cochenilles sur les raquettes d'*Opuntia* peut être faite sous tunnels pour la production d'une teinte rouge (le Carmin), cette dernière est très demandée en industrie alimentaire, médicinale et cosmétique comme colorant ; l'industrie de porcelaine et de béton tant qu'adjuvants organiques naturels pour améliorer la résistance et la durabilité mécanique (Azizi *et al.*, 2019). Peut également être largement utilisé dans le traitement des eaux usées (Belbahloul *et al.*, 2015), dans la fabrication de shampoings assouplissants pour cheveux, de crèmes et de laits hydratants pour le visage (Araba *et al.*, 2000). Ses fruits se sont révélés être de nouveaux ingrédients pour applications alimentaires en raison de ses effets bénéfiques sur la santé et non-toxicité (Chahdoura *et al.*, 2019).

Les polysaccharides, comme ceux de la famille des Cactaceae, ont été empiriquement utilisés dans l'industrie alimentaire comme la nano- et micro-encapsulation des composés bioactifs et la super-plastification (de Campo *et al.*, 2018, Otálora *et al.*, 2018). Dans l'industrie pharmaceutique comme anti-ulcère, anti-inflammatoire, cytoprotecteur, hypocholestérolémiant (Aruwa *et al.*, 2018, Rodríguez-González *et al.*, 2014). Une teneur intéressante en polyphénols réduit le risque de cancer, des maladies cardiovasculaires et des maladies neuro-dégénératives comme l'Alzheimer (Feugang et Coll, 2006). De plus les fibres présentes dans la composition du cladode d'*Opuntia* peuvent réduire le risque de certains types de cancer, comme le cancer du côlon (Lanskyetel, 2008). D'autres études ont montré que les polysaccharides de cactus ont un

effet neuroprotecteur (Chen *et al.*, 2011), antifatigue et effet anti-inflammatoire (Schepetkin *et al.*, 2008 ; Valente *et al.*, 2010). Les espèces d'*Opuntia* sont actuellement consommées pour leurs propriétés nutritionnelles (les jeunes tiges appelés nopalitas) (Ruiz Pérez-Cacho *et al.*, 2006) et les tissus de ces cactus sont traditionnellement utilisés pour leur propriété pharmacologique notamment pour leur potentiel anti-ulcéreux et cicatrisant (Corrales Garcia *et al.*, 2006).

2.5/ Composition chimique de figue de barbarie

Les recherches scientifiques ont confirmé que les fruits et les cladodes de cactus peuvent être efficacement utilisés comme sources de nutriments et de produits phytochimiques. Toutes les parties de la plante de cactus sont riches en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques (El-Mostafa *et al.*, 2014).

Les fruits sont riches en vitamines, en acides aminés et en betalaines (Feugang *et al.*, 2006). Le jus de cladode contient une grande variété de composés antioxydants comme les polyphénols (en particulier certains flavonoïdes), la vitamine C et E, β -carotène (provitamine A), le glutathion (El kharrassi, 2015). La plante est composée d'acides aminés, d'acides organiques, de phénols, de flavonoïdes, de fibres alimentaires (Rosa *et al.*, 2017). Les principaux agents réducteurs d'*Opuntia ficus-indica* sont l'acide ascorbique, acide gallique, glucose, fructose, saccharose, cellulose, pectine, quérécétine (Poovathin thodiyil *et al.*, 2003). Les graines contiennent essentiellement d'arabinane dans l'endosperme et de D-Xylane dans leur peau (Feugang *et al.*, 2006). Au niveau de la graine, l'acide aminé prédominant est l'acide glutamique suivi par la leucine, la sérine, la lysine (Lee *et al.*, 2005).

Le fruit d'*Opuntia ficus indica* contient 180 à 300 mg/kg de vitamine C (Mobhammer *et al.*, 2006). La peau de fruit est riche en vitamine E avec des quantités allant jusqu'à 17,6 g/kg d' α -Tocophérol (El-Mostafa *et al.*, 2014). La pulpe de fruit contient des éléments minéraux en quantité relativement importantes, notamment le magnésium, le calcium et le potassium (Stintzing *et al.*, 2001). En effet, les acides gras polyinsaturé γ -linoléique et α -inolénique sont détectés dans les huiles de la pulpe de fruit en quantités plus élevées (Mobhammer *et al.*, 2006). Les figues de Barbarie sont riches en bétalaines qui sont généralement classées en deux groupes, les bétacyanines et les bétaxanthines, en fonction de leur structure caractéristiques et propriétés d'absorption de la lumière. Les bétacyanines sont responsables de la couleur rouge-violet et les bétaxanthines sont responsables du jaune-orange. Tous les bétalains sont basés sur une structure commune, unité d'acide bétalamique, qui se condense avec divers acides aminés ou des groupes

aminés libres ou des structures contenant de l'indoline pour former des bétaxanthines ou bêtacyanines, respectivement (Gandía-Herrero et GarcíaCarmona, 2013). Les figues de Barbarie, possèdent une forte teneur en phénols, les plus importants étant les dérivés flavonoïdes. Parmi les, on cite l'isorhamnetine (Santos-Zea *et al.*, 2011). Les figues de Barbarie contiennent aussi des polysaccharides naturels (mucilage), des protéines et des acides phénoliques notamment les acides hydroxybenzoïques, piscidiques et caféïques, ainsi que des dérivés d'acide férulique et piscidique qui ont été identifiés dans le jus du fruit de figue de barbarie (Stintzing *et al.*, 2015 ; Mata *et al.*, 2016). L'huile de cette espèce est une huile fluide, relativement inodore et de couleur qui varie d'une variété à l'autre, allant de jaune claire à verdâtre avec un rendement d'extraction relativement important (7.81 à 10.45 %) (El hachimi et Coll, 2015). Elle est riche en acides gras insaturés avec une teneur élevée en acide linoléique (Inglese et Coll, 2018).

Chapitre II :
Synthèse
bibliographique sur
les composés
phénoliques

1/ Introduction

Les polyphénols constituent une famille de molécules hydrosolubles largement présente dans le règne végétal représentant la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) (Serrano *et al.*, 2010). Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire. Ces phytonutriments sont utiles à la plante pour ses réactions de défense contre les attaques de l'environnement (Drewnoski *et al.*, 2000 ; Zem et Fernandez, 2005). Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, qui font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale.

Parmi les composés phénoliques appelés aussi aromatique les plus importants, citons les flavonoïdes (C6-C3-C6), les anthocyanes, les tannins condensés (C6-C3-C6)_n, les lignines (C6-C3)₂ et les lignines (C6-C3)_n. Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, la plupart possèdent au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbones et des hydroxyles sur leurs noyaux (*Figure 3*).

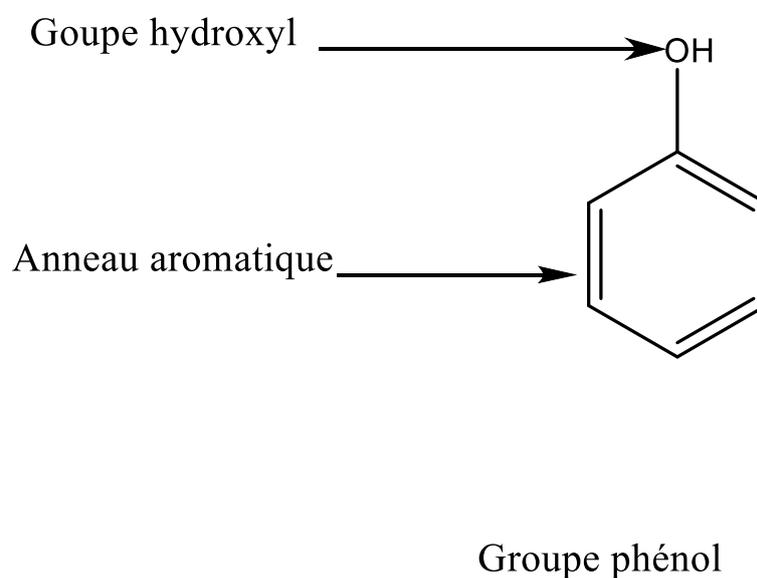


Figure 3 : Structure chimique des composés phénoliques (Quideau *et al.*, 2011).

2/ Classification

Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les reliait. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (Boros, 2010). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux. Selon (Manach *et al.*, 2004), les polyphénols sont réparties en plusieurs classes comme l'indique dans le **Tableau III**.

Tableau III : Principales classes des composés phénolique (Nkhili *et al.*,2009)

Classe	Nombre de C	Exemples /origine
Phénols simples	C6	Hydroquinine, catéchol
Acides phénols	C6-C1	Acide salicylique Acide p(OH) benzoïque
Acide cinnamique Coumarines Phénylpropènes	C6-C3	Acide caféique, férulique (Café-pomme) Esculetine, scopolétine (Citron) Eugénol (Giroflier)
Lignane	(C6-C3) ₂	Pinorésinol (pin)
Lignines	(C6-C3) _n	Bois, noyau des fruits
Flavonoïdes Isoflavonoïdes Anthocyanes	C6-C3-C6	Apigénine, lutéoline Quercétine (fruits) Génistéine (soja, pois) Pélagonidine, cyanidine et delphinidine (fleurs, fruits rouges)
Bi flavonoïdes	(C6-C3-C6) ₂	Amentoflavone
Proanthocyanes (tannins)	(C6-C3-C6) _n	Procyanidines Prodelphinidines (raisin rouge)

2.1/ Acides phénoliques C6-C1 et C6-C3 :

Le terme d'acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Bruneton 2009). Les acides phénoliques se scindent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques (C6-C1), et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3). Les coumarines sont aussi considérées comme des composés phénoliques ayant une structure de base de type benzo-2-pyrone (C6-C3) suite à une cyclisation interne de la chaîne latérale (Zeghad, 2018).

Tableau IV : Principaux dérivés d'acide benzoïque (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

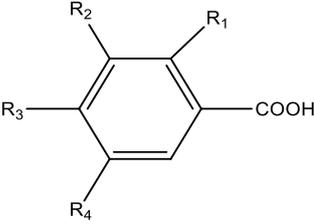
Structure	R1	R2	R3	R4	Composé
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentsique

Tableau V : Principaux dérivés d'acide cinnamique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

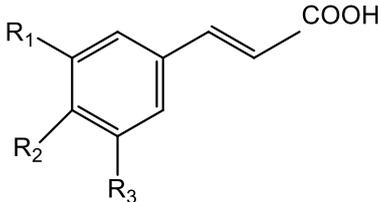
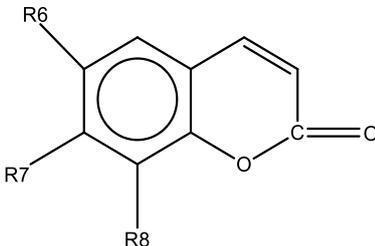
Structure	R1	R2	R3	Composé
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	H	Acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

Tableau VI : Principaux dérivés de coumarines (Macheix *et al.*, 2005).

Structure	R6	R7	R8	Composé
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH ₃	OH	H	Scopolétol
	OCH ₃	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétole

2.2/ Flavonoïdes (C6-C3-C6)

Actuellement, environ 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grünhage, 2003), Et ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane, ce qui est synonyme avec la structure 2- phényle chromane, composés de deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone, qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (**Figure 4**) (Yao *et al.*, 2004). Ces molécules ont un rôle important dans la santé humaine, grâce à leurs diverses propriétés biologiques importantes : pouvoir antioxydant, inhibition de la peroxydase lipidique, activité anti-inflammatoire...etc. (Alcaraz *et al.*, 2000 ; Rodriguez Vaquero *et al.*, 2007).

Les principales classes des flavonoïdes sont : les flavonols les flavones, les flavanones, les flavan-3-ols, les isoflavones et les anthocyanes, ils varient dans leurs caractéristiques structurales par la diversité fonctionnelle autour de l'oxygénation de l'hétérocycle (Sadasivam *et al.*, 2003).

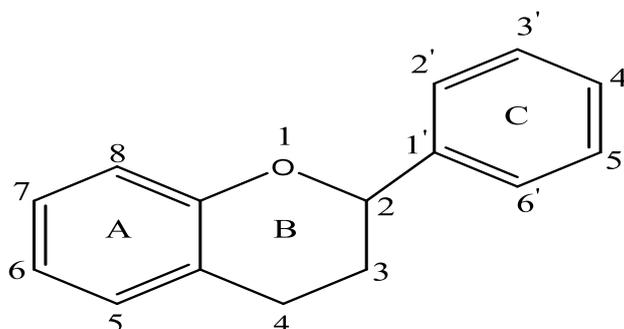
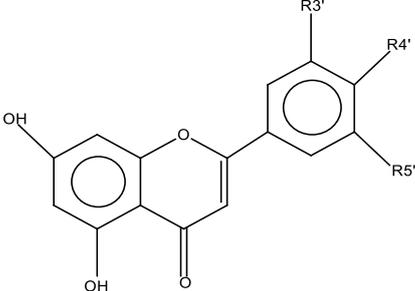
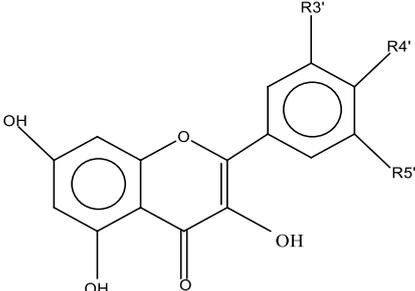
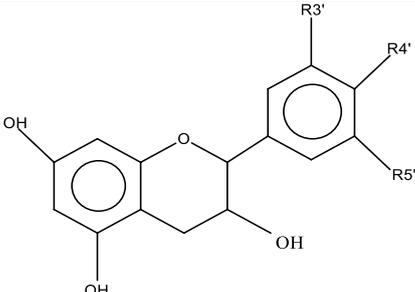
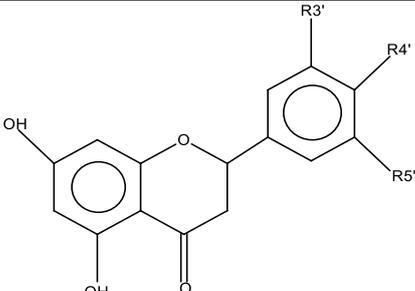


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Sadasivam *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs classes (*Tableau VII*) notamment les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (Sadasivam *et al.*, 2003). Cette classification a été basée sur la nature des substitutions R5 et R7 du cycle A, la nature des groupements R3', R4' et R5' du cycle C ou bien le degré d'oxydation et la diversité fonctionnelle au niveau des positions 2, 3 et 4 du cycle.

Tableau VII : Principales classes des flavonoïdes (Narayana *et al.*, 2001 ; W-Erdman *et al.*, 2007).

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine

		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R₅	R₇	R_{4'}	
		OH	OH	OH	Genistéine
		H	O-Glu	OH	Diadézine

2.3/ Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques qui peuvent être caractérisés par présence de groupes hydroxyle liés au cycle benzénique, en plus d'avoir d'autres groupes contenus dans leur structure, tels que certains acides organiques et sucres (de Hoyos-Martínez *et al.*,2019 ; De Middeleer *et al.*,2015). Ce sont des composés phénoliques ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da et qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, Il a été rapporté que les tanins peuvent agir comme une résistance naturelle au feu pour aider à la survie des arbres (Tributsch *et al.*,2008). C'est principalement attribué à leur réactivité similaire au phénol, les radicaux phénoxy pourraient éteindre les radicaux libres d'oxygène lorsque le polymère est décomposé pendant le chauffage (Kim *et al.*,2019). En outre, les tanins ont une efficacité de production élevée de charbon lors de la combustion (55% de charbon pour le condensé tanin et 28% de charbon pour l'acide tannique) (Nam *et al.*,2017). Ils sont généralement divisés en deux groupes : hydrolysables et tanins condensés et peuvent être trouvés dans tout le règne végétal (de Faria *et al.*, 2016, Grasel *et al.*,2016).

2.3.1/ Tanins hydrolysables

Selon leur structure, les tanins hydrolysables sont classés en trois sous-classes : dérivés simples d'acide gallique, gallotannins et ellagitannins. Contenant des glucoses ou des polyols centraux liés à un ou plus de fragments galliques ou ellagiques (Shimozu *et al.*, 2017). Donc L'hydrolyse des gallotannins donne de l'acide gallique tandis qu'ETs donne de l'acide ellagique. Les structures chimiques des acides galliques et ellagique. Les dérivés simples de l'acide gallique sont composés de cinq groupes galloyle ou moins qui sont estérifiés en glucose ou en acide quinique. Exemples comprennent le 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-b-D-glucose, sont représentés sur la (**Figure 5**) (Amarowicz *et al.*, 2018).

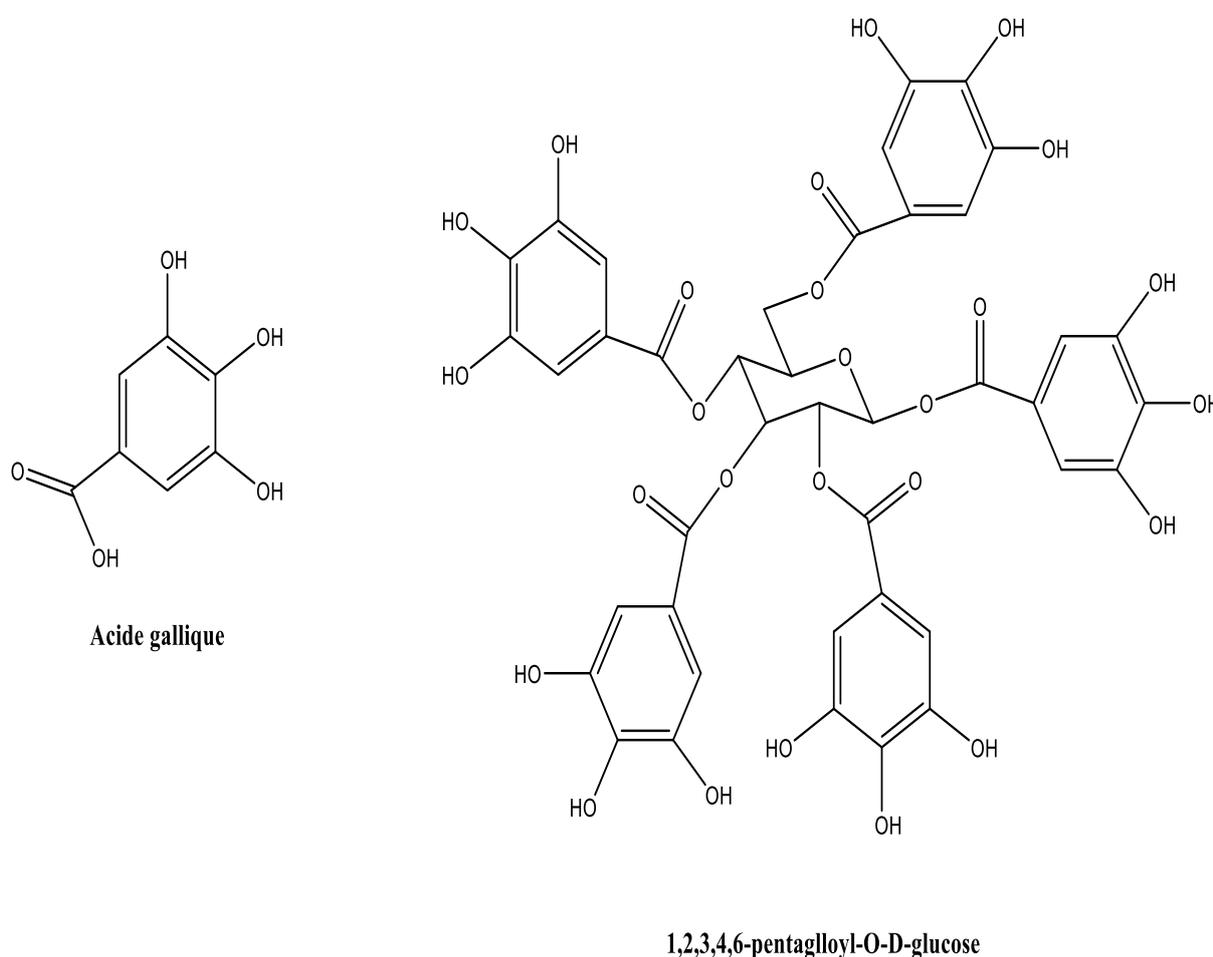


Figure 5 : Structure des tannins hydrolysable (cas d'acide gallique) (Amarowicz *et al.*, 2018).

2.3.2/ Tanins condensés (C6-C3-C6)_n

Tanins condensés (flavan-3-ols) : ce sont des produits de la polymérisation de flavan 3-ols (catéchines) et flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines).

Ils sont aussi désignés aussi sous le nom de « tanins catéchiques » et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Nkhili, 2009). Ces molécules peuvent exister sous forme d'oligomères composées de deux à dix monomères unités. La solubilité de cette classe de tanins est liée à leur structure : dans la forme de flavonoïdes polymères, ils ont limité à aucune solubilité dans l'eau, tandis que sous forme oligomère. Les unités flavan-3-ol peuvent avoir structures différentes selon le type de cycle A et B présent dans leur structure (**Figure 6**), qui contiennent souvent des liaisons covalentes avec la catéchine et l'épicatéchine (Chai *et al.*, 2018). Où de telles combinaisons peuvent conduire à différentes structures de tanins condensés (Sartori *et al.*, 2014). En raison de leur nature, les composés eux-mêmes présentent des activités antioxydants. Compte tenu de l'application potentielle.

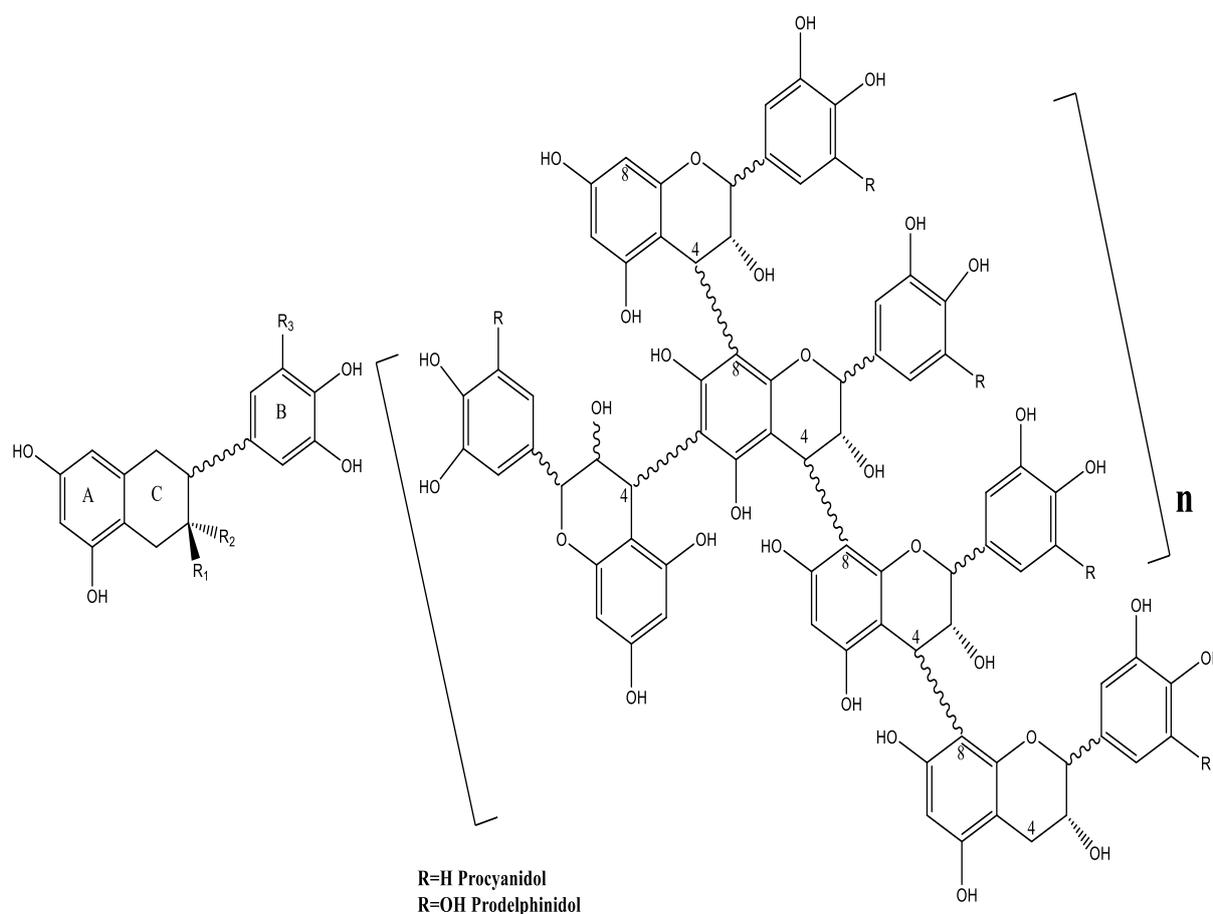


Figure 6 : Structure des tanins condensés (cas de tanins condensés à base de flavan-3-ols) (Chai *et al.*, 2018).

2.4/ Lignines (C6-C3)_n

La lignine, un composant structural des plantes lignocellulosiques, est une matière première alternative avec un énorme potentiel pour remplacer les ressources fossiles décroissantes pour la production durable de nombreux produits chimiques et matériaux. Malheureusement, la lignine hétérogénéité, faible réactivité et fortes interactions hydrogène intra et intermoléculaires et les modifications introduites au cours du processus de mise en pâte présentent des défis techniques importants. Cependant, la capacité croissante d'adapter la lignine voies de biosynthèse en ciblant les enzymes et la découverte continue de des biocatalyseurs plus robustes permettent la synthèse de nouveaux produits précieux. Ces composés de haut poids molécules contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation (copolymérisation) de trois alcools phénylpropéniques (Weiss *et al.*,2020). (**Figure 7**) (Sainvitu *et al.*, 2012).

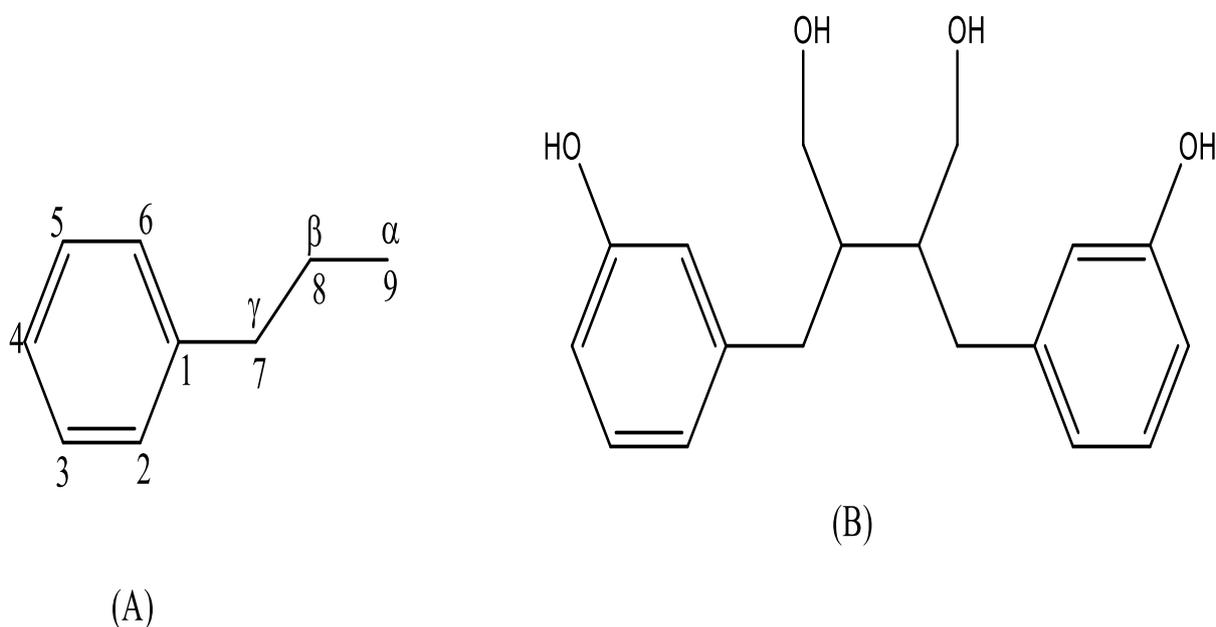


Figure 7 : Structure chimique d'une unité de phénylpropanoïde (C6-C3) (A) et d'un lignane(B) (Sainvitu *et al.*, 2012).

