

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique
Université de Ghardaïa



Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par : HAMOUDA Saliha

Thème

*Étude du pouvoir antioxydant des extraits de
Phoenix dactylifera L., variétés Ghars de la
région de Metlili-Ghardaïa*

Soutenu devant le jury :

Mlle. SEDDIKI M.	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	Présidente
M^{me}. BENSANIA W.	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	Promotrice
Me. BELHACHEMI M.H	Maître Assistant A	Université de Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2020/2021

REMERCIEMENT

Tout d'aborder

Nous Remercions le grand Dieu de nos avoir donné la patience et la force pour achève ce travail

*nous remercions sincèrement Madame **BENSANIA Wafa**, maitre au département de biologie à l'université de Ghardaïa, qui a proposé le thème de ce mémoire, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'encadrer et pour son accueil au laboratoire de biologie et pour ses conseils tout au long de la réalisation de ce travail*

*Nos sincères remerciements vont à Mlle. **SEDDIKI Malika**, maître assistant à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous remercions vont également à Monsieur **BELHACHEMI Mohamed Elhabib** maitre-assistant on à l'université de Ghardaïa pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

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

*A la lumière de mes yeux, ma mère qui m'apporté son appui durant toutes mes
années d'étude,*

*A mon cher père qui m'appris le sens de la persévérance tout au long de mes
études*

Spéciale dédicace À mes enfants et mon marié

A mes très chères sœurs et frères

Saliba

دراسة فعالية مضادات الأكسدة لمستخلصات مختلفة من النخلة (*Phoenix dactylifera L.*) لصنف الغرس، من منطقة متليلي-غرداية

تعتبر دراسة المركبات الفينولية للنباتات موضوع ذو أهمية علمية، لما تحتويه من مركبات فعالة ذات نشاط بيولوجي. نهتم في هذا العمل بدراسة المستخلصات الفينولية لبعض الأعضاء المكونة للنخلة *Phoenix dactylifera L.* و بالتحديد نوع الغرس كما ندرس أيضا خصائصها المضادة للأكسدة.

تراوحت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية بين 0.0120 و 3.4733 مغ/غ مكافئ حمض الغاليك بينما تراوحت كمية الفلافونويدات بين 0.0026 و 0.9789 مغ/غ مكافئ الروتين.

أما عن دراستنا لخاصية المضادة للأكسدة من خلال مسح جذور DPPH* فقد أثبتت النتائج أن أغلبية المستخلصات الممتحنة تملك فعالية جيدة خاصة مستخلص التمر، حيث تراوحت قيم IC_{50} بين 0.019 و 2.460 مغ/مل. كما أكدت هذه الدراسة الارتباط الجيد بين المحتوى الفينولي للمستخلصات المدروسة و خاصية المضادة للأكسدة.

تشجعنا هذه النتائج على تعميق البحث و هذا بفصل الجزئيات المسؤولة على النشاطات المدروسة بهدف استعمالها في

المجال الصيدلاني.

الكلمات المفتاحية: المركبات الفينولية ، الفلافونويدات ، الفعالية المضادة للأكسدة، اختبار DPPH ، *Phoenix dactylifera*

L.

Étude du pouvoir antioxydant des extraits de *Phoenix dactylifera* L., variété Ghars, de la région de Metlili-Ghardaïa

Les composés phénoliques sont des molécules bioactives, qui présentent un sujet d'intérêt scientifique grâce à leurs activités biologiques. Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux extraits phénoliques de différents constituants de *Phoenix dactylifera* L., variété Ghars, et à l'étude de leur activité antioxydante *in vitro*.

Le contenu en phénols totaux est compris entre 0.0120 à 3.4733 mg/g en équivalent d'acide gallique. Tandis que le contenu en flavonoïdes exprimé en équivalent de la rutine par gramme de la matière sèche est compris entre 0.0026 à 0.9789 mg/g.

L'étude de l'activité antioxydante par un balayage du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, DPPH'. Les résultats de ce test ont montré une activité antioxydante intéressante chez la plus part des extraits testés avec des valeurs d'IC₅₀ comprise entre 0.019 et 2.460 mg/ml, dont l'extrait des dattes pour les deux fractions a montré un pouvoir antioxydant le plus important par rapport les autres extraits. De même, nous avons constaté une bonne corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anioxydante de nos extraits.

Les résultats obtenus, nous encouragent d'approfondir les recherches afin d'isoler les molécules responsables aux activités étudiées en vue de les utiliser dans des applications pharmacologiques.

Mots clés : composés phénoliques, flavonoïdes, activité antioxydante, *Phoenix dactylifera* L., DPPH'.

Study of the antioxidant power of the extracts of *Phoenix dactylifera* L., varietie Ghars, from the Metlili region

Phenolic compounds are bioactive molecules exhibiting a lot of scientific attention due to their multiple biological activities. In this study we are interested in phenolic extracts the different part of *Phoenix dactylifera* L., variety Ghars, and in vitro study of their antioxidant.

The total phenolic content was ranged between 0.0120 and 3.4733 mg equivalent on gallic acid per gram of dry matter. Whereas, the flavonoid content expressed as rutin equivalent per gram of dry matter was ranged between 0.0026 and 0.9789 mg / g.

The study of antioxidant activity by scavenging the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH[•]. Results have shown that our extracts posses a potential antioxidant power with IC₅₀ values in the range of 0.019 and 2.460 mg/ml, whose date extract exposed the strongest antioxidant power. Similarly, we have found that the phenolic extracts exhibit an imperative antioxidant status compared to synthetic antioxidants.

The obtained results, we encourage further research to isolate the active molecules for use in pharmaceutical applications.

Key words: Phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, *Phoenix dactylifera* L., DPPH[•].

ABTS: 2,2A-Azinobis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid

AG: Acide gallique

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance

DPPH: 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (Le radical stable [2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl])

ER: équivalent de rutine

ERO: Espèces réactives de l'oxygène (oxygénées)

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

GAE: Équivalents d'acide gallique

H₂O: Eau

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50% (CI₅₀: Concentration en antioxydant pouvant réduire 50% du radical DPPH)

MeOH: Méthanol

MF : matière fraîche

Ms: matière sèche

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

O₂: Oxygène moléculaire

O₂^{•-}: Anion superoxide

OH: Groupe hydroxyle

OH•: Radical hydroxyle

R: Rendement

UV: Ultra violé

V.C: vitamine C ou acide ascorbique

VIS: Visible

Tableau 1	:	Effet biologique de quelques composés phénoliques	8
Tableau 2	:	Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe	10
Tableau 3	:	Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques	13
Tableau 4	:	Classification botanique du palmier dattier	26
Tableau 5	:	Aspect, couleur et rendement d'extraction des extraits phénoliques	32
Tableau 6	:	Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés	36
Tableau 7	:	Les valeurs d'IC ₅₀ en (mg /mL) des différents extraits et le standard	44

Figure 1	: Squelette de base de quelques classes des composés phénoliques	6
Figure 2	: Squelette de base des flavonoïdes	9
Figure 3	: Les principales sources cellulaires des ERO	14
Figure 4	: Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées	16
Figure 5	: ERO et systèmes de protection permettant de limiter leur effet toxique	17
Figure 6	: Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques	18
Figure 7	: Cycle oxydo-réducteur du glutathion	19
Figure 8	: Structures de quelques flavonoles	22
Figure 9	: structure des différentes parties de palmier dattier (A), structure des différentes parties de palme d'un palmier dattier adulte (B) et disposition des dattes sur le pédicelle (C)	25
Figure 10	: localisation géographique de Metlili par application de Maps Google	27
Figure 11	: Réduction de radical libre DPPH' en présence d'antioxydant	30
Figure 12	: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	35
Figure 13	: Courbe d'étalonnage de la rutine.	36
Figure 14	: Pourcentages des phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait brut	40
Figure 15	: Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux dans la fraction d'acétate d'éthyle et di-éthyle éther.	41
Figure 16	: Les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques.	43
Figure 17	: Les Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de l'antioxydant standard	44
Figure 18	: Variation des valeurs d'IC ₅₀ en fonction des teneurs en phénols totaux	46

Dédicace	
Remerciement	
ملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des Abréviations	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Introduction.....	1
<i>Partie I: Etude bibliographique</i>	
Chapitre 1 : Composés Phénoliques	
I-Introduction.....	4
II- Composés phénoliques.....	4
II.1-Définition.....	4
II.2- Classification des composés phénoliques.....	
II.3- Rôle des composés phénoliques.....	7
III- Flavonoïdes.....	8
III.1- Définition et structure.....	8
III.2- Classification.....	9
III.3- Propriétés biologiques.....	
Chapitre 2 : Radicaux libres et pouvoir antioxydant ¹²	
I- Espèces réactives de l'oxygène.....	12
I.1- Définition.....	12
I.2- Types des espèces réactives de l'oxygène.....	13
I.3- Origine des espèces réactives de l'oxygène.....	13
II- Stress oxydant.....	14
II.1- Définition.....	14
II.2- Conséquence du stress oxydatif.....	15
II.3- Implications pathologiques du stress oxydatif.....	16
III- Antioxydant.....	17
III.1-Définition.....	17
III.2- Classification des systèmes antioxydants.....	17
III.2.1-Antioxydants endogènes	18

III.2.2-Antioxydants exogènes	20
III.3- Mécanisme d'action des antioxydants.....	23
III.4- Méthodes d'évaluation d'antioxydants.....	23

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

I. Matériel.....	24
I.1- Matériel végétal	24
I.1.1- Description botanique	24
I.1.2- Position systématique	26
I.1.3- Situation Géographique de la région d'échantillonnage.....	27
II. Méthodes d'analyses.....	27
II.1- Prélèvement et préparation des échantillons.....	27
II.2- Préparation des extraits phénoliques	28
II.3- Analyses quantitative.....	29
II.3.1- Dosage des phénols totaux.....	29
II.3.2- Dosage des flavonoïdes.....	29
II.4- Evaluation du pouvoir antioxydant.....	30

Chapitre 4 : Résultats et Discussion

I. Rendements d'extraction.....	32
II. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes	34
III. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	41
Conclusion Générale.....	48
Références bibliographiques	50

Introduction

Depuis plusieurs années, spécial attention a été accordée au stress oxydant; qui est un cas d'une production excessive des espèces réactives de l'oxygène dans l'organisme (Berger, 2006). En raison de la capacité des ERO à endommager presque tous les types des molécules dans l'organisme, ils ont été impliqués dans un très grand nombre de pathologies tant aiguës que chroniques (Reynertson et *al*, 2008).

Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Les antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles, ils pourraient s'avérer utiles dans le traitement des maladies dans lesquels le stress oxydant est incriminé. Les risques et les effets néfastes des antioxydants synthétiques utilisés comme additifs alimentaires ont été questionnés au cours des dernière années et la nécessité de les substituer par des antioxydants naturels, issus de plantes, est apparente en particulier les composés phénoliques qui sont des puissants antioxydants (Contin et *al*, 2008). Ces composés forment une partie importante de l'alimentation humaine qui peut être obtenue par des herbes alimentaires, épices, fruits et légumes (Gonçalves et *al*, 2011).

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est un membre de la famille monocotylédone Arecaceae appelé «Nakhla ». Il était primitivement cultivé dans les zones arides et semi arides chaudes de l'Ancien monde (Munier, 1973, Akunna et *al*, 2012). La culture du palmier dattier constitue jusqu'à aujourd'hui une source de vie principale pour les populations des régions sahariennes. Il représente à la fois, la base de l'activité agricole et une source d'alimentation (Sawaya et *al.*, 1983 ; Biglari et *al.*, 2008 ; Elleuche et *al.*, 2008). En plus de leur utilisation dans l'alimentation, les dattes sont utilisées traditionnellement dans le domaine médicinal (Benchelah et Maka, 2008).

Les palmeraies étaient constituées de plusieurs dizaines de cultivars différents, offrant une diversité extraordinaire dans la forme, la couleur, la précocité et le goût de la datte, ainsi que l'aptitude de l'arbre à résister la salinité et aux maladies aussi dangereuses que le Bayoud (Munier, 1973).

Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. La zone Saharienne Algérienne présente une flore spécifique,

caractérisés par une importante diversité floristique, renfermant de nombreuses espèces endémiques hautement adaptées au climat de la zone (Ahmed, 2011).

La phoenici-culture en Algérie occupe une superficie évaluée à 167.000 hectares, localisées au Nord-est du Sahara au niveau des oasis où les conditions hydriques et thermiques sont favorables (Ghazi et Sahraoui, 2005). La diversité génétique du phoenicole algérien permet d'enregistrer plus de 800 variétés, qui sont distribués en plus de 18 millions d'unités (Lounes et Boualem, 2015).

Selon la FAO en 2017, l'Algérie est classée au quatrième rang mondial en termes de production de dattes. Elle produit environ 14% de l'ensemble de la production mondiale de dattes qui atteint presque 1 100 000 tonnes. Cependant, les exportations de dattes sont relativement petites une fois comparées à la production totale: l'Algérie exporte moins de 3% de sa production totale. Indépendamment des problèmes de vente, le niveau bas des exportations est également dû à un manque de structures industrielles, en particulier pour le traitement et conditionnement des dattes (Boubekri, 2010).

Les importateurs (européens) de dattes repartissent celles-ci en deux catégories selon des critères très arbitraires (Dowson et Aten, 1963 ; Toutain, 1972) : les dattes fines ou exportables dont le type Deglet Nour et les dattes communes (Ghars, Degla-beida, Mech-degla, Tazerait, Tantboucht,...), qui sont en général de faible valeur marchande et très difficiles à conserver.

La datte a été depuis des temps immémoriaux un élément très important dans l'alimentation, tant pour les humains (les dattes molles) que pour les animaux (les dattes sèches), cependant divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en : sucres, protéines, lipides, fibres et minéraux tandis que les études sur les composés phénoliques restent peu nombreuses (BehijaSaafi et al, 2011).

La présence des composés phénoliques dans les dattes augmente leur propriétés médicinales, particulièrement la protection contre les maladies cardiovasculaires (Mansouri et al., 2005 ; Biglari et al., 2008). La concentration de ces composés est très variable d'une variété à autre et diminue régulièrement durant la maturation ainsi que la période de récolte et le stockage par différentes voies du brunissement (Macheix et al., 1990). A priori, ceci est lié à

des variations quantitatives mais aussi qualitatives des teneurs en composés phénoliques (Amiot *et al.*, 1992; Aubert *et al.*, 1992; Nicolas *et al.*, 1994).

La présente étude apporte une contribution à l'étude phytochimique de différents constituants de *Phoenix dactylifera* L., variété Ghars de la région de Metlili (Ghardaïa) avec une évaluation de leur pouvoir antioxydant.

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude des composés phénoliques des dattes. Cependant, aucun essai phytochimique touche les autres constituants de *Phoenix dactylifera* L., raison pour laquelle nous avons mis en place une stratégie de recherche en commençant dans un premier temps par une synthèse bibliographique sur les composés phénoliques et le stress oxydatif. La deuxième partie concerne le travail expérimental ayant pour but l'extraction et le dosage des composés pouvant présenter des activités et intérêts potentiels comme les phénols totaux, les flavonoïdes et l'évaluation de leur activité anti-radicalaire en adoptant un test chimique, le test du DPPH. La troisième partie englobe les résultats et les discussions suivies d'une conclusion générale et des perspectives de recherche sur ces constituants végétatifs.

PARTIE I :
Etude Bibliographique

I-Introduction

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires », elles n'appartiennent pas aux substances nutritives essentielles comme les protéines, les glucides et les lipides qui correspondent des métabolites primaires (Huang et Ferraw, 1991 ; Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

Les métabolites secondaires ou les composés secondaires sont des composés qui ne sont pas nécessaires à la croissance et au développement normaux et qui ne sont pas réalisés par des voies métaboliques communes à toutes les plantes. Dans le règne végétal, ils sont limités à l'occurrence et peuvent être limités à un genre, espèce ou famille de groupe taxonomique particulier. Ils sont accumulés par les cellules végétales dans des quantités plus petites que les métabolites primaires. Ces métabolites secondaires sont synthétisés dans des cellules spécialisées à des stades particuliers et leur purification est difficile (Raghuveer *et al.*, 2015).

Les métabolites secondaires sont des substances qui sont produites par les plantes en tant que produits chimiques de défense, de protection contre l'attaque des pathogènes ou des herbivores, d'attraction des pollinisateurs et ils participent à des réponses allélopathiques (Machiex *et al.*, 2006).

