



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de  
la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2021

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**CHALA Sara et CHERGUI Salima**

Le: lundi 28 juin 2021

## **Etude de l'effet antioxydant du pollen de palmier dattier (*phoenix dactylifera L.*) et l'extrait des dattes in vivo et in vitro**

---

**Jury:**

<b>Mme. Imene MERZOUGUI</b>	<b>MCB Biskra</b>	<b>Président</b>
<b>Mme. Asma BOUCIF</b>	<b>MCB Biskra</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Mme. Hanane ACHOUR</b>	<b>MAB Biskra</b>	<b>Examineur</b>

Année universitaire : 2020/2021

# Remercîment

Tous d'abord, mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à ALLAH tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui, et nous avoir donné le courage et la santé pour achevé ce travail.

Ensuite, nos remerciements vont à notre promoteur **Dr. Boucif Asma** qui nous a guidés dans notre travail, merci pour nous avoir accordé son temps, merci d'avoir été très patient avec nous.

Nous tenons à présenter notre remerciement à Les membre de jury **Dr. Achour Hanane** et **Merzougui Imene**, qui ont accepté de juger notre travail.

Nous voulons également exprimer notre gratitude à nos familles dont leur aide et leur encouragement nous ont poussés à terminer notre étude. Nous ne pouvons jamais les remercier assez pour leur grand soutien.

Enfin, nous remercions toutes personnes avec qui nous avons partagé les bons moments.

# *Dédicace*

*Nous dédions cette Mémoire à :*

*A nos très chers parents,*

*Merci à tous ceux qui ont cru, croient et croiront toujours en nous pour Leur soutien indéfectible, leur appui à nos projets nous incitent à continuer et à réaliser tous notre rêves.*

*A toutes nos chères familles,*

*A la famille chala et chergui Nous vous remercions en particulier pour votre soutien et vos encouragements.*

*À tous ceux qui ont participé directement ou indirectement, merci beaucoup.*

## Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction .....	1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre -1-

#### Généralités sur les palmiers dattiers

1-1 Palmier dattier ( <i>phoenix Dactylifera L</i> ).....	3
1-2 Etymologie .....	3
1-3 classification botanique de palmier dattier ( <i>phoenix dactylifera L</i> ).....	3
1-4 l'origine du palmier dattier et répartition géographique .....	3
1-5 -La morphologie.....	4
➤ 1-5-1 Système racinaire .....	4
➤ 1-5-2 Système végétatif aérien .....	4
1-6- Pollen de palmier dattier .....	6
1-6-1 Définition .....	6
1-6-2 Contenu nutritionnel .....	6
1-6-3 Conservations de pollen .....	7
1-7 Les dattes de palmier dattier .....	7

### Chapitre 2

#### Stress oxydatif et les métabolites secondaires

2-1 stress oxydatif.....	9
2-2 Les antioxydants.....	9
2-2-1 Les polyphénols.....	9
2-2-2 Les flavonoïdes.....	10

2-3 les radicaux libres.....	10
2-4hépto-toxicité.....	11
2-5 Relation entre le stress oxydatif et hépto-toxicité .....	11

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre 3**

#### **Matériels et méthodes**

3 -1 Matériels et méthodes .....	12
3-2Matériel végétale.....	12
3-2-1 pollen de palmier dattier ( <i>phœnix dactylifera L.</i> ) .....	12
3-2-2 les dattes de palmier dattier ( <i>phœnix dactylifera L.</i> ).....	12
3-3 plans expérimentaux <i>in vitro</i> .....	12
3-4 Dosage des poly phénols et les flavonoïdes totaux.....	14
3-4-1 Analyse HPLC.....	14
3-4-2- Détermination du contenu phénolique total (TPC).....	14
3-4-3 -Teneur totale en flavonoïdes (TFC).....	15
3-5 Activité antioxydant .....	15
3-5-1 Activité antioxydants (voltammétrie cyclique) .....	15
3-5-2 Activité de piégeage des radicaux DPPH (1,1-diphényl- 2-picryl-hydrazyl).....	16
3-6 Plan expérimentale <i>in vivo</i> .....	16
3-6-1 Méthode .....	16
3-6-2-1 Voie d'administration des extraits étudiés .....	17
3-7 Agents indicateur de hépatotoxicité .....	19
3-8 Analyses des paramètres hépatiques .....	21
3-8-1 Méthode de dosage d'ALT, AST, ALP .....	21
3-8-2 Méthode de dosage de bilirubine.....	21