3/ Biosynthèse des composés phénoliques

Les biosynthèses du noyau aromatique est un des processus fondamentaux de la biochimie végétale. La biogenèse du noyau aromatique est apparue au cours de l'évolution de la plante puisque la photogenèse fait appel à trois acides aminés aromatiques. Nous allons parcourir les différentes étapes de biogenèse du noyau aromatique, appelée également cyclogenèse ou voie de l'acide shikimique. Il existe une seconde voie de biosynthèse plus fréquente chez les bactéries, champignons et plantes inférieures, qui consiste à réaliser un ensemble de noyaux aromatiques par cyclisation des chaînes polycétoniques, elles même obtenues par condensation de groupements acétates (Merghem,2008).

3.1/ Voie de Shikimate

La voie de Shikimate (**Figure 8**) appartient au métabolisme primaire ; C'est la voie de biosynthèse des composés aromatiques notamment les acides aminés aromatiques, parmi lesquels le précurseur du métabolisme des phénylpropanoïdes ; la phénylalanine. La voie de shikimate, appelée également la voie de phénylpropanoïde (**Figure 9**) (Sainvitu *et al.*, 2012), joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme et conduit à la formation de nombreux composés phénoliques. La phénylalanine issue de la voie de shikimate marque l'entrée à la voie de phénylalanine suite à sa conversion en acide cinnamique par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) ce qui constitue ainsi le point de départ de la synthèse des principaux métabolites notamment ; les acides phénoliques simples, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, des coumarines, des tanins condensés et des polymères de lignines (Sainvitu *et al.*, 2012).

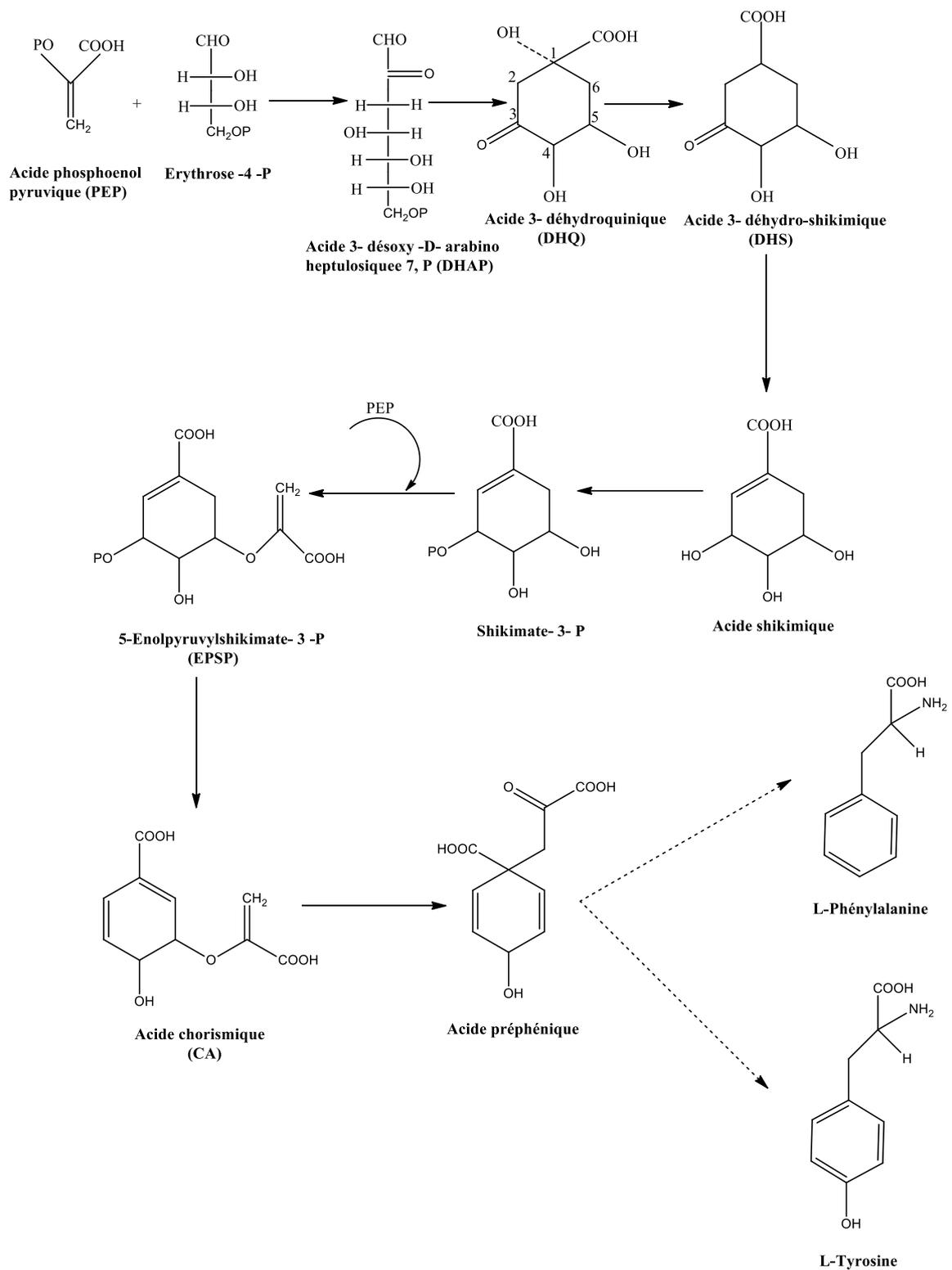


Figure 8 : Voie de biosynthèse de Shikimate (Sainvitu *et al.*, 2012)

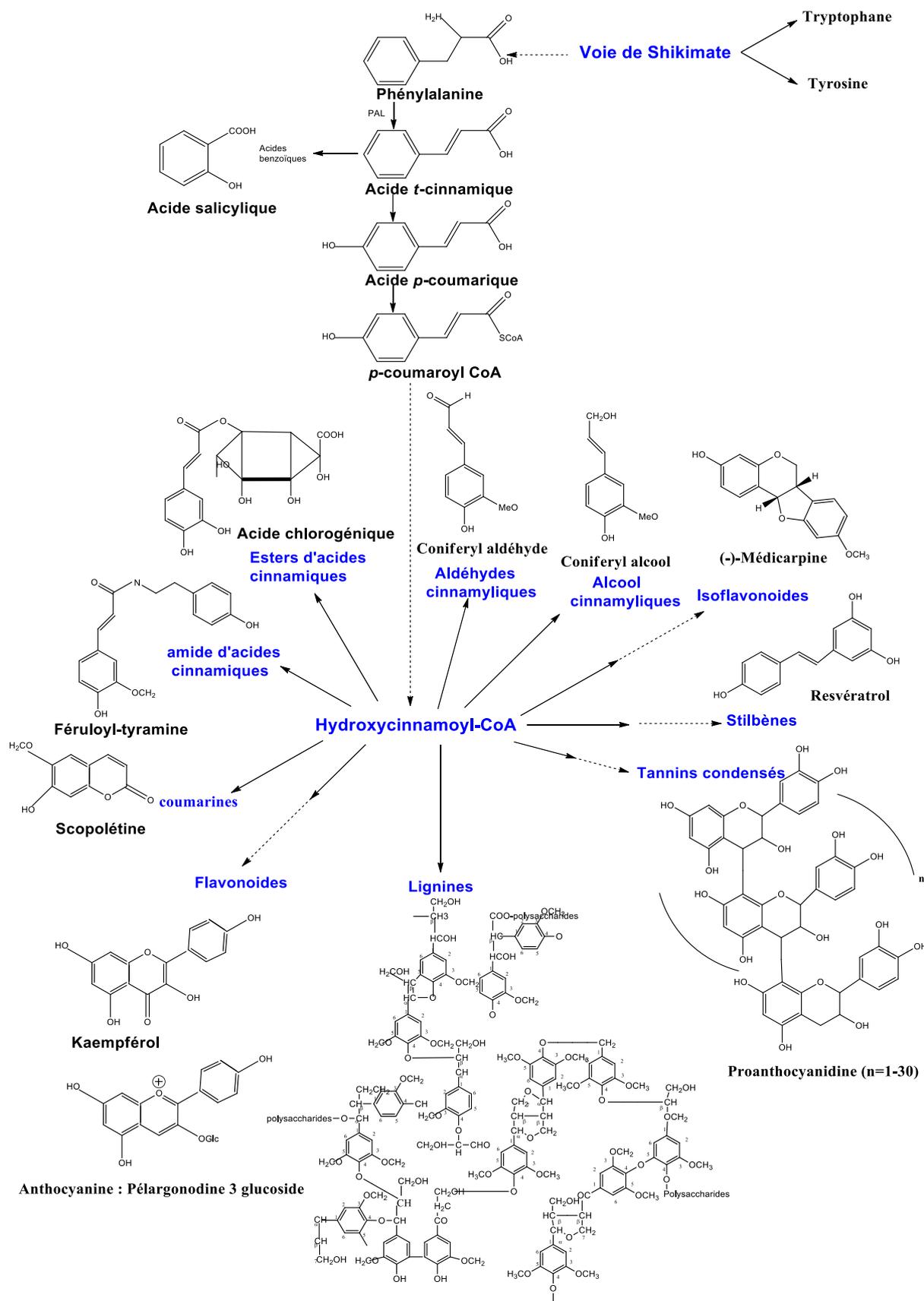


Figure 9 : Voie de biosynthèse de phénylpropanoïde (Sainvitu *et al.*, 2012)

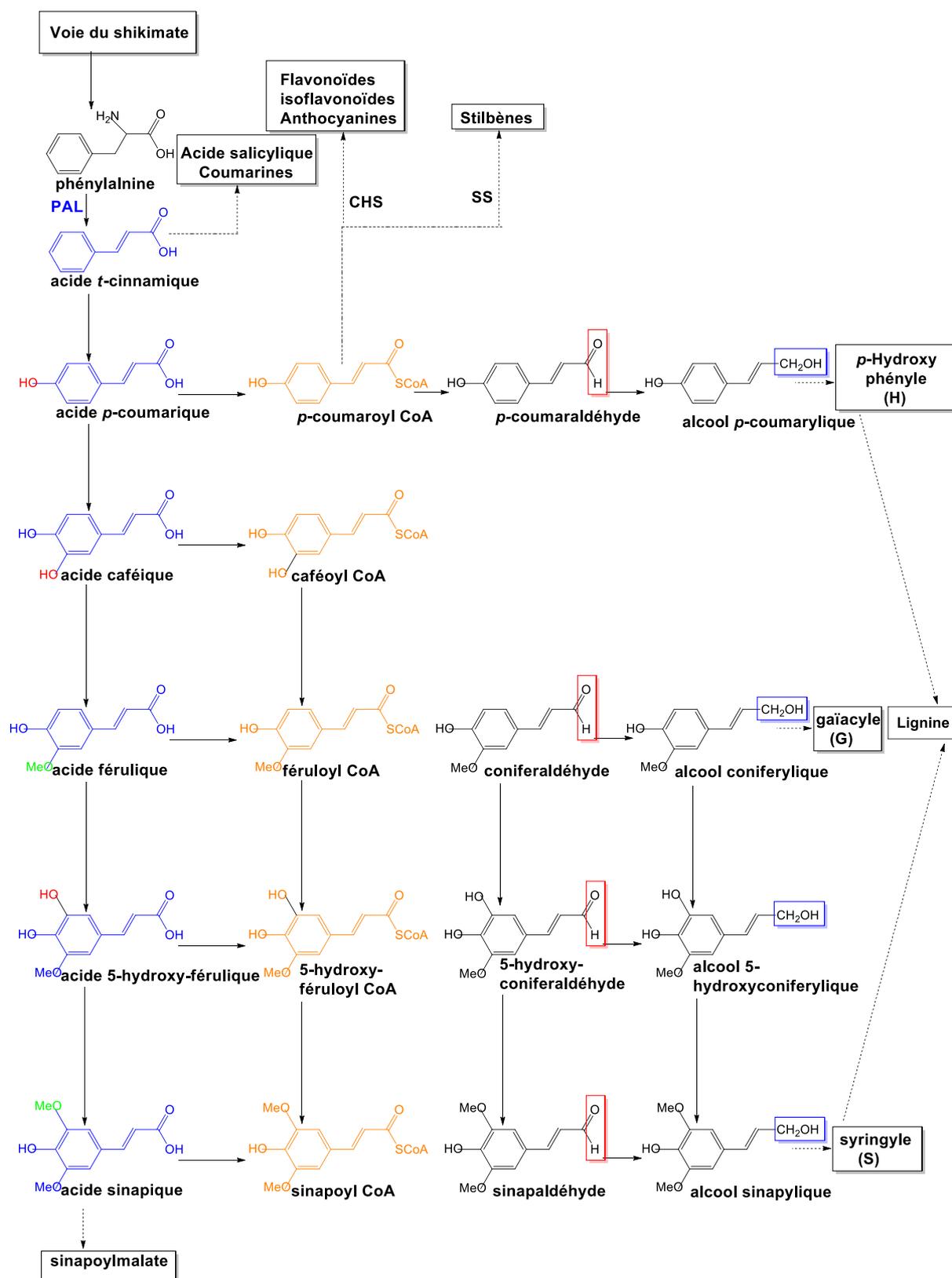


Figure 10 : Représentation simplifiée du métabolisme des phénylpropanoïdes (Sainvitu *et al.*, 2012).

3.2/Voie d'acétate malonate :

Les composés phénoliques sont également formés par la voie d'acétate malonate suite à une condensation de 2 malonylCoA et une molécule d'acétylCoA qui donne une chaîne latérale, cette dernière se cyclise pour donner naissance au noyau A (*Figure 11*). La voie d'acide shikimique et celle d'acétate malonate se condensent pour donner naissance à une voie mixte responsable de la biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes.

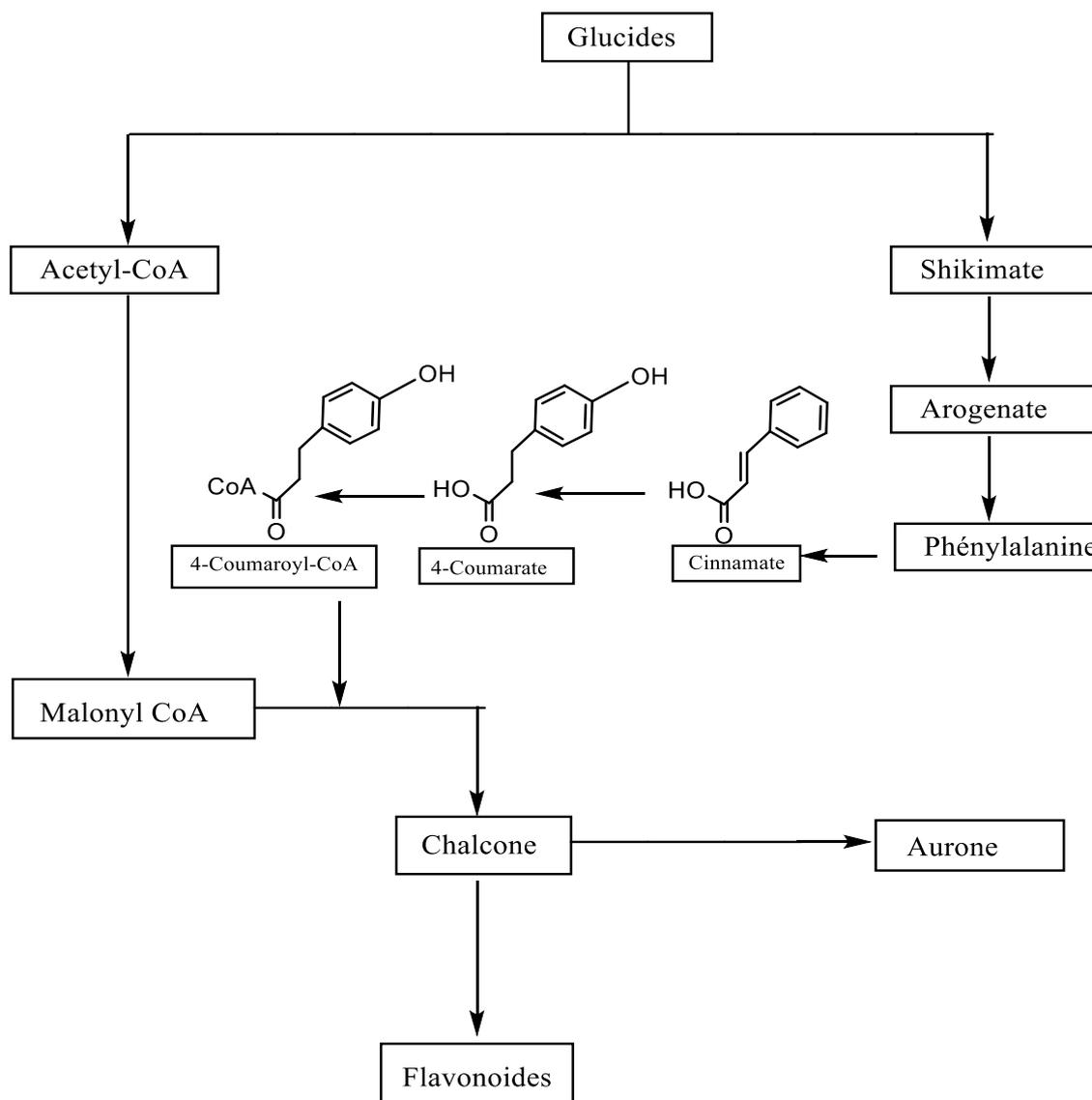


Figure 11 : Condensation de la voie d'acide shikimique et de malonate (Hoffman *et al.*, 2004).

3.3/ Voie mixte de biosynthèse des flavonoïdes

La phénylalanine ammonialyase (PAL) permet d'obtenir l'acide cinnamique qui deviendra acide *p*-coumarique après action de la cinnamate 4-hydroxylase. La réaction de condensation d'une unité de propanoïde avec trois unités de malonyl-CoA sous l'action de la chalcone synthase conduit à l'obtention de chalcone, cette dernière est par la suite considérée comme une intermédiaire caractéristique de la synthèse de différents flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (cycle A en C₆ et cycle B en C₆ reliés par une chaîne en C₃) parce qu'ils ont la même origine de biosynthèse, cette dernière se fait à partir d'un précurseur commun ; 4, 2', 4', 6'tétrahydroxychalcone, qui est métabolisé en présence de chalcone isomérase en flavanone, ensuite sous l'action de flavone synthase le flavanone se transforme en flavone. En présence de flavonol synthase ou dihydroflavonol-4-réductase le dihydroflavonol se métabolise en flavonol ; kaempférol ou bien flavan 3, 4 diol, ce dernier qui semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidol (**Figure 12**) (Winkel-Shirley *et al.*, 2001 ; Subsamanian *et al.*, 2007).

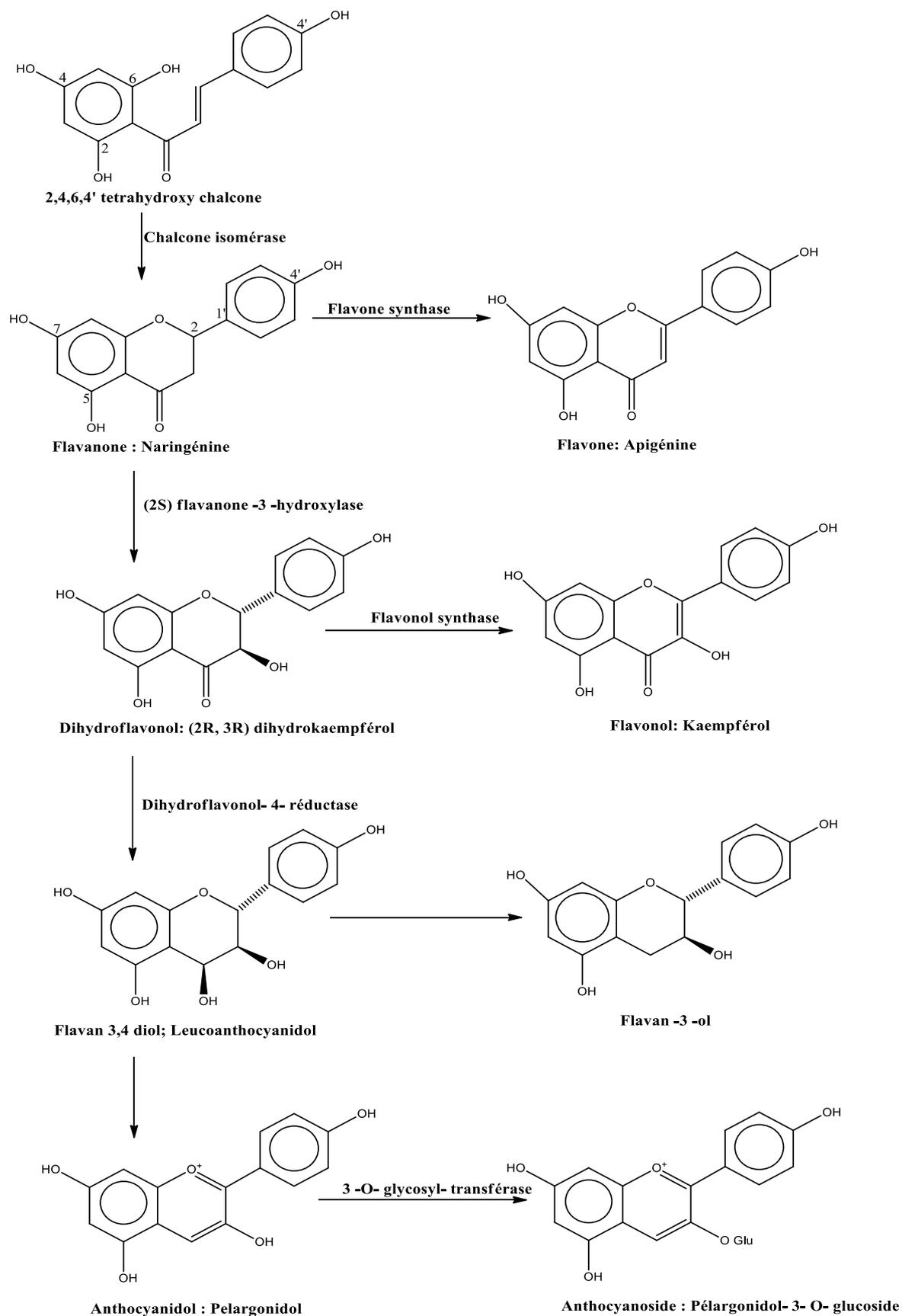


Figure 12 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Winkel-Shirley,2001 ; Subsamanian *et al.*, 2007).

4/ Activités biologiques des composés phénoliques

4.1/ Activité antioxydante chez les végétaux

Les plantes, comme tous les êtres vivants, ont à se défendre contre les agressions de l'oxygène. Pour ce faire, elles ont développé tout un ensemble de substances, dont certaines ont pérennisé jusqu'à dans le règne animal, tandis que d'autres constituent aujourd'hui des originalités propres aux végétaux. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Elles disposent de moyen de défense, les uns sont d'origine endogène, comme des enzymes, et d'autres sont apportés par l'alimentation, la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (ascorbate), la vitamine Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piègeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. Ce type d'antioxydant est appelé piègeur (« scavenger » pour les Anglo-saxons). De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes.

Les systèmes enzymatiques intervenant selon ce mécanisme présentent un fonctionnement en chaîne. Les enzymes impliquées sont ; la superoxydedismutase (SOD), une enzyme cupro-dépendante qui élimine le radical superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène, la glutathion peroxydase et la catalase, qui éliminent le peroxyde d'hydrogène, la glutathion réductase qui régénère le glutathion réduit, et la glucose-6-phosphatase qui fournit les liaisons riches en énergie nécessaires au fonctionnement de la chaîne de réactions (Mergham, 2008).

4.2/ Définition d'un antioxydant

Les antioxydants sont les substances qui inhibent l'oxydation. Ils sont d'ailleurs reconnus comme « libres radicaux piègeurs » car ils forment des espèces réactives mineures via les radicaux. Selon leur origine, ils sont classés en deux types : antioxydants exogènes et endogènes. Un antioxydant réduit l'apparition de différents troubles comme : le vieillissement, le cancer, le diabète, l'inflammation, les maladies du foie, les maladies cardiovasculaires, cataracte et néphrotoxicité et troubles neurodégénératifs. (Neha *et al.*, 2019). Les paramètres du système antioxydant participent à la détoxification des ROS et ont une fonction pertinente dans la régulation du stress oxydatif une fois l'apport d'autres antioxydants les composés sont épuisés (Alexander *et al.*, 2019). Catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GPX), la glutathion réductase (GR) et le glutathion non enzymatique (GSH) sont considérés

antioxydants les plus efficaces. Ces paramètres en tant que charognards ont des fonctions vitales dans l'élimination des espèces toxiques d'oxygène et de xénobiotiques. Par conséquent, ils sont fréquemment utilisés comme biomarqueurs en raison de leur réponse sensible afin d'évaluer la toxicité sous conditions de stress physiologiquement nuisibles (Di Giulio et Meyer, 2008). La neutralisation des radicaux libres passe par deux fondamentaux mécanismes, c'est-à-dire (1) le mécanisme HAT (transfert d'atomes d'hydrogène), qui consiste en la séparation de l'atome d'hydrogène de l'hydroxyle groupe et la formation du radical phénoxy ; et le SET (single mécanisme de transfert d'électrons) consistant à transférer l'électron du groupe hydroxyle au radical et formant le radical cation phénoxy. Les radicaux phénoxy résultants diffèrent en fonction de la structure du composé phénolique, et peut subir un réarrangement et réagir les uns avec les autres, créant ainsi des formes plus sûres pour les cellules (Rico *et al.*, 2017 ; Quideau *et al.*, 2011).

Ces dernières années, composés phénoliques liés et leurs fortes capacités antioxydantes ont reçu une plus grande attention (Arruda *et al.*, 2018). Des antioxydants naturels, tels que extraits de polyphénols et de polypeptides, ont été capturés par les chercheurs esprits et sont de plus en plus explorés dans les conservations alimentaires en raison de leurs impacts positifs sur la santé des consommateurs (Zhou *et al.*, 2019). En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et un nouveau souffle vers l'exploitation des métabolites secondaires en général et les polyphénols en particulier à la fois dans la santé et dans l'industrie la nourriture (Salehi *et al.*, 2019). Ces composés, qui sont représentés par la famille des flavonoïdes, sont très recherchés pour leurs propriétés : antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti cancérogène (Karak 2019 ; Rengasamy *et al.*, 2019).