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (Huang et Ferraw, 1991 ; Ali *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

II- Composés phénoliques

II.1-Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. Ils constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les composés phénoliques naturels forment un ensemble de molécules comportant au moins un groupe phénolique dans leur structure et sont en général de haut poids moléculaire. On retrouve plusieurs sous-groupes caractérisés par la structure de leur squelette carboné.

Ils sont regroupés un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existents également (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

Les composés phénoliques présentent toutes un point commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) hydroxyles libres ou engagés dans une fonction ester (Hennebelle *et al.*, 2004).

Ils sont trouvés dans tous les niveaux et les organes de la plante (fruits, feuilles, tiges,...) (Machiex *et al.*, 2006), celui est montré leur rôle dans différents aspects de la vie de la plante (la physiologie, critères de la qualité, interactions des plantes avec leur environnement,..) (Petti et Scully, 2009).

Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques :

- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.
- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly β -coesters (poly acétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphtoquinones (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

II.2- Classification des composés phénoliques

Le grand nombre de structure chimique des composés phénoliques peut être regroupés en nombreuses classes qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et par les liaisons possibles avec d'autres molécules (Machiex *et al.*, 2006). Quelques squelettes de bases des composés phénoliques sont présentés dans la figure suivante (Figure 1).

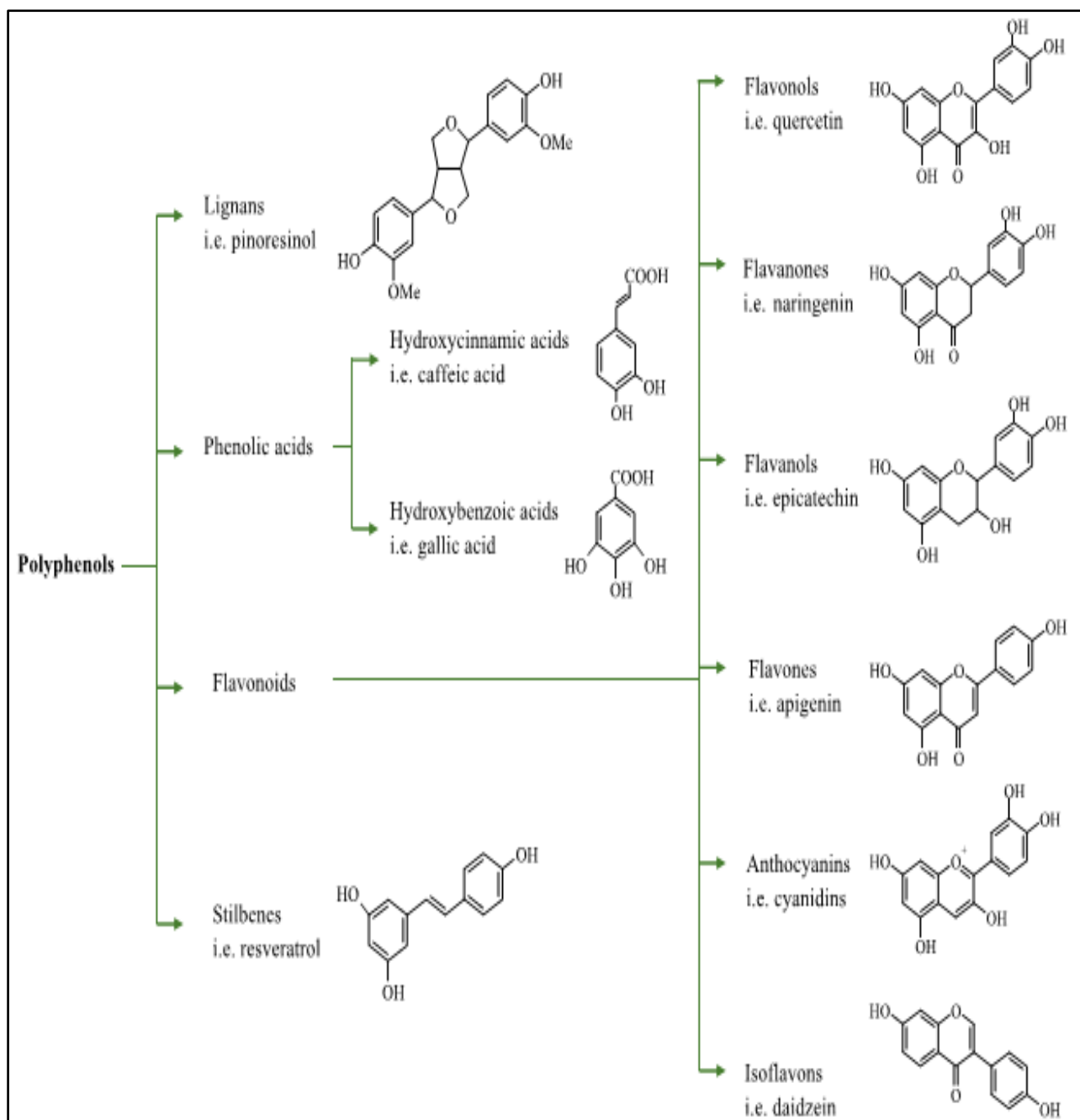


Figure 1: Squelette de base de quelques classes des composés phénoliques (Gómez-Caravaca *et al.*, 2014).

II.3- Rôle des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Bahorun, 1997). Ainsi, ils jouent un rôle fondamental dans la qualité sensorielle (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelle des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé (Manallah, 2012).

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les composés phénoliques pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (Brown *et al.*, 1998), les maladies dégénératives et cardiovasculaires (Paganga *et al.*, 1999). Egalement, les composés phénoliques apparaissent parmi les plus efficaces antioxydants végétaux quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme (Manach *et al.*, 2005). Ils ont ainsi été décrits comme étant des anti-agrégats plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-allergènes, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux (Ferguson, 2001).

En plus, ils ont également la tendance d'inhiber plusieurs classes d'enzyme incluant les hydrolases, oxydoréductase, les ADN synthéses, les ARN polymérase, la lipoxygénase, la glutathion-S-transférase (He *et al.*, 2007; Banerjee, 2006) à cause de leur capacité de lier et précipiter les protéines (Gonçalves *et al.*, 2011; Ferguson, 2001). Le tableau suivant résume l'effet biologique de quelques composés phénoliques.

Tableau 1: Effet biologique de quelques composés phénoliques (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

Composés phénoliques	Effet biologique
Flavonols	Luttent contre la sénescence cérébrale, propriétés neurosédatives, antispasmodiques, antioxydants, anti inflammatoires, diurétiques
Anthocyane	Utilisés dans les troubles de fragilité capillaire, antiseptiques urinaires, propriétés d'améliorer la vision nocturne, diurétiques
Tanins	Pouvoir astringent, propriétés vasculoprotéctrices, propriétés cicatrisantes, anti-diarrhéiques,
Acides phénoliques	Propriétés antipyrétiques, propriétés anti-inflammatoires.
Coumarines	Propriétés vasculoprotéctrices, neurosédatives, diurétiques
Quinones	Llaxatifs stimulants
Stilbènes	Luttent conte le cancer de la prostate

III- Flavonoïdes

III.1- Définition et structure

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des composés phénoliques, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Ghestem *et al.*, 2001).

Tous les flavonoïdes ont la même structure de base qui est le noyau de flavone (2 phényl-benzo- γ -pyrone) parce qu'ils dérivent d'une origine biosynthétique commune (Mantas *et al.*, 2000). Ce noyau comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6, soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones (Chira *et al.*, 2008).

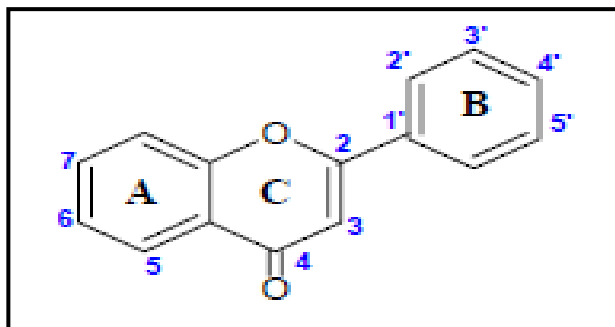


Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

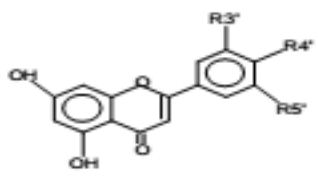
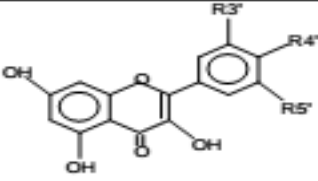
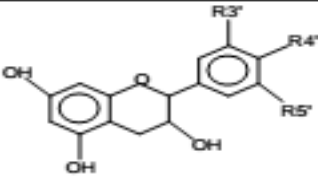
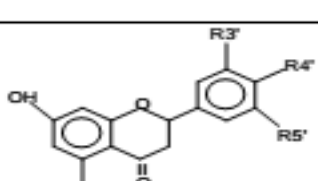
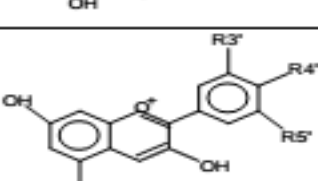
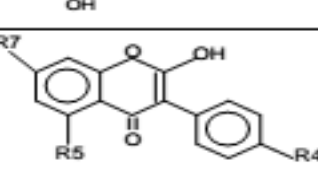
Ce sont des substances phénoliques les plus abondants parmi tous les composés phénoliques, isolées d'une vaste gamme de plantes vasculaires et plus de 4000 flavonoïdes différents ont été signalés. Ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles (Marfak, 2003 ; Hadi, 2004, Abdel Karim *et al.*, 2016).

Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (Chira *et al.*, 2008).

III.2- Classification

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (Figure 2) (Heim *et al.*, 2002). Ils peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavonols, flavones, flavanols, flavanones, anthocyanidines et isoflavones (tableau 2) (Tiwari *et al.*, 2013).

Tableau 1: Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	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	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

III.3- Propriétés biologiques

La contribution des flavonoïdes au régime alimentaire humaine sous forme fruits, légumes et boissons est très importante; également ils ont utilisés en médecine traditionnelle à base des plantes riche en flavonoïdes. Cette importance liée par leur structure chimique à caractère antioxydant. Les flavonoïdes expriment les propriétés anti -oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués

dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Ghedira, 2005).

Outre leur pouvoir antioxydant, les flavonoïdes sont utilisés pour tout un éventail d'activités pharmacologiques pour leurs propriétés anti-hépatotoxiques (Tieppo *et al.*, 2007), anti-allergiques (Carvalho *et al.*, 2006), anti-inflammatoires (Souza *et al.*, 2007). En plus, des propriétés antibactériennes et antivirales vis-à-vis de différentes souches microbiennes (Nowakowska, 2007).

Aussi, ils sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes en tant qu'agents antiulcéreux, antidiarrhéiques (Ustün *et al.*, 2006 ; Sannomiya *et al.*, 2005). De plus, les flavonoïdes reconnus comme être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance (Bruneton, 1999).

Chapitre 2 : Radicaux libres et pouvoir antioxydant

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agression physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée « stress oxydant », dû à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker *et al.*, 1982).

I- Espèces réactives de l'oxygène

I.1- Définition

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins (demi-vie très courte) (Goudable et Favier, 1997). Alors, les radicaux libres auront toujours tendance à combler soit par l'acceptation d'un autre électron (se comportant comme un oxydant) (Shahin Sharif *et al.*, 2008), soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique), agissant alors comme un réducteur (Afonso *et al.*, 2007).

Par conséquence, les molécules agressées par les radicaux oxydants devient à son tour radicalaire initiant de cette façon un phénomène d'oxydation en chaîne qui se caractérise par trois étapes ; **(i)** initiation, **(ii)** propagation et **(iii)** terminaison provoquant enfin une perturbation de la cellule vivante (Levesque, 2006; Atmani *et al.*, 2009).

Dans les systèmes vivants, les radicaux libres sont indispensables à la vie car ils participent à de nombreuses fonctions physiologiques lors de la croissance ou de la défense de l'organisme. En effet, ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à l'apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire, elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko *et al.*, 2007). Actuellement, on emploie le terme « espèces réactives de l'oxygène » pour désigner un ensemble plus large de molécules.

I.2- Types des espèces réactives de l'oxygène

L'appellation (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, etc...), mais aussi certains dérivés réactives non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde d'azote (Tableau 3) (Goudable et Favier, 1997 ; Bartosz, 2003 ; Halliwell et Whiteman, 2004).

Tableau 2 : Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003).

Nom	Symbole
Espèces radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}
Monoxyde d'azote	NO^{\cdot}
Espèces non radicalaires	
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	$HOCl$
Oxygène singulier	1O_2
Peroxyde d'azote	$ONOO^{\cdot}$

I.3- Origine des espèces réactives de l'oxygène

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2006). Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- ❖ Fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Aurasseau, 2002) ;
- ❖ Processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan, 2004 ; Van Antwerpen, 2006) ;

- ❖ Système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Li et al., 2002 ; Valko et al., 2004 ; Valko et al., 2006) ;
- ❖ Exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Tamer, 2003).

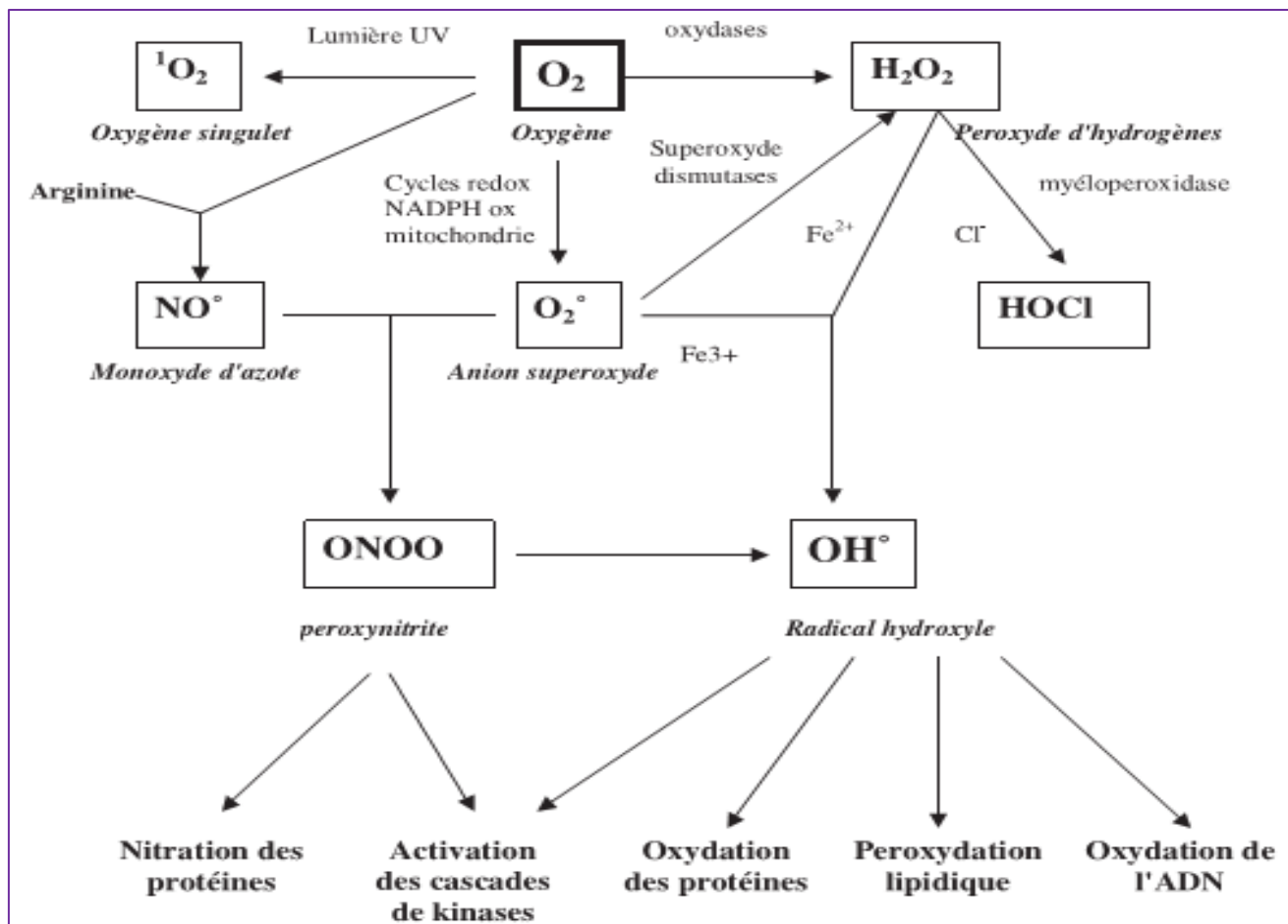


Figure 3: Les principales sources cellulaires des ERO (Favier, 2003).