4.3/ Principaux antioxydants

4.3.1/ Antioxydants synthétiques

A cause de l'instabilité inhérente des antioxydants naturels, on utilise plusieurs antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tetra-butylhydroquinone (TBHQ) pour stabiliser les matières grasses et les huiles (Porter, 1980). Ces composées sont cependant utilisés depuis 1954 comme antioxydants dans les aliments destinés à la consommation humaine et ce sont peut être les plus répandus aujourd'hui (Sherwin, 1976). D'après l'institut national du cancer en 1979, L'usage de BHA

dans les aliments pour les humains et la nourriture pour animaux suscite des inquiétudes. Lorsqu'ils sont absorbés en concentrations élevées.

4.3.2/ Antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant *in vivo*. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Cort, 1974).

4.4/ Protections cellulaires (pouvoir antioxydant)

4.4.1/ Systèmes antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants (*Figure 13*) les plus efficaces chez l'homme ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase. 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 (Delattre *et al.*, 2005). D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine reductase, glutathion transferase...etc.

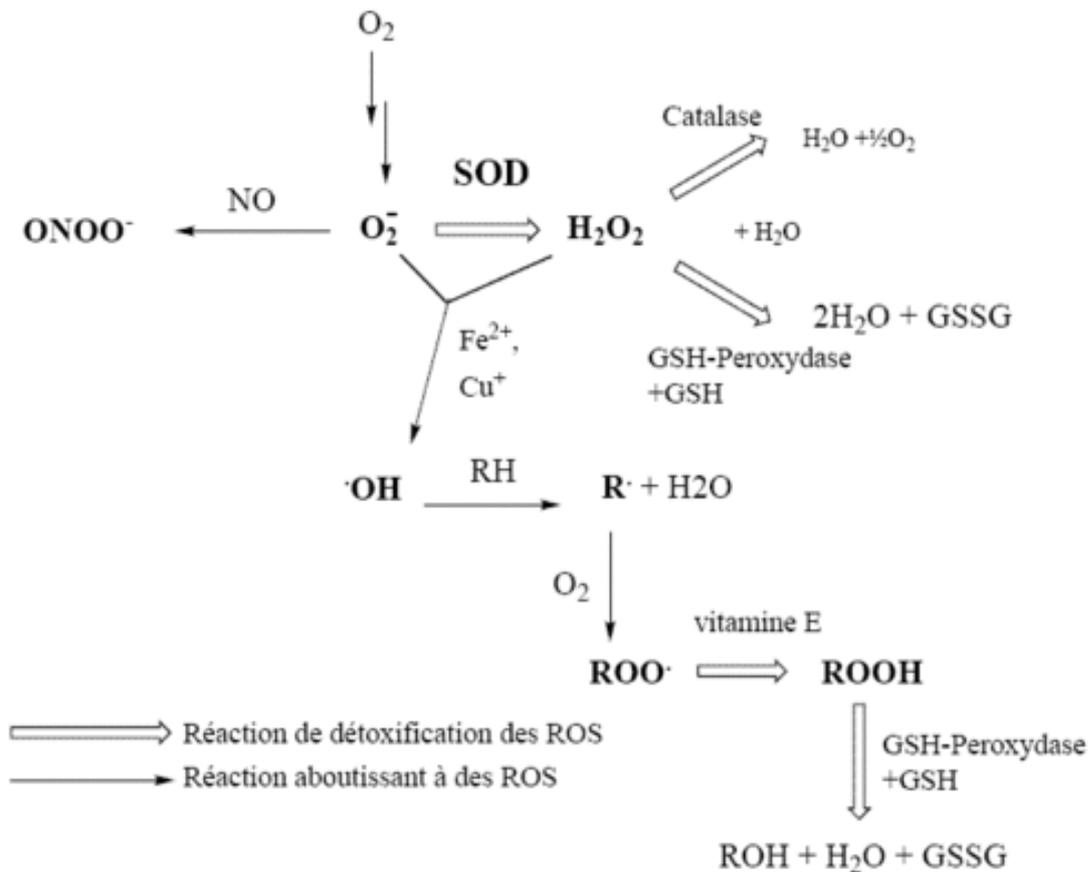


Figure 13 : Réaction de détoxification du radical-anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène (Hennebelle, 2006).

4.4.2/ Systèmes antioxydants non-enzymatiques

4.4.2.1/ 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 HO, RO₂, RO, 1O₂, 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 (McCall et Frei, 1999 ; Masella *et al.*, 2005 ; Delattre *et al.*, 2005). Les deux formes, oxydée et réduite, de l'acide lipoïque, autre composé appartenant aux thiols, présentent des propriétés antioxydantes in vitro en piégeant les HO•, RO₂•, HOCl et 1O₂. 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 (Packer *et al.*, 2001 ; Smith *et al.*, 2004).

L'acide urique, présent sous forme urate à pH physiologique, possède des propriétés antioxydantes *in vitro* contre les HO• et RO₂•, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine (Delattre *et al.*, 2005).

4.4.2.2/ Systèmes antioxydants exogènes

Les antioxydants chimiques exogènes, eux, comprennent majoritairement les vitamines C et E, les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall et Frei, 1999).

4.4.2.2.1/ vitamine C (Acide ascorbique)

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 (Retsky *et al.*, 1999). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH⁻) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AscH•), stabilisé par résonance (Valko *et al.*, 2006). 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 (SeonHwa *et al.*, 2001 ; Valko *et al.*, 2006).

4.4.2.2.2/ Vitamine E

Elle est de bons antioxydants alimentaires, mais surtout son rôle physiologique chez l'homme, comme protecteur des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. Elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO•.

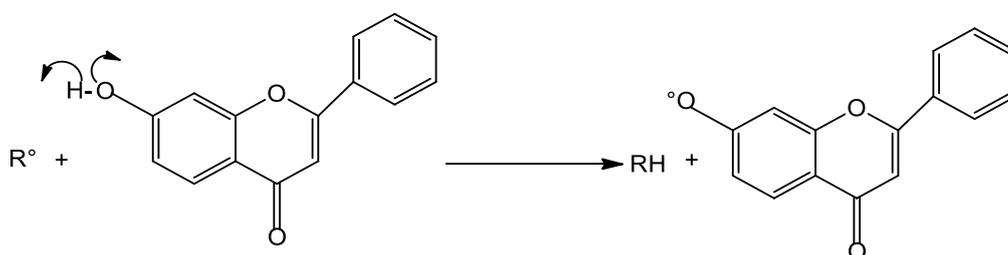
4.4.2.2.3/ Caroténoïdes

Sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. 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 ROO•, HO•, O₂•⁻, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singlet (Valko *et al.*, 2006).

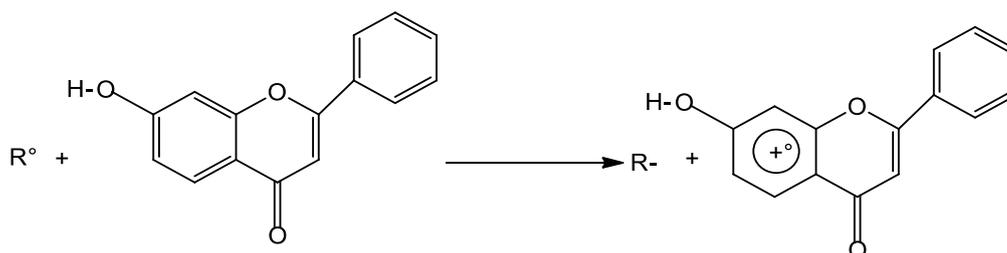
4.4.2.2.4/ Composés phénoliques

Particulièrement, les flavonoïdes, sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur capacité à neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à éclater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (*Figure 14*) (Leopoldini *et al.*, 2011).

Transfert de proton (HAT)



Transfert d'électron (SET)



Chélation des ions métaux de transition

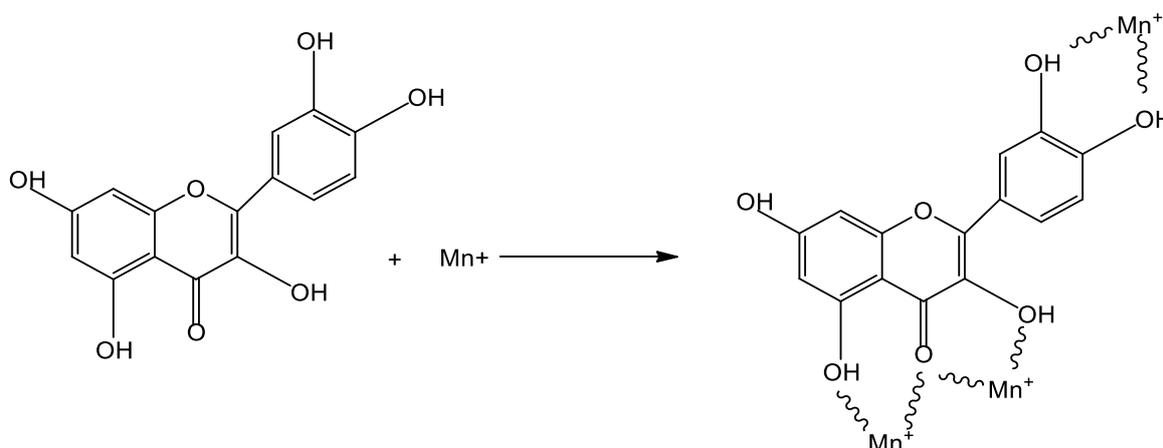


Figure 14 : Mécanismes d'actions antioxydantes des composés phénoliques (Leopoldini *et al.*, 2011).

4.5/ Activité cicatrisante des composés phénoliques

La cicatrisation des plaies est un événement multidimensionnel qui implique divers processus de régulation physiologique. Une fois endommagée, la peau disparaît à travers une série de phases qui se chevauchent, y compris l'hémostase, l'inflammation, et prolifération, remodelage (Park *et al.*, 2018 ; kang *et al.*,2018). Pendant la phase d'inflammation, pour se protéger contre les microbes envahisseurs, les neutrophiles sont catalysés et les protéases et l'oxygène réactif espèces (ROS) sont libérés au site de la plaie. Cependant, le une surproduction de ROS pourrait entraver le processus de cicatrisation des plaies car il pourrait provoquer de graves dommagesaux cellules telles que fibroblastes qui sécrète du collagène et des glycosaminoglycanes qui sont bénéfiques pour le remodelage de la structure des tissus pour la réparation des plaies. Pour résoudre ce problème, le matériau antioxydant a été fréquemment utilisé pour le traitement et la prise en charge des plaies comme sa capacité à réduire effets négatifs des plaies en supprimant les ROS générés et favoriser la cicatrisation des plaies (Süntar *et al.*, 2012). Jusqu'à présent, les plus populaires les antioxydants utilisés pour la cicatrisation des plaies comprennent les phénols (Tsai *et al.*, 2016 ; Yadav *et al.*,2017) et les flavones (Tsai.Y *et al.*, 2019), comme la curcumine (Liu *et al.*,2018 Huang *et al.*, 2016), le polyphénol de thé (Romana-Souza *et al.*,2015 ; Shahrahmani *et al.*,2018) et ainsi de suite (Zhang *et al.*,2020).

L'acide férulique est un composé phénolique naturel et un excellent antioxydant. L'étude visait à étudier les effets de l'acide férulique dans l'épithélium cornéen soumises à un stress oxydatif et évaluer la faisabilité de l'utilisation du thermosensible à base de chitosane hydrogel contenant de l'AF pour la cicatrisation des plaies cornéennes. Les résultats ont démontré que le post-traitement de l'acide férulique sur les épithéliums cornéens pourrait diminuer le niveau d'inflammation et l'apoptose. Dans le modèle de brûlure alcaline cornéenne du lapin. L'hydrogel chargé en acide férulique après le traitement peut favoriser la cicatrisation des plaies cornéennes. Les résultats de l'étude suggèrent cet hydrogel chargé de l'acide férulique peut avoir des applications potentielles dans le traitement des brûlures alcalines cornéennes (Tsai *et al.*, 2016).

L'antioxydant enzymatique et marqueurs inflammatoires. Phénolique total et la teneur en flavonoïdes et la présence d'acide chlorogénique, d'acide proto-catéchique, acide caféique et acide férulique sont considérablement accéléré le processus de cicatrisation des plaies en fonction de la dose dans les deux modèles de plaies, mis en évidence par le taux plus rapide de contraction de la plaie. Une activité antioxydante in vivo efficace en réduisant le stress oxydatif dans zone de la plaie en raison de la présence de molécules biologiquement actives, sous forme

de composés phénoliques et flavonoïdes, ce qui a finalement provoqué une synergie effet dans la réparation des plaies. Les lésions tissulaires, en particulier au niveau des organes barrières, tels que la peau, Par conséquent, le processus d'inflammation agit comme une partie cruciale de la cicatrisation des plaies pour éviter la croissance d'agents pathogènes dans la région de la plaie, ce qui conduit à éviter une infection et, finalement, augmenter le nombre de cellules fibroblastiques le long avec formation de collagène (Brockmann *et al.*,2017 ; Yuniarti *et al.*,2017). Donc les contenants des composés bioactifs, tels que les composés phénoliques et flavonoïdes qui sont responsables des antioxydants, antibactériens et effet anti-inflammatoire (Hernandez-Hernandez *et al.*,2017), sont considérablement accéléré le processus de cicatrisation des plaies. Il a été signalé que les plantes contenant une abondance phénolique et les composés flavonoïdes ont un fort potentiel pour agir comme antioxydant, antibactérien et anti-inflammatoire, qui favorise la réparation des tissus endommagés (Ammar *et al.*, 2015 ; Zahra *et al.*, 2011).

Partie
expérimentale

*Matériel et
méthodes*

1/ Matériel végétal

Le matériel végétal obtenu de source naturel est constitué des écorces des fruits matures de grenade (*Punica granatum* L.) et de figue de barbarie (*Opuntia ficus indica* L.) et Les fruits ont été lavés abondamment avec de l'eau du robinet, rincés à l'eau distillée et séchés à l'air libre. La partie sélectionnée de chacun des fruits (**Tableau VIII**) a été séchée à l'air libre et à l'ombre. Le matériel végétal sec a été transformé en poudre à l'aide d'une broyeuse électrique et stockés à basse température dans des bocaux en verre ambrés et fermés hermétiquement jusqu'à extraction.

Tableau VIII : Caractérisation du matériel végétal d'étude.

Espèce	Partie végétative utilisée	Période de récolte
<i>Punica granatum</i> L (Grenadier)	Ecorce du fruit (Grenade)	Octobre 2019
<i>Opuntia ficus-indica</i> L (Figuier de Barbarie)	Ecorce du fruit (Figue de Barbarie)	Octobre 2019

2/ Méthode d'extraction

Le procédé d'extraction a été réalisé selon la méthode décrite par (Babero *et al.*,2008 et Ma *et al.*,2009). Les poudres des déchets de fruits broyés (25 g) ont été extraites par macération par le système solvant méthanol / eau (70/30) (3x500 ml) sous agitation magnétique. L'extraction est assistée par ultrasons (Fisher scientific fb 15046, Leicestershire, Angleterre) pendant 30 minutes à une température ambiante, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les extraits combinés et filtrés sur papier filtre ont été concentrés dans un évaporateur rotatif sous vide à une température <40°C (Buchi R-200, Medellin, Colombia). Les extraits obtenus, sont stockés à basse température (-25°C) jusqu'à analyse.

3/ Analyses quantitatives par spectrophotométrie (UV-Visible)

3.1/ Dosage des phénols totaux (PT)

La teneur en phénols totaux est déterminée par spectrophotométrie UV-Vis, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) lors de l'oxydation des phénols dans une solution alcaline en mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) qui se traduit par une coloration bleu foncé (Vuorela, 2005).

Pratiquement, 1 ml d'extrait aqueux est ajouté à 5 ml du réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois par de l'eau distillée. Une solution (4 ml) de carbonate de sodium Na_2CO_3 (0,7 M) est ensuite ajoutée. Après agitation les tubes ont été stockés à l'obscurité pendant 2 heures, après cette période l'absorbance est lue à 765 nm sur un appareil (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). La teneur des phénols totaux est déterminée à partir d'une équation de régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage (voir annexe) établie avec l'acide gallique (0-0,1 mg/ml) et exprimée en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g extrait) (Adesegun *et al.*, 2007).

La teneur des phénols totaux est calculée par la formule suivante :

$$T=C.V/M$$

T : représente le total des composés polyphénoliques (g Equivalent Acide Gallique/g d'extrait sec ; g GAE/g d'extrait)

C : concentration des phénols totaux, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : le volume de l'extrait (ml)

M : poids de l'extrait sec (g).

3.2/ Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes contenus dans les extraits des plantes étudiées sont estimés par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Ayoola *et al.*, 2008). Pratiquement, 1 ml d'une solution éthanolique d' AlCl_3 (2%) a été ajouté à 1 ml de chaque extrait aqueux des plantes étudiés. L'intensité de la couleur est mesurée à la longueur d'onde de 420 nm après 30 minutes d'incubation à une température ambiante (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). Une gamme étalon (voir annexe) à base de quercétine (0-0,1 mg/ml) est également préparée dans les mêmes conditions. La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est exprimée en mg équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g extrait sec).

3.3/ Dosage des flavonols totaux

La quantification des flavonols a été réalisée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) additionné d'une solution d'acétate de sodium (Oyedemi *et al.*, 2010). Pratiquement, 2 ml d'une solution d' AlCl_3 (2%), et 3 ml d'une solution d'acétate de sodium (50g/l) sont ajoutées à 2 ml d'ELF. Les tubes à essais sont ensuite incubés à 20°C à l'obscurité pendant 2h et demi. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 440 nm par spectrophotomètre UV-Vis (Spectroscan 60DV UV/Vis spectrophotometer, Agilent Technologies). Une gamme étalon de quercétine (0-0,1 mg/ml) a été préparée dans les mêmes conditions afin de quantifier la teneur des flavonols (voir annexe).

4/ Evaluation des activités biologiques

4.1/ Activité antioxydante au DPPH

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des différents extraits en raison de sa capacité à produire des radicaux libres stables et la simplicité de l'analyse (Benhammou *et al.*, 2007). La présence des radicaux libres DPPH• dans la solution donne lieu à une coloration violette foncée à la longueur d'onde de 515 à 520 nm (Benhammou *et al.*, 2007). Les antioxydants réduisent le DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), par conséquent la couleur vire du violet vers le jaune (**Figure 15**) (Thomas, 2011). Ainsi, l'intensité de la couleur violette est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu.

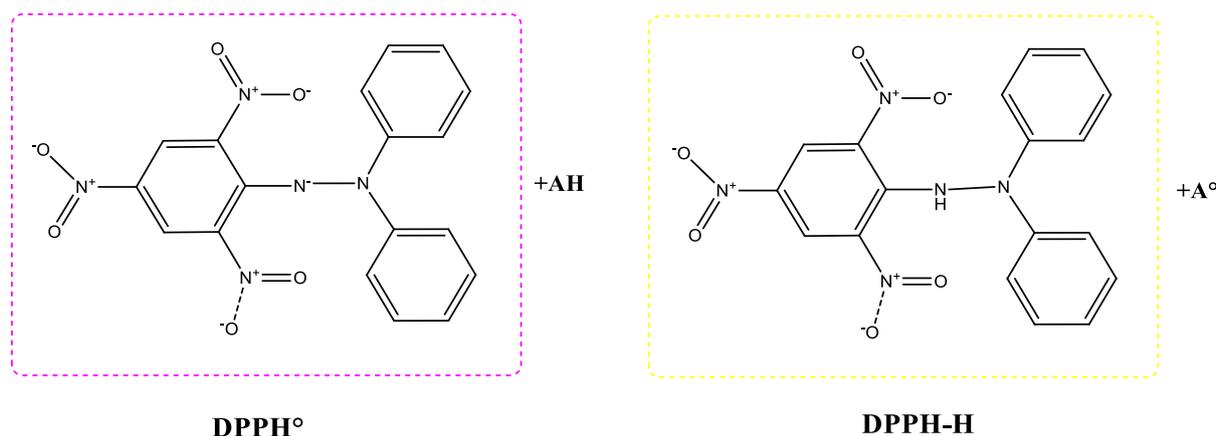


Figure 15 : Mécanisme réactionnel entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Thomas, 2011)

L'effet de chaque extrait est mesuré par la procédure décrite par Blois. Pratiquement, 40 μl de différentes concentrations (100 à 1,5625 $\mu\text{g/mL}$) des extraits chaque dilution ont été ajoutés à

160 µl d'une solution méthanolique de DPPH• (10⁻³M) puis le mélange est laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance de différentes solutions est effectuée à 517 nm dans un lecteur de microplaque à 96 puits (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Les résultats sont comparés au contrôle négatif (solution de DPPH• en absence de l'extrait). Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition}_{\text{DPPH}} (\text{I} \%) = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle négatif (solution de DPPH• en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution du DPPH en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC₅₀ (µg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux DPPH•) sont exprimées en moyennes ± écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydant de référence).

4.2/ Activité antioxydante à l'ABTS

La présente méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à réduire le radical cation ABTS^{•+} ou l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en ABTS. Ce dernier est quantifié par spectrophotométrie entre 600 et 750 nm. L'oxydant ABTS^{•+} est un produit d'oxydation en présence de persulfate de potassium.

Pratiquement, un stock d'une solution mère d'ABTS (7 mM, pH= 7,4) est traité avec 2,5 mM de persulfate de potassium. Le mélange est laissé à une température ambiante, à l'obscurité pendant 16 h pour donner une coloration bleu verdâtre. La solution est ensuite diluée dans l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7±0,02 à 734 nm.

Un volume (40 µl) de différentes concentrations de l'extrait (100 à 1,5625 µg/mL) est mélangé avec 160 µl de la solution d'ABTS fraîchement préparée. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) (Re *et al.* 1999). Le pourcentage d'inhibition des extraits est déduit de l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition}_{\text{ABTS}} (\text{I} \%) = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle négatif (solution d'ABTS en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution d'ABTS en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC_{50} (mg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux $ABTS^{*+}$) sont exprimées en moyennes \pm écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4-3/ Activité antioxydante au FRAP

Le pouvoir réducteur des extraits étudiés correspond à la capacité de leurs composés à donner des électrons et par conséquent à participer aux réactions de réduction des ions Fe^{3+} en ions Fe^{2+} (**Figure 16**) (Thomas, 2011). La capacité totale en antioxydants de chaque extrait a été déterminée selon le protocole expérimental décrit par Oyaizu et ses collaborateurs (1986).

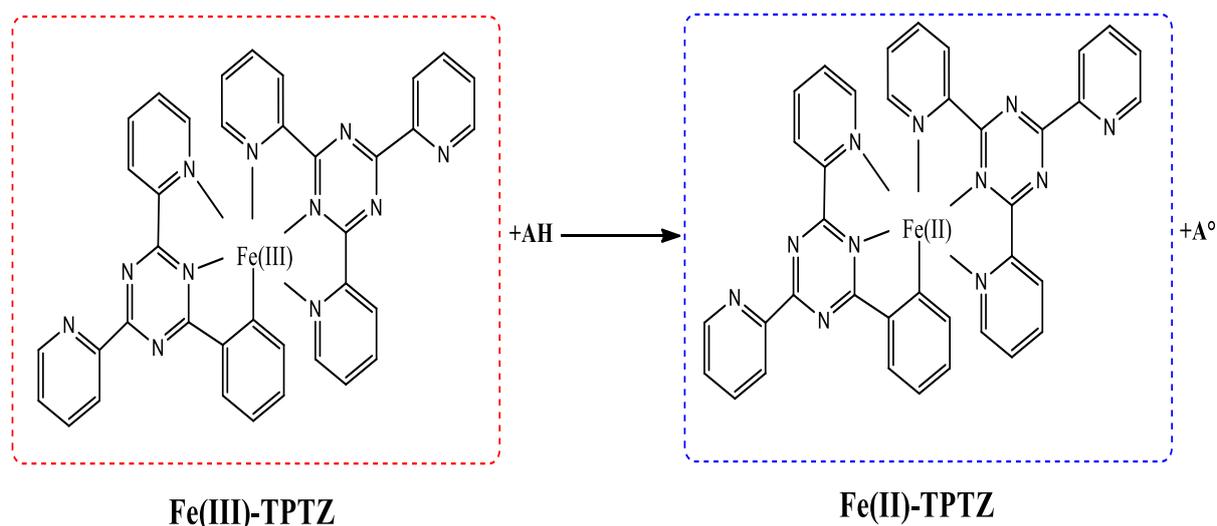


Figure 16 : Mécanisme réactionnel intervenant entre le complexe tripyridyltriazine ferrique $Fe(III)\text{-TPTZ}$ et un antioxydant (AH) (Thomas, 2011).

Pratiquement, 10 μ l d'extrait de différentes concentrations (0-1 mg/ml), est mélangé à 40 μ l d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH6,6) et 50 μ l de ferricyanure de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ (1%). Le mélange est incubé à 50 °C pendant 20 minutes, ensuite 50 μ l d'acide trichloroacétique (TCA) a été ajouté. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes à une température ambiante. A 1.5 ml du surnageant sont additionnés 40 μ l d'eau distillée et 10 μ l de trichlorure de fer (0,1%). La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm ((EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) contre un blanc (eau

distillée). L'EC₅₀ signifiant la concentration effective d'un extrait avec laquelle l'absorbance est égale à 0,5 est déduite à partir de la courbe de réduction du fer ferrique Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺² en présence des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus-indica*. Le pouvoir réducteur des extraits est comparé à celui d'acide ascorbique et d' α tocophérol. Le test est répété trois fois pour chaque concentration ($n=3$). Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes EC₅₀ \pm écarts types.

4.4/ Capacité de réduction l'ion cuprique (CUPRAC)

Cette méthode de mesure de la capacité antioxydante, est basée sur l'évolution des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (NC) /cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Le potentiel de réduction de l'échantillon ou du standard convertit efficacement Cu⁺² en Cu⁺¹. Pratiquement, le dosage est effectué dans plaques de 96 puits (Apak *et al.*, 2004), des solutions ont été ajoutées : 50 μ l de Cu(II) (10 mM), 50 μ l de néocuproïne (7.5 mM), 60 μ l de tampon NH₄Ac (1 M, pH = 7), et 40 μ l de l'extrait à différentes concentrations. Après une heure du temps et à l'aide d'un lecteur de microplaques, l'absorbance a été enregistrée à 450 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Les résultats ont été calculés à titre d'A_{0.5} (μ g/ml) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance. Le pouvoir réducteur des extraits est comparé à celui de BHT et BHA. Le test est répété trois fois pour chaque concentration ($n=3$). Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes A₅₀ \pm écarts types.

4.5/ Capacité de réduction du radical galvinoxyl (GOR)

Le test GOR est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante des différents extraits en raison de sa capacité à produire des radicaux libres stables et la simplicité de l'analyse. Pour la quantification de l'effet antiradicalaire des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum* L. et *Opuntia ficus indica* L., le radical libre galvinoxyle [2,6-di-tert-butyl-a-(3,5-ditert-butyl-4-oxo-2,5-cyclohexadiene-1-ylidene) -p-tolyloxy] a été utilisé.

L'effet de chaque extrait est mesuré par la procédure décrite par (Shi *et al.*, 2001). Pratiquement, 40 μ l de différentes concentrations d'extrait (100 à 1,5625 μ g/mL) sont ajoutés à 160 μ l d'une solution méthanolique de galvinoxyl (0,1mM), le mélange est ensuite laissé à l'obscurité à une température ambiante pendant 120 minutes. La lecture de différentes solutions est effectuée à 428 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France). Le pourcentage d'inhibition de l'extrait est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition GOR (I \%)} = [(A_0 - A_T) / A_0] * 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle négatif (solution de galvinoxyl en absence de l'extrait)

A_T : Absorbance du test (solution du galvinoxyl en présence de l'extrait)

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC₅₀ (µg/ml) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% des radicaux de galvinoxyl) sont exprimées en moyennes ± écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.6/ Mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase (AChE) est une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin appartenant à une famille d'enzyme qui catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine (AChE) en choline et en acide acétique. Le principal rôle biologique de l'acétylcholinestérase est la régulation de la transmission de l'influx nerveux en assurant l'hydrolyse rapide de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques centrales et périphériques, afin de permettre aux neurones cholinergiques de revenir à l'état de repos après leur activation par des influx nerveux.

Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, la concentration d'acétylcholine est diminuée, ce qui explique les troubles cognitifs observés. La solution pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste alors à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'action de l'acétylcholinestérase (Nourhashémi, 2006).

Expérimentalement, on utilise l'iodure d'acétylcholine (IATC) comme substrat de cet enzyme dont le produit de la réaction est la Thiocholine. L'activité de l'AChE est basée sur la réaction de la Thiocholine avec le 5,5'dithio-bis 2-nitrobenzoate (DTNB) qui donne le Thio- 2- N nitro-Benzoate (TNB) un composé jaune qui absorbe à 470 nm. L'absorbance du TNB mesurée à l'aide du spectrophotomètre est proportionnelle à l'activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase (Zengin *et al.*, 2014)

Le mélange réactionnel contient 150 µl de tampon phosphate 0,1M a pH=8,0, 10 µl d'extrait dissout dans l'éthanol aux différentes concentrations (6.25-400 µg/ml) et 20 µl d'AChE (5.32.10⁻³ U) ou BChE (6.85.10⁻³ U). Après incubation pendant 15 minutes à une température de 25°C, 10 µL de DTNB (0.5 mM) ont été additionnés à 10 µL d'acetylthiocholineiodide (0.71 mM) ou 10 µL de butyrylthiocholinechloride (0.2 mM). Le mélange est ensuite incubé à l'abri

de la lumière à une température ambiante. L'absorbance est mesurée contre un blanc (éthanol avec tompan phosphate) à 412 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) pour 0 minutes (1 lecture), 5 minutes (2 lectures), 10 minutes (3 lectures) et 15 minutes (4 lectures). Le pourcentage d'inhibition d'AChE ou BChE est évaluée selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (E - S) / E * 100$$

E : Activité de l'enzyme sans extrait

S : Activité de l'enzyme avec l'extrait

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) (signifiant les concentrations nécessaires des extraits pour piéger 50% d'AChE) sont exprimées en moyennes \pm écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.7/ Activité inhibitrice d' α amylase

Le principe de la méthode de détermination de l'activité de l' α amylase repose sur le dosage des sucres réducteurs libérés lors de l'hydrolyse de l'amidon par l' α amylase. Dans le but d'étudier l'activité inhibitrice de l' α amylase des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum L* et *Opuntia ficus indica L*, 25 μl d'extrait ont été additionnés à 50 μl d'une solution d' α amylase (1U), après une incubation de 10 min à 37 °C, 50 μl d'amidon 0.1% ont été rajoutés. La lecture a été effectuée à 630 nm (EnSpire Multimode Plate Reader, PerkinElmer, France) (Zengin *et al.*, 2014), après 10 minutes d'incubation à 37 °C et suite à l'addition de 25 μl d'HCl (1M) et 100 μl d'IKI. La capacité d'inhibition d' α amylase, exprimée en pourcentage (%), et calculée selon la formule suivante :

$$\%INH = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b)] / (A_c - A_e)$$

A_c=Absorbance contrôle [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

A_e=Absorbance échantillon [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+Vol de solvant d'extrait]

A_s=Absorbance standard [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

A_b=Absorbance blanc [Extrait+IKI+125 μl de tampon]

Tous les tests sont répétés trois fois ($n=3$). Les valeurs des IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) sont exprimées en moyennes \pm écarts types. L'activité antioxydante des extraits est comparée au BHT et BHA (antioxydants de référence).

4.8/ Evaluation de la capacité antisolaire des extraits (facteur de protection solaire (FPS))

Le Facteur de Protection Solaire (FPS) est un indice qui sert à déterminer l'efficacité de la protection solaire vis-à-vis des effets à court termes de rayonnements UV. C'est-à-dire sa capacité à protéger la peau contre les rayonnements UVB et UVA. Ce chiffre est mesuré en laboratoire et déterminé par des tests standardisés. L'activité SPF des extraits des déchets de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* est déterminée par la méthode de (Mansur *et al.*, 1986). 1,0 g de l'échantillon est transféré dans un ballon jaugé de 100 ml et dilué au volume avec de l'éthanol, ensuite la solution est mise dans un bain en ultrason pendant 5 minutes et suivi par filtration à l'aide du coton en jetant les dix premiers volumes. Une partie aliquote de 10 ml est transférée dans un ballon jaugé de 100 ml et diluée au volume avec de l'éthanol. A la fin une partie aliquote de 10 ml est transférée dans un ballon jaugé de 50 ml et le volume accomplis par de l'éthanol.

L'absorbance est mesurée dans l'intervalle de 290 à 320 chaque 5 nm (UV-B), et la valeur du SPF est calculé par l'application de l'équation mathématique de (Mansur, 1986)

$$\text{SPF spectrophotometric} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

EE : Spectre d'effet érythémal

I : Spectre d'intensité solaire

Abs : Absorbance du produit solaire

CF : Facteur de correction (= 10)

Les valeurs de : EE x I sont des constantes déterminées dans le Tableau VIII ci-dessous.

Tableau IX : Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF (Mansur *et al.*, 1986).

Longueur d'onde λ (nm)	EE (λ)x I(λ) (Normes)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Total	1

Cet indice de protection solaire permet de classer les produits de protection solaire en quatre catégories selon la recommandation de la commission européenne en 2006 (**Tableau X**).

Tableau X : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés

Catégorie Indiquée	Facteur de Protection indiqué	Facteur de Protection solaire mesuré	Facteur de Protection UVA minimal recommandé	Longueur D'onde critique Minimale Recommandée
« Faible protection »	6	6 - 9,9	1/3 du facteur de Protection Solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	10	10 - 14,9		
« Protection moyenne »	15	15 - 19,9		
	20	20 - 24,9		
	25	25 - 29,9		

« Haute protection »	30	30 - 49,9		
	50	50 - 59,9		
« Très haute protection »	50+	60 ≤		

4.9/ Evaluation de l'effet cicatrisant des extraits

4.9.1/ Test d'excision

L'activité cicatrisante des extraits hydroalcooliques des déchets des fruits de *Punica granatum* L. et *Opuntia ficus indica* L. a été évaluée sur des plaies pratiquées chez les lapins *albinos*, mâles de poids homogène selon des procédures décrites précédemment (Bensegueni *et al.*, 2007 ; Farnood *et al.*, 2012). Les animaux sont anesthésiés par une injection intramusculaire de chlorhydrate de kétamine à raison de 15 mg/kg, l'anesthésie est complétée par 5 mg/kg de diazépam localement sur le lieu d'excision. Un lambeau de peau de 20 mm environ est excisé (Bensegueni *et al.*, 2007).

Un nombre de six plaies ont été pratiqués sur le même animal, chaque lapin reçoit un des traitements suivants :

- Extrait de *Punica granatum* L. et *Opuntia ficus indica* L. à la dose de 500 mg.
- Une crème cicatrisante Cicatryl Bio® à la dose de 500 mg.
- Un lapin avec plaies, sans traitement est utilisé comme contrôle.

Le pansement des plaies a été fait tous les jours en raison d'une application par jour avec une quantité précise des extraits testés et de pommade jusqu'à guérison complète.

Le pourcentage de cicatrisation des plaies d'excision des différents lots est calculé tous les trois jours, selon l'équation suivante :

$$\text{Contraction de la plaie (\%)} = [(T_i - T_j) / T_i] \times 100$$

T_i : taille de la plaie initiale

T_j : taille de la plaie du jour spécifique

Les moyennes de pourcentage de contraction des plaies sont données en valeurs moyennes \pm écart types ($n=6$). La comparaison entre les groupes a été traitée par le test de *Tukey HSD*. La valeur $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

4.9.2/ Test de brûlure

Pour ce test nous avons adopté la technique qui consiste à effectuer des brûlures par la plaque chauffante. Le protocole suivi est celui décrit par (Farnood *et al.*, 2012), au jour zéro les lapins sont anesthésiés par une injection intramusculaire de 50 mg/kg de chlorhydrate de kétamine complété par 5 mg/kg de diazépam. Après épilation et rasage, six plaies ont été réalisées sur le dos de chaque lapin de part et d'autre de la colonne dorsolombaire, en maintenant un cylindre métallique chauffé à 170 °C sur la peau de l'animal pendant 10 secondes sans exercer aucune force. Juste après l'induction des brûlures, les extraits testés sont appliqués par voie topique à la zone brûlée.

La fréquence d'application des crèmes sur les plaies est fixée à une application par jour d'une façon quotidienne jusqu'à guérison complète. Une observation macroscopique est effectuée avant chaque application, le pourcentage de cicatrisation des plaies est calculé chaque trois jours par rapport à la taille initiale de la plaie selon l'équation suivante :

$$\text{Contraction de la plaie (\%)} = [(T_i - T_j) / T_i] \times 100$$

T_i : taille de la plaie initiale

T_j : taille de la plaie du jour spécifique

Les moyennes de pourcentage de contraction des plaies sont données en valeurs moyennes \pm écart types ($n=6$). La comparaison entre les groupes a été traitée par le test de *Tukey HSD*. La valeur $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Laboratoire de recherche : Laboratoires de CRBT-Constantine et le laboratoire de pharmacologie et toxicologie à l'institut des sciences vétérinaires-Constantine 1.

Résultats et discussion

1/ Estimation des contenus en composés phénoliques

Les résultats de l'analyse quantitative des phénols totaux (PT), des flavonoïdes totaux (FT), et des flavonols (FLT) sont exprimés dans le *Tableau XI* et la *Figure 17*.

Tableau XI : Estimation des contenus en composés phénoliques dans les extraits.

	Extraits des déchets des plantes sélectionnées	
	<i>Punica granatum L</i>	<i>Opuntia ficus- indica L</i>
Polyphénols (mg GAE/g)	590,07±13,58*	110,51±30,81
Flavonoïdes totaux (mg QE/g)	227,85±46,48**	74,4±0,91
Flavonols (mg QE/g)	91,57±5,79*	25,24±1,76

mg GAE/g : mg d'acide gallique équivalent/ g d'extrait sec, mg QE/g : mg de quercétine équivalent/ g d'extrait sec, * : $p < 0.0001$, ** : $p < 0.01$; valeurs comparées à *Opuntia ficus indica L*.

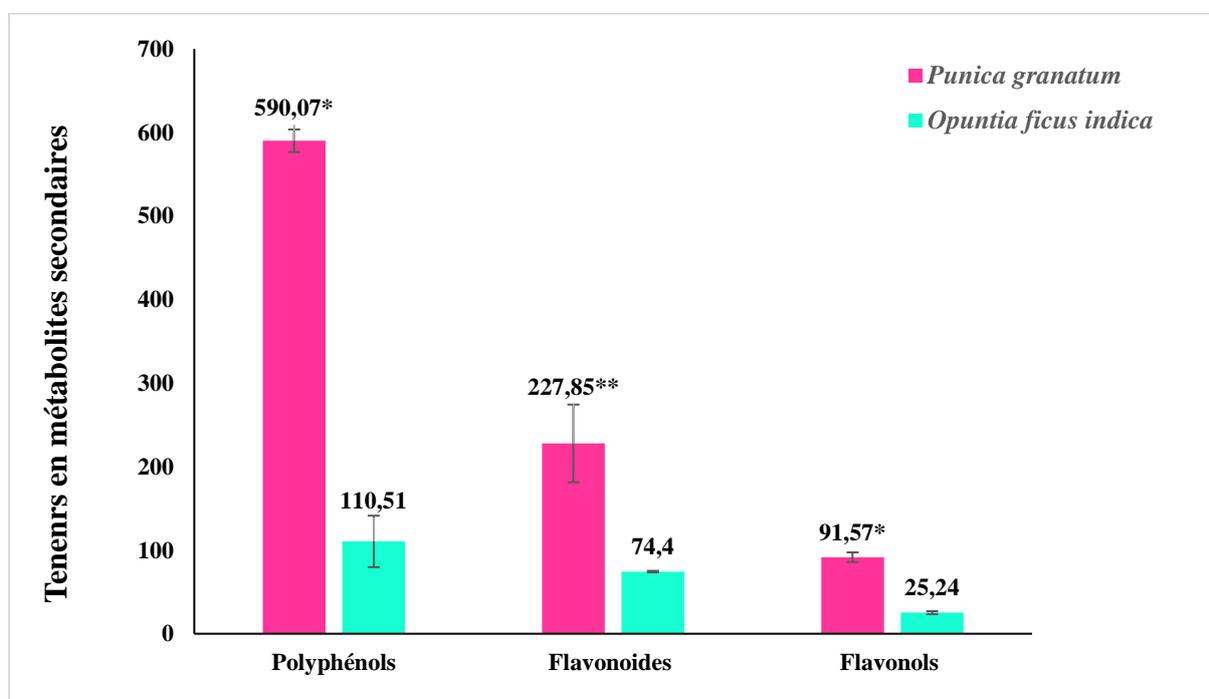


Figure 17 : Teneurs en composés phénoliques dans les extraits de déchets des fruits de *Punica granatum L* et *Opuntia ficus indica L*.

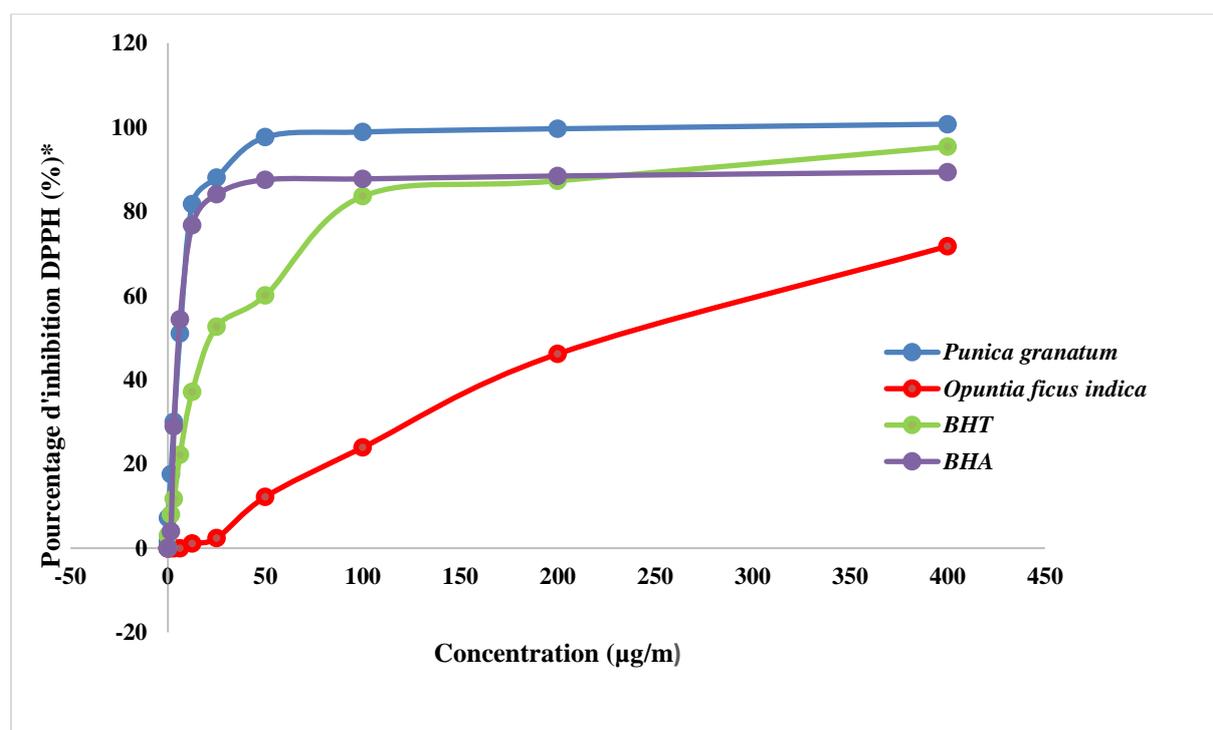
De la lecture des résultats illustrés dans le *Tableau XI* et la *Figure 17*, on peut déduire que : Les taux des phénols totaux ($590,07 \pm 13,58 \text{ mg GAE g}^{-1}$), des flavonoïdes totaux ($227,85 \pm 46,48 \text{ mg QE g}^{-1}$), et des flavonols totaux ($91,57 \pm 5,79 \text{ mg QE g}^{-1}$) d'extrait de déchet de fruit de *Punica granatum L* sont significativement plus importants ($p < 0.0001$) que ceux d'*Opuntia ficus-indica* qui présente un taux relativement faible, en phénols totaux ($110,51 \pm 30,81 \text{ mg GAE g}^{-1}$), en flavonoïdes totaux ($74,4 \pm 0,91 \text{ mg QE g}^{-1}$), et en flavonols totaux ($25,24 \pm 1,76 \text{ mg QE g}^{-1}$). On

peut conclure à travers les résultats obtenus, que les déchets de fruit de *Punica granatum L.* et *Opuntia ficus indica L.* peuvent constituer une source potentielle de substances phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, flavonols). Ces résultats sont confortés par d'autres travaux sur ces espèces qui soulignent que *Punica granatum* est parmi les plantes qui renferment des taux élevés en substances phénoliques qui pourraient être mis à profit contre le stress oxydant et les maladies qui en découlent (Marsoul *et al.*,2020 ; Moualkia, 2015).

2/ Evaluation des activités biologiques

2.1/ Activité antioxydante au DPPH

La cinétique de la réduction du radical libre DPPH par les extraits hydroalcooliques des écorces de fruit de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* (ainsi que les concentrations inhibitrices IC₅₀ sont exprimés dans les *Figures 18* et *Figures 19* respectivement.

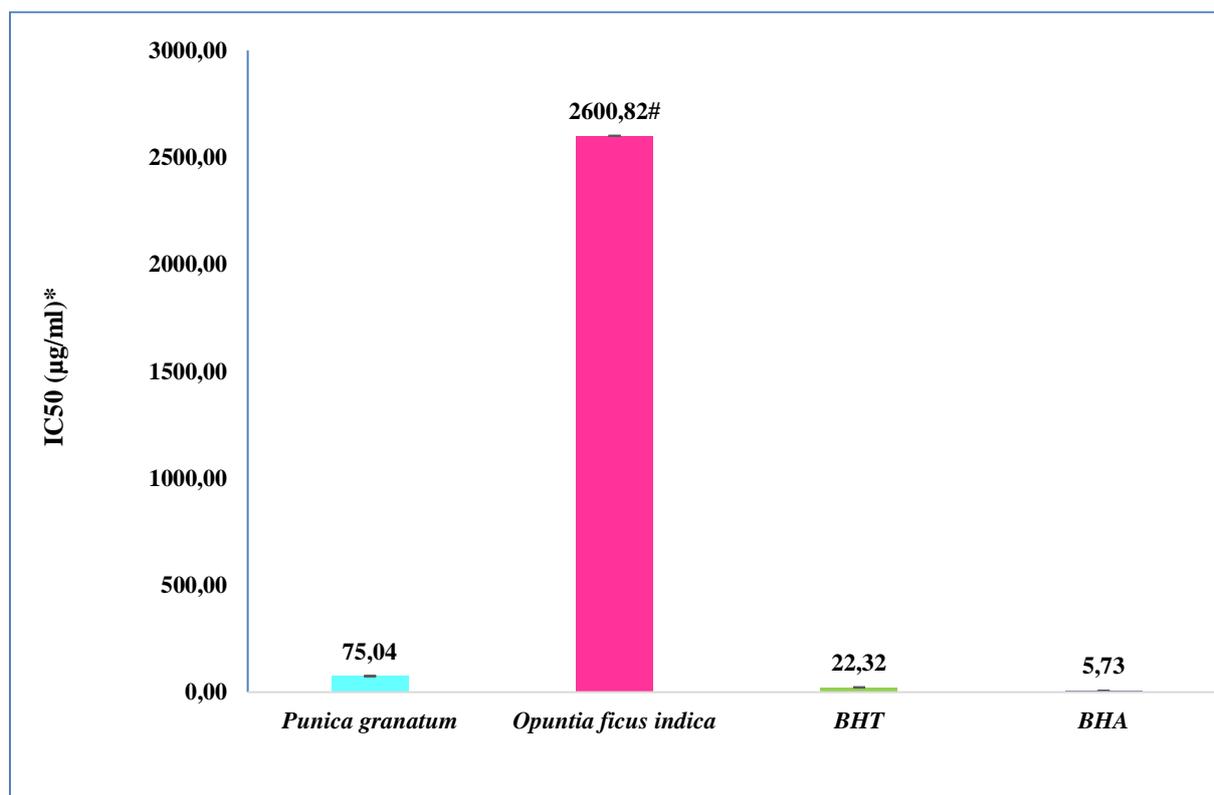


*valeurs moyennes d'inhibition de DPPH \pm SD ($n=3$).

Figure18 : Evolution du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations des extraits et des standards.

La lecture de courbe de cinétique de l'inhibition du radical DPPH (**Figure 18**) montre que :

- Les extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus-indica*, le BHA et le BHT (standards antioxydants témoins) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical DPPH ;
- L'effet inhibiteur des extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus-indica*, et les standards antioxydants témoins (BHA et BHT) est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait de *Punica granatum*, BHA et BHT ont montré des pouvoirs inhibiteurs significativement supérieure ($p < 0,0001$) à celui observé pour l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ;
- L'extrait de *Punica granatum* se distingue par son effet inhibiteur vis-à-vis du DPPH significativement le plus élevé ($p < 0,0001$) par rapport à l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ;
- Concernant le BHA et BHT, nous avons remarqué un fort pouvoir antioxydant identique à celui de l'extrait de *Punica granatum*, traduit par des pourcentages d'inhibition élevés et ce même à de très faibles concentrations.



* Valeurs moyennes d'IC₅₀±SD (n=3).

: $p < 0,0001$; valeur comparée à l'extrait de *Punica granatum* L.

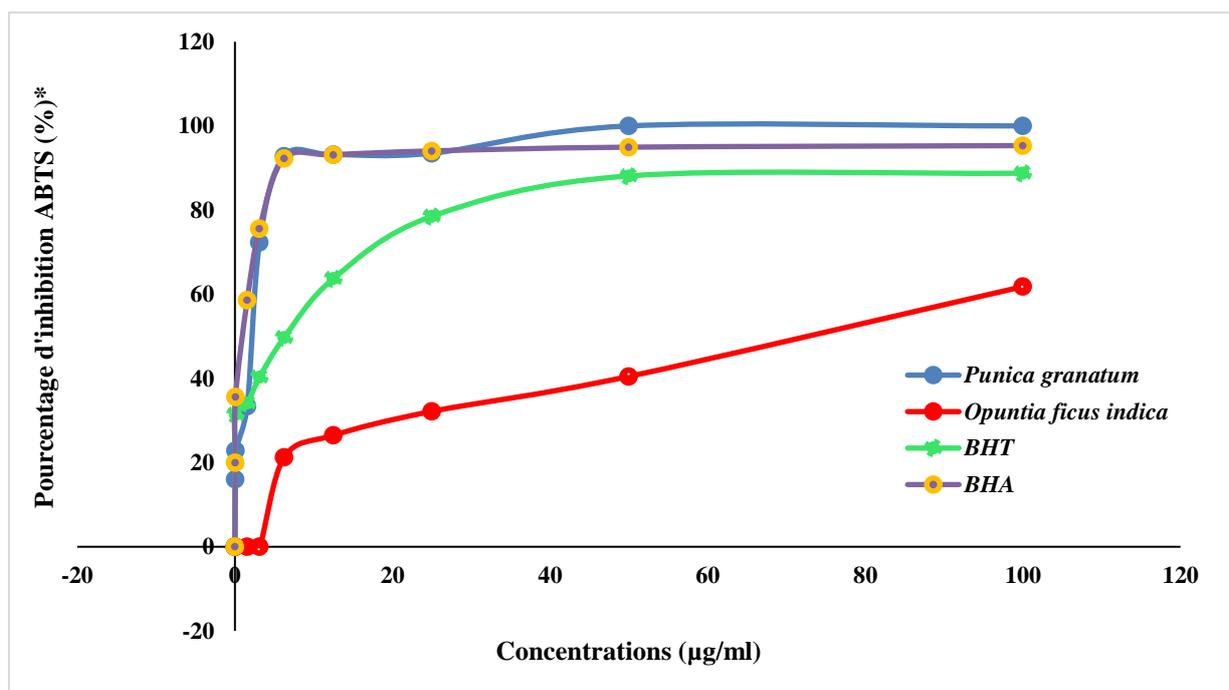
Figure 19 : Valeurs des IC₅₀ (DPPH) des extraits et des standards.

- Les extraits et les standards (BHT et BHA) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical DPPH ;
- L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* possède un IC₅₀ équivalent à 2600.82±0.08µg/ml, jugé d'un pouvoir antioxydant significativement faible ($p < 0,0001$) par rapport au BHT, BHT et celui de l'extrait de *Punica granatum* ;
- La valeur d'IC₅₀ d'extrait de *Punica granatum* est significativement faible ($p < 0,0001$) par rapport à celle d'*Opuntia ficus-indica*, mais jugé identique par rapport aux standards (aucune différence significative).

D'après les résultats exprimés en dessus, il est évident que BHA, BHT et l'extrait de *Punica granatum* possèdent un pouvoir antiradicalaire vis-à-vis du DPPH qui relativement plus élevé par rapport à celui d'*Opuntia ficus-indica*. Le plus important effet inhibiteur est observé dans le cas de l'extrait de *Punica granatum* qui reste toutefois identique par rapport à celui du BHA et BHT. Mathew et ses collaborateurs (2014) ont montré que l'extrait d'écorce de *Punica granatum* (54.5±7.2 µg/ml) est plus faible que la valeur trouvée dans cette étude (75.04±0.03 µg/ml). Cette différence pourrait être attribuée à plusieurs raisons, notamment à la variation dans la composition chimique d'une plante qui est tributaire des facteurs génétiques et environnementaux (Abou Elella *et al.*, 2014). Toutefois, la composition chimique de la grenade et de ses produits dépend du cultivar, de la région de culture et du climat, du stade de maturité du fruit, des pratiques culturelles et des systèmes de fabrication (Zeghad, 2019).