II.- Stress oxydant

II.1- Définition

Bien que physiologique, la production de radicaux libres peut être accidentelle et potentiellement délétère, comme par exemple la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale, ou ceux résultant de l'auto-oxydation des catécholamines. Cette production radicalaire est dommageable si elle est prolongée ou incontrôlée, dépassant les capacités de neutralisation de l'organisme. Ce déséquilibre de la balance oxydant/antioxydant : c'est le stress oxydant (Berger, 2006).

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel et Barouki, 1999; Barouki, 2006; Gammoudi et *al.*, 2013). Durant laquelle, la génération d'oxydants intense le système de défenses antioxydants, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydants (Sorg, 2004).

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons les intoxications aux métaux lourds (Favier, 2003), le dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale ; l'activation de systèmes enzymatiques ; la libération de fer libre à partir des protéines chélatrices ou d'une oxydation de certaines molécules (Pincemail et *al.*, 2002). Les radicaux libres sont même produits pendant l'inflammation, l'irradiation par la lumière UV, rayons X et par les rayons γ , un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, herbicides, métaux toxiques) (Pincemail et *al.*, 2002 ; Sorg, 2004 ; Kocchilin-Ramonatxo, 2006). La pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (Poirier, 2004 ; Médart, 2009).

II.2- Conséquence du stress oxydatif

L'accumulation des ERO a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles (Halliwell et Whiteman, 2004). La toxicité des ERO s'exerce sur les protéines capable de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant leur fonction aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques (Goudable et Favier, 1997), les lipides par l'attaque des lipides circulants et des phospholipides membranaires (Favier, 2003 et Mohammadirad et Abdollahi, 2011) et sur l'acide désoxyribonucléique qui peut induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN, ainsi en provoquant des modifications et des altérations des bases nucléiques, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de chaîne simple ou double brin (Favier, 2003 ; Hadi, 2004).

II.3- Implications pathologiques du stress oxydatif

En raison de leur réactivité élevée, les ERO interagissent avec toute une série de substrats biologiques conduisant à l'altération de l'homéostasie cellulaire de l'organisme. L'importance du stress oxydant dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontré (Favier, 2003).

En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes (Berger, 2006) allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neuro dégénératives et le diabète. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (Moure *et al.*, 2001 ; Sorg, 2004 et Shahin Sharif *et al.*, 2008). La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Figure 4) (Sohal *et al.*, 2002; Guinebert *et al.*, 2005).

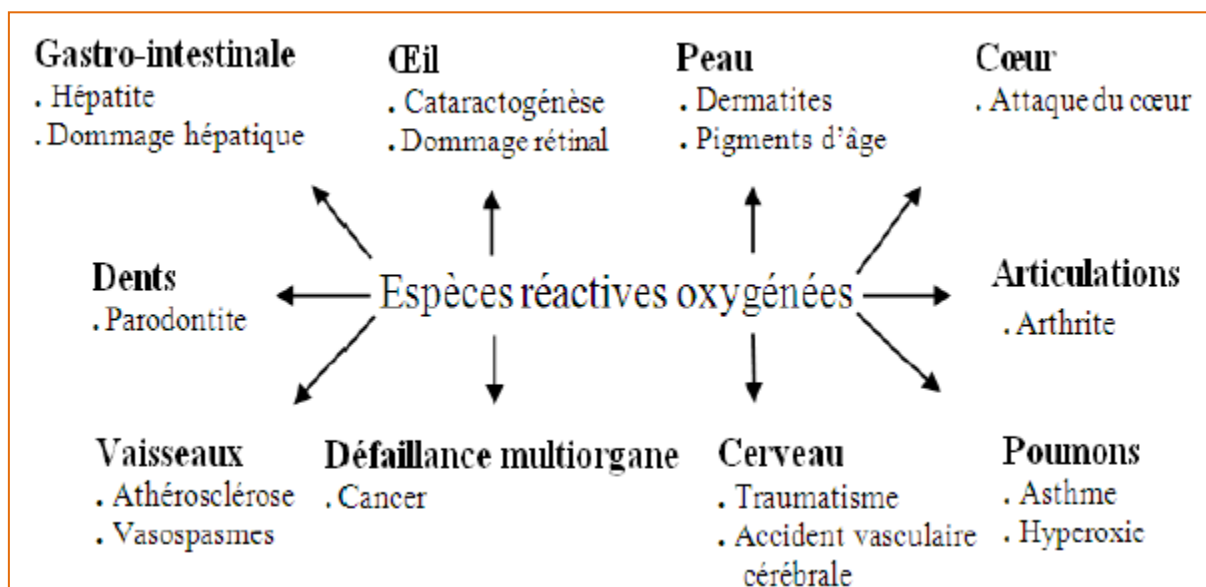


Figure 4 : Les pathologies associées aux espèces réactives oxygénées (Lee *et al.*, 2004).

III-Antioxydant

III.1-Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Droge, 2002). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques. Mais aussi à des petites molécules hydro ou liposolubles. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre *et al.*, 2005).

III.2- Classification des systèmes antioxydants

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants endogènes (enzymatiques et non enzymatiques) et les antioxydants exogènes. Ces antioxydants sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif (Goudable et Favier, 1997).

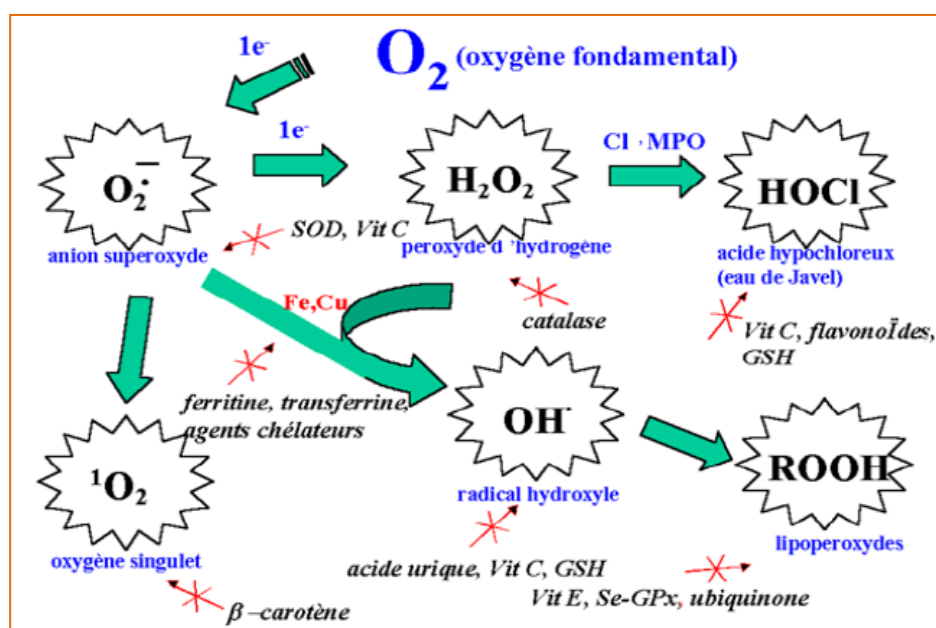


Figure 5 : ERO et systèmes de protection permettant de limiter leur effet toxique.

GSH: glutathion, Cl^- : anion chlorure, MPO: myéloperoxydase, SOD: superoxyde dismutase, Se-GPx: glutathion peroxydase séléno-dépendante (Pincemail *et al.*, 1999).

III.2.1-Antioxydants endogènes

✚ Antioxydants enzymatiques

Les protéines enzymatiques antioxydantes constituent la première barrière de cette défense antioxydante, qui est constituée de trois métallo-enzymes essentielles: les superoxydes dismutases, la catalase et les glutathions peroxydases. Leurs activités et leurs localisations dans la cellule sont complémentaires et assurent l'élimination des anions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans tous les compartiments intracellulaires.



Figure 6 : Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Blandine ,2006).

Les superoxyde dismutases (SODs) (EC 1 .15.1.1) sont des métalloprotéines représentent l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant en assurant l'élimination de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) par une réaction de dismutation en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire selon la réaction suivant (Haleng et *al.*, 2007) :



Ces enzymes accélèrent la vitesse de cette réaction spontanée rendant très rapide la disparition du superoxyde mais en générant le peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est un composé oxydant diffusible et dangereux à distance, mais il peut être ultérieurement catabolisé par la catalase et les glutathion peroxydases (Goudable et Favier, 1997).

Les cellules humaines possèdent une enzyme SOD mitochondriale ayant le manganèse dans son site actif (MnSOD) ainsi qu'une enzyme SOD cytosolique et une SOD extracellulaire ayant le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD) comme coenzymes (Favier, 2003).

Le glutathion peroxydase (EC 1.11.1.19) ce sont des enzymes qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion /glutathion disulfide (GSH/GSSG) (Matés *et al.*, 1999 ; Lacolley *et al.*, 2007).

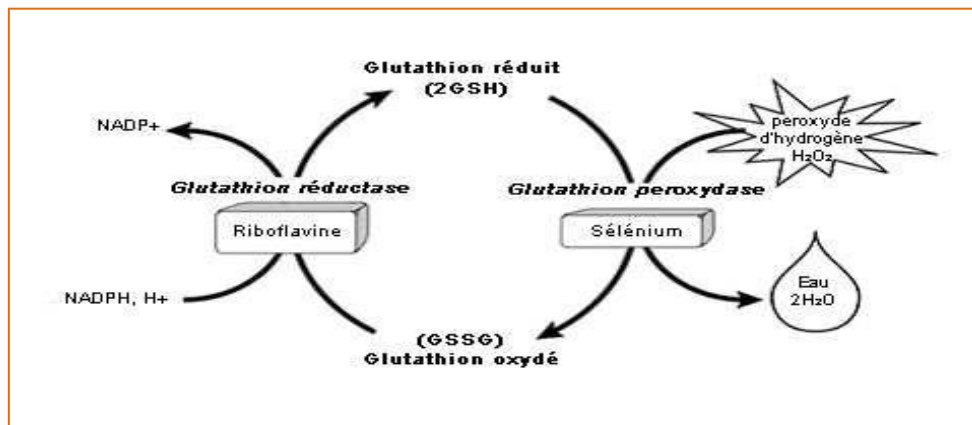
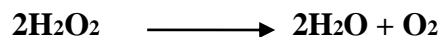


Figure 7 : Cycle oxydo-réducteur du glutathion (Hagen *et al.*, 1990)

Elles permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne, en réduisant les peroxydes instables en acide gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase en présence de NADPH, ce dernier pouvant être lui-même régénéré par l'intermédiaire d'un couplage métabolique avec la voie des pentoses phosphates (Lacolley *et al.*, 2007).

A l'activité de sélénio-dépendante, il faut ajouter les GSH-S-transférases, protéine sans sélénium. Ces enzymes constituent une classe formée d'un très grand nombre d'isoenzymes. Les glutathions transférases possèdent aussi une activité peroxydasique vis-à-vis des peroxydes organiques mais pas vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène (Fisher *et al.*, 1999).

La catalase (EC1.11.1.6) est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les condition physiologiques (Niki *et al.*, 2007). Elle est localisée principalement dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (Lindau-Sehpar et Shaffer, 1993). La réaction catalysée par cette enzyme est une dismutation du peroxyde d'hydrogène :



La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (Cantin, 1999).

Antioxydants non enzymatiques

Ce groupe des antioxydants renferme les protéines de séquestration des métaux, qui agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro oxydants, comme Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} (ex : la transferrine, la ferritine, l'albumine, caeruloplasmine...etc.). D'autre part, il y a des molécules à faible poids moléculaire qui agissent soit comme cofacteurs des enzymes citées soit comme antioxydant propre (Favier, 2003 ; Antwerpen, 2006).

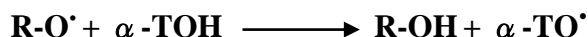
Les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, l'empêcher ainsi d'attaquer les structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ERO et les éliminer (Kohen et Nyska, 2002).

III.2.2-Antioxydants exogènes

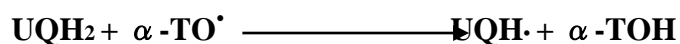
L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piégeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Vitamine E :

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, cette famille comprend 4 substances (α , β , γ , δ), α -tocophérols est la forme la plus active (Cuvelier et *al.*, 2003). Cette vitamine est décrite comme étant le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les erythrocytes chez l'homme, situé dans les lipoprotéines et dans les membranes Tocophérol, il est capable d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet en s'oxydant en quinone, et d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle $HO\cdot$. Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes $ROO\cdot$ pour former un radical tocophéryle (Dellatre, 2005).



Le tocophérol peut être régénéré par la vitamine C, le GSH (Chan *et al.*, 1991) et l'ubiquinone (Schin *et al.*, 1998). La régénération par l'ubiquinone s'effectue selon la réaction suivante :



Vitamine C :

La vitamine C (l'acide L-ascorbique) est un antioxydant hydrosoluble et un très bon capteur de radicaux libres oxygénés. Elle peut piéger directement l'anion superoxyde $O_2\cdot^-$, le radical hydroxyle $HO\cdot$, l'oxygène singulet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (Evans, 2000).

Sa capacité de donation d'électrons dans une large gamme de réactions enzymatiques et non enzymatiques le qualifie de meilleur agent de détoxification des radicaux oxygénés dans la phase aqueuse (Blokhina *et al.*, 2003). En plus, elle permet la régénération de la forme non radicalaire de la vitamine E (Ohla *et al.*, 2005). L'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre (Evans, 2000).

β - carotène :

Le β -carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés anti oxydantes. Le β -carotène est notamment capable de piéger les radicaux hydroxyles $HO\cdot$ et peroxydes $ROO\cdot$ et ainsi d'inhiber les chaînes de peroxydations lipidiques, il neutralise également l'oxygène singulet 1O_2 (Beaudeau et Geneviève, 2011).

L'ensemble de ces propriétés antioxydantes permet d'expliquer, en partie, les bénéfices apportés par les régimes alimentaires basés sur une consommation de fruits, de légumes, de thé et d'autres produits végétaux (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

Composés phénoliques

Ces dernières années, les épidémiologistes ont attiré notre attention sur le rôle des antioxydants présents dans notre alimentation est leur implication dans la prévention de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives ou encore certains types de cancer (Soulet *et al.*, 2001).

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des composés phénoliques et spécifiquement les flavonoïdes et leur capacité à piéger les radicaux libres, de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des ERO, d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, d'activer les enzymes antioxydant et de réduire les radicaux α -tocophéryl (Cotelle, 2001; Lin et Weng, 2006 ; Heim *et al.*, 2002). Ils sont particulièrement présents dans certaines boissons (thé, vin rouge, bière...) ou les fruits et légumes (agrumes, carottes...) (Lehucher *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes sont de puissants antioxydants vis-à-vis des radicaux libres dus à leur propriété de donation d'atomes d'hydrogène disponibles dans les substituants hydroxyles de leurs groupes phénoliques (Sandhar *et al.*, 2011). Leur capacité de donation d'hydrogène augmente avec l'augmentation de l'hydroxylation de leurs cycles phénoliques. Cette caractéristique structurale peut être observée dans les flavonoles comme le kaempférol quercétine et myricétine ou l'activité antioxydante est croissante en fonction du nombre des groupements OH dans la molécule (figure 5) (Le *et al.*, 2007).