2.2/ Activité antioxydante à l'ABTS

La cinétique de la réduction du radical ABTS^{•+} par les extraits de *Punica granatum* L et d'*Opuntia ficus-indica* L ainsi que les concentrations inhibitrices IC₅₀ sont exprimés dans les figures 20 et 21, respectivement.

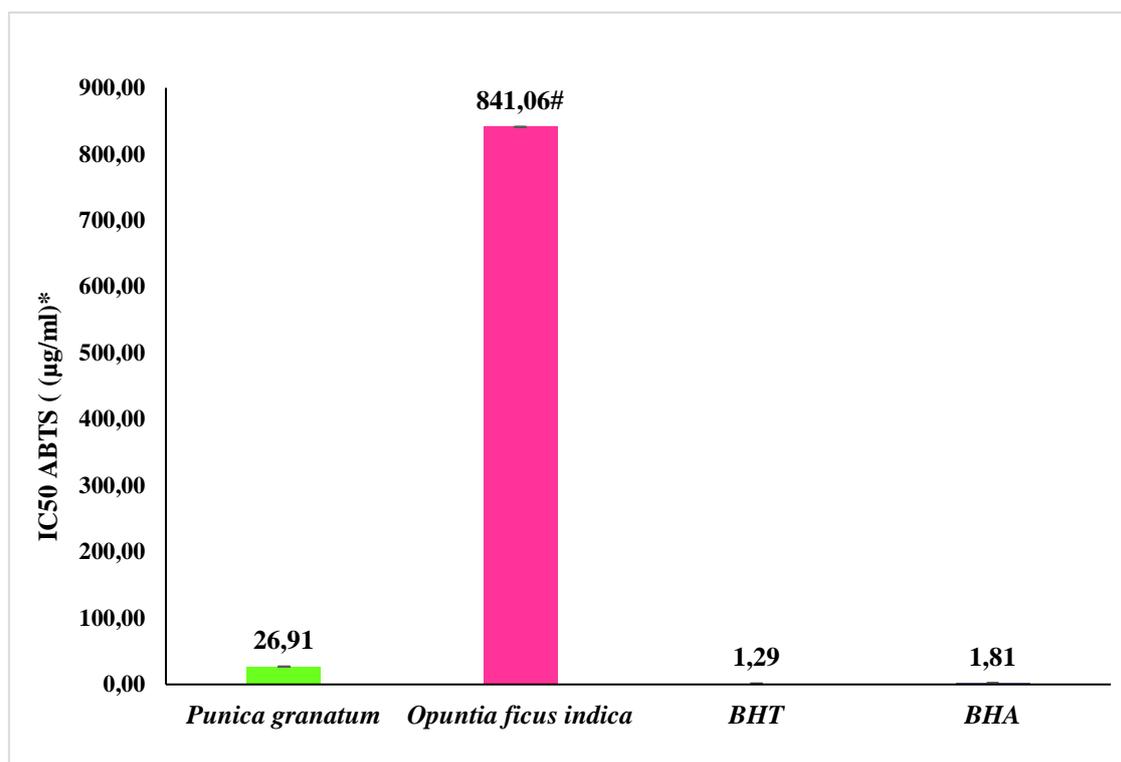


*valeurs moyennes de pourcentage d'inhibition d'ABTS \pm SD ($n=3$).

Figure 20 : Evolution du pourcentage d'inhibition d'ABTS en fonction des concentrations des extraits et des standards.

La lecture des courbes des cinétiques de l'inhibition du radical $ABTS^{*+}$ (**Figure20**) montre que :

- Les extraits des écorces des fruits de *Punica granatum*, *Opuntia ficus-indica*, le BHT et le BHA (standards antioxydants témoins) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical $ABTS^{*+}$;
- L'effet inhibiteur des extraits et des standards témoins (BHT et BHA) est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* se distingue par son effet inhibiteur vis-à-vis de l'ABTS significativement ($p<0.0001$) le plus faible par rapport à l'extrait de *Punica granatum* et par rapport aux standards (BHT et BHA) ;
- L'extrait de *Punica granatum* se distingue de l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* par son effet inhibiteur vis-à-vis de l'ABTS significativement élevé ($p<0.0001$), mais jugé identique par rapport aux standards (aucune différence significative) ;



* Valeurs moyennes d'IC₅₀±SD (n=3).

: $p < 0,0001$; valeur comparée à l'extrait de *Punica granatum L.*

Figure 21 : Valeurs des IC₅₀ (ABTS) des extraits et des standards.

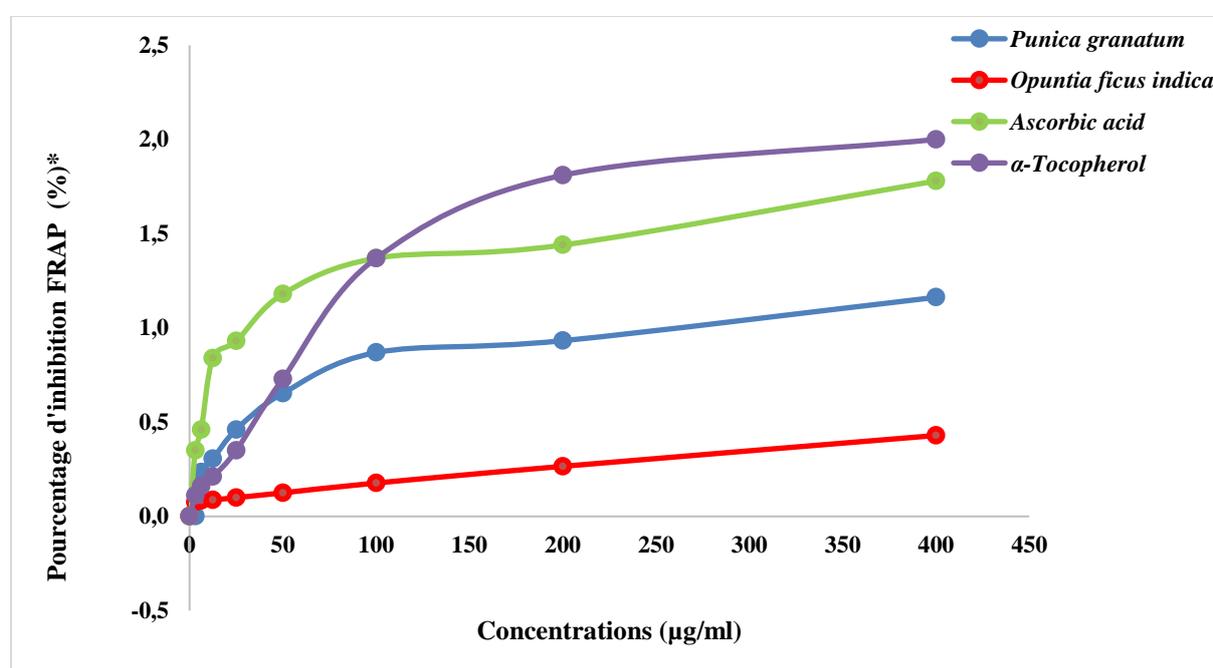
- Le BHA et le BHT possèdent des IC₅₀ équivalents à $1.810 \pm 1.10 \mu\text{g/ml}$ et $1.290 \pm 0.30 \mu\text{g/ml}$, respectivement avec un degré significativement inférieur par rapport à celui d'extrait d'*Opuntia ficus indica* ($841.06 \pm 0.033 \mu\text{g/ml}$), mais significativement identique par rapport à celui d'extrait de *Punica granatum* ($26.910 \pm 0.0004 \mu\text{g/ml}$) ;
- La valeur d'IC₅₀ d'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ($841.06 \pm 0.033 \mu\text{g/ml}$) est significativement supérieur ($p < 0.0001$) à celle d'extrait de *Punica granatum* ($26.910 \pm 0.0004 \mu\text{g/ml}$).

Le plus faible pouvoir à stabiliser le radical ABTS^{•+} a été enregistré par *Opuntia ficus-indica*. Ceci pourrait être expliqué par les relatives faibles teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes totaux et les flavonols totaux) trouvées dans l'extrait d'écorce de ce fruit, comme révélé par les mesures déjà effectuée (**Tableau XI**). Les valeurs des IC₅₀ de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus-indica* sont respectivement de l'ordre de $26.910 \pm 0.0004 \mu\text{g/ml}$ et $841.06 \pm 0.033 \mu\text{g/ml}$. Ces résultats sont en accord avec les travaux réalisés par certains auteurs qui ont prouvé que les extraits d'écorce de fruit de *Punica granatum L* ($34.78 \pm 14,04 \mu\text{g/ml}$) (Rajan, 2011) et d'*Opuntia ficus indica* ($800 \pm 0,047 \mu\text{g/ml}$) (Zeghad, 2019) sont considérés comme une source d'antioxydants naturels, potentiellement pour l'écorce de grenade. En

général, il ressort des résultats de la méthode d'ABTS^{•+} que l'activité antioxydante (exprimés par les IC₅₀) est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en flavonols. Ce qui indique que probablement ces groupes de produits naturels pourraient être associés à cette activité, comme suggéré par d'autres auteurs (Lutz *et al.*, 2011).

2.3/ Pouvoir antioxydant ferrique-réducteur (FRAP)

La cinétique de la réduction du fer ferrique (Fe⁺³) en fer ferreux (Fe⁺²) par les extraits des écorces de fruits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus-indica* ainsi que les concentrations inhibitrices EC₅₀ sont exprimés dans les *Figures 22* et *Figures 23*, respectivement.



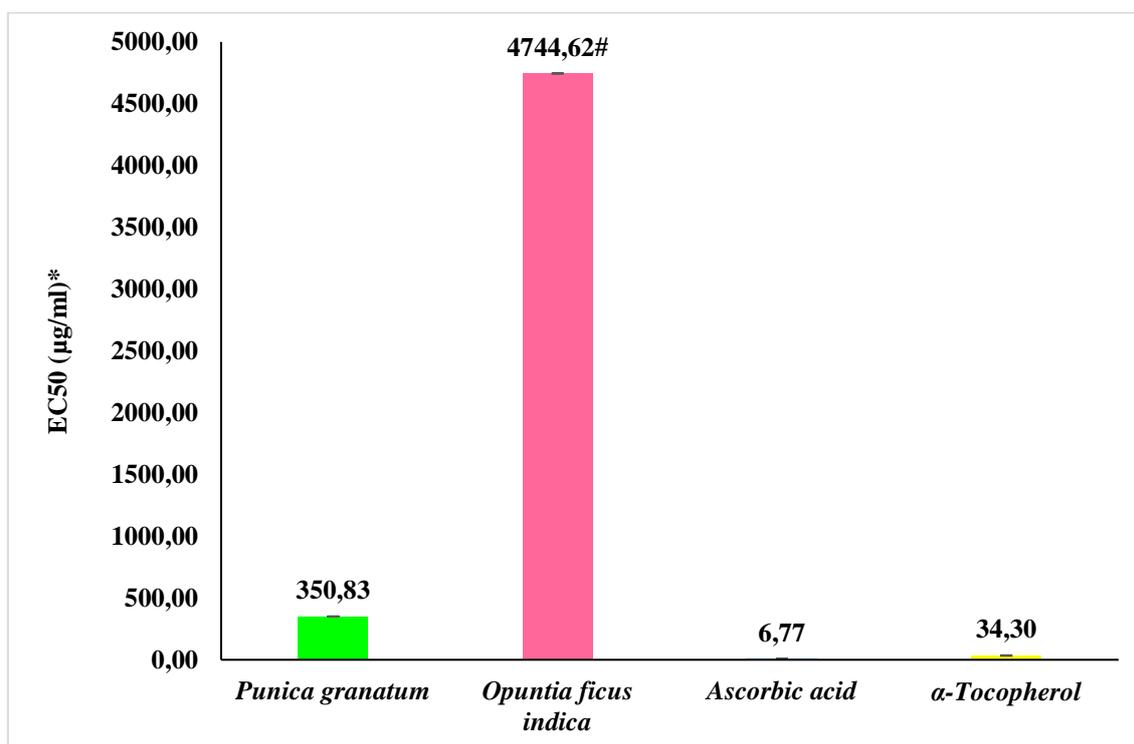
*Valeurs moyennes d'absorbance ± SD (n=3)

Figure 22 : Cinétique de réduction du fer ferrique (Fe⁺³) en fer ferreux (Fe⁺²) par les extraits et les standards

La lecture des courbes des cinétiques de réduction de fer ferrique (Fe⁺³) en fer ferreux (Fe⁺²) montre que :

- Les extraits des écorces des fruits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica*, d'acide ascorbique et d'α-Tocophérol (substances antioxydantes témoins) possèdent un pouvoir réducteur de fer ferrique (Fe⁺³) en fer ferreux (Fe⁺²) ;
- L'effet réducteur des extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* est proportionnel aux doses utilisées ;

- L'extrait de *Punica granatum* se distingue de l'extrait d'*Opuntia ficus indica* par son effet réducteur significativement supérieur ($p < 0.0001$).



* Valeurs moyennes d'IC₅₀±SD (n=3).

: $p < 0,0001$; valeur comparée à l'extrait de *Punica granatum* L.

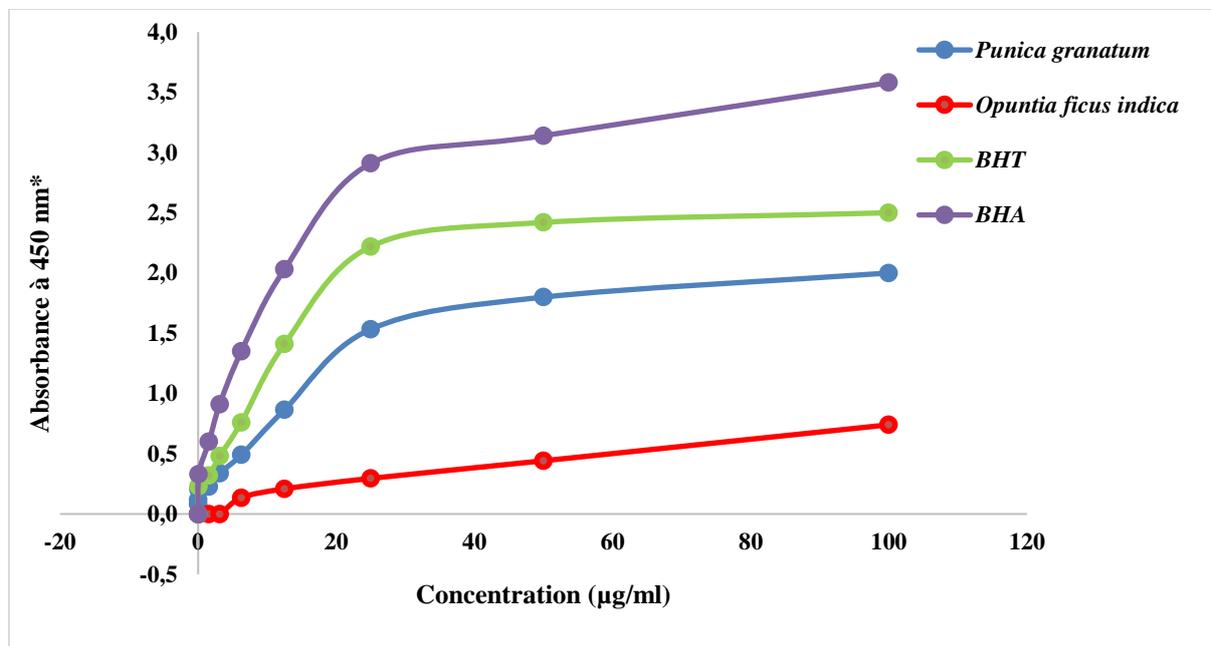
Figure 23 : Valeurs des EC₅₀ (FRAP) des extraits et des standards.

- L'acide ascorbique (6.77 ± 1.15 µg/ml) et l'α-Tocophérol ($34.30 \pm 2,38$ µg/ml) possèdent des pouvoirs réducteurs, significativement supérieur ($p < 0.0001$) par rapport à l'extrait d'*Opuntia ficus indica* (4744.62 ± 0.41 µg/ml) mais relativement identiques par rapport à l'extrait de *Punica granatum* (350.83 ± 0.18 µg/ml) ;
- L'EDF de *Punica granatum* a enregistré le pouvoir réducteur le plus important. Par contre l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* a donné l'effet réducteur le plus faible.

Des précédents travaux vont dans le même sens de nos résultats, où l'extrait d'*Opuntia ficus indica* a donné une valeur du pouvoir réducteur presque identique à celle trouvée dans notre étude (4744.62 ± 0.41 µg/ml), équivalente à $4710 \pm 1,09$ µg/ml (Mabrouki *et al.*, 2015). Bonesi et ses collaborateurs (2019) ont montrés que le du pouvoir réducteur d'extrait de grenade représente presque la moitié de la valeur ($171,09 \pm 0,99$ µg/ml) trouvée dans notre étude (350.83 ± 0.18 µg/ml) pour la même espèce. Cette différence pourrait être expliquée par les possibles fluctuations qu'on peut observer dans la composition qualitative et quantitative d'une même plante, soumises à des facteurs endogènes (génétique) et exogène (climatique) (Rice-Evans *et al.*, 1996 ; Van Acker *et al.* 1996 ; Bahorun *et al.*, 2004).

2.4/ Capacité de réduction d'ion cuprique (CUPRAC)

La cinétique de la réduction de Cu^{+2} en Cu^{+1} par les extraits de *Punica granatum L*, *Opuntia ficus-indica*, le BHT et le BHA (standards antioxydants témoins) ainsi que les concentrations inhibitrices EC_{50} sont exprimés dans les *Figures 24* et *Figures 25*, respectivement.

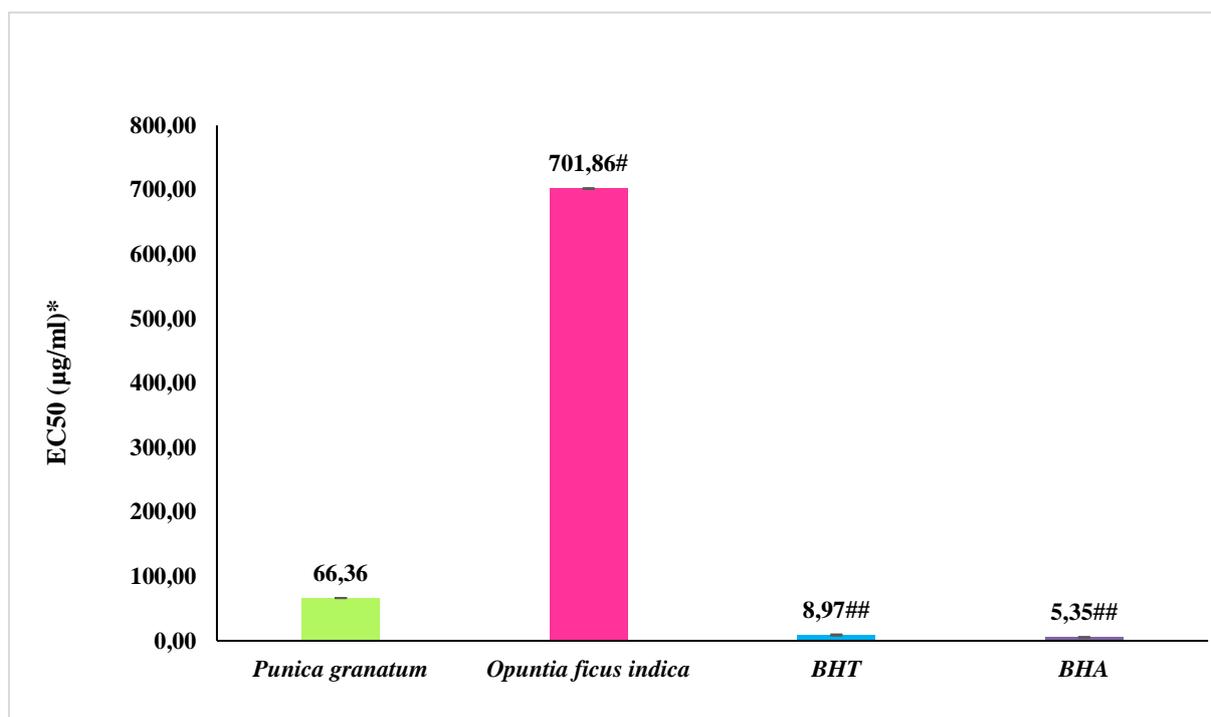


*valeurs moyennes d'absorbance \pm SD ($n=3$).

Figure 24 : Cinétique de réduction du Cu^{+2} en Cu^{+1} par les extraits et les standards antioxydants.

La lecture des courbes des cinétiques de réduction de Cu^{+2} en Cu^{+1} (**Figure 24**) montre que :

- Les extraits des écorces de fruit de *Punica granatum*, *Opuntia ficus-indica*, et les standards chimiques (BHT et le BHA) possèdent un pouvoir réducteur de Cu^{+2} en Cu^{+1} ;
- L'effet réducteur des extraits et des standards antioxydants témoins est proportionnel aux doses utilisées ;
- L'extrait d'*Opuntia ficus-indica* se distingue de l'extrait de *Punica granatum* et des standards chimiques par son effet réducteur significativement inférieure ($p < 0.0001$) vis-à-vis du radical CUPRAC ;
- Le potentiel antioxydant de BHA et BHT est significativement supérieur par rapport à celui de l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ($p < 0.0001$), et de *Punica granatum* ($p < 0.05$).



* Valeurs moyennes d'EC50±SD (n=3). # : $p < 0,0001$, ## : $p < 0,05$ valeurs comparées au *Punicagranatum*.

Figure 25 : Valeurs des EC50 (CUPRAC) des extraits et des standards.

- L'extrait de *Punica granatum* (EC50=66,36±0,004µg/ml) se distingue de l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* (EC50=701,86±0,039 µg/ml) par son effet réducteur significativement supérieur ($p < 0.0001$) ;
- Un pouvoir réducteur faible (EC50=701,860±0,039 µg/ml) est observé pour l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ;
- Le BHA (EC50=5,350±0,710 µg/ml) et le BHT (EC50=8,970±0,940 µg/ml) possèdent des pouvoirs réducteurs, significativement supérieur aux extraits de *Punica granatum* ($p < 0.0001$) et d'*Opuntia ficus indica* ($p < 0.05$) ;

A partir des travaux réalisés par Galati et al (2004), le pouvoir réducteur de Cu^{+2} en Cu^{+1} en présence du jus de fruit de *Punica granatum* (EC50 =140.23 ± 1.01) est deux fois moins important que celui obtenu dans notre étude (EC50 = 66.36 ± 0.004 µg/ml), ce qui indique que l'écorce est potentiellement plus réductrice que le jus du même fruit.

2.5/ Activité antioxydante au radical galvinoxyl (GOR)

La cinétique d'évolution du pourcentage d'inhibition du radical galvinoxyl (GOR) en présence des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum*, *Opuntia ficus-indica* ainsi que les standards chimiques (BHT et le BHA) est décrite dans la **Figure 26**. Les concentrations inhibitrices à 50% (IC50) ($\mu\text{g/ml}$) des extraits testés et des standards sont exposées dans la figure 27.

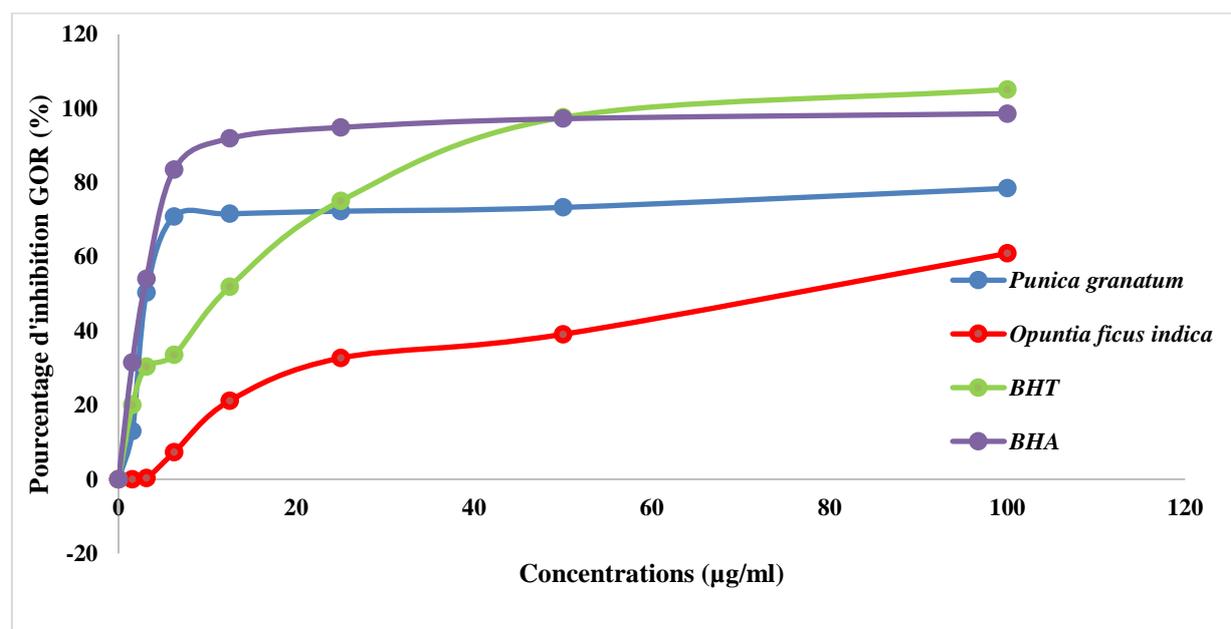
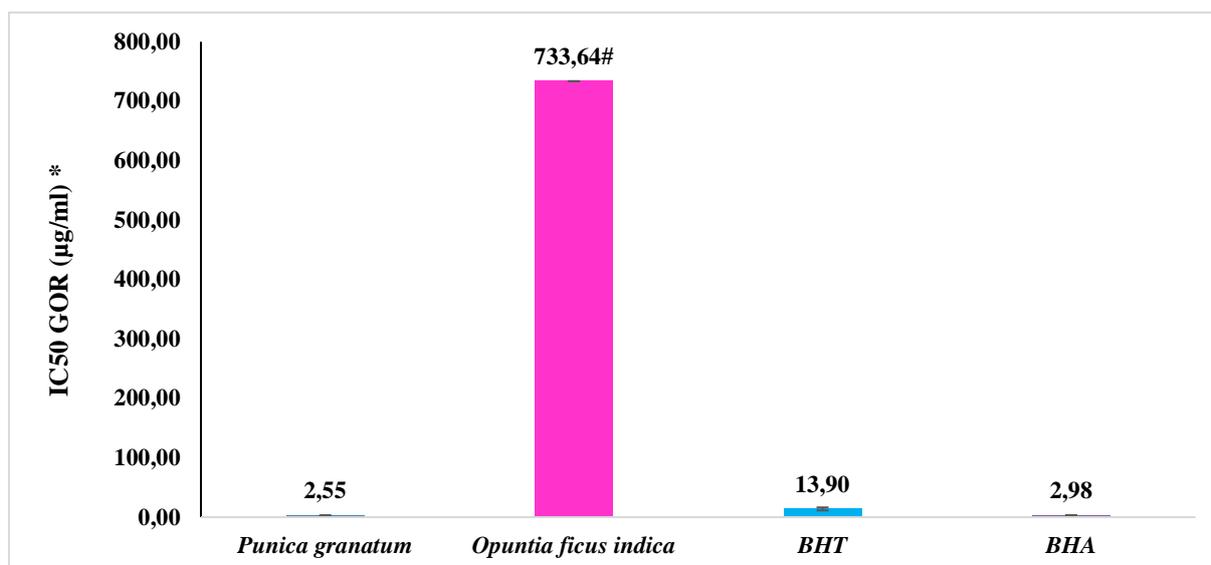


Figure 26 : Evolution du pourcentage d'inhibition du radical galvinoxyl (GOR) en fonction des concentrations des extraits et des standards.