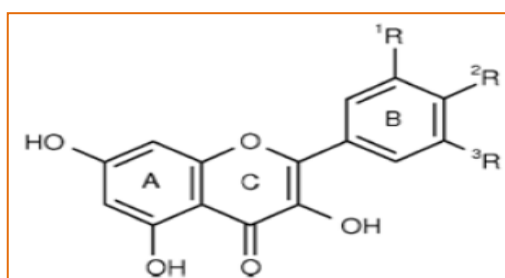


Figure 8 : Structures de quelques flavonoles. Kaempférol: ${}^2\text{R}=\text{OH}$, ${}^1\text{R} = {}^3\text{R} = \text{H}$;
 Quercétine: ${}^1\text{R} = {}^2\text{R} = \text{OH}$, ${}^3\text{R} = \text{H}$; Myricétine: ${}^1\text{R} = {}^2\text{R} = {}^3\text{R} = \text{OH}$.

En outre, les flavonoïdes exercent des effets antioxydants aussi par la chélation des ions métalliques. En plus, les flavonoïdes sont des inhibiteurs des enzymes impliquées dans la production des ERO (Sandhar *et al.*, 2011).

III.3- Mécanisme d'action des antioxydants

Un antioxydant est toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (Halliwell et Gutteridge, 2007). En effet, divers mécanismes d'action des antioxydants ont été décrits, incluant (Amadou, 2005):

- Le captage de l'oxygène singulet,
- La désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente,
- La réduction de radicaux ou de peroxydes,

III.4- Méthodes d'évaluation d'antioxydants

Actuellement, de nombreuses méthodes sont appliquées pour estimer directement l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont faisant intervenir des composés chromogènes des radicaux naturels qui stimulent les espèces réductrices d'oxygène (Moure *et al.*, 2001). Elles sont basées sur la coloration ou la décoloration de ce réactif dans le milieu réactionnel, dont la présence d'antioxydants conduit à la disparition de ces chromogènes. La facilité, rapidité et sensibilité de ces méthodes attribuent à un vaste champ d'utilisation (Krishnaiah *et al.*, 2010).

Parmi lesquelles en tenant compte la méthode de TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydant totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical cation ABTS•⁺ comparativement à un antioxydant de référence (Trolox) (Villaño *et al.*, 2004), la méthode utilisant le radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (Molyneux, 2004), test FRAP (mesure de l'aptitude à réduire Fe³⁺ en Fe²⁺), la méthode automatisée ORAC (oxygen radical absorbance capacity) (Shahin Sharif *et al.*, 2008).

Partie II :

Etude expérimentale

Chapitre 3 :
Matériel et Méthodes

I. Matériel

I.1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de certains constituants de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), variété Ghars, d'origine de la région de «Metlili-Ghardaïa».

Les différentes parties étudiées sont les dattes, les périanthes, les pédicelles et les palmes de la variété Ghars. La récolte a été effectuée au cours du mois Novembre 2020.

Le choix de cette variété est justifié par sa qualité gustative, sa disponibilité sur le marché et sa large consommation à travers le territoire Algérien. Les différents constituants étudiés de palmier dattier sont: les dattes, les périanthes, les pédicelles et les palmes.

I.1.1- Description botanique

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est l'une des plantes cultivées les plus anciennes de l'humanité. Il est très populaire dans le monde entier, en particulier au Moyen-Orient et en Afrique du Nord. La date a été utilisée comme nourriture pendant 6 000 ans. Il pourrait être utilisé pour les générations à venir en raison de sa remarquable valeur nutritionnelle, sanitaire et économique en plus de ses bénéfices esthétiques et environnementaux. Le fruit de la palmeraie est bien connu comme un aliment de base (Shams Ardekani *et al.*, 2010).

Le Palmier Dattier est une plante à croissance apicale dominante avec un stipe de 20 à 30 mètres de haut, portant une couronne de feuilles ou palmes 4 à 7 mètres de longueur. Le diamètre du tronc de l'arbre généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte.

L'espèce est dioïque et porte des inflorescences mâles ou femelles. La pollinisation peut se faire par le vent, cependant en culture, le nombre réduit de palmiers males oblige à pratiquer une pollinisation artificielle. La fleur femelle comporte trois carpelles indépendants dont un seul se développe pour donner la datte (le fruit).

La propagation des palmiers dattiers se fait soit par clonage, soit par prélèvement de drageons afin de conserver les cultivars choisis (Bouguedoura, 1991).

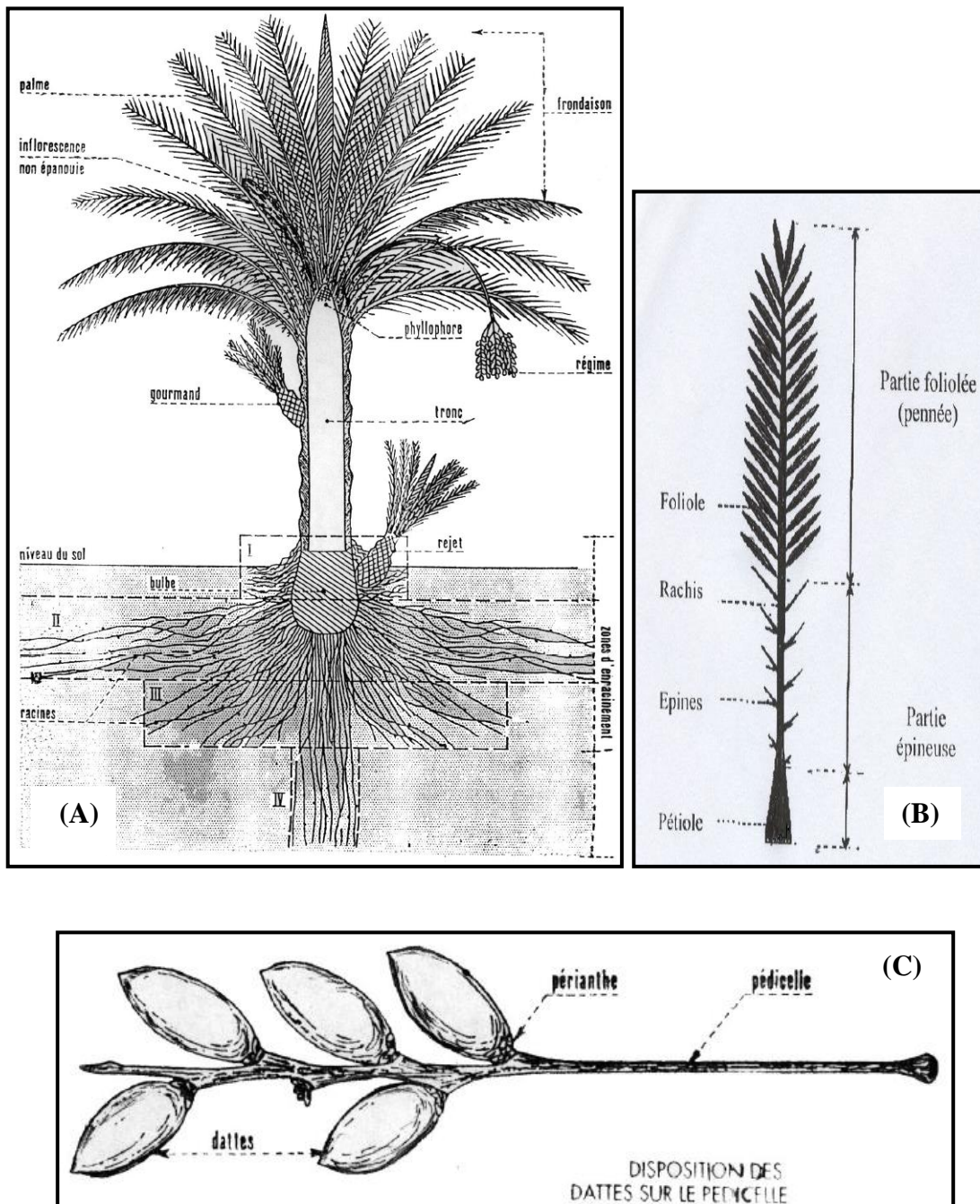


Figure 9: structure des différentes parties de palmier dattier (A), structure des différentes parties de palme d'un palmier dattier adulte (B) et disposition des dattes sur le pédicelle (C) (Moulay Hassan, 1973)

C'est une espèce arborescente connue pour son adaptation aux conditions climatiques très sévères des régions chaudes et sèches (Ghazi et Sahraoui, 2005). Le dattier est une espèce thermophile ; il exige un climat chaud, sec et ensoleillé. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols. Il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Munier, 1973).

La datte, fruit du palmier dattier, est une baie de forme allongée, oblongue ou arrondie. Elle est composée d'un noyau, ayant une consistance dure, entouré de chair (Figure 6). Après fécondation, l'ovule évolue pour donner un fruit de couleur verte. En effet, cinq stades d'évolution du fruit sont connus et prennent des appellations locales différentes (Djerbi, 1994; Espiard, 2002).

I.1.2- Position systématique

Phoenix dactylifera L. est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *Palmaceae*, et à la sous-famille des *Coryphineae*. La famille des *Palmaceae* compte environ 235 genres et 4000 espèces. Le genre *Phoenix* comporte douze espèces d'après Chevalier (1952) cité par Munier (1973) (Munier et al., 1973).

D'après Djoudi, (2013), la place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (Tableau 4)

Tableau 4 : Classification botanique du palmier dattier (Djoudi, 2013).

Groupe	Spadiciflores
Ordre	Palmales
Famille	Palmacées
Sous famille	Coryphoidées
Tribu	Phoenicées
Genre	<i>Phoenix</i>
Espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> L.

I.1.3- Situation Géographique de la région d'échantillonnage

Metlili est une daïra de wilaya de Ghardaïa en Algérie située à 40 km au sud de Ghardaïa.

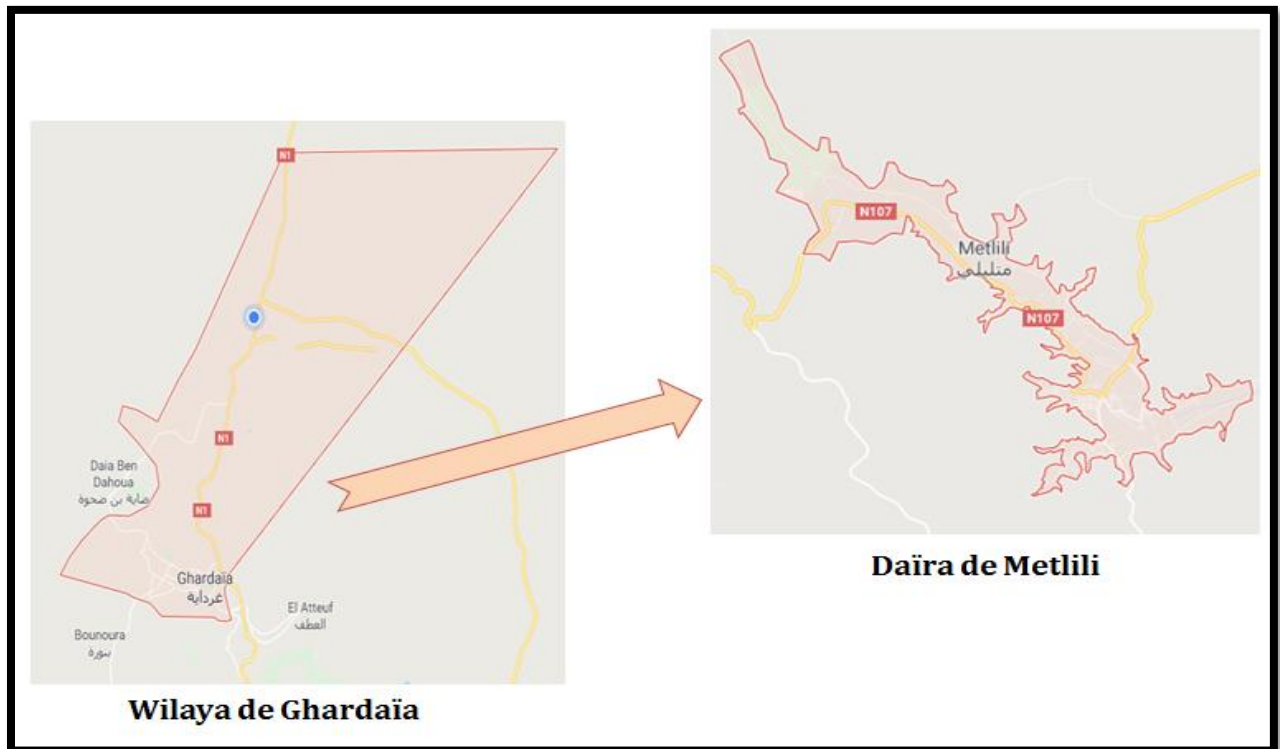


Figure 20 : localisation géographique de Metlili par application de Maps Google

II. Méthodes d'analyses

II.1- Prélèvement et préparation des échantillons

Dans cette étude, les différents constituants du palmier dattier (périanthes, pédicelles ; dattes et palmes) ont été récoltés au cours du mois Novembre 2020 au niveau la région de «Metlili» (Ghardaïa).

Pour chaque constituant étudié, la récolte est réalisée sur 4 à 5 palmiers homogènes. Après le séchage de périanthes, pédicelles et palmes à l'abri de la lumière et à température ambiante; la matière végétale est finement broyée et tamisée pour l'extraction. Également, les dattes sont récoltées à pleine maturité (Tamar) et sont conservées à -20°C .

II.2- Préparation des extraits phénoliques

Les composés phénoliques ont toutes des parties polaires hydrophiles, certaines ont des parties hydrophobes et leurs groupements alcool leur offrent la possibilité de former de nombreuses liaisons hydrogène, cela explique leur solubilité dans les solvants polaires. Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques sont classiquement solubles dans l'eau (Machiex et *al*, 2005).

Dans la présente étude, la méthodologie d'extraction a été effectuée suivant la méthode décrite par Marie-Joséphine Amiot (Amiot et *al*, 1986), avec une légère modification selon trois étapes : macération, dépigmentation et purification.

Macération

Une quantité de 5 g de chaque poudre précédemment obtenue est macérée dans 100 ml d'un mélange hydro-alcoolique (méthanol/eau) (80/20 : V/V) pendant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité. Tandis que 10g de pulpe de datte broyées a été macéré dans 100 ml de même mélange. Après filtration du mélange sur du papier filtre (Wattman N° 01), le méthanol a été éliminé sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif à 40°C.

Dépigmentation

La phase aqueuse restante après l'élimination de méthanol est lavée une ou plusieurs fois avec un même volume d'hexane par une extraction liquide-liquide, jusqu'à l'épuisement des pigments.

Purification

La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée dans une ampoule à décanter une ou plusieurs fois tout d'abord avec un même volume du di-éthyle éther, ensuite la phase aqueuse est lavée une seconde fois jusqu'à épuisement avec l'acétate d'éthyle. Ce qui nous a permis d'avoir deux fractions différentes di-éthyle éther et acétate d'éthyle à priori contiennent les composés phénoliques peu polaires et polaires. Les extraits obtenus sont séchés par le sulfate de sodium anhydre puis sont évaporés à sec. Les résidus obtenus sont repris dans un volume de 5 ml de méthanol pur et conservés à 4°C jusqu'à leur analyse.

II.3- Analyses quantitative

II.3.1- Dosage des phénols totaux

Principe: Pour évaluer la quantité des phénols totaux, nous avons adapté la méthode de Singleton et Ross (1965) qui s'avère la plus sensible (Bahurun, 1997). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale des groupements hydroxyles présents dans un extrait en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est formé d'hétéro polyacides; phosphomolybdiques ($H_3PMo_{12}O_{40}$) et phosphotungstiques ($H_3PW_{12}O_{40}$).

Ils oxydent les phénols en milieu alcalin en ions phénolates; par une réduction partielle de ces polyacides pour formé un complexe molybdotungstique bleu; absorbant à une longueur d'ondes de 760 nm basique (Boizot et Charpentier, 2006).

La teneur en composés phénoliques dans nos extraits est exprimée en mg d'équivalent acide gallique (GAE) par gramme de matière sèche.

Courbe d'étalonnage: A partir d'une solution mère d'acide gallique (0.5 g/l), une gamme de dilution a été préparée. 100 μ l de chaque solution fille a été mélangé avec 500 μ l de réactif de Folin (10%). Après 5 min d'incubation, 2 ml de Na_2CO_3 (5%) a été ajouté et les mélanges sont maintenus à l'obscurité pendant 30 min. La lecture de la densité optique de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Les valeurs ainsi obtenues nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II.3.2- Dosage des flavonoïdes

Principe: A fin de doser les flavonoïdes, nous avons utilisé la méthode adaptée par Lamaison et Carnat (1991) utilisant le réactif de tri chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Ce réactif va réagir avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes en produisant un complexe acide stable de coloration jaune dont son absorbance maximale est enregistré à 409 nm (Zhang et al, 2010).