La lecture des courbes des cinétiques d'inhibition du radical galvinoxyl (GOR) ainsi que les IC50 des extraits et des standards (figures 26 et 27) montrent que :

- Les extraits des écorces des fruits de *Punica granatum* L et d'*Opuntia ficus-indica* et les standards antioxydants témoins (BHT et BHA) possèdent un pouvoir inhibiteur envers le radical galvinoxyl (GOR) ;
- L'effet inhibiteur des extraits testés et des standards est proportionnel aux doses utilisées ;
- Le pouvoir inhibiteur des standards chimiques (BHA et BHT) est significativement supérieur ($p < 0.0001$) par rapport à celui d'extrait d'*Opuntia ficus indica* mais relativement identique par rapport à celui de l'extrait de *Punica granatum* (absence de toute différence significative) ;
- L'extrait de *Punica granatum* se distingue par son effet inhibiteur vis-à-vis du GOR significativement plus élevé ($p < 0.0001$) par rapport à l'extrait d'*Opuntia ficus-indica*.



* Valeurs moyennes d'IC₅₀±SD (n=3). # : p<0,0001 ; valeurs comparées au *Punica granatum*.

Figure 27 : Valeurs des IC₅₀ (GOR) des extraits et des standards.

- Le BHT et le BHA possèdent un pouvoir inhibiteur (IC₅₀ de 13.90±2.45µg/ml), jugé significativement supérieur (p<0.0001) par rapport à celui de l'extrait d'*Opuntia ficus indica* mais relativement identique par rapport à l'extrait de *Punica granatum* (Absence de toute différence significative) ;
- L'extrait de *Punica granatum* (EC₅₀=2,55±0,002 µg/ml) se distingue de l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* (EC₅₀= 733,64 ±0,04 µg/ml) par son effet réducteur significativement supérieur (p<0.0001) ;
- Un pouvoir réducteur faible (EC₅₀= 733,64 ±0,04 µg/ml) est observé pour l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* ;

On déduit de ces résultats que l'extrait de *Punica granatum* exprime un caractère antioxydant appréciable vis-à-vis du radical galvoxyyl (GOR). Le test GOR est une méthode très récente d'estimation du pouvoir inhibiteur du radical galvinoxyl (GOR) des extraits, dont notre travail sur les extraits des écorces de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus-indica* est considéré parmi les premières études réalisées pour la détermination de leur pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical galvinoxyl (GOR). De ce qui précède, il peut être conclu qu'il n'y a pas d'études préalables d'estimation du pouvoir inhibiteur GOR sur les espèces étudiées.

2.6/ Activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) et d'α amylase

Le pouvoir inhibiteur de l'acétylcholinestérase et α amylase en présence des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum*, *Opuntia ficus indica* est présenté dans les *Tableaux XII* et *Tableaux XIII*, respectivement.

Tableau XII : Pourcentage d'inhibition d'acétylcholinestérase (AChE) en présence des extraits

Concentrations (µg/ml)	<i>Punica granatum</i>	<i>Opuntia ficus indica</i>
3.125	13.59±1.83	-13.59±0.87
6,25	-9.11±0.77	-16.13±0.37
12,50	-20.64±0.50	-21.42±1.04
25,00	-0.99±1.43	-25.78±0.92
50,00	13.04±0.51	-25.84±0.94
100,00	-15.18±0.59	-23.59±1.88
200,00	13.81±1.08	-26.60±0.87
400,00	18.20±1.51	-10.77±0.74

Tableau XIII : Pourcentage d'inhibition d'α amylase en présence des extraits

Concentrations (µg/ml)	<i>Punica granatum</i>	<i>Opuntia ficus indica</i>
6,25	-24,22±9,08	-20,94±2,38
12,50	-26,81±4,80	-22,95±4,90
25,00	-27,50±4,66	-24,06±4,62
50,00	-26,49±12,23	-27,66±5,71
100,00	-34,21±2,44	-43,10±13,32
200,00	-36,28±8,90	-45,58±14,92
400,00	-46,75±4,55	-46,11±14,81

En se référant aux valeurs établies dans les *Tableaux XII* et *Tableaux XIII* représentatifs des pourcentages d'inhibition de l'acétylcholinestérase et d'α amylase en présence des extraits d'écorce des fruits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica*, on peut déduire que les extraits des plantes étudiées n'ont pas d'effet inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d'α amylase. En l'absence des études précédentes, on peut souligner d'après les résultats de la présente étude que les extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète, respectivement.

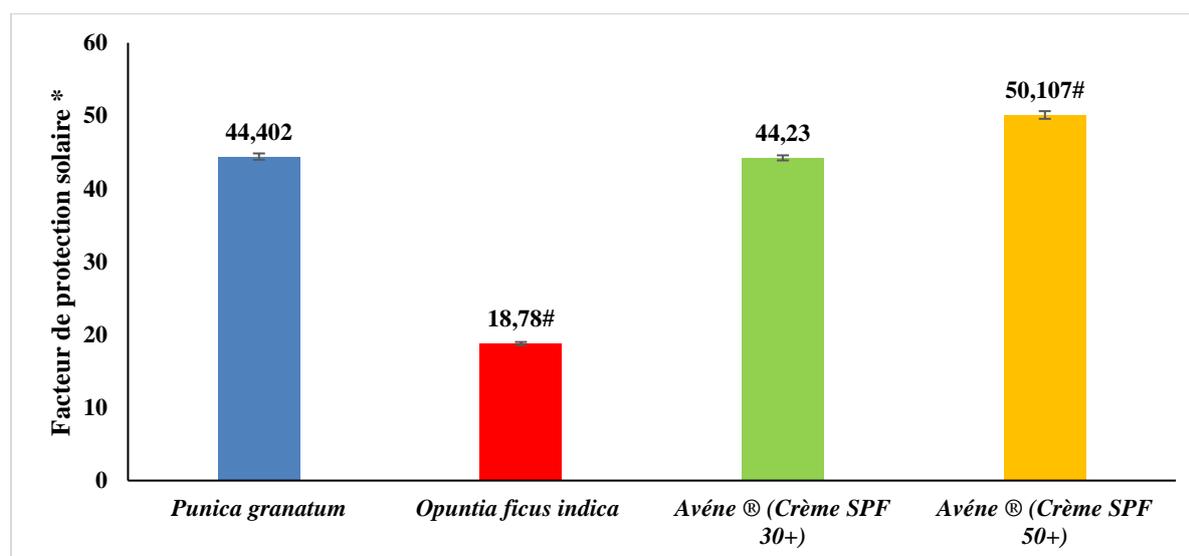
2.7/ Facteur de protection solaire (SPF)

Les résultats des facteurs de protection solaire en présence des extraits des écorces des fruits de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* ainsi que les standards témoins (Avène®⁵⁰⁺ et Avène®³⁰⁺) sont présentés dans le tableau et le figure ci-dessous

Tableau XIV : Les facteurs de protections solaires en présence des extraits et des standards témoins.

	<i>Punica granatum</i>	<i>Opuntia ficus indica</i>	Avène® (Crème SPF 30+)	Avène® (Crème SPF 50+)
Facteur de protection solaire (SPF)*	44,40 ± 0,44	18,78#±0,21	44,23±0,35	50,11#±0,53

* Valeurs moyennes de SPF±SD (n=3). # : $p < 0,0001$; valeurs comparées au *Punica granatum*



*Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart type

Figure 28 : Les valeurs de protection solaire des extraits et des témoins.

La lecture du **Tableau XIV** et de la **Figure 28** montrent que :

- Les extraits des écorces de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* ainsi que les crèmes antisolaires témoins (Avène®⁵⁰⁺ et Avène®³⁰⁺) possèdent un pouvoir de protection solaire vis-à-vis des rayonnements solaires UV ;

- L'extrait de *Punica granatum*, a montré un pouvoir protecteur (SPF=44.40 ± 0.44) significativement supérieur ($p < 0.0001$) par rapport à celui observé pour les l'extrait d'*Opuntia ficus indica* (SPF=18.78 ± 0.21) et celui de la crème antisolaire témoins Avéne^{®50+} (SPF=50.11 ± 0.53) ;
- Un potentiel protecteur (SPF) significativement faible ($p < 0.0001$) est enregistré pour l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* (SPF=18.78 ± 0.21) par rapport aux crèmes antisolaires témoins Avéne^{®30+}(SPF=44.23 ± 0.35) et Avéne^{®50+} (SPF=50.11 ± 0.53).

On déduit de ces résultats que l'extrait d'écorce de fruit de *Punica granatum* exprime un caractère antisolaire appréciable, vis-à-vis des rayonnements UV comparable à celui des crèmes antisolaires témoins (Avéne^{®30+}). Ceci suggère que l'extrait d'écorce de *Punica granatum* a un grand potentiel pour être utilisé comme écran solaire et d'être une photo-protecteur contre le rayonnement UVB et ses effets néfastes sur la peau humaine. Cela peut être expliqué par la présence des composés phénoliques qui présentent un large éventail d'activités biologiques et agissent soit comme des filtres absorbant les UVB photons, ou par l'activité antioxydante en empêchant des dommages photooxydants (Baccarin *et al.*, 2015).

Notre travail sur les extraits des écorces de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus-indica* est considéré parmi les premières études réalisées pour la détermination de leur pouvoir protecteur solaire vis-à-vis des rayonnements UV. De ce qui précède, il peut être conclu qu'il n'y a pas d'études préalables d'estimation du pouvoir protecteur solaire sur les parties végétales des espèces étudiées.

2.8/ Activité cicatrisante *in vivo*

Les extraits des écorces des fruits de *Punica granatum L* et d'*Opuntia ficus-indica*, ont fait l'objet d'une évaluation de leur activité cicatrisante sur des plaies d'excision et des brûlures pratiqués sur des lapins Néo-zélandais. L'effet des extraits est comparé par rapport à une pommade cicatrisante commerciale (Cicatryl[®]).

2.8.1/ Activité cicatrisante *in vivo* (test brûlure)

Les résultats obtenus de l'évolution de la cicatrisation des brûlures, après application journalière des extraits, sont exprimés dans les *Tableaux XV* et *Tableaux XVI*.

Tableau XV : Chronologie de la cicatrisation des brûlures traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.

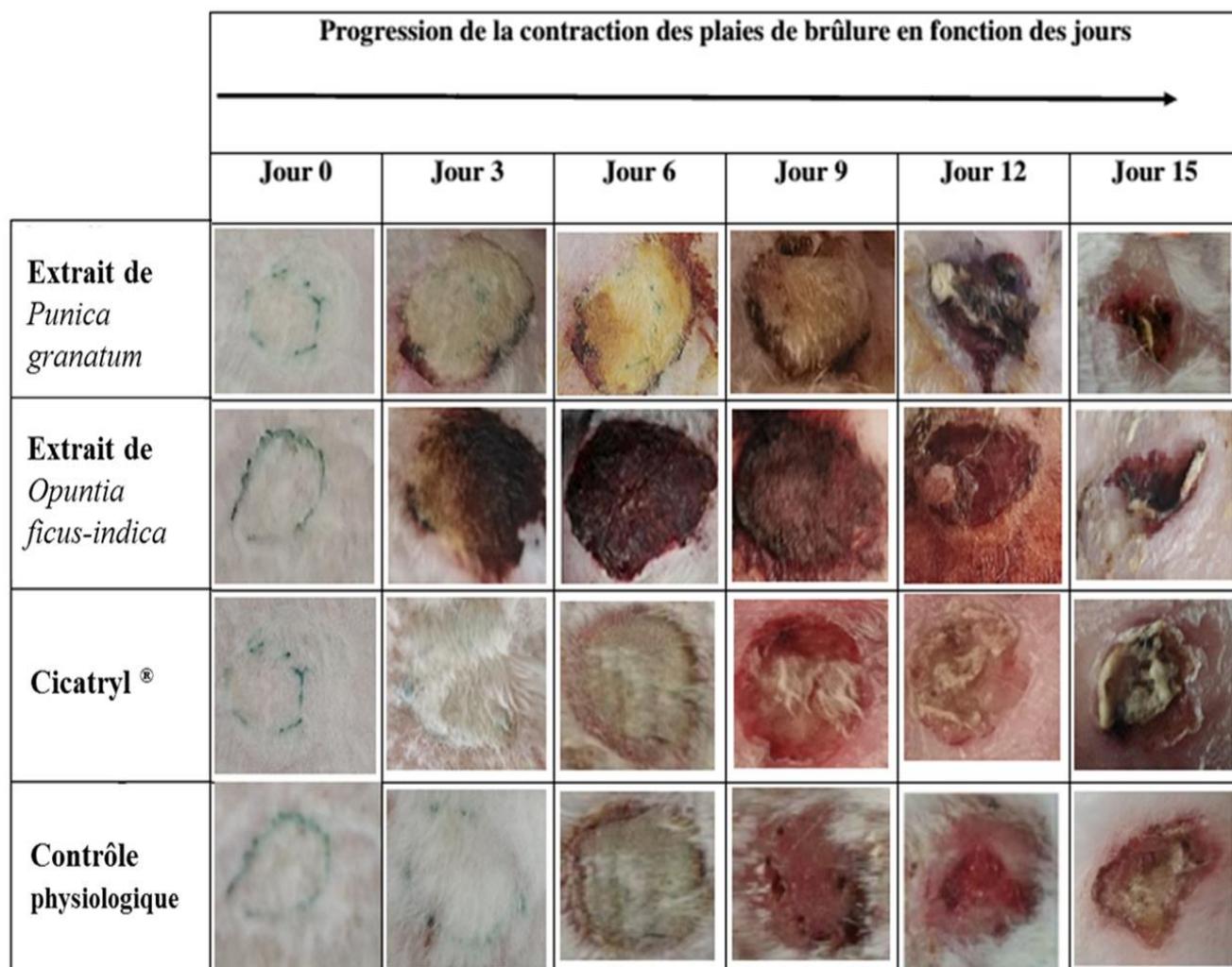


Tableau XVI : Evolution du pourcentage de contraction des plaies de brûlure chez le lapin traité et non traité.

groupes	Affectations	Contraction des plaies de brulures exprimée en % ^Δ				
		J3	J6	J9	J12	J15
I	<i>Punica granatum</i>	11,21**±1,11	19,67*±15,40	22,17**±13,01	31,05*±14,66	57,28*±6,07
II	<i>Opuntia ficus indica</i>	19,52**±7,13	20,05**±4,29	24,21**±9,56	33,12*±12,95	68,23**±8,21
III	<i>Cicatryl Bio</i>	-3,55±11,8	-5,88±8,56	2,11±6,2	20,3±4,70	50,78±7,20
IV	<i>physiologique</i>	-0,46±4,24	-6,76±6,29	-12,83±4,67	-1,84±9,15	31,52±15,06

^Δ valeur moyenne ± écart type ; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ valeur vs contrôle (physiologique)

Il ressort de la lecture du **Tableau XVI** que :

- Généralement, il y a eu une réduction progressive de la surface des plaies avec le temps dans les différentes plaies traitées par les extraits des écorces des fruits de *Punica granatum*, d'*Opuntia ficus indica* et par Cicatryl[®] ;
- Le pourcentage de contraction le plus élevé a été obtenu dans les plaies traitées par les extraits de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* par rapport au groupe témoin non traitées et traité par Cicatryl[®] ;
- L'effet des extraits testés est significatif dès le 3ème jour par comparaison aux plaies physiologiques, alors que celui de Cicatryl[®] n'est plus significatif par rapport aux plaies physiologiques ;
- Sur toute la période (J3 → J15) les groupes traités par les extraits testés de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* montrent une cicatrisation plus rapide que celle observée dans le groupe traité par Cicatryl[®].

A la lecture des résultats de l'évolution de la cicatrisation des plaies de brûlures, on peut conclure que l'application topique des extraits hydro-alcooliques de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* présente un effet cicatrisant significativement supérieur ($p < 0.01$) par comparaison aux groupe traité par Cicatryl[®] et non traité. Ceci confirme l'effet cicatrisant de l'extrait de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* qui stimule la contraction de la plaie et permette de raccourcir la période d'épithélialisation. Ce qui est interprété par une diminution de la phase inflammatoire, une favorisation de la contraction et une réduction de la période d'épithélialisation, comme rapporté dans d'autres études (Zeghad, 2018).

Le mécanisme d'action peut être affecté par certaines substances bioactives ayant un effet cicatrisant et doués d'un potentiel antioxydant. Ces composés, qui sont représentés par la famille des flavonoïdes, sont très recherchés pour leur propriété : antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti cancérigène (Karak, 2019 ; Rengasamy *et al.*, 2019).

2.8.2/ Activité cicatrisante *in vivo* (test incision)

Les résultats obtenus de l'évolution de la cicatrisation des plaies d'excision, après application journalière des extraits, sont exprimés dans les *Tableaux XVII* et *Tableaux XVIII*.

Tableau XVII : Chronologie de la cicatrisation des plaies d'incision traitées et non traitées (contrôle) chez le lapin.

Progression de la contraction des plaies d'incision en fonction des jours						
→						
	Jour 0	Jour 3	Jour 6	Jour 9	Jour 12	Jour 15
Extrait de <i>Punica granatum</i>						
Extrait de <i>Opuntia ficus-indica</i>						
Cicatryl®						
Contrôle physiologique						

Tableau XVIII : Evolution du pourcentage de contraction des plaies de brûlure chez le lapin traité et non traité.

		Contraction des plaies d'incision exprimée en % ^Δ				
groupes	Affectations	J3	J6	J9	J12	J15
I	<i>Punica granatum</i>	34,63±26,69	41,43±10,53	44,66±11,91	48,53±12,49	/
II	<i>Opuntia ficus indica</i>	31,55±17,29	37,09±13,86	34,17±8,61	35,51±9,64	/
III	<i>Cicatryl</i>	-6,97±1,51	-29,35**±15,98	-12,05*±5,84	1,96*±20,29	44,67±5,03
IV	<i>physiologique</i>	25,45±4,54	26,17±4,34	32,48±5,67	43,38±4,06	69,25±0,43

^Δ valeur moyenne ± écart type ; **p*<0,05, ***p*<0,01 valeur vs contrôle (physiologique)

Il ressort de la lecture du *Tableau XVIII* que :

- Les groupes traités par les deux extraits testés ne montrent aucune différence significative de guérison par rapport au groupe contrôle non traité ;
- Le groupe non traité (physiologique) montre une progression de la cicatrisation plus rapide ($p < 0,05$) que celle observée pour le groupe témoin traité par Cicatryl[®].
- On note également, que le lapin traité par les extraits testés, a probablement subi une infection urinaire durant la période d'expérimentation, ce qui conduit à son décès avant le J15 de traitement des plaies, donc les résultats de cette expérimentation ne peuvent pas être pris en compte.

Conclusion

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments, L'Algérie est l'un des pays disposant d'un important réservoir de plantes médicinales et phytothérapeutiques lors de sa position des tests phytochimiques biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique qui doivent être valorisées pour leur exploitation dans différents usages. Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phyto-chimique et biologique permettant de déterminer quantitativement certains groupes chimiques bioactifs contenus dans des extraits hydro-alcooliques préparés à partir des déchets des fruites de deux plantes médicinales d'intérêts bio-pharmacologique, cosmétique et agro-alimentaire ; le grenade (*Punica granatum*) et la figue de barbarie (*Opuntia ficus-indica*) pour mettre en évidence ses vertus thérapeutiques.

Elles étaient choisies parmi les espèces les plus consommées en Algérie, tout en prenant en considération leur caractère endémique. En conclusion, cette étude nous a permis :

-Sur le volet phytochimique :

L'analyse quantitative montre que les taux des phénols totaux, flavonoïdes et flavonols totaux des extraits sont significativement importants. A travers cette analyse phytochimique, il peut être conclu que l'extrait hydroalcoolique de *Punica granatum* s'est révélé relativement riche en composés phénoliques, par rapport à l'extrait d'*Opuntia ficus-indica*, qui pourrait constituer une source potentielle d'antioxydants.

-Sur le volet bio-pharmacologique :

Plusieurs activités ont été étudiées, à savoir les activités antioxydantes, anti-enzymatiques, cicatrisantes et antisolaires. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant les différents essais (DPPH•, ABTS•+, FRAP, GOR, CUPRAC) a montré que le potentiel inhibiteur envers les radicaux libres d'extrait de déchets de *Punica Granatum* est le plus important comparé à l'autre extrait de déchets de fruit d'*Opuntia Ficus Indica*. Ceci peut être corrélé avec sa teneur élevée en différents groupes de composés phénoliques. De même, Les résultats des facteurs de protection solaire ont montré que l'extrait d'écorces de fruit de *Punica granatum* exprime un caractère antisolair appréciable, vis-à-vis des rayonnements UV comparable à celui des crèmes antisolaires témoins (Avène^{®30+}).

Les extraits des plantes étudiées n'ont révélé aucun effet anti-enzymatique inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase. On peut souligner d'après les résultats de la présente étude que les extraits de déchets de *Punica granatum*, d'*Opuntia Ficus Indica* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète.

Les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante chez le lapin des plaies de brûlures ont montré que sur toute la période (J3→ J15) les groupes traités par les extraits testés de *Punica granatum* et d'*Opuntia ficus indica* montrent une cicatrisation plus rapide que celle observée dans le groupe traité par Cicatryl®. Le mécanisme d'action peut être affecté par certaines substances bioactives ayant un effet cicatrisant et doués d'un potentiel antioxydant. Ces composés, qui sont représentés par la famille des flavonoïdes, sont très recherchés pour leur propriété : antioxydants, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti cancérigène.

Les résultats obtenus de l'évolution de la cicatrisation des plaies d'excision montrent que le lapin traité par les extraits testés, a probablement subi une infection urinaire durant la période d'expérimentation, ce qui conduit à son décès avant le J15 de traitement des plaies, donc les résultats de cette expérimentation ne peuvent pas être pris en compte.

En perspective, il serait intéressant d'approfondir les investigations phytochimiques, toxicologiques et biologiques des déchets des fruits de *Punica granatum* L. et d'*Opuntia ficus indica* L. afin de s'assurer de leur innocuité, de mettre en évidence d'autres activités bénéfiques pour la santé et de caractériser leurs principes actifs. Ces travaux complémentaires permettront éventuellement une phytostandardisation ultérieure, critère indispensable à la valorisation industrielle de ces produits en tant que compléments alimentaires à allégation de santé.

*Références
bibliographiques*

1. **Abdollahzadeh S.H., Mashouf R., Mortazavi H., Moghaddam M., Roozbahani N. & Vahedi M.** (2011). Antibacterial and antifungal activities of *punica granatum* peel extracts against oral pathogens. *European Journal of Dentistry*.8 :1–6.
2. **Abou-Elella F.M. & Farouk Mohammed Ali R.** (2014). Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*) peel. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 3(2): 1-9.
3. **Adesegun S.A., Fajana A., Orabueze C.I & Coker H.A.B.** (2007). Evaluation of antioxidant Properties of *Phaulopsis Fascisepsepala* CBCI (Acanthaceae). *Oxford Journal*. 6: 227-213.
4. **Alcaraz L.E., Blanco S.E., Puig O.N., Tomas F. & Ferretti F.H.** (2000). Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* stain. *Journal of Theoretical Biology*.205: 231-240.
5. **Alexander T.C., Han F.X., Arslan Z. & Tchounwou P.B.** (2019). Toxicity of As in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) from the Northern Gulf of Mexico at the presence of Zn and its antioxidant defense mechanisms. *Exotoxin Environ. Safe*.172:514-522.
6. **Al-Obaidi D.M., Muhsin S.A. & Ibrahim A.A.** (2017). *In vivo* antimicrobial inhibition of *Punica granatum* extracts as mouthwash. *Russian Open Medical Journal*. 6:1-5.
7. **Amarowicz R. & Janiak M.** (2018). Hydrolysable Tannins. Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin). *Food Chemistry*. 244:102-108.
8. **Ammar I. S. Bardaa M., Mzide Z., Sahnoun T., Rebaï H., Attia M. & Ennour.** (2015). Antioxidant, antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. *International Journal of Biological Macromolecules*.81:483–490.
9. **Angamuthu D., Purushothaman I., Kothandan S. & Swaminathan R.** (2019). Antiviral study on *Punica granatum L.*, *Momordica charantia L.*, *Andrographis paniculata* Nees, and *Melia azedarach L.*, to Human Herpes Virus-3. *European Journal of Integrative Medicine*.28: 98–108.
10. **Apak R., Guclu K., Ozyurek M. & Karademir S.E.** (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, Using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.52: 7970–7981.
11. **Araba A., El Aich A., Sarti B., Belbahri L., Boubekraoui A., Ait Hammou A., Zemmouri A. & Sbaa, A.** (2000). Valorisation du figuier de barbarie en élevage. *Transfert de technologie en agriculture*. 1-4.