Afin d'établir cette quantification, nous avons choisi la rutine comme référence pour établir la courbe d'étalonnage. La teneur en flavonoïdes dans nos extraits est exprimée en mg d'équivalente rutine (RE) par gramme de matière sèche.

Courbe d'étalonnage: Après la préparation d'une gamme de différentes concentrations de la rutine, 1 ml de chaque solution a été ajouté à 1 mL de tri chlorure d'aluminium à 2%. Par la suite, les solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 20 min. L'absorbance de chaque solution préparée est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible, à une longueur d'onde de 409 nm contre un blanc. Les valeurs ainsi obtenues, nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la rutine.

II.4- Evaluation du pouvoir antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de nos extraits a été réalisée par un test chimique *in vitro*. Dans ce test, on s'intéresse à mesurer l'activité de balayage du radical libre par les fractions antioxydantes de nos extraits phénoliques en employant le radical stable de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH[•].

Principe: Cette méthode mesure la capacité réductrice d'un antioxydant (composés phénoliques dans notre cas), la réduction du radical libre DPPH[•] s'accompagne de la diminution de la coloration violette qui peut être suivie par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm (Siddhuraju et Manian, 2007).

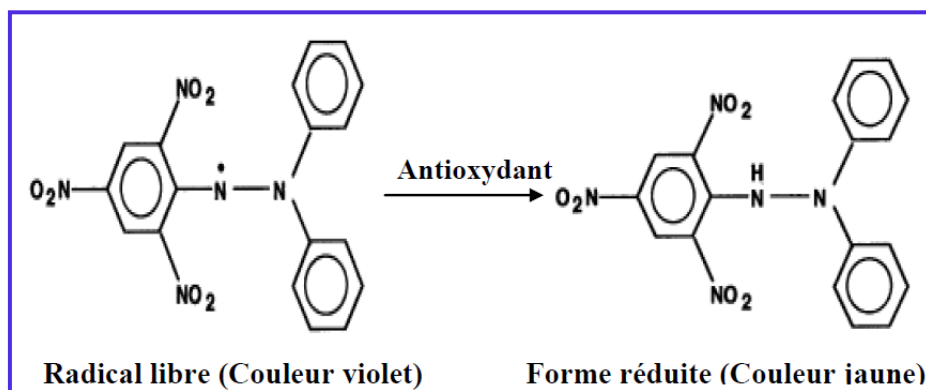


Figure 11: Réduction de radical libre DPPH[•] en présence d'antioxydant.

Protocole expérimental: Nos extraits ont été solubilisés dans du méthanol à différentes concentrations. 1 mL de chaque dilution est mélangé avec 1 mL de la solution méthanolique du DPPH[•] (250 µM), ce mélange est agité fortement puis maintenu à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance du milieu réactionnel est mesurée par un spectrophotomètre UV Visible à 517 nm contre un blanc.

La mesure de la décroissance de l'absorbance au spectrophotomètre nous a permis de calculer le I% (pourcentage d'inhibition) suivant la formule ci-dessous (Yu et al., 2004) :

$$I\% = \left(1 - \left[\frac{A_{\text{extrait}}}{A_{\text{temoin}}} \right] \right) \times 100$$

Où

A témoin: désigne l'absorbance de la solution de DPPH' seul à 517 nm ;

A extrait: désigne l'absorbance du DPPH' en présence de l'extrait testé à 517 nm.

Ensuite, le traçage du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration en antioxydant (phénols) ou antioxydant standard choisi a permis d'obtenir les concentrations d'extrait IC50 nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH (Kroyer, 2004).

Chapitre 4 :
Résultats et Discussion

I. Rendements d'extraction

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est l'extraction par macération. C'est une méthode traditionnelle, a été couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation à température ambiante (Spigno et *al.*, 2007), ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules bioactifs qui sont sensibles aux changements de température pour une durée déterminée (Lecheheb, 2010).

Après une macération dans un mélange hydro alcoolique méthanol/eau (8/2 V/V), la phase aqueuse des extraits bruts obtenus ont subi une purification par une extraction liquide-liquide avec l'utilisation des solvants à une polarité différente. Cette méthode a permis de séparer les composés extraits de la poudre végétale en fonction de leur solubilité dans le solvant d'extraction (Kholkhal, 2014).

De ce fait, une purification selon une graduation de polarité a été réalisée les extraits bruts des différents constituants du *Phoenix dactylifera* L., par deux solvants l'acétate d'éthyle et di-éthyle éther. Ce qui nous a permis d'avoir deux fractions différentes l'acétate d'éthyle et di-éthyle éther à priori contiennent les composés phénoliques polaires et moyennement polaires.

Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect pâteux pour toutes les fractions de couleur jaune ou marron. Le rendement d'extraction, l'aspect et les couleurs des extraits pour les deux fractions sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Aspect, couleur et rendement d'extraction des extraits phénoliques.

L'extrait	Phase organique	Aspect	Couleur	Le rendement d'extraction %
Datte	Acétate d'éthyle	Pâteux	Jaune clair	0.27
	Di éthyle éther	Pâteux	Jaune clair	0.26
Périanthe	Acétate d'éthyle	Pâteux / poudreux	marron clair	0.52
	Di éthyle éther	Pâteux	jaune	0.48
Pédicelle	Acétate d'éthyle	Pâteux	jaune	0.49
	Di éthyle éther	Pâteux	blanche	0.44
Palme	Acétate d'éthyle	Pâteux	marron clair	1.06
	Di éthyle éther	Pâteux	jaune	0.47

La couleur des extraits sont dues à des pigments de différentes natures, ils peuvent être des caroténoïdes, des anthocyanes, des flavones, des flavonoles, du lycopène, des carotènes, des flavoxanthine et lutéine (Nezam El-Din et *al.*, 1982 ; Gross et *al.*, 1983).

L'examen générale des résultats de (Tableau 5) indique l'enregistrement des faibles teneurs qui ne dépassent une teneur de 2%. Les valeurs des teneurs d'extraction des fractions d'acétate d'éthyle sont comprises de 0,27% à 1,06% et de 0,26% à 0,48% pour les fractions di-éthyle éther.

Ces teneurs sont variés d'un extrait à un autre mais cette différence n'a pas enregistré entre les fractions. Cela indique que les deux solvants ont un même mode de diffusion dans la poudre ou la pâte de matières végétales étudiées. Ainsi, elle permet de raisonner une disposition approximative des composés moyennement polaires et polaires pour chaque extrait. A l'exception l'extrait des palmes dont le passage des composés phénoliques polaire vers l'acétate d'éthyle est très remarqué.

Ainsi, les fractions des palmes donnent des rendements plus supérieurs par rapport les autres extrait. Ce qui indique que les molécules actives des palmes sont plus solubles dans le solvant hydro-méthanolique choisi.

Comme on peut le voir, le rendement d'extraction reste faible, Bien qu'il ait été utilisé le mélange hydro-méthanolique qui aisément extraits la plus part des composés phénoliques qui présents dans la vacuole; mais ne peut pas être pour les phénols insolubles au niveau des parois pecto-cellulosiques qui peuvent être les constituants majoritaires de nos extraits (Machiex et *al.*, 2005).

Les composés phénoliques sont classés comme des molécules plutôt hydrosolubles. Ils sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. A la base de cette propriété, les solvants utilisés pour l'extraction sont le méthanol, qui présente une polarité moyenne, et l'eau dont la polarité est la plus élevée (Lecheheb, 2010).

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques de matériel végétal

ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées (Falleh, 2008).

Dans cette étude, la méthode d'extraction utilisée est la macération à froid qui est relativement peu coûteuse, la plus simple et aussi permet de préserver la bio-activité de ses principes actifs et de maximiser le temps de contact du solvant avec le matériel végétal (Khenfer et Medjouel, 2016).

Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction à température ambiante qui permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction. Cette méthode est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant et la durée d'extraction (Spigno et *al.*, 2007).

II. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes

Au moyen spectrophotométrique UV-Visible, en mesurant à une longueur d'onde précise (la longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{\max}) de la molécule ou du complexe qu'elle forme avec un réactif), l'intensité d'absorption (densité optique, DO) par rapport à un témoin de concentration connue, permettra de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon.

Parmi les méthodes de quantification des composés phénoliques, nous avons choisi la méthode adaptée par Singleton et Ross (1965), protocole qui utilise le réactif de Folin-Ciocalteu. Il s'agit d'une méthode analytique biochimique nécessitant la prise d'échantillon, l'extraction des composés phénoliques à partir de ces échantillons puis une mesure spectrophotométrique des extraits.

Les teneurs en composés phénoliques de chaque extrait ont été alors calculées à partir d'une courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalent en acide gallique (EAG) par gramme de la matière sèche. L'acide gallique est le standard qui est utilisé à ce dosage. Il est le standard le plus souvent employé dans la méthode de Folin-Ciocalteu. Ainsi, c'est un composé de coût peu élevé et se solubilise facilement dans l'eau (figure 12).

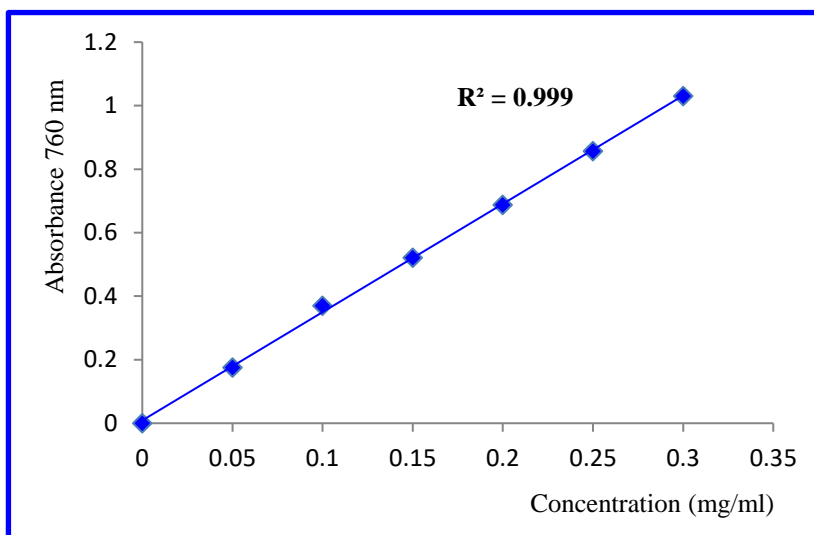


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Également, la quantification des flavonoïdes dans nos extraits, qu'ils sont l'un des groupes les plus diverse et répandue des composés naturels et se sont les composés phénoliques naturels les plus importants (Djeridane et *al.*, 2010), a été effectuée suivant la méthode Lamaison et Carnat (1991), avec le réactif de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) comme un réactif spectral.

La méthode d' AlCl_3 est simple, peu coûteuse et offre une bonne sensibilité. Cette méthode permet de déterminer la teneur en flavonoïdes totale, qui forment un complexe jaunâtre avec AlCl_3 absorbe à 409 nm, même en présence d'autres composés phénoliques qui ne peut pas former un complexe avec AlCl_3 (Laouini, 2014).

Les teneurs en flavonoïdes de chaque extrait ont été alors calculées à partir une courbe d'étalonnage et exprimées en milligrammes équivalent à la rutine (ER) par gramme de la matière sèche. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 6.

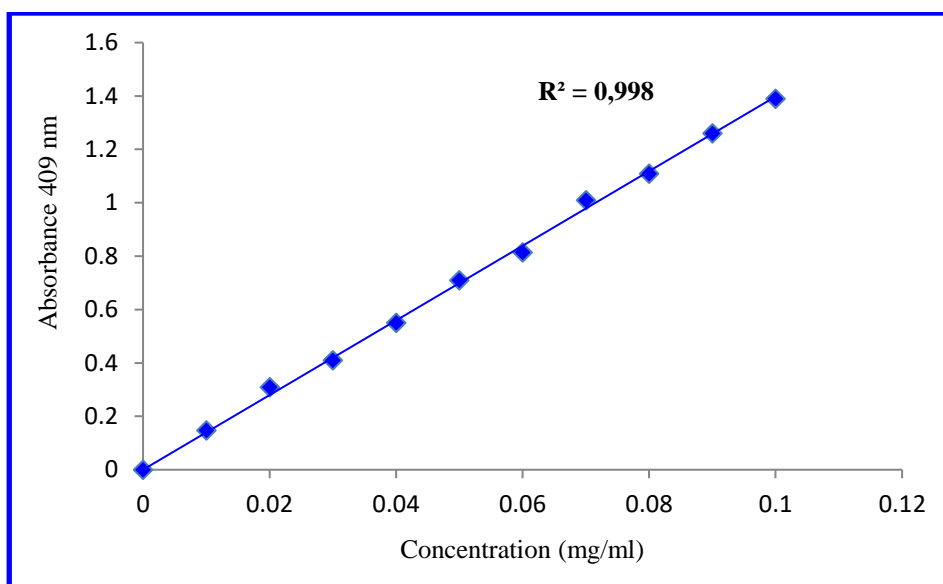


Figure 13: Courbe d'étalonnage de la rutine

Tableau 6 : Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de différents extraits étudiés

L'extrait	Phase organique	Teneur en Phénols Totaux (mg EAG/g)	Teneur en Flavonoïdes (mg ER/g)	Pourcentage des Flavonoïdes dans les phénols totaux (%)
Datte	Acétate d'éthyle	0.0415± 0,02	0.0344± 0,06	82,90
	Di éthyle éther	0.0120± 0,01	0.0026± 0,02	21,61
Périanthe	Acétate d'éthyle	0.1964± 0,07	0.0171± 0,05	8,71
	Di éthyle éther	0.8013± 0,03	0.1645± 0,08	20,53
Pédicelle	Acétate d'éthyle	0.6784± 0,05	0.2575± 0,03	37,96
	Di éthyle éther	0.1692± 0,04	0.0406± 0,01	23,99
Palme	Acétate d'éthyle	3.4733± 0,01	0.9789± 0,04	28,18
	Di éthyle éther	0.4127± 0,08	0.1577± 0,03	38,21

On constate d'après la synthèse de ces résultats, que le contenu des extraits en phénols totaux est varié entre 0.0415 et 3.4733 mg EAG/g pour les fractions d'acétate d'éthyle et de 0.0120 à 0.8013 mg EAG/g pour les fractions de di-éthyle éther. La mieux teneur est enregistrée dans l'extrait des palmes pour la fraction d'acétate d'éthyle de 3.4733 mg EAG/g; par contre l'extrait des dattes a consigné les valeurs les plus faibles pour les deux fractions.

Nous notons également que les fractions d'extraits des dattes marquent une faible teneur par rapport aux autres extraits. Au cours de la maturité des dattes, l'activité du polyphénol oxydase est augmentée dont elle permet l'oxydation des composés phénoliques

en conduisant au brunissement de la datte. Cette activité est diminuée dans le stade de Tamar, ce qui peut être justifié la faible teneur en phénols totaux dans l'extrait des dattes.

Comparativement à l'étude menée par Mansouri *et al.*, (2005) sur sept variétés de dattes algériennes à savoir: Deglet-Nour, Tazizaout, Ougherouss, Tantboucht, Tafiziouine, Tazerzait et Akerbouche a révélé une teneur phénolique variant de 2.49 à 8.36mg/100g du poids frais. Donc notre extrait est classé dans la même range avec ces variétés.

Une autre étude réalisée par Ben Abbes (2011) donné des teneuses en phénol totaux : 0,552 et 2,492 mg EAG/100g des extrais chloroformique et acétate d'éthyle de datte, variété Deglet Nour, respectivement. Ces valeurs sont assez faible par rapport nos extraits des dattes, ce qui peut induire que les dattes de la variété Ghars est plus riche en phénols totaux que de la variété Deglet Nour.

Toutefois, les teneurs en phénols totaux de nos extraits restent plus faibles que celles de Telli, (2009) et de Sayah, (2008), cité par Bendjelloul et Berraghda (2014), dont ils ont notés des teneurs en composés phénoliques de dattes variété Ghars égales $4,55 \pm 0,39$ mg EAG /10 de poids sec et $263,04 \pm 6,09$ mg/100g respectivement.