12. **Arba M.** (2009). Le cactus, *Opuntia*, une espèce fruitière et fourragère pour une agriculture durable au Maroc. Symposium International. *Agriculture durable en région Méditerranéenne (AGDUMED)*. Rabat. Maroc .215-222.
13. **Arruda H. S., Pereira G. A., de Morais D. R., Eberlin M. N., & Pastore, G. M.** (2018). Determination of free, esterified, glycosylated and insoluble-bound phenolics composition in the edible part of araticum fruit (*Annona crassiflora Mart.*) and its byproducts by HPLC-ESI-MS/MS.245:738–749.
14. **Aruwa C.E., Amoo S.O. & Kudanga T.** (2018). *Opuntia (Cactaceae)* plant compounds, biological activities and prospects. A comprehensive review. *Food Research International*.112: 328-44.
15. **Ayoola G.A., Sofidiya T., Odukoya O., Coker H.A.B.** (2006). Phytochemical screening and free radical scavenging activity of some Nigerian medicinal plants. *Journal of Pharmacy Practice and Pharmaceutical Sciences*. 89(3 et 4): 133-136.
16. **Azizi C.E., Hammi H., Chaouch M.A., Majdoub H. & Mnif A.** (2019). Use of Tunisian *Opuntia ficus-indica* Cladodes as a Low Cost Renewable Admixture in Cement Mortar Preparations. *African Journal of Chemistry*. 2: 135- 42.
17. **Babero G.F., Liazid A., Palma M. & Barroso C.G.** (2008). Ultrasound assisted extraction of Capsaicinoids from peppers. *Talanta*. 75(5): 1332-1337.
18. **Baccarin T., Mitjans M., Ramos D., Lemos-Senna E. & Vinardell M. P.** (2015). Photoprotection by *Punica granatum*, seed oil nanoemulsion entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction against UVB-induced DNA damage in human keratinocyte (HaCaT) cell line. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 153:127-136.
19. **Baccarin T., Mitjans A.M., Ramos L. D., Lemos-Senna E., Vinardell M.H. & Ma P.** (2015). Photoprotection of *Punica granatum* seed oil nanoemulsion entrapping polyphenolrich ethyl acetate fraction against UVB-induced DNA damage in keratinocytes HaCat cell line. Département de physiologie, Faculté de pharmacie, Université de Barcelone, BarceloneEspagne, b Unité de Toxicologie et d'Ecotoxicologie du Parc Cientific de Barcelona.
20. **Bahorun T.** (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Conseil, Mauritius, Amas, 83-94.
21. **Battistella Lasta H. F., Lentz L., Gonçalves Rodrigues L. G., Mezzomo N., Vitali L. & Salvador Ferreira S. R.** (2019). Pressurized liquid extraction applied for the

- recovery of phenolic compounds from beetroot waste. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 101353.
22. **Bekir J., Mars M., Vicendo P., Ftterich A. & Bouajila J.** (2013). Chemical composition and antioxidant, antiinflammatory, and antiproliferation activities of pomegranate (*Punica granatum*) flowers. *Journal of Medicinal Food*.16: 544-50.
23. **Belbahloul M., Zouhri A. & Anouar A.** (2015). Biofloculants extraction from Cactaceae and their application in treatment of water and wastewater. *Journal of Water Process Engineering*.7 :306-13.
24. **Benattia F.K.** (2015). Analyse et application des extraits de pipins de figue de barbarie, Thèse de Doctorat en chimie bio –organique et thérapeutique. Université Abou Baker BelkaidTlemcen.
25. **Benhammou N., Atik Bekkara F. & Panovska K.T.** (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf. *Advanced in food science*. 29(3): 155-167.
26. **BenSaad L.A., Kim K.H., Quah C.C., Kim W.R., Shahimi M.,** (2017). Antiinflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*. *Complementary and Alternative Medicine*. 17: 17:47.
27. **Bensegueni A., Belkhiri A., Boulebda N. & Keck G.** (2007). Evaluation de l'activité cicatrisante d'un onguent traditionnel de la région de Constantine sur les plaies d'excision chez le rat. *Science et technologie*. 83-87.
28. **Bindseil K.U., Jakupovic J. & Wolf D.** (2001). Pure compound libraries; a new perspective for natural product based drug discovery. *Drug Discovery Today*. 840-847.
29. **Boros B., Jakabova Dornyei A., Horvath G., Pluhare Z., Kilar F. & Felinger A.** (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. 1217: 7972–7980.
30. **Bonesi M., Tundis R., Sicari V. & Loizzo M.R.** (2019). The Juice of Pomegranate (*Punica granatum* L.), Recent Studies on Its Bioactivities. Quality Control in the Beverage Industry. 459-489.
31. **Brockmann L., Giannou A.D., Gagliani N. & Huber S.** (2017). Regulation of TH17 cells and associated cytokines in wound healing, tissue regeneration, and carcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 18:1033.
32. **Bruneton J.** (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. *Edition Technique et documentation*.

33. **Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 4 e éd., revue et augmentée. Éditions médicales internationales. Tec & Doc. Paris. France.
34. **Bruneton J.** (2015) Pharmacognosie (5^o Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales. Tec and Doc. Lavoisier. Paris. 1504.
35. **Chahdoura H., Morales P., Barreira J. C. M., Barros L., Fernández-Ruiz V. & Ferreira I. C.** (2015). Dietary fiber, mineral elements profile and macronutrients composition in different edible parts of *Opuntia microdasys* (Lehm.) Pfeiff and *Opuntia macrorhiza* (Engelm.). *LWT - Food Science and Technology*.64 (1):446-451.
36. **Chahdoura H., Barreira J. C., Barros L., Dias M. I., Calhella R. C. & Flamini G.** (2019). Bioactivity, hydrophilic, lipophilic and volatile compounds in pulps and skins of *Opuntia macrorhiza* and *Opuntia microdasys* fruits. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology*.105: 57–65.
37. **Chakass M.A., Carbonnier-Jarreau M.C., Verhille A.M. & Reduron J.P.** (2007). Étude palynologique de trois variétés du grenadier (*Punica granatum*) au Liban. *Acta Botanica Gallica*. 154 : 27-42.
38. **Chai W.M., Huang Q., Lin M.Z., Chong, O.Y., Huang W.Y., Wang Y.X., Xu K.L. & Feng H.L.** (2018). Condensed tannins from longan bark as inhibitor of tyrosinase: structure, activity, and mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.66: 908–917.
39. **Chen Y., Zhao B., Huang X., Zhan J., Zhao Y., Zhou M. & Guo L.** (2011). Purification and neuroprotective effects of polysaccharides from *Opuntia Milpa Alta* in cultured cortical neurons. *International Journal of Biological Macromolecules*.49: 681-687.
40. **Corrales Garcia J., Franco Moreno J. & Rodriguez Campos.** (2006). Fruit characterization of twenty cactus pear (*Opuntia spp.*). Accessions I. *Physical and chemical characteristics at harvest*. *ISHS Acta Horti*.728:199-204.
41. **Cort W.M.** (1974). Antioxidant activity of tocopherals, ascorbylpalmitate and ascorbic acid and their mode of action. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.51: 321-325.
42. **De Campo C., Dick M., Pereira dos Santos P., Haas Costa TM., Paese K. & Stanisçuaski Guterres S.** (2018). Zeaxanthin nanoencapsulation with *Opuntia monacantha* mucilage as structuring material: Characterization and stability evaluation

- under different temperatures. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*.558: 410-21.
43. **De Faria H.D., d’Abrão L.C., Santos M.G., Barbosa A.F. & Figueiredo E.C.** (2017). New advances in restricted access materials for sample preparation: A review. *Analytica chimica acta international journal* .959:43–65.
44. **De Hoyos-Martínez P.L., Merle J., Labidi F. & Charrier.** (2019). Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *Journal of Cleaner Production*.206: 1138–1155.
45. **Di Giulio R.T. & Meyer J.N.** (2008). Reactive oxygen species and oxidative stress, in: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds.), *The Toxicology of Fishes*. Taylor and Francis Group. CRC Press. *Boca Raton*. 273-324.
46. **Dikmen M., Ozturk N. & Ozturk Y.** (2011). The antioxidant potency of *Punica granatum L.* Fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer. *Journal of Medicinal Food*.14 :1638–1646.
47. **Delattre J., Beaudoux J.L. & Bonnefont-Rousselot D.** (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 45-80.
48. **Dembitsky V. M., Poovarodom S., Leontowicz H., Leontowicz M., Vearasilp S., Trakhtenberg, S. & Gorinstein S.** (2011). The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Research International*. 44(7), 1671–1701.
49. **De Middeler G., Dubruel P. & De Saeger S.** (2016). Characterization of MIP and MIP functionalized surfaces: Current state-of-the-art. *Food Chemistry*.76:71–85.
50. **Deng Y., Li Y., Yang, F., Zeng A., Yang S., Luo Y., Zhang Y., Xie Y., Ye T., Xiab Y. & Yin W.** (2017). The extract from *Punica granatum* (pomegranate) peel induces apoptosis and impairs metastasis in prostate cancer cells, *Biomed. Pharmacother*.93: 976–984.
51. **Derin K. & Eti S.** (2001). Determination of Pollen Quality, Quantity and Effect of Cross Pollination on the Fruit Set and Quality in the Pomegranate. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 25: 169-173.
52. **Destandau E., Grigoraş C.G., Fougère L., Elfakir C. & Lesellier E.** (2012). Development of the separation of triterpenoids by Supercritical Fluid Chromatography / Evaporative Light Scattering Detector (SFC/ELSD). HPLC 2012, 38th International Symposium on HPLC and related techniques, Anaheim, Etats Unis d’Amérique.

53. **Dongdong W., Cigdem Ö., Ibrahim M., Abu-Reidah M., Sridevi C., Jayanta K. P., Jaroslaw O., Horbanczuk S., Artur J., Nikolay T., Tzvetkov., Pavel U., Atanas G. & Atanasov V.** (2018). Vasculoprotective Effects of Pomegranate (*Punica granatum L.*). *Frontiers in Pharmacology*. 9:544.
54. **Douaouri N.** (2018). Contribution à une étude phytothérapeutique, antiinflammatoire ET antioxydante du grenadier (*Punica granatum L.*) – Etude *in vivo*. Thèse doctorat. Université Abdelhamid ibn Badis de Mostaganem.
55. **Dubeux J.R., Ferreira dos Santos M.V., D’Andrade Lira M., Cordeiro dos Santos D., Farias I., Lima L.E. & Ferreira R.L.C.** (2006). Productivity of *Opuntia ficus indica* under different N and P fertilization and plant population in northeast Brazil. *Journal of Arid Environment*. 357- 372.
56. **Duman A. D., Ozgen M., Dayisoylu K. S., Erbil N. & Durgac C.** (2009). Antimicrobial Activity of Six Pomegranate (*Punica granatum L.*) Varieties and Their Relation to Some of Their Pomological and Phytonutrient Characteristics. *Molecules*. 14(5):1808- 1817.
57. **Drewnowski A. & Gomez-Carneros C.** (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *American Journal of Clinicat Nutrition* .72: 1424-1435.
58. **Farnood Shokouhi S.J., Tajik H. & Mojtaba H.** (2012). Efficacy of topical application of alcoholic extract of yarrow in the healing process of experimental burn wounds in rabbit. *Comparative Clinical Pathology*. 177-181.
59. **Edenharder R & Grünhage D.** (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA 102. *Mutation Research*.540: 1–18.
60. **Elfalleh W., Tlili N., Nasri N., Yahia Y., Hannachi H., Chaira N. & Ferchichi A.** (2011). Antioxidant Capacities of Phenolic Compounds and Tocopherols from Tunisian Pomegranate (*Punica granatum*) Fruits. *Journal of Food Science* .76(5): 707–713.
61. **El kharrassi Y.** (2015). Mise en évidence de la diversité des populations de cactus (*Opuntia spp.*) au Maroc et de la modulation du métabolisme lipidique par des extraits naturels et de phytostérols issues de cactus ou d’huile d’Argan dans les cellules microgliales BV2. Thèse de Doctorat en biochimie, biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Hassan I-Settat. Université Bourgogne –Dijon.

62. **El Mannoubi I., Barrek S., Skanji T. & Zarrouk H.** (2008). Étude de la composition de la fraction volatile des graines du figuier de barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Journal de la Société Chimique de Tunisie*.10 : 61-67.
63. **El Kossori RL., 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 (Formerly Qualitas Plantarum)*.52: 263-270.
64. **El-Mostafa K., El Kharrassi Y., Badreddine A., Andreoletti P., Vamecq J., El Kebbaj M.S., Latruffe N., Lizard G., Nasser B. & Cherkaoui-Malki M.** (2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as asource of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules*.19 :14879-14901.
65. **Erre P., Chessa I., Nieddu G. & Jones P. G.** (2009). Diversity and spatial distribution of *Opuntia spp.* in the Mediterranean Basin. *Journal of Arid Environments*.73 (12): 1058–1066.
66. **Espin J. C.** (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*. 68 : 2986–3008.
67. **Fabre B. & Ermosilla V.** (2008). Utilisation d'un extrait de grenadier pour le maintien de la coloration capillaire. Fascicule de brevet européen. Bulletin 2008/01.
68. **Fernandes L., Pereira J. A., Lopéz-Cortés I., Salazar D. M., Ramalhosa E. & Casal S.** (2015). Fatty acid, vitamin E and sterols composition of seed oils from nine different pomegranates (*Punica granatum L.*) cultivars grown in Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*.39: 13–22.
69. **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. *Frontiers inBioscience*.11: 2574-2589.
70. **Galati G. & O'Brien P.J.** (2004). Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolic, significance for their chemo preventive and anticancer properties, *Free Radical Biology and Medicine*. 37: 287–303.
71. **Gandía-Herrero F. & García-Carmona F.** (2013). Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. *Trends in Plant Science*.18: 334–343.
72. **Ganeshkumar M., Sathishkumar M., Ponrasu T., Dinesh M.G. & Suguna L.** (2013). Spontaneous ultra-fast synthesis of gold nanoparticles using *Punica granatum* for cancer targeted drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*.106: 208–216.
73. **Guo H., Zhang D. & Fu Q.** (2016). Inhibition of cervical cancer by promoting IGFBP7 expression using ellagic acid from pomegranate peel. *Medical Science Monitor Basic Research*.22: 4881–4886.

74. **Grasel F. Dos S., Ferrão M. F., & Wolf C. R.** (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*.153: 94–101.
75. **Grigoraş C.G., Destandau E. & Elfakir C.** (2012). Extraction assistée par microondes d'acides triterpéniques de résidus de pommes. 7ème Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée – COFrRoCA. Bacău. Roumanie.
76. **Habibi Y.** (2004). Contribution à l'étude morphologique, ultrastructurale et chimique de la figue de barbarie. Les polysaccharides pariétaux : caractérisation et modification chimique. Thèse soutenue en vue d'obtention du grade de Docteur de l'université Josef Fourier et l'université Cadi Ayyad.
77. **Halmi S.** (2015). Étude chimique et botanique. Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*.L.Thèse de doctorat. Université Constantine 1.
78. **Hayrapetyan H., Hazeleger W. C. & Beumer R. R.** (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meatpaté at different temperatures. *Food Control*. 23 : 66-72.
79. **Hennebelle T.** (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de la lamiles productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées). Thèse de doctorat-France. 304.
80. **Hernandez-Hernandez A.B., Alarcon-Aguilar F.J., Almanza-Perez J.C., NietoYañez O., Olivares-Sanchez J.M., Duran-Diaz A., Rodriguez-Monroy M.A. & Canales-Martinez M.M.** (2017).Antimicrobial and anti-inflammatory activities, woundhealing effectiveness and chemical characterization of the latex of *Jatropha neopauciflora* Pax. *Journal of Ethnopharmacology*. 204 : 17.
81. **Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., PolletB & Legrand M.** (2004). Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate/quinatohydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. 6(6) : 1446-1465.
82. **Holland D., Hatib K. & Bar-Ya'akov I.** (2009). Pomegranate: Botany, Horticulture, Breeding. *Horticultural Reviews*. 35: 127- 191.
83. **Huang X. X. & Huang Y** (2016). Enhancement of curcumin water dispersibility and antioxidant activity using core–shell protein–polysaccharide nanoparticles. *Food Research International*.87: 1-9.

84. **Inglese P., Mondragon C., Queretaro J., Nefzaoui A. & Sáenz C.** (2018). Ecologie, culture et utilisation du figuier de barbarie, Ed. L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et le Centre International pour la Recherche Agricole dans les Zones Arides .153.
85. **Iserin P.** (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Ed., 2, Larousse.2 :1-14.
86. **Jianjun X., Yongxin Z & Haji A.N.** (2017). Anti-inflammatory effect of pomegranate flower in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. *Pharmaceutical Biology*. 55(1): 2095–2101.
87. **Jurenka J.** (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Alternative Medicine Review*.13:128-144.
88. **Kaci M. Z., Elothmani D. & Boutekrabt L.B.** (2015). Morphological and physicochemical characteristics of three pomegranate cultivars (*Punica granatum L.*) grown in northern Algeria Fruits. *The international journal of tropical and subtropical horticulture*. 71(1):17-26.
89. **Kang L.Z., Liu X., Yue Z.L., Chen Z. & Baker C.** (2018). Fabrication and *in vitro* characterization of electrochemically compacted collagen/sulfated xylorhamnoglycuronan matrix for wound healing applications, *Polymers*. 10: 415.
90. **Karak P.** (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* .10:1567–1574.
91. **Karthikeyan G., Vidya A. K.** (2019). Phytochemical analysis, antioxidant and antibacterial activity of pomegranate peel.10-22.
92. **Khare C.** (2004). Encyclopedia of Indian Medicinal Plants-Rational Western Therapy, Ayurvedic and other Traditional Usage. Springer, Germany, ISBN .3: 540-20033.
93. **Kim Y.O., Cho J Yeo H., Lee B.W., Moon B.J. & Ha Y.M.** (2019). Flame Retardant Epoxy Derived from Tannic Acid as Biobased Hardener. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 7(4): 3858-3865.
94. **Koehn F.E. & Carter G.T.** (2005). The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery Journal*. 206-220.
95. **Kowalska H., Czajkowska K., Cichowska J. & Lenart A.** (2017). What is new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*.67:150–159.
96. **Lansky E.P. & Newman R.A.** (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*.109: 177-206.

- 97. Lansky E.P., Paavilainen H. M., Pawlus A. D. & Newman R. A.** (2008). *Ficus spp*: Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. *Journal of Ethnopharmacology*. 119(2):195-213.
- 98. Lazăr G., Grigoras C.G., Destanda E. & Elfakir C.** (2012). Bioactive compounds extraction from pomace of four apple varieties. *Journal of Engineering Studies and Research* .18 (1): 96.
- 99. 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*.33: 135-159.
- 100. Lee Y.C., Pyo Y.H., Ahn C.K. & Kim S.H.** (2005). Food functionality of *Opuntia ficus-indica* var. cultivated in Jeju Island. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.10:103-110.
- 101. Leopoldini M., Russo N. & Toscano M.** (2011). The molecular basis of working mechanisms of natural polyphenolic antioxidants. *Food chemistry*.125 (2): 288-306.
- 102. Liu J., Chen Z., Wang J., Li R., Li T. & Chang M.** (2018). Encapsulation of Curcumin Nanoparticles with MMP9-Responsive and Thermos-Sensitive Hydrogel Improves Diabetic Wound Healing. *ACS Applied Materials & Interfaces*.10 (19):16315–16326.
- 103. Lutz M., Jorquera K., Cancino B., Ruby R. & Henriquez C.** (2011). Phenolic and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera L*) cultivars grown in Chile. *Journal of food science*. 76(7): 1088-1093.
- 104. Li Y., Ye T., Yang F., Hu M., Liang L., He H., Li Z., Zeng A., Li Y., Yao Y., Xie Y., Li Z. & An S.** (2016). *Punica granatum* (pomegranate) peel extract exerts potent antitumor and anti-metastasis activity in thyroid cancer. *Royal Society of Chemistry*.6: 84523–84535.
- 105. Mabrouki L., Zougari B., Bendhifi M. & Borgi M.A.** (2015). Evaluation of antioxidant capacity, phenol and flavonoid contents of *Opuntia streptacantha* and *Opuntia ficus indica* fruits pulp. *Nature & Technologie. C- Sciences de l'Environnement*. 13 : 02-08.
- 106. Macheix J.J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes*. 4-5.
- 107. Mahmoudieh M., Keleidari B., Esfahani FN., Zolfaghari B., Melali H., Jazi AH. & Mokhtari M.** (2019). The effect of *Punica granatum L.* flower extract on post-surgical

- peritoneal adhesions in a rat model. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*.246: 113-116.
- 108. Malik A., Afaq F., Sarfaraz S., Adhami V. M., Syed D. N. & Mukhtar H.** (2005). Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.102: 14813–14818.
- 109. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. & Jimenez L.** (2004). Polyphenols: foodsources and bioavailability. *Journal of Clinical Nutrition*.79: 727-747.
- 110. Mansur J. S., Brender M. N. R., Mansur M. C. A.A. & Azulai R. D.** (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *A Bras Dermatol Rio de Janeiro*. 61:121-124.
- 111. Marsoul A., Ijjaali M., Elhajjaji F., Taleb M., Salim R., Boukir A.,** (2020). Phytochemical screening, total phenolic and flavonoid methanolic extract of pomegranate bark (*Punica granatum L*): Evaluation of the inhibitory effect in acidic medium 1 M HCl, *Materials Today: Proceedings*. 27(4):3193-3198.
- 112. Masci A., Coccia A., Lendaro E., Mosca L., Paolicelli P. & Cesa S.** (2016). Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chemistry Journal*.202: 59–69.
- 113. Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C. & Giovannini C.** (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry* .16(10): 577-586.
- 114. Mata A., Ferreira J.P., Semedo C., Serra T., Duarte C.M.M., Bronze M.R.,** (2016). Contribution to the characterization of *Opuntia spp.* juices by LC-DAD-ESI–MS/MS. *Food Chemistry*.210: 558–565.
- 115. Mathew M. & Subramanian S.** (2014). *In Vitro* Screening for Anti-Cholinesterase and Antioxidant Activity of Methanolic Extracts of Ayurvedic Medicinal Plants Used for Cognitive Disorders. *Journal Pone*. 9(1) :105-117.
- 116. Ma Y.Q., Chen J.C., Liu D.H. & Ye X.Q.** (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of Citrus peel extracts: effect of ultrasounds. *Ultrasonics sonochemistry*.16 (1): 57-62.
- 117. 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.

- 118. Merghem R.** (2008). Valorisation des substances d'origine végétale. Genie biochimie. Université Constantine 1. Chapitre 2.
- 119. Miguel M.G., Neves M.A. & Antunes M.D.** (2010). Pomegranate (*Punica granatum L*): A medicinal plant with myriad biological properties-A short review. *Journal of medicinal plants research*. 4 (25): 2836-2847.
- 120. Mithun S., Sreedam C.D., Sajal K.S., Zobaer A.M. & Sitesh C.B.** (2012). Analgesic and Anti-inflammatory Activities of Flower Extracts of *Punica granatum Linn* (Punicaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2: 133–136.
- 121. Mobhammer MR., Stintzing FC. & Reinhold C.** (2006). Cactus Pear Fruits (*Opuntia spp.*), a Review of Processing Technologies and Current Uses. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 8:1-25.
- 122. Moualkia H., Gourmati M.,** (2015). Détermination de substances naturelles à potentialités antioxydante et anti- inflammatoire de plantes *Punica granatum L* et *Lawsonia inermis*. Université des frères Mentouri Constantine. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.
- 123. Moreira H., Slezak A., Szyjka A., Oszmianski J. & Gasiorowski K.** (2017). Antioxidant and cancer chemopreventive activities of cistus and pomegranate polyphenols. *The international journal of the Polish Pharmaceutical Society* .74: 688–698.
- 124. Mulas. & Mulas.** (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. 112 :14-16.
- 125. Mustafa S. M., Chua L. S., El-Enshasy H. A., Abd Majid F. A. & Hanapi S. Z.** (2020). Kinetic profile and anti-diabetic potential of fermented *Punica granatum* juice using *Lactobacillus casei*. *Process Biochemistry*.102:14-20.
- 126. 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*.1-10.
- 127. Nam S., Condon B.D., Xia Z., Nagarajan R., Hinchliffe D.J. & Madison CA.** (2017). Intumescent flame-retardant cotton produced by tannic acid and sodium hydroxide. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* .126:239-246.

- 128. Narayana K.R., Reddy M.S., Chaluvadi M.R. & Krishna D.R.** (2001). Bioflavonoides classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*.33: 2-16.
- 129. Neha K., Haider M. R., Pathak A. & Yar M. S.** (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*.178: 687-704.
- 130. Nharingo T. & Moyo M.** (2016). Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review. *Journal of Environmental Management*.166: 55-72.
- 131. Nkhili Ez-zohra.** (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. These doctorat en co-tutelle. Université Cadi Ayyad et université D'Avignon et Des Pays De Vaucluse. 08.
- 132. Nourhashémi C., Hein F., Secher M.** (2006). Suivi médical du patient atteint de la maladie d'Alzheimer. *Traité sur la maladie d'Alzheimer*. 403-414
- 133. Otálora M.C., Carriazo J.G., Osorio C. & Nazareno M.A.** (2018). Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying a comparative study. *Food Research International*.111 :423-30.
- 134. Oukabli A.** (2004). Le Grenadier : Des Variétés Performantes pour la Culture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. MADRPM/DERD. 123 : 1-4.
- 135. Oyaizu M.** (1986). Studies on products of the browning reaction: antioxidative activities of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition*.44 (66): 307-315.
- 136. Oyedemi S.O., Bradely G. & Afolayan A.J.** (2010). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activities of aqueous extract of *Strychnos henningsii* Gilg. *African journal of pharmacy and pharmacology*. 4(2): 70-78.
- 137. Packer L., Kraemer K et Rimbach G.** (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition* .17(10) : 888-895.
- 138. Park Y. R., Sultan M. T., Park H. J., Lee J. M., Ju H. W. & Lee O. J.** (2018). NF- κ B signaling is key in the wound healing processes of silk fibroin. *Acta Biomaterialia*. 67: 183–195.
- 139. Poovathinthodiyil R., Jie F., Scott L. & Wallen, J.** (2003). Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles.125 (46):13940–13941.
- 140. Porter W.L.** (1980). Autoxidation in foods and biological systems, eds. Simic MG, and Karel M. Plenum Press, New York .295 chapter 19.
- 141. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C. & Pouységu L.** (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis, *Angew. Angewandte Chemie Peer-reviewed journal*.586–621.

- 142. Rajan S., Mahalakshmi S., Deepa V.M., Sathya K., Shajitha S. & Thirunalasundarii T.** (2011). Antioxidant potentials of *Punica granatum* fruit rind extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.3 (3): 82-88.
- 143. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biomedical*.26: 1231–1237.
- 144. Reyes-Agüero J.A., Aguirre-Rivera J. R. & Hernández H. M.** (2005). Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (Cactaceae). *The Journal of Natural Resources and Development (Agrociencia)*.3 (4):395-408.
- 145. Reyes-Agüero J.A., Aguirre R.J. & Valiente-Banuet A.** (2006). Reproductive biology of *Opuntia*. A review. *Journal of arid environments*.64: 549-585.
- 146. Rengasamy K.R.R., Khan H., Gowrishankar S., Lagoa R.J.L., Mahomoodally F.M., Khan Z., Suroowan S., Tewari D., Zengin G., Hassan S.T.S. & Pandian S.K.** (2019). The role of flavonoids in autoimmune diseases: therapeutic updates. *Pharmacology & Therapeutics Journal*.194:107–131.
- 147. 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.
- 148. Romana-Souza B., Porto L. C. & Monte-Alto-Costa A.** (2010). Cutaneous wound healing of chronically stressed mice is improved through catecholamines blockade. *Experimental Dermatology*.19 (9): 821–829.
- 149. Rice-Evans C.A. & Miller N.J.** (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Social Transactions*.24: 790-5.
- 150. Rosa I.V.A., Elsa B.M., Silvia B.B. & Fernando R.C.** (2017). Review Cactus stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition with emphasis on its biofunctional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* .97 (15): 5965.
- 151. Rico M., González A.G., Santana-Casiano M., González-Dávila M. & PérezAlmeida N.** (2017). Production of primary and secondary metabolites using algae, *Prospects and Challenges in Algal Biotechnology*. 311-326.
- 152. Rodríguez-Vaquero M.J., Alberto M.R. & Manca de Nadra M.C.** (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*.8:93-101.
- 153. Rodríguez-González S., Martínez-Flores H.E., Chávez-Moreno C.K., Macías-Rodríguez L.I., Zavala-Mendoza E. & Garnica-Romo M.G.** (2014). Extraction and

- Characterization of Mucilage from Wild Species of *Opuntia*. *Journal of Food Process Engineering*. 37:285-92.
- 154. Ruiz Pérez-Cacho M.P., Galàn-Soldevilla H., Corrales García J. & Hernández Montes A.** (2006). Sensory characterization of nopalitas (*Opuntia spp.*). *Food Research International Journal*.39: 285-293.
- 155. Sainvitu P., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.P., Paquot M. & Deleu M.** (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignin secoisolariciresinol: a review. *Biotechnology Agronomy, Sociology and Environment*. 16.
- 156. Sadasivam S. & Thayumanavan B.** (2003). Molecular host plant resistance to pests. Books in soils, plants and the environment. *CRC Press*. 96: 221.
- 157. Salehi B., Armstrong L., Rescigno A., Yeskaliyeva B., Seitimova G., Beyatli A. & Sharifi-Rad J.** (2019). Lamium plants a comprehensive review on health benefits and biological activities. *Molecules*. 24:1913.
- 158. Santos-Zea L., Gutiérrez-Uribe J.A. & Serna-Saldivar S.O.** (2011). Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity, and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia spp.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.59: 7054–7061.
- 159. Sarni-Manchado P. & Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. 2-10.
- 160. Sarker M., Das S.C., Saha S.K., Al Mahmud Z. & Bachar S.C.** (2012). Analgesic and anti-inflammatory activities of flower extracts of *Punica granatum Linn.* (*Punicaceae*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2 : 133.
- 161. Sarmi M.P. & Cheymer V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. 2 -10.
- 162. Sartori C., Hortência A., Castro A. & Akira Mori F.** (2014). Teores de Fenóis Totais Taninos nas Cascas de Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*). *SciELO journal*. 21(3):394-400.
- 163. Shi H., Noguchi N. & Niki E.** (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. *Methods Enzymology*.335:157-66.
- 164. Shahrahmani H. N., Kariman S. & Jannesari.** (2018). the effect of green tea ointment on episiotomy pain and wound healing in primiparous women: A randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Phototherapy Research*. 32:522– 530.