Egalement, les teneurs en phénols totaux de nos extraits des palmes présentent une similitude avec ceux de Laouini (2014) qui est trouvé une teneur de 215,24 mg EAG/100g pour la variété Ghars.

L'étude de Benhamdoune et Hadj Amar (2018), sur les extraits de différents constituants de la variété Ghars de la même région de Metlili-Ghardaïa, a montré la pauvreté de nos extraits par les composés phénoliques. De ce fait, il est confirmé que le méthanol est le meilleur solvant qui permet d'avoir une concentration de phénols totaux plus élevée par rapport aux solvants apolaires ou moyennement polaires.

Généralement, les teneurs des extraits pour les deux fractions ne sont pas voisines qui confirment la différence des taux de composés phénoliques moyennement polaires et ceux polaires pour chaque extrait.

On peut noter ainsi que les différents constituants de palmier dattier étudiés dans cette étude ne présentent qu'une faible teneur de composés phénoliques par rapport à d'autres

espèces investiguées dans le laboratoire des sciences fondamentales (Djeridane *et al.*, 2008). Ces valeurs restent largement moins importantes en elle-même et présente presque des traces de composés phénoliques.

Souvent, la faible teneur en composés phénoliques est associée par plusieurs facteurs tels que la réelle pauvreté de nos extraits en ces composés, le mode d'extraction utilisé, ou bien l'effet des facteurs de l'environnement pendant la croissance normale de ces organes. Beaucoup facteurs peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques. Il s'agit souvent des facteurs physiques, chimiques et biologiques, externes ou endogènes: lumière, température, potentiel osmotique, nutrition de palmier dattier, ... jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique (Machiex *et al.*, 2005).

En autre coté, plusieurs travaux ont montré l'implication de divers stress tels que les stress thermiques et hydriques dans la synthèse des composés phénoliques (Falah *et al.*, 2006), de fait que les contraintes abiotiques du milieu (sécheresse, salinités, température élevée, ensoleillement) stimulent la biosynthèse de ces molécules (Ksouri *et al.*, 2006; Koç *et al.*, 2010).

Le dosage par l'utilisation de réactif Folin - Ciocalteu a été choisie parce qu'il est simple à mettre en œuvre et qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité et possède une grande longueur d'onde (760nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (Huang *et al.*, 2005). Néanmoins, la méthode de Folin-Ciocalteu est très sensible et n'indique pas toujours les valeurs précises des teneurs en phénols totaux puisque le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques dont peut réagir avec les acides aminés : tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites ; ce qui provoque après des problèmes d'interférent de toute évaluation phénolique (Boizot et Charpentier, 2006).

En ce qui concerne la quantification des flavonoïdes qui ont été déterminé par la méthode du chlorure d'aluminium. La fraction d'acétate d'éthyle a montre des teneurs comprise entre 0.0171 mg ER/g et 0.9789 mg ER/g pour l'extrait de périanthe et de palme respectivement; tandis que pour les fractions de di-éthyle éther, on remarque des faibles

teneurs allant de 0.0026 mg ER/g pour l'extrait des dattes à 0.1645 mg ER/g pour l'extrait de périlanthe.

Toutefois, les extraits de deux fractions des dattes ont enregistré les plus faibles teneurs en flavonoïdes (0.0026 mg ER/g et 0.0171 mg ER/g pour la fraction de di-éthyle éther et d'acétate d'éthyle respectivement). Par contre, les extraits des palmes toujours notés les valeurs les plus élevées de teneur en flavonoïdes comparativement aux autres extraits.

Il est clair que ces résultats ont bien cités la différence des teneurs entre les fractions, de fait que la fraction d'acétate d'éthyle a montré une forte présence de flavonoïde que celle de di-éthyle éther dans la plus part des extraits; ceci peut être expliqué par le fait que les différents constituants de palmier dattier étudiés contenaient des substances flavonoïdiques polaires plus que moyennement polaires.

Au niveau de chaque extrait, on remarque une différence dans le contenu en flavonoïde entre les deux fractions qui explique l'inégalité de taux des flavonoïdes polaires et moyennement polaires dans chaque organe étudié ou bien peut attribuer à la présence des flavonoïdes glycosidiques soluble facilement dans la fraction d'acétate d'éthyle.

A titre de comparaison de notre étude avec la littérature, nos résultats d'extrait d'acétate d'éthyle est concordé avec le travail de Gourchala (2015) qui a trouvé une teneur de 5,2 EQ/100g de MF pour l'extrait méthanolique de dattes Ghars de la région de Ghardaïa.

En outre, l'étude de Terechine (2010) sur quelque cultivar du palmier dattier de sud-est Algérien a présenté une teneur plus élevée en flavonoïdes de 58,58 mg d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait méthanolique sec pour la variété Ghars.

Une autre étude réalisée par Adaïka et Ramdani (2015) sur les feuilles de *Phoenix dactylifera* L. a trouvé des teneurs très supérieures 95,93±0,147 mg ER/g. Ce qui montre la richesse de ces variétés de la région de l'Oued en flavonoïde par rapport notre variété sélectionnée dans cette étude.

Généralement, pour les pédicelles et les périanthes, il y a une manque d'étude quantitative sur les phénols totaux et les flavonoïdes et aucun résultat n'a été rapporté par d'autres auteurs sur ces deux parties des variétés étudiées pour pouvoir comparer nos

résultats. Pourtant, la comparaison de nos résultats avec ceux de la bibliographie est difficile grâce à l'utilisation de différentes méthodes d'extraction et la diversité des variétés qui caractérise par fois une région seulement, ce qui réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études.

Dans un souci de simplification, nous avons représenté dans l'histogramme qui suit (Figure 14) le contenu de l'extrait brut en composés phénoliques ainsi des flavonoïdes.

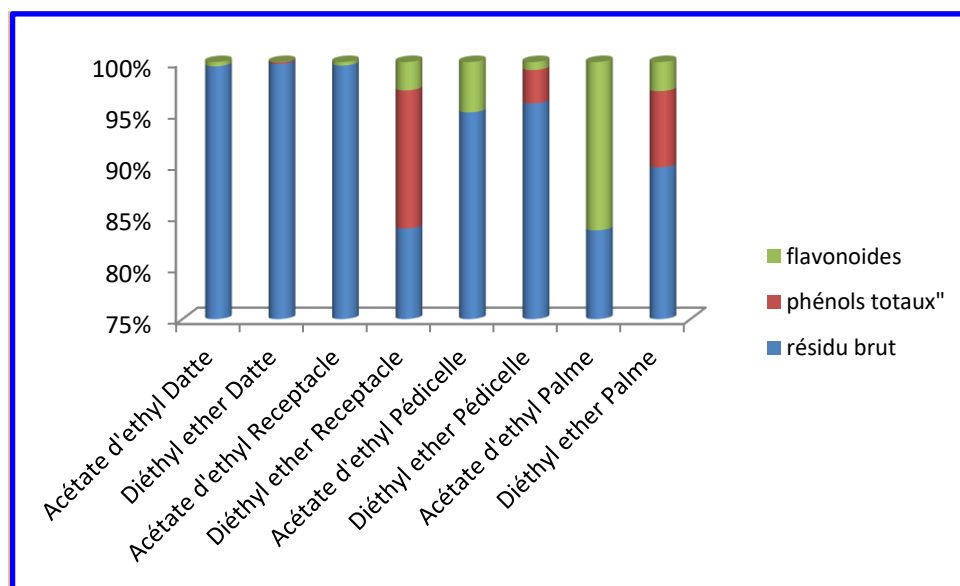


Figure 14: Pourcentages des phénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait brut.

Les flavonoïdes sont constitués une classe très grande de l'ensemble des composés phénoliques, les teneurs obtenus en flavonoïdes des nos extraits sont généralement inférieurs de ceux des phénols totaux ce qui indique que les extraits phénoliques contiennent en plus des flavonoïdes d'autres composés phénoliques possédant d'autres structures chimiques que celles des flavonoïdes (acide phénoliques, tanins, stilbènes...) et présentant en quantités importantes. Sauf l'extrait d'acétate d'éthyle des dattes qui présente un pourcentage très élevé de 82,90% qui montre la richesse de cet extrait en composés flavonoïdiques.

Afin de chercher la présence d'une corrélation linéaire entre les différents extraits. Nous avons essayé de tracer des courbes représentant la variation des quantités des phénols totaux en fonction des teneurs en flavonoïdes dans les deux fractions (Figure 15).

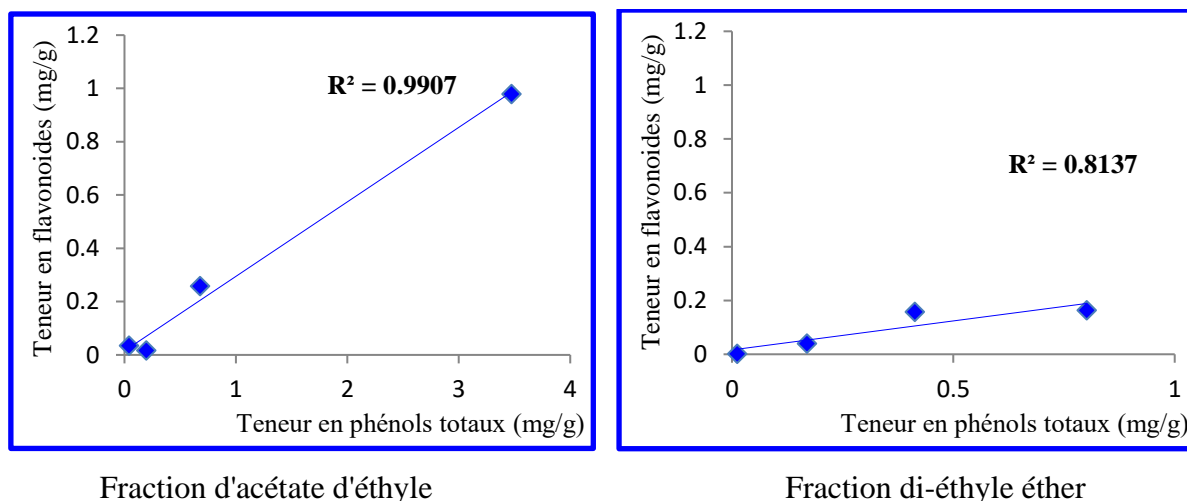


Figure 15: Variation de la teneur en flavonoïdes en fonction de la teneur en phénols totaux dans la fraction d'acétate d'éthyle et di-éthyle éther.

D'après les graphes représentés dans les figures ci-dessus, il convient de noter l'existence d'une bonne corrélation entre les quantités en phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99$ pour la fraction d'acétate d'éthyle et de 0.81 pour la fraction de di-éthyle éther. Ce résultat peut être traduit par le fait que la quantité des flavonoïdes varie proportionnellement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits. Cette corrélation a dévoilé l'existence d'une même classe de flavonoïdes dans ces extraits et pour chaque fraction. Aussi, elle a montré la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques.

III. Evaluation du pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de prévenir ou ralentir l'oxydation de substrat susceptible d'être oxydé (Pastrej et Priymenko, 2007). Actuellement une grande diversité des méthodes analytiques est disponible pour la détermination de la capacité antioxydante par piégeage de différents radicaux (Benzid et Litim, 2016).

Les méthodes de piégeage des radicaux libres spécifiquement l'intervenir des chromogènes radicalaires sont les plus couramment utilisées en raison de leur facilité, de rapidité et de sensibilité (Krishnaiah et *al*, 2010).

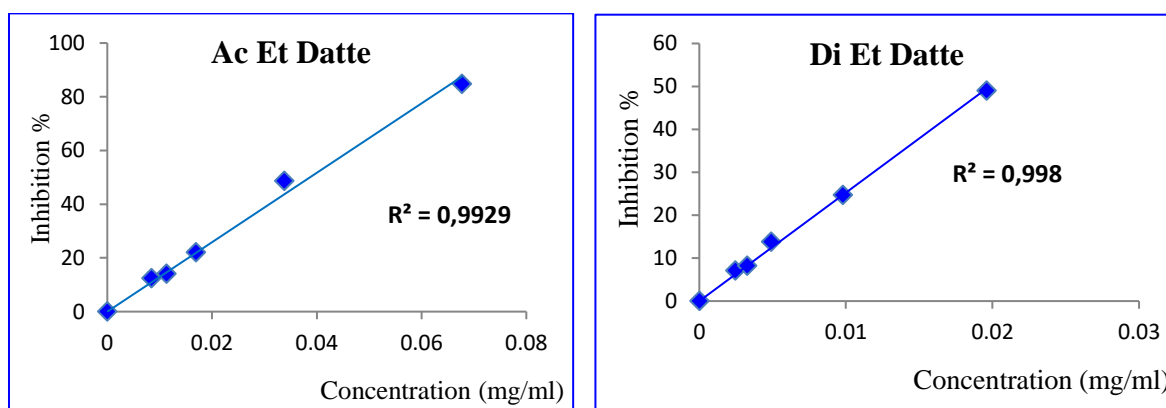
Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des composés phénoliques particulièrement la classe des flavonoïdes qui ont

contribué en plusieurs situations de ralentisse l'action d'oxydant. Dans ce travail, l'activité antioxydante des différents extraits du palmier dattier est évaluée *in vitro* par un test chimique, test du DPPH (2,2-Diphényl-2-Picryl Hydrazyl).

La méthode de DPPH est une méthode rapide, simple et non couteuse pour mesurer la capacité antioxydante. Elle est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés agissant comme des scavengers des radicaux libres ou donateurs d'hydrogènes (Kaanin *et al.*, 2012). Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH[•] (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl).

La réduction du radical libre DPPH[•] s'accompagne de la diminution de la coloration violette qui peut être suivie par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm (Laouini, 2014). Les valeurs de chaque extrait obtenues sont exprimées en pourcentage d'inhibition I%, qui ont permis de tracer les graphes illustrant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composés phénoliques de différents extraits (Figure 16).

Plusieurs travaux de recherche ont fait appel à certains antioxydants standards connus pour leurs propriétés antioxydantes puissantes comme contrôles positifs. Les plus populaire étant la vitamine C, et le BHA et le Trolox (Liang *et al.*, 2010). Dans cette étude, nous avons choisi le Trolox comme antioxydant de référence, en basant sur la disponibilité (Figure 17).



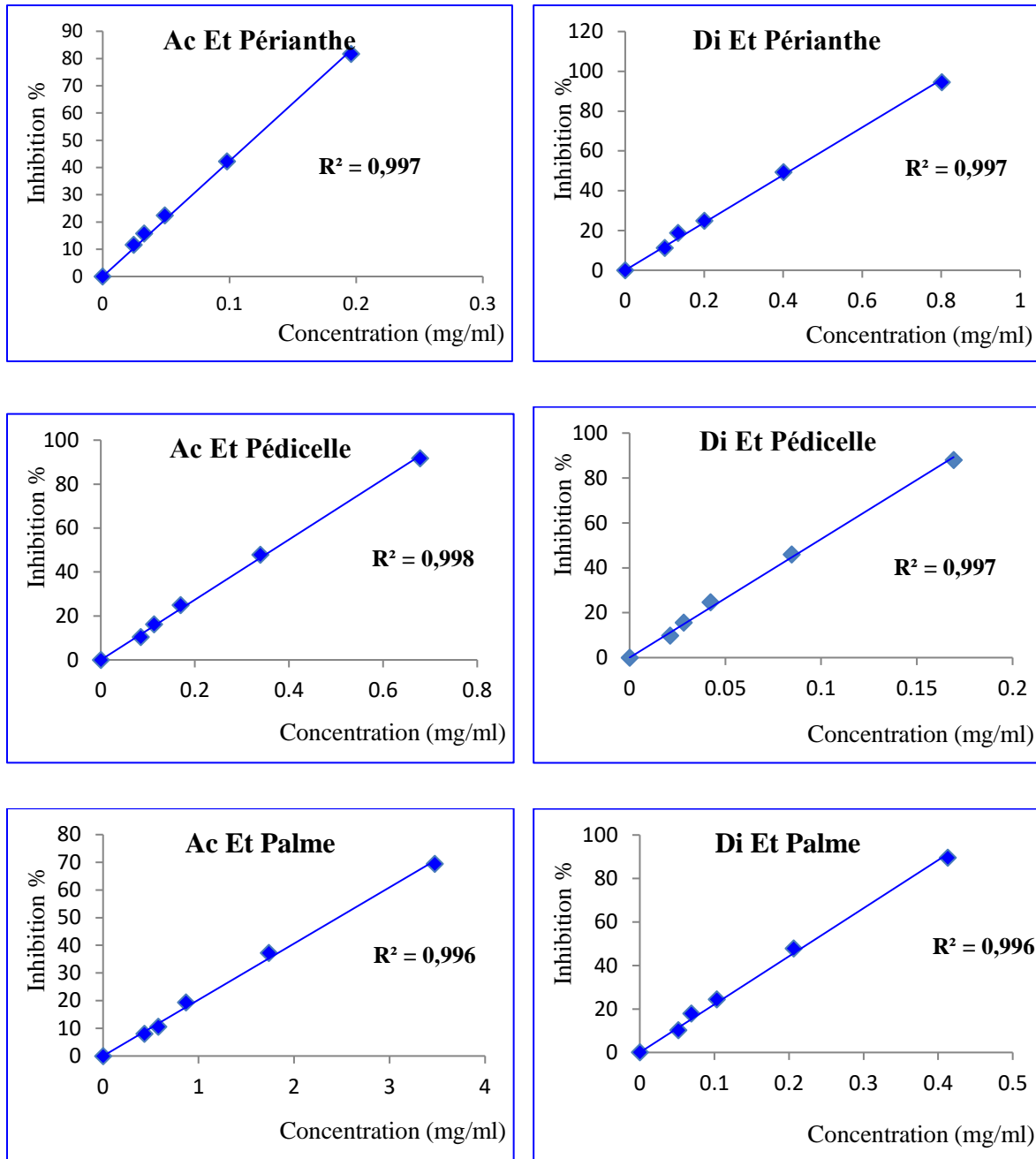


Figure 16: Les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition (%) en fonction de la concentration des extraits phénoliques.