- 165. Sheepskin I.A., Xie G., Kirpotina L.N., Klein R.A., Jutila M.A. & Quinn M.T.** (2008). Macrophage immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Opuntia polyacantha*. *International Immunopharmacology*.8 (10): 1455-1466.
- 166. Sherwin E.R.** (1976). Antioxidants for vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.53: 430-436.
- 167. Shimozu Y., Kuroda T., Tsuchiya T. & Hatano T.** (2017). Structures and antibacterial properties of isorugosins H-J, oligomeric ellagitannins from liquidambar formosana with characteristic bridging groups between sugar moieties. *Journal of Natural Products*.80: 2723–2733.
- 168. Schweizer M.** (1997)."Docteur Nopal, le médecin du Bon Dieu," Aloe Plantes et Beauté.
- 169. Seon Hwa L., Tomoyuki O. & Ian A. B.** (2001). Vitamin C-Induced Decomposition of Lipid Hydroperoxides to Endogenous Genotoxins.Science. *American Association for the Advancement of Science*.292 (5524):2083.
- 170. Serrano M., Zapata., P.J., Castillo S., Guillén F., Martínez-Romero D. & Valero D.,** (2010). Antioxidant and nutritive constituents during sweet pepper development and ripening are enhanced by nitrophenolate treatments. *Food Chemistry*.118: 497-503.
- 171. Siban Mutahar S., Al-Otaibi Mutlag M. & Al-Zoreky Najeeb S.** (2012). Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *Journal of Food and Nutrition Sciences*.3: 991–996.
- 172. Smith A. R., Shenvi S. V., Widlansky M., Suh J.H. & Hagen T.M.** (2004). Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* .11(9): 1135-1146.
- 173. Spichiger R.E. & Savolainen V.** (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. *Editions Presses polytechniques et universitaires romandes*. Troisième édition. 413.
- 174. Spichiger R.E., Savolainen V., Figeat M. & Jeanmonod D.** (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. *Editions Presses polytechniques et universitaires romandes*. Troisième édition. 413.
- 175. Sreekumar S., Sithul H., Muraleedharan P. & Azeez J. M.** (2014). Pomegranate Fruit as a Rich Source of Biologically Active Compounds. *BioMed Research International*. 1–12.

- 176. Subrahmanyam M., Hemmady A. & Pawar S.G.** (2001). Antibacterial Activity of Honey On Bacteria Isolated from Wounds. *Annals of Burns and Fire Disasters*. XIV (I).
- 177. Süntar I., Akkol E.K., Nahar L., and Sarker S.D.** (2012). Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants. *Free Radicals and Antioxidants*.2: 1–7.
- 178. Stintzing F. C. & Carle R.** (2005). Cactus Stems (*Opuntia Spp.*): A Review on Their Chemistry, Technology, and Uses. *Molecular Nutrition & Food Research*.49: 175–194.
- 179. Stintzing F.C., Schieber A. & Carle R.** (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *The journal European Food Research and Technology*. 212 : 396-407.
- 180. Thomas M.** (2011). Nouvelles méthodologie d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë ramnoides*). Thèse de doctorat en chimie analytique-Phytochimie l'université d'Orléans.
- 181. Tributsch H. & Fiechter S.** (2008). The material strategy of fire-resistant tree barks. High 641 Performance. *Structures and Materials IV*.97:43-52.
- 182. Tsai C.Y., Woung L.C. & Yen J.C.** (2016). Thermosensitive chitosan-based hydrogels for sustained release of ferulic acid on corneal wound healing. *Carbohydrate Polymers*.135: 308-315.
- 183. Tsai C.Y., Lin C.G., Chen W.L., Huang Y.C., Chen C.Y., Huang K.F. & Yang C.H.** (2019). valuation of the Antioxidant and Wound-Healing Properties of Extracts from Different Parts of *Hylocereus polyrhizus*. *Agronomy*. 9:27.
- 184. Turfan Ö., Türkyılmaz M., Yemiş O. & Özkan M.** (2011). Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punica granatum L., cv. Hicaznar*) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*.129 (4): 1644–1651.
- 185. Valente L.M.M., da Paixão D., do Nascimento A.C., dos Santos P.F.P., Scheinvar L.A., Moura M.R.L., Tinoco L.W. & Gomes L.N.F.** (2010). Antiradical activity, nutritional potential and flavonoids of the cladodes of *Opuntia monacantha* (*Cactaceae*). *Food Chemistry*.123: 1127-1131.
- 186. Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J. & Telser J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* .266(1-2): 37-56.
- 187. Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J. & Telser J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* .160(1): 1-40.

- 188. Van acker S.A.B.E., Van Den Berg D.J. & Tromp M. J. L.** (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20(3):331-342.
- 189. Vuorela S.** (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. Département of applied chemistry, microbiology and food chemistry. University of Helsinki. 9-70.
- 190. Wafa B. A., Makni M., Ammar S., Khannous L., Hassana A. B., Bouaziz M. & Gdoura R.** (2017). Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. *International Journal of Food Microbiology*.241:123–131.
- 191. W-Erdman J., Balentine J.D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts J., Harnly., Hollman J.P., L-Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. & Burrowes J.** (2007). Flavonoïds and health: proceeding of the ILSINorth America flavonoïds workshop. *Journal of Nutrition*.137 : 718-737.
- 192. Wald E.** (2009). Le grenadier *Punica granatum* : Plante historique et evolution thérapeutique récentes. Université Henri Poincaré.Thèse.158.
- 193. Wang R., Wei W., Wang L., Liu R., Yi D. & Du L.** (2006). Constituents of the flowers of *Punica granatum*. *Fitoterapia*.77: 534-7.
- 194. Weiss R., Guebitz G. M., Pellis A. & Nyanhongo G. S.** (2020). Harnessing the Power of Enzymes for Tailoring and Valorizing Lignin. *Trends in Biotechnology*.
- 195. Winkel-Shirley B.** (2001). Flavonoïd biosynthesis. A colorful model for genetics biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant physiology*.126: 285-493.
- 196. Yadav.E, Singh D., Yadav P. & Verma A.** (2017). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Prosopis cineraria* based phenolic rich ointment in wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy* .108: 1572-1583.
- 197. Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N. & Singanusong, R.** (2003). *Hypericum hyssopifolium* L.by activity-guided fractionation. *Journal of ethnopharmacology*.87: 73–83.
- 198. Yuniarti W.M. & Lukiswanto B.S.** (2017). Effects of herbal ointment containing the leaf extracts of Madeira vine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) for burn wound healing process on albino rats, *Veterinary World publishes high quality papers focusing on Veterinary and Animal Science*.10:808–813.

- 199. Zahra A.A., Kadir F.A., Mahmood A.A., Al hadi A.A., Suzy S.M. & Sabri S.Z.** (2011). Acute toxicity study and wound healing potential of *Gynura procumbens* leaf extract in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*.5: 2551–2558.
- 200. Zaghad N.** (2018). Evaluation des propriétés biopharmacologiques, standardisation chimique et valorisation des agroressources fonctionnelles cas de *granatum*, *Citrusaurantium* et *Opuntia ficus-indica* : revue bibliographique. Thèse de doctorat en Biotechnologie végétale Université Frères Mentouri Constantine 1.
- 201. Zeghad N., Ahmed E., Belkhir A., Heyden Y. V. & Demeyer K.,** (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum L*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyonjournal*. 5(4):1575.
- 202. Zem T.L. & Fernondez M.L.** (2005). Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *The Journal of Nutrition*.135: 2291-2294.
- 203. Zengin G., Sarikurku C. & Aktumsek A.** (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium Boiss* endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*.53: 244–251.
- 204. Zhang M., Zhang X., Cai S., Mei H., He Y. & Huang D.** (2020). Photo-induced specific intracellular release EGFR inhibitor from enzyme/ROS-dual sensitive nano-platforms for molecular targeted-photodynamic combinational therapy of non- small cell lung cancer. *Journal of Materials Chemistry B*.
- 205. Zhou J., Ma Y., Jia Y., Pang M., Cheng G. & Cai S.** (2019). Phenolic profiles, antioxidant activities and cytoprotective effects of different phenolic fractions from oil palm (*Elaeis guineensis Jacq.*) fruits treated by ultra-high pressure. *Food Chemistry*.288: 68–77.
- 206. Zalazar-García D., Torres E., Rodriguez-Ortiz L., Deng Y., Mazza G., Soria J., Bucalá V., Rodriguez R. & Mazza G.** (2020). Cleaner and sustainable processes for extracting phenolic compounds from bio-waste. *Journal of Environmental Management*. 273 :111154.

Annexes

Annexe 1 : courbes d'étalonnages pour le dosage des différents métabolites secondaires

Figure 1 : courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

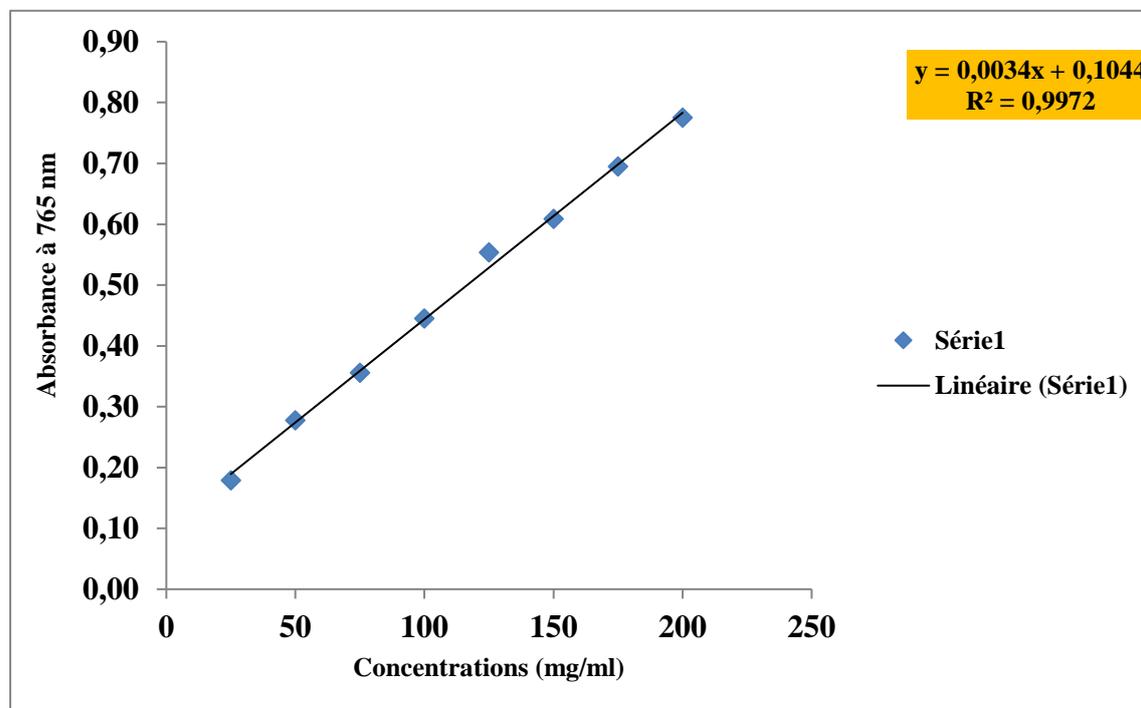


Figure 2 : courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

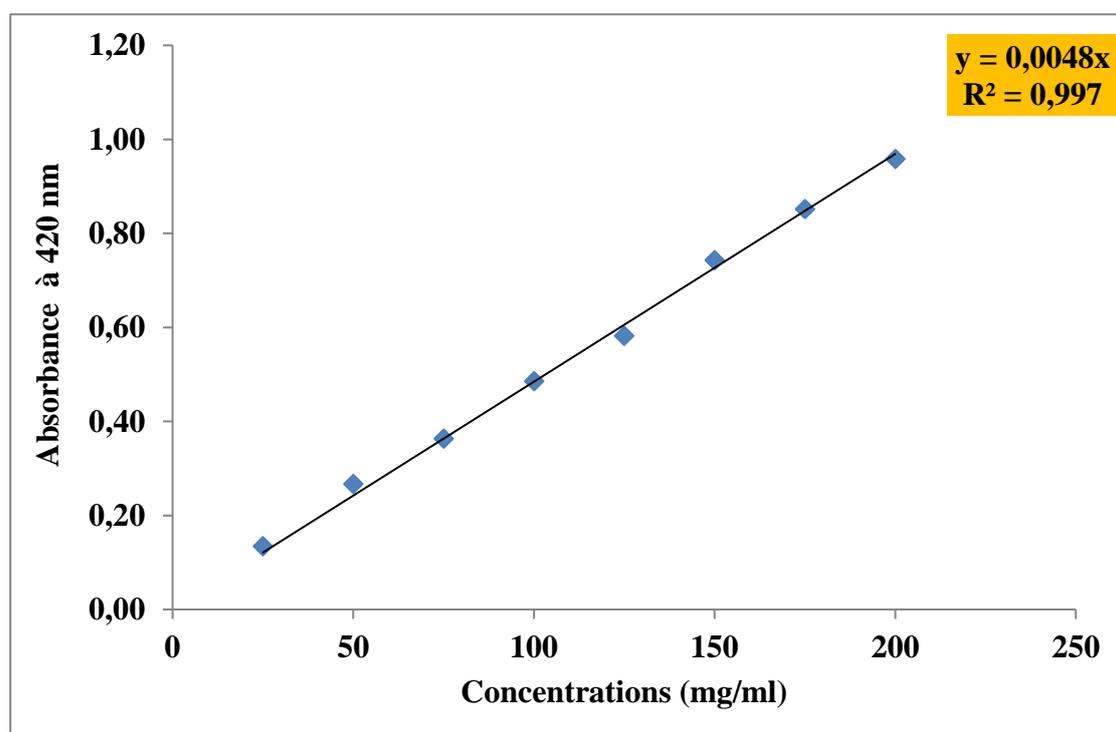
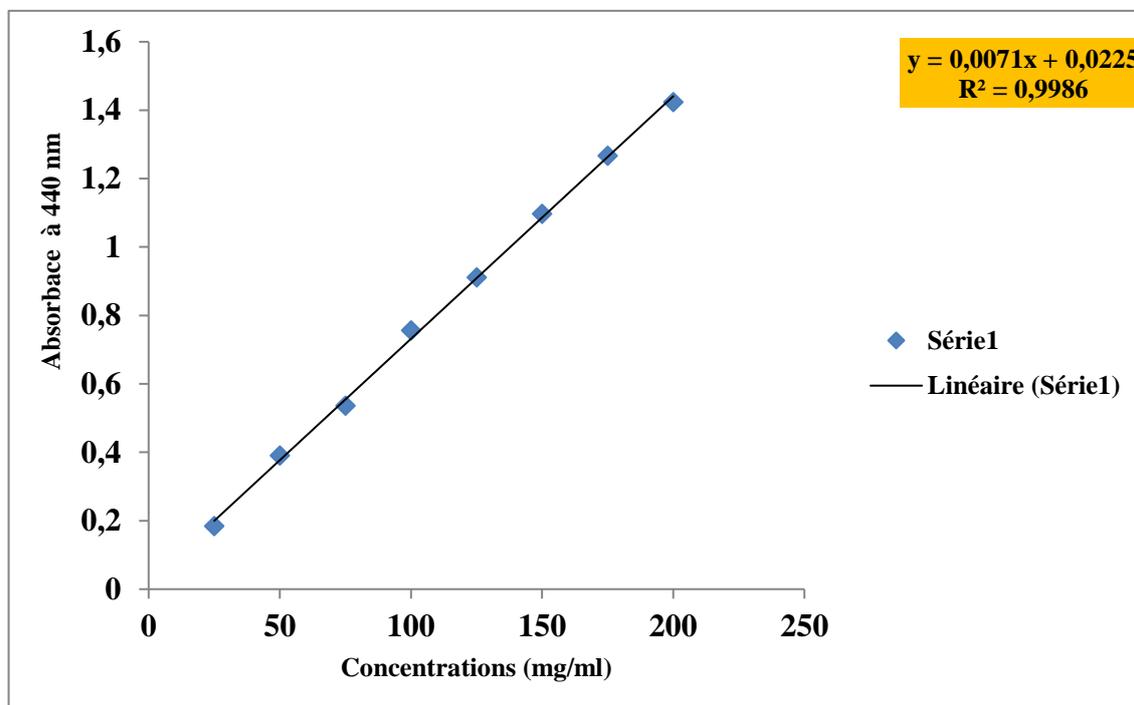


Figure 3: courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.



Résumé

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique et biopharmacologique des écorces des fruits de deux plantes à large consommation en Algérie ; (*Punica granatum* L. et *Opuntia ficus-indica* L.).

Les parties des fruits sélectionnées ont été testées pour estimer leurs contenus en composés phénoliques et évaluer leurs activités biologiques ; *in vitro* (antioxydantes, enzymatiques et photoprotectrices) et *in vivo* (cicatrisantes). Une analyse quantitative par dosage spectrophotométrique a été réalisée afin d'évaluer le contenu des extraits en phénols totaux, flavonoïdes et flavonols. Les résultats de l'analyse quantitative montrent que les extraits des parties des fruits sélectionnées, peuvent constituer une source potentielle de substances phénoliques.

L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par les méthodes (DPPH[•], ABTS^{•+}, CUPRAC, GOR, FRAP) a révélé des capacités puissantes, et que le potentiel antioxydant de l'extrait de *Punica granatum* L. est significativement le plus important comparé à l'extrait de *Opuntia ficus-indica* L. Cependant l'étude de l'activité enzymatique, a montré que les extraits des plantes étudiées n'ont pas d'effet inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase, cela confirme que les extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète, respectivement. L'évaluation de l'activité SPF (facteur de protection solaire) a montré que l'extrait de *Punica granatum* L. a présenté une action photoprotectrice significativement supérieure ($p < 0.0001$) par rapport à celui observé pour l'extrait de *Opuntia ficus indica*, avec un caractère photoprotecteur identique, par rapport au contrôle (Avène^{®30+}).

D'autre part, les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo* chez le lapin sur des plaies de brûlures ont montré que l'application topique des extraits testés présente un effet cicatrisant significativement supérieur ($p < 0.01$) par comparaison aux groupes traités par Cicatryl[®] et non traité. Cependant, les résultats de l'activité cicatrisante par le test d'excision ne sont pas pris en compte parce que l'expérimentation a été stoppée à cause du décès de lapin traité par les extraits.

Mots clés : *Punica granatum* L., *Opuntia ficus-indica* L., composés phénoliques, activités antioxydantes, activité cicatrisante.

Abstract

Within the framework of a valorization of natural resources, the present work is part of a phytochemical and biopharmacological study of the fruit barks of two widely consumed plants in Algeria; (*Punica granatum L.* and *Opuntia ficus-indica L.*).

The selected parts of the fruits were tested to estimate their contents in phenolic compounds and to evaluate their biological activities; in vitro (antioxidants, enzymes and photoprotectants) and in vivo (healing). A quantitative analysis by spectrophotometric assay was carried out to evaluate the content of the extracts in total phenols, flavonoids and flavonols. The results of the quantitative analysis show that the extracts of the selected parts of the fruits can be a potential source of phenolic substances.

The in vitro evaluation of antioxidant power by the methods (DPPH^{*}, ABTS^{*+}, CUPRAC, GOR, FRAP) revealed powerful capacities, and that the antioxidant potential of the extract of *Punica granatum L.* is significantly higher compared to the extract of *Opuntia ficus-indica L.* However the study of the enzymatic activity, showed that the extracts of the studied plants do not have an inhibitory effect towards acetylcholinesterase and α amylase, this confirms that the extracts of *Punica granatum* and *Opuntia ficus indica* do not have an effect on Alzheimer's disease and diabetes, respectively. The evaluation of the SPF (sun protection factor) activity showed that the extract of *Punica granatum L.* showed a significantly superior photoprotective action ($p < 0.0001$) compared to that observed for the extract of *Opuntia ficus indica*, with an identical photoprotective character, compared to the control (Avéne^{®30+}).

On the other hand, the results of the evaluation of the in vivo healing activity in rabbits on burn wounds showed that topical application of the tested extracts had a significantly superior healing effect ($p < 0.01$) compared to the groups treated with Cicatryl[®] and untreated. However, the results of the healing activity by the excision test were not taken into account because the experiment was stopped due to the death of rabbits treated with the extracts.

Key words: *Punica granatum L.*, *Opuntia ficus-indica L.*, phenolic compounds, antioxidant activities, healing activity.

المخلص:

في سياق تقييم الموارد الطبيعية، يعد هذا العمل جزءاً من دراسة كيميائية نباتية وعلم الأدوية الحيوية لقشر ثمار نباتين مستهلكين على نطاق واسع في الجزائر، (*Opuntia ficus-indica L.* و *Punica granatum L.*).

تم اختبار أجزاء من الثمار المختارة لتقدير محتواها من المركبات الفينولية ولتقييم أنشطتها البيولوجية في المختبر (مضادات الأكسدة، الأنزيمية والواقية من الشمس) وفي الجسم الحي (التنام الجروح). تم إجراء تحليل كمي بواسطة مقايسة الطيف الضوئي من أجل تقييم محتوى المستخلصات من إجمالي الفينولات والفلافونويد والفلافونولات. أظهرت نتائج التحليل الكمي أن الأجزاء المختارة (قشور الفاكهة) يمكن أن تكون مصدرًا محتملاً للمواد الفينولية.

كشفت تقييم قوة مضادات الأكسدة في المختبر بالطرق (• DPPH، + • ABTS، CUPRAC، GOR، FRAP) عن قدرات قوية، وأن إمكانات مضادات الأكسدة لمستخلص *Punica granatum L.* هي الأكثر أهمية بشكل ملحوظ مقارنة بمستخلص نبات *Opuntia ficus-indica L.* ومع ذلك، أظهرت دراسة النشاط الأنزيمي أن مستخلصات النباتات المدروسة ليس لها تأثير مثبط فيما يتعلق بأسيثيل كولينستريز ومن α amylase، وهذا يؤكد أن مستخلصات *Punica granatum* و *Opuntia ficus indica* ليس لها تأثير على مرض الزهايمر ومرض السكري على التوالي. أظهر تقييم نشاط SPF (عامل الحماية من الشمس) أن مستخلص *Punica granatum L.* أظهر تأثيرًا ضوئيًا أعلى بكثير ($p < 0.0001$) مقارنةً بمستخلص نبات *Opuntia ficus indica L.* ذات طابع حماية ضوئي متطابق، مقارنة بالكريم التجاري (Avène^{®30+}).

من ناحية أخرى، أظهرت نتائج تقييم نشاط شفاء جروح الحروق في الجسم الحي في الأرناب على أن التطبيق الموضعي للمستخلصات المختبرة له تأثير شفاء أكبر بكثير ($p < 0.01$) مقارنة مع المجموعات المعالجة بـ Cicatryl[®] والمجموعات الغير معالجة، ومع ذلك، فإن نتائج نشاط الشفاء من خلال اختبار (الجرح) لا تؤخذ في الاعتبار لأن التجربة توقفت بسبب موت أرناب عولج بالمستخلصات.

الكلمات الأساسية: *Opuntia ficus-indica L.* ، *Punica granatum L.* ، مركبات الفينول، أنشطة مضادات الأكسدة، نشاط التنام الجروح.

**INTITULÉ : VALORISATION PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES
DÉCHETS DE FRUITS DE *PUNICA GRANATUM* L. ET *OPUNTIA FICUS
INDICA* L.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée

Dans le cadre d'une valorisation des ressources naturelles, le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une étude phytochimique et biopharmacologique des écorces des fruits de deux plantes à large consommation en Algérie ; (*Punica granatum* L. et *Opuntia ficus-indica* L.).

Les parties des fruits sélectionnées ont été testées pour estimer leurs contenus en composés phénoliques et évaluer leurs activités biologiques ; *in vitro* (antioxydantes, enzymatiques et photoprotectrices) et *in vivo* (cicatrisantes). Une analyse quantitative par dosage spectrophotométrique a été réalisée afin d'évaluer le contenu des extraits en phénols totaux, flavonoïdes et flavonols. Les résultats de l'analyse quantitative montrent que les extraits des parties des fruits sélectionnées, peuvent constituer une source potentielle de substances phénoliques. L'évaluation du pouvoir antioxydant *in vitro* par les méthodes (DPPH•, ABTS•+, CUPRAC, GOR, FRAP) a révélé des capacités puissantes, et que le potentiel antioxydant de l'extrait de *Punica granatum* L. est significativement le plus important comparé à l'extrait de *Opuntia ficus-indica* L. Cependant l'étude de l'activité enzymatique, a montré que les extraits des plantes étudiées n'ont pas d'effet inhibiteur vis-à-vis de l'acétylcholinestérase et d' α amylase, cela confirme que les extraits de *Punica granatum* et *Opuntia ficus indica* n'ont pas d'effet sur les maladies d'Alzheimer et de diabète, respectivement. L'évaluation de l'activité SPF (facteur de protection solaire) a montré que l'extrait de *Punica granatum* L. a présenté une action photoprotectrice significativement supérieure ($p < 0.0001$) par rapport à celui observé pour l'extrait d'*Opuntia ficus indica*, avec un caractère photoprotecteur identique, par rapport au contrôle (Avène^{®30+}). D'autre part, les résultats de l'évaluation de l'activité cicatrisante *in vivo* chez le lapin sur des plaies de brûlures ont montré que l'application topique des extraits testés présente un effet cicatrisant significativement supérieur ($p < 0.01$) par comparaison aux groupes traités par Cicatryl[®] et non traité. Cependant, les résultats de l'activité cicatrisante par le test d'excision ne sont pas pris en compte parce que l'expérimentation a été stoppée à cause du décès de lapin traité par les extraits.

Mots clés : *Punica granatum* L., *Opuntia ficus-indica* L., composés phénoliques, activités antioxydantes, activité cicatrisante.

Laboratoire de recherche : Laboratoires de CRBT-Constantine et le laboratoire de pharmacologie et toxicologie à l'institut des sciences vétérinaires-Constantine 1.

Jury d'évaluation : Président du jury : MAAMERI ZINEB (MCA - UFM Constantine 1),

Rapporteur : ZEGHAD NADIA (MCB - UFM Constantine 1),

Examineur : MADI AICHA (MCB - UFM Constantine 1).

Date de soutenance : Septembre 2020