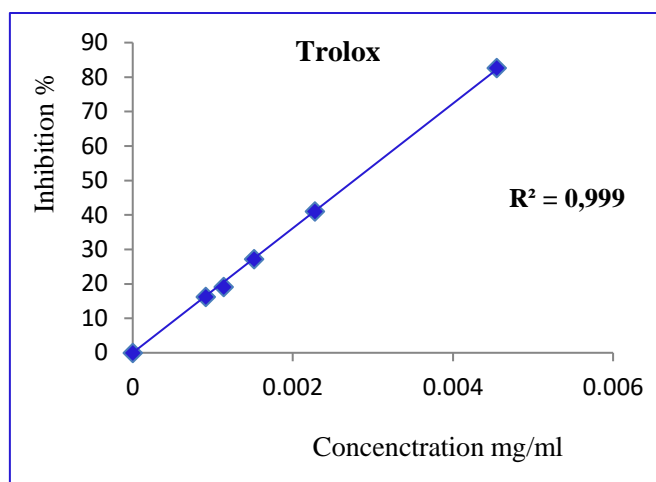


Figure 17 : Les Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de l'antioxydant standard

Ces tracés ont permis ensuite d'exprimer la capacité antioxydantes de nos différents extraits en la valeur "IC₅₀" qui l'on définit par la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel, dont la valeur la plus faible est correspond à l'efficacité la plus élevée; elle est exprimés en mg/ml. Les valeurs d'IC₅₀ obtenues des extraits phénoliques et de Trolox sont enregistrées dans le tableau 7.

Tableau 7: Les valeurs d'IC₅₀ en (mg /mL) des différents extraits et le standard

Extrait	Phase Organique	IC ₅₀ en (mg/mL)
Datte	Acétate d'éthyle	0.038± 0,03
	Di éthyle éther	0.019± 0,02
Périanthe	Acétate d'éthyle	0.118± 0,04
	Di éthyle éther	0.418± 0,07
Pédicelle	Acétate d'éthyle	0.368± 0,01
	Di éthyle éther	0.094± 0,06
Palme	Acétate d'éthyle	2.460± 0,05
	Di éthyle éther	0.226± 0,02
Trolox	/	0.0027±0.01

En analysant l'ensemble des résultats obtenus dans le Tableau (7) et sachant que le paramètre IC₅₀ est inversement proportionnel à l'activité antioxydante. On note que les extraits phénoliques testés découvrent des activités anti-radicalaires intéressantes d'ordre milligramme. Les valeurs d'IC₅₀ des extraits d'acétate d'éthyle varient entre 0.038 et 2.460 mg/mL et entre 0.019 et 0.418 mg/mL pour les extraits de di-éthyle éther.

Dans l'extrait de datte pour les deux fractions, on note une potentielle activité antioxydante et comparable avec les antioxydants standards, en particulier la fraction de di-éthyle éther qui enregistre une faible valeur d'IC₅₀, à savoir qu'elle présente presque la même teneur phénolique que la fraction d'acétate d'éthyle. Donc une hypothèse pourrait être émise pour expliquer son potentiel est que les composés phénoliques présents du caractère moyennement polaire correspondent à ceux possédant des propriétés antioxydantes intéressantes.

En outre, l'extrait des palmes, en particulier la fraction d'acétate d'éthyle, est présente le pouvoir antioxydant le plus faible avec une valeur d'IC₅₀ la plus grande, égale 2.460 mg/mL, malgré qu'il est le plus riche des composés phénoliques. Ce qui peut être expliqué par le fait que les composés phénoliques présents ne correspondent pas à ceux possédant des propriétés antioxydantes intéressantes.

A des fins comparatives, les résultats obtenus ont été comparé à ce obtenus par le Trolox qui prit comme antioxydant de référence. Les extraits phénoliques testés du palmier dattier de la variété Ghars s'avèrent moins actifs par rapport à celui déterminé par le Trolox, qui enregistré une valeur d'IC₅₀ = 0,0027 ± 0,0001 mg/ml.

D'après la littérature, l'activité anti-radicalaire de nos extraits est assez faible à celle obtenue par Terechine (2010) qui travaillait sur l'extrait de dattes, variété Ghars de la région Oued Mzab. Il a constaté que ces extraits ont montré une activité anti-radicalaire puissante avec une valeur d'IC₅₀ égale 0,006 mg/ml.

Ainsi, ces résultats en accord avec le travail de Laouini (2014) qu'il est évalué l'activité anti-radicalaire des extraits de la variété Ghars de la région d'Oued Souf. Le balayage du radical libre le DPPH[•] par les extraits des palmes a montré un pouvoir antioxydant plus puissant à celui de nos extraits des palmes, dont la valeur d'IC₅₀ égale 2,98 ± 0,08 µg/ml pour les dattes de Ghars.

Cette différence peut être expliquée par le fait qu'elle s'agit de l'action combinée des différents composés à activité anti-radicalaire qu'ils peuvent contenir (les polyphénols glycosides, les peptides, les acides organiques....). Ainsi, on peut dire que la variation de la capacité antioxydante de nos extraits entre eux pourrait être due à la teneur et/ou la présence

de certaines molécules potentiellement actives de flavonoïdes et /ou phénoliques dans les extraits.

La méthode de DPPH est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés phénoliques. Elle est très utilisée car il est rapide, temps d'incubation 30min, facile et non couteux. Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations (Khenfer et Medjouel, 2016).

De plus, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) permettent d'éviter l'auto oxydation des molécules testées. À cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux (Yi et al., 2008).

D'autre part, nous avons tracé les courbes (Figure 18) reliant les valeurs d'IC₅₀ avec les teneurs en phénols totaux et des flavonoïdes à fin d'élucider le type de corrélation entre ces paramètres et pour les deux fractions.

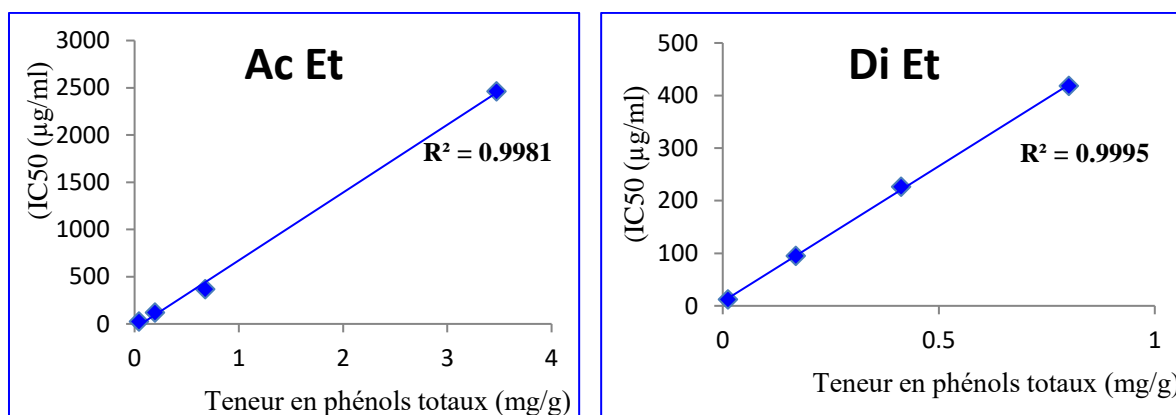


Figure 18 : Variation des valeurs d'IC₅₀ en fonction des teneurs en phénols totaux

D'après les tracés précédents, nous avons remarqué une corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques et leur activité anti-radicalaire dans les deux fractions. Ces tracés reflètent un seul ensemble des extraits ayant une activité antioxydante varie inversement avec le taux en phénols totaux avec un coefficient de corrélation R² égale 0.99 pour les deux fractions (acétate d'éthyle et di-éthyle éther).

Ces résultats suggèrent que le pouvoir de balayage des radicaux libres est corrélé avec la présence des composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes (puisque la corrélation entre la teneur en phénols totaux et en flavonoïde est dépassée 81%). Alors, il est clair que les extraits qui renferment des teneurs phénoliques et notamment flavonoïdiques élevées présentent des pouvoirs antioxydants les plus faibles. Cela, implique qu'il n'y a pas une influence de la concentration sur l'activité antioxydante, mais c'est le type des molécules qui agit sur les radicaux libres.

En outre, l'évaluation de pouvoir antioxydant de nos extraits par un seul test de balayer les radicaux de DPPH' qui dépend à la capacité des extraits phénoliques à donner un électron / hydrogène pour appairer l'électron célibataire de DPPH' n'est pas suffisante et ne permet pas à aperçu tout les modes d'actions des composés de notre matière végétale étudiée; puisque chaque molécule a un mécanisme d'action spécifique selon sa conformation structural.

En raison de la complexité des matériaux anti-oxydants et leur mécanisme d'action, il est évident qu'aucune méthode de test unique n'est capable de fournir une image complète du profil d'un échantillon antioxydant étudié ainsi une combinaison de différentes méthodes est nécessaire. Malgré ces limites, le test DPPH' est une méthode qui peut être utile pour le dépistage primaire de nouveaux antioxydants pour d'éventuelles études approfondies.

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. La position de la double liaison dans le cycle C ainsi que le nombre et/ou la position des groupements hydroxyles (OH) sont les éléments les plus importants pour expliquer l'augmentation ou la diminution de l'activité anti-radicalaire de nos extraits phénoliques. L'effet scavenger des flavonoïdes est fait par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle, cette réaction a rendu la molécule radicalaire plus stable (Javanovic et *al.*, 1994 ; Marfak, 2003).

*Conclusion
Générale*

Ces dernières années ont connu une exploitation appréciable des palmiers, les fruits notamment. Divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en: sucres, protéines, lipides, fibres, vitamines et minéraux. Toutefois, les études sur ses composants phénoliques restent peu nombreuses et ne concernent que quelques variétés étrangères dans leur majorité.

L'objet de notre travail a porté sur l'étude de la propriété antioxydante des extraits phénoliques de différents constituants de palmier dattier (la datte, le périlanthe, le pédicelle et la palme), variété Ghars.

En premier lieu, différentes étapes d'extraction et de fractionnement impliquant divers procédés et solvants ont été réalisées. Après extraction, nous avons essayé de quantifier la matière en phénols totaux, en flavonoïdes existant dans nos extraits. Les résultats montrent que notre échantillons sont relativement pauvre en ces composés; avec des teneurs qui varient de 0.01203 à 3.4733 mg en GAE/ gramme de la matière sèche, de 0.0026 à 0.9789 mg en RE / gramme de la matière sèche pour les phénols totaux et les flavonoïdes respectivement. Ces résultats dévoilent des pourcentages en flavonoïdes supérieurs à 20% pour la plus part des extraits par rapport à la masse des phénols totaux.

La variation de la teneur en flavonoïdes en fonction la quantité des phénols totaux de l'ensemble des extraits montré une bonne corrélation positive entre les quantités des phénols totaux et le contenu flavonoïdique des différents extraits avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99$ pour la fraction d'acétate d'éthyle et de 0.81 pour la fraction de di-éthyle éther. ce qui peut être traduit par la richesse de nos extraits en flavonoïdes qui constituent une importante proportion du contenu phénoliques et d'une même groupe.

Dans une seconde étape, nous nous somme penché sur l'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits qui a été réalisée par un test chimique *in vitro* comprenant un balayage contre le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, DPPH'. Les résultats de ce test ont montré une activité antioxydante intéressante chez la plus part des extraits testés avec des valeurs d'IC₅₀ comprise entre 0.019 et 2.460 mg/ml. Cette activité reste significativement inférieure à celle du control positif Trolox qui présente une valeur d'IC₅₀ égale 0,0027 ± 0,01 mg/ml.

Le graphe de la variation d'IC₅₀ en fonction du contenu en composés phénoliques confirme que ces composés interviennent de plus 90 % dans la réponse inhibitrice du radical (DPPH•), plus particulièrement les flavonoïdes qui sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène.

L'ensemble de ce travail confirme de façon irréfutable l'activité antioxydante intéressante des extraits phénoliques des différents constituants étudiés de palmier dattier en particulier les dattes.

En conclusion, l'ensemble de ces résultats obtenu *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substance de source naturelle biologiquement active capable de balayer les radicaux libres. Des essais complémentaires seront donc nécessaires pour caractériser les molécules responsables à ces activités, afin qu'elles puissent être utilisées pour de diverses études pharmacologiques.

En perspective de ce travail, il serait intéressant d'isoler et de caractériser les composés phénoliques des extraits d'acétate d'éthyle et de di-éthyle éther des différents constituants étudiés de *Phoenix Dactylifera* L. et avec autres variétés en appliquant des techniques chromatographiques et spectroscopiques lourdes. Aussi, il serait souhaitable, pour une meilleure compréhension du mode d'action des molécules phénoliques isolées, d'évaluer *in vitro* et *in vivo* l'activité antioxydante de chacun de ces composés pris séparément. Ce qui permettrait alors de mettre en évidence le principe actif des extraits et/ou une éventuelle synergie entre les différents composés phénoliques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- ✓ Absi, R. (2013).Analyse de la diversité variétale du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera* L.): Cas des Ziban (Région de Sidi Okba).Mémoire de Magister en sciences agronomiques, Université Mohamed Khider Biskra-Alger.
- ✓ Adaïka, M et Ramdani, B. (2015) Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par ultrasondes feuilles de *Phoenix dactylifera* L .Mémoire de master. Université EchahidHamma Lakhdar El Oued-Algérie
- ✓ Akunna GG., Saalu C.L. , Ogunmodede O.S., Ogunlade B., BELLO A.J., 2012. Aqueous Extract of Date Fruit (*Phoenix Dactylifera*) Protects Testis against Atrazine-induced Toxicity in Rat. World J Life Sci. and Medical Research, volume 2(2):100.
- ✓ Ali Haimoud, S. (2017). Etude phytochimique et rôles biologiques des variétés de *Phoenix dactylifera* (datte) de l'Algérie, thèse diplôme de Doctorat, Université HassibaBenbouali de Chlef-Alger.
- ✓ Amedjoudj N. E. H., Bounab, R.et Menzer, M. (2017). Les polyphénols de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale de la famille des Rosacées: Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine, Mémoire de Master Spécialité : Toxicologie, Université des Frères Mentouri Constantine-Alger.
- ✓ Amiot M - J., Fleuriet A., et Macheix J - J., 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volume 34 (5), p 823-826.
- ✓ Badereddine, M. et Moussaoui, H. (2014). Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de *Phoenix dactylifera* L obtenue par différents méthodes, Mémoire de Master Génie Chimique, Université d'El-Oued-Alger.
- ✓ Bahorun T., 1997. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, p 83-94.
- ✓ Balasundram N., Sundram K. et Samman S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, p 191–203.

- ✓ Baskin S.I and Salem H., 1994. Oxidant, Antioxidant and Free Radicals. Academic press Inc, volume 363, p 25-62.
- ✓ Bayala, B. (2014). Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, thèse de doctorat, Université Blaise Pascal- France.
- ✓ BehijaSaafi E., Louedi M., Elfeki A., Zakhama A., Fadhel Najjar M., Hammamia M., Achour L., 2011. Protective effect of date palm fruit extract (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Experimental and Toxicologic Pathology*, volume 63, p 433–441.
- ✓ Belguidoum, M. (2012). Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*, Mémoire Master Académique, Université KasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ Belkheiri, N. (2010). Dérives phénoliques à activités antiathérogènes, Thèse; Université Toulouse III - Paul Sabatier, 244 pp.
- ✓ Ben Abbes, F. (2011). Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques d'extraits de dattes « *Phoenix dactylifera* L. ». mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Sétif- Algérie.
- ✓ Benarous, K. (2009). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: α -amylase, trypsine et lipase, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique, université Amar Telidji Laghouat-Alger.
- ✓ Bendjelloul, N. et Berraghda, A. (2014). Caractérisations biochimiques des trois variétés de dattes (Ghares, Déglet-Nour et Dégla-Beida) mémoire de licence Université KasdiMerbah, Ouargla-Alger
- ✓ Benseguni A., 2007. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase, Thèse ; Univ de Mentouri Constantine, 91 pp.
- ✓ Benzid, A et Litim, N. (2016) Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. Mémoire de Master. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie.
- ✓ Berger M.M., 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, volume 20, p 48–53.

- ✓ Bettayeb H et Mefissel F.(2015).*Etude Phytochimique Des Extraits Bruts Des Dattes (Ghars, Deglet-Nour, Degla-Beida)* Mémoire de Master Academique, Université KasdiMerbah Ouargla-Alger.
- ✓ Bhooshan Pandey K. and Ibrahim Rizvi S., 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, p 270-278.
- ✓ Boizot N. et Charpentier J – P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA – Amélioration génétique et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses biochimiques, le cahier des technique de l'INRA, p 79, 80.
- ✓ Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. (1997). Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method, *Lebensm.-Wiss. Technol*, 609–615 pp. DPPH
- ✓ Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques, Thèse présentée en vue de l'obtention Du diplôme de Doctorat en sciences Spécialité Chimie, Université Mohamed Khider – Biskra-alger.
- ✓ Boudrar, C. Bouzid, L. et Nait larbi, H. (1997). Etude des fractions minérale et glucidique de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Mémoire d'Ingénieur, INA. El -Harrach. Alger 60 p.
- ✓ Bougandoura, N. et Bendimerad N (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq." *Nature et Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques* 9: 14 -19.
- ✓ Bouguedoura, N. (1991). Connaissance de la morphogenèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse. Doct. USTHB. Alger, p. 201.
- ✓ Bounaga, N. (1991). Groupe palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) rappels biologiques et problèmes physiologiques. *In* physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides de Riedacker A., Dreyer E., Pafadnam C., Joly H. et Bory G. Edition John Libbey, Eurotext, p. 476.
- ✓ Boussoussa H., 2010. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhanterium adpressum*. Thèse de Magister, Université Amar Telidji, p 40.

- ✓ Brand Williams W., Cuvelier M. E. and Berset C., 1994. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-wiss-techno*, p 25-30.
- ✓ Brouillard R. and Délaporte B., 1997. *J. Am. Chem. Soc.* p 8461-8468.
- ✓ Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} Edition Lavoisier. Paris. 1234p
- ✓ Buer C. S., Imin N. and Djordjevic M.A., 2010. Flavonoids: New Roles for Old Molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*, p 98-111.
- ✓ Burits, M. et Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapeutic Research*, 14; 323-328.
- ✓ Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M. B. (1998). An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis* 9, 196-202
- ✓ Chen, I., Chang, H., Yang, H. and Chen, G. (2004). Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs : a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33 pp
- ✓ Clarkson P.M et Thompson H.S., 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal Clinical Nutrition*, volume 72, p 637-646.
- ✓ Contini M., Baccelloni S., Massantini R. et Anelli G., 2008. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Journal Food Chemistry*, volume 110, p 659-669.
- ✓ Croft K. D., 1999. Antioxidant effects of plant phenolic compounds. *antioxidant in human health*, p 109-121.
- ✓ Delbart C., 2000. *Les mitochondries « biologie et incidence physiopathologique »*, Ed ; Tec et Doc, 169 pp.
- ✓ Djerbi M., 1994. *Précis de phéniculture*, F.A.O, Rome. p 191 .
- ✓ Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards JF. and Stocker P., 2007. Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, p 801-809.
- ✓ Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J.M. et Stocker, P. (2010). Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology*, 48; 2599-2606.

- ✓ Djoudi, I. (2013). Contribution à l'identification et à la caractérisation de quelques accessions du palmier dattier (*Phoenix Dactylifera.l*) dans la région de Biskra, Mémoire de Magister En Sciences Agronomiques, Université Mohamed Kheider Biskra-Alger.
- ✓ Dutta Gupta S., 2011. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants, CRC press, 362 pp.
- ✓ Edeas M., 2009. Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants, Journal de la société de biologie, 271-280 pp.
- ✓ Falah H., Ksouri R. et Abdelly C., 2006. Activité antioxydante et contenu en polyphénols dans les différents organes de l'artichaut sauvage, *Cynara cardunculus*. revue des region arides - numero spécial – actes du séminaire international « les plantes à parfum, aromatiques et médicinales ».
- ✓ Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. et Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372 -379.
- ✓ FAO, 2007. Date palm production. www.fao.org/docrep/t0681E/t0681E00.htm.
- ✓ Ferguson L.R., 2001. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, volume 475, p 89 - 111.
- ✓ Genestra M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, volume 19 (9), p1807-1819.
- ✓ Ghedira K., 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, Numéro 4, p 162-169.
- ✓ Gonçalves R., Mateus N., Freitas V. d., 2011. Inhibition of a-amylase activity by condensed tannins. *Food Chemistry*, volume 125, p 665–672.
- ✓ González M. E., Chandra S., Ramírez-Mares M. V. and Wang W., 2006. Catalytic inhibition of human DNA topoisomerase by phenolic compounds in *Ardisia compressa* extracts and their effect on human colon cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. Volume 44 (8), 1191-1203.
- ✓ Goudable, J. et Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, volume 11, p 115-20.
- ✓ Gourchala, F. (2015). Caractérisation physicochimique, phytochimique et biochimique de cinq variétés de dattes d'Algérie, *Phoenix dactylifera L.* (*Deglet noor*, *Ghares*,

H'mira, Tamesrit et Tinissine), effets de leur ingestion sur certains paramètres biologiques (*Glycémie, profil lipidique, index glycémique et pression artérielle*).
Thèse doctorat université Badji Mokhtar – Annaba-Algérie

- ✓ Grandjean, D. (2005). Prévention nutritionnelle du stress oxydatif cellulaire. Antioxydants: mode ou réalité biologique, Article de Le nouveau praticien vétérinaire. pp61-65 ; p145
- ✓ Gross, J., Habero, O. et Ikan, R. (1983). The carotenoid pigments of the date. *Scientia Horticulturae*. 20(3) :251-257.
- ✓ Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. et Bernigault R., 2005. Mesure de la résistance aux radicaux libres : une nouvelle voie pour la production et la sélection avicole ?. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, volume 554, p 30 – 31.
- ✓ Halliwell B., 2009. The wanderings of a free radical. *Free radical biology & Medicine*, volume 46, p 531-542.
- ✓ Huang, D., Ou B., Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 53:1841-1856
- ✓ Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E. et Vivanco J.M., 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Journal of Food Chemistry*, volume 83, p 547–550.
- ✓ Jiri, S., Marketa, R., Olga, K., Petr, S., Jaromir, H., Vojtech A., Libuse, T., Ladislav, H., Miroslava, B., Josef, Z., Ivo, P. and Rene Kize, k. (2010). Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages, *Article, Molecules* 2010, 15, 8618-8640
- ✓ Kaanin, G. et Harfi, L. (2012). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile du noyau de datte : essai d'incorporation dans une margarine de table, Mémoire d'ingénieur d'état, Université Abderrahmane MIRA de Béjaia-Alger.
- ✓ Kanatt, S., Arjun, K. et Arun, S. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of legume hulls. *Food Research International* 44: 3182–3187.
- ✓ Khenfer, S. et Medjouel, M. (2016). Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Diplôme Master Académique. Université Kasdi Merbah Ouargla-Alger.

- ✓ Khima, S. et Merabti, C. (2015) Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Calamintha officinalis* et *Abies numidica*, mémoire de master Université A. MIRA – Bejaia- Algérie
- ✓ Koç E., Dslek C., et Ustun A. S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties. *Journal of Science*, volume 23(1), p 1-6.
- ✓ Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, oran other way for nutrition in respiratory diseases, *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.
- ✓ Kone D., 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales Maliennes « extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de poly phénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat, Univ Bamako, 188 pp.
- ✓ Krishnaiah, D., Sarbatly, R. and Nithyanandam, R. (2010). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, article in press
- ✓ Kroyer, G. (2004). Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5: 101–105.
- ✓ Ksouri R., Falah H. et Abdelly C., 2006. Contenu en polyphénols et activité antioxydante d'une halophyte, *Tamarix gallica* L. *Revue des régions arides - numero spécial – actes du séminaire international < les plantes à parfum, aromatiques et médicinales >*.
- ✓ Kühnau, J. (1976). The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition, *World Rev. Nutr. Diet.* 24 : 117-191
- ✓ Kwon Y. I., Vattem, D. A., and Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific J Clin Nutr*, volume 15 (1):107-118.
- ✓ Laouini, S. E. (2014) Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de *Phoenix dactylifera* L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse Doctorat Université Mohamed Khider Biskra- Algérie
- ✓ Lecheheb, F. (2010). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d'incorporation dans une crème cosmétique de soin. mémoire de magister. Université de M'hamed Bougra Boumerdes-algerie.

- ✓ Lhuillier A., 2007. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia*, Hook.F ex oliver, *Agauria polyphylla* baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* baker (Myrsinaceae). Thèse doctorat.
- ✓ Li, H., Cheng, K.W., Wong C., Fan K.W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102 ; 771-776.
- ✓ Liang-Liang, Z ; Yi- Ming, L ; Hai-Chao ; Zhou ; Shu-Dong ; Wei and Jia-Hong C (2010). Condensed tannins from Mangrove Species *Kandeliacandel* and *Rhizophora mangle* and Their antioxidant activity. *Journal of Molecules*, volume 15, p 420-431.
- ✓ Louis Léger C., 2006. Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action anti-oxydante, interactions. *OCL*, p 59-69.
- ✓ Machiex J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005. Composés phénoliques des végétaux. Presses polytechniques et universitaires Romandes.
- ✓ Mansouri, A., Guendez, E., Eugene, K et Panagiotis, K. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89: 411–420
- ✓ Mantas A., Deretey E., Ferretti F.H., Estrada M.R. et Csizmadia I.G., 2000. Structural analysis of flavonoids with anti-HIV activity. *Journal of Molecular Structure: Theochem*, volume 504 (1-3), p 171-179.
- ✓ Marais J. P.J., Deavours B., Dixon R. A. and Ferreira D., 2006. The Science of Flavonoids. *Library of Congress*, p 273.
- ✓ Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritsch P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments.
- ✓ Marfak, A. (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. 187 p
- ✓ Markowicz-Bastos, D. H., Saldanha, L., Catharino, R., Sawaya, A C H F; Cunha, I., Carvalho, P. and Eberlin, M. (2007). Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Cameliasinensis*) Extracts. *Molecules*. 12: 423-432

- ✓ Martin S. and Andriantsitohaina R., 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, volume 51, p 304–315.
- ✓ Medjoujda, O. (2012). Méthodes d'études d'activité des antioxydants des plantes médicinales, mémoire de licence Université d'Agadir –Maroc.
- ✓ Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère.
- ✓ Moulay Hassan S., 1973. Le Palmier Dattier base de la mise en valeur des oasis au Maroc Techniques phoénicoles et Création d'oasis. INRA-Editions, ISBN : 9981-1994-3-5.
- ✓ Moure A., Cruz J.M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Dominguez H., Nuriez M. J., Parajo J.C., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, volume 72, p 145±171.
- ✓ Munier, P., Vilardebo, A., Laville, E., Navilie, R. et Trocellier, E. (1973). Le palmier Dattier, Maisonneuve & Larose 11, rue Victor-Cousin, 11 PARIS (V^e) p 19-211
- ✓ Nezam, A. et Ali, L. (1982). Study on the pigment contents of some varieties of date. *J. Res. for Agric. Water Res. (Iraq)*, 2: 1.
- ✓ Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M. and Topcu, G. (2007) Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food Chem.* 103: 623 -630
- ✓ Petti S. and Scully C., 2009. Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*, volume 37, p 413 – 423.
- ✓ Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K. et Defraigne, J.O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16, 233–239.
- ✓ Prouillac, C. (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro, Thèse ; Univ Paul Sabatier de TOULOUSE III, 291 pp.
- ✓ Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouysegu, L. (2011). Plant polyphenols : Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*. 50(3) : 586-621
- ✓ Rees S. et Harbone G., 1985. The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochimie*. Volume 24, p 2225-2231.

- ✓ Reynertson K.A., Yang H., Jiang B., Basile M.J. et Kennelly E.J., 2008. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, volume 109, p 883–890.
- ✓ Riedacker A., 1990. *Physiologie des arbres et arbustes en zone aride*. Ed .J. Libbey, Paris p 323-327.
- ✓ Rolland Y., 2004. *Antioxydants naturels végétaux*. OCL, p 419- 425.
- ✓ Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A and Saura-Calixto F., 1998. A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J Sci food Agric*, p 270-276.
- ✓ Shahin Sharif, A., Naresh, K., Abhinav, L., Angad, S., Hallihosur, S., Abhishek, S., Utpal, B. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Journal of Food Research International*, volume 41, 1–15.
- ✓ Siddhuraju P. and Manian S., 2007. The antioxidant activity and free radical scavenging capacity of dietary phenolic extracts from horse gram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) seeds. *Food Chemistry*; p 950–958.
- ✓ Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C., 2002. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free radical biology and medicine*, volume 33, p 575-586.
- ✓ Sokol-Letowska, A., Oszmiansk, J. andwojdylo, A. (2007).Antioxydant activity of the phenolic compounds of Hawthorn, pine and skullcap. *Food chemistry*, 103:853-859.
- ✓ Sorg O., 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, volume 327, p 649-662.
- ✓ Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.
- ✓ Terichin, H. S. (2010). *Etudes ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelque cultivars de palmier dattier *Phoenix dactylifera L* du Sud-est algérien. mémoire de Magister. Université d’Oron-Algérie.*
- ✓ Tiffany, T. (2012) *Le potentiel antioxydant de l’alimentation tel qu’estimé par le score ORAC : une comparaison des apports des personnes âgées avec démence du type Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitifs. Mémoire l’obtention du grade. Université de Montréal-canada*

- ✓ Tlili, M. (2015). Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergulariatomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de Magister. Université KasdiMerbah-Ouargla Algérie
- ✓ Toumi, R. et Cheriet, B. (2017). Évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de trois variétés de *Phoenix dactylifera* L. (Adala, Béntakbala et Tazarzait) Mémoire de Master Université de Ghardaïa-Algérie.
- ✓ Tri Vuong P., 2009. Activités antidiabétiques et neuroprotectrices du jus de bleuet bio-transformé. Thèse ; Univ de Montréal, p 190.
- ✓ Yi Yan, Y., Liang ,YandZeng B. (2008). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of PericarpiumCitriReticulatae of a new Citrus Cultivar and its main flavonoids. LWT, 41: 597-603
- ✓ Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I. (2004). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. Food Chemistry. Pp 199–206.
- ✓ Zhang L-L., Lin Yi-M., Zhou Hai-C., Wei Shu-D. and Chen Jia-H., 2010. Condensed Tannins from Mangrove Species Kandelia candel and Rhizophora mangle and Their Antioxidant Activity. Molecules; p 420-431.