## Chapitre 4

### Résultats et discussion

4-1 dosages de polyphénols et flavonoïdes .....	22
4-2 Teneurs totales de polyphénols et flavonoïdes dans pollen palmier dattier.....	22
4-2-1 Identification des composés phénoliques (analyse HPLC) .....	23
4-3 Teneurs totales de polyphénols et flavonoïdes dans extraits des dattes.....	24
4-4 Evaluation de l'activité antioxydants .....	27
4-4-1 Activité antioxydants de pollen ( <i>phœnixdactylifera</i> L) .....	27
4-4-2 Activité antioxydant les extraits des dattes de palmier dattier.....	28
4-5 Evaluation de l'activité antioxydant de grain de pollen et d'extrait des dattes <i>in vivo</i> .....	30
4-5-1 Evaluation de l'activité antioxydant de pollen palmier dattier contre l'hépatotoxicité.....	30
4-5-2 Evaluation de l'activité antioxydant d'extrait des dattes du palmier dattier contre l'hépatotoxicité .....	33
4-6 Comparaison entre l'effet hépatoprotectrice de l'extrait des dattes et du grain de pollen ...	38
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>42</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01:</b> la dose et voie d'administration des agents toxiques.....	17
<b>Tableau 02:</b> la dose et voie d'administration de pollen. ....	18
<b>Tableau 03:</b> la dose et voie d'administration des agents toxiques.....	18
<b>Tableau 04:</b> la dose et voie d'administration extrait des dattes. ....	19
<b>Tableau 05:</b> contenu totale de polyphénols et flavonoïdes par divers extraits et région dans 100g de pollen. ....	22
<b>Tableau 06:</b> contenu totale de polyphénols et flavonoïdes dans différents types des dattes et des extraits.....	25
<b>Tableau 07:</b> la capacité antioxydant de test DPPH dans les extraits des dattes.....	28
<b>Tableau 08 :</b> effet grain de pollen sur l'ALT et AST des rats et des lapins après intoxication par paracétamol et CCL4.....	31
<b>Tableau 09:</b> effet de grain de pollen sur l'ALP et bilirubine des et des lapins après intoxication par paracétamol et CCL4.....	32
<b>Tableau 10</b> effet de <i>phoenix dactylifera</i> sur L'AST et ALT chez les rats l'intoxication .....	34
<b>Tableau 11:</b> effet de <i>phoenix dactylifera</i> sur L'ALP et bilirubine chez les rats après intoxication	35

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> la distribution de <i>P. dactylifera</i> .....	4
<b>Figure 02:</b> schéma du palmier dattier.....	5
<b>Figure 03:</b> pollen de palmier dattier <i>phoenix dactylifera L</i> .....	6
<b>Figure 4</b> fruit du dattier .....	8
<b>Figure 05:</b> teneurs composé phénolique de variété dattes deglet-nour .....	27
<b>Figure 06:</b> activité antioxydant exprimée en pourcentage d'inhibition en présence des différents extraits.....	29
<b>Figure 7:</b> effet de DPP sur le taux d'ALT et AST.....	32
<b>Figure 8:</b> effet d'extrait des dattes sur l'ALT, AST, ALP et bilirubine des rats intoxiqué au paracétamol .....	33
<b>Figure 9:</b> Effet de Phoenix dactylifera sur l'activité ALP, ALT et ALP Chez les ratsIntoxiqués au mercure .....	34
<b>Figure 10:</b> effet de extrait de Deglet-Nour sur le taux ALT, AST, ALP et bilirubine .....	35



## Liste des abréviations

- **PPD** : pollen de palmier dattier.
- **ALT** : Alanine aminotransferase
- **AST** : Serum aspartate aminotransferase
- **ALP** : Alkaline Phosphatase
- **LPO** : peroxydationlipidique
- **FRAP** : potential antioxydant ferrique réducteur
- **CCL4** : Tétrachlorure de carbone
- **DEP** : Phtalate de diethyl
- **MC** : Mercure
- **TAA** : Thioacétamide
- **D** : dimethoate
- **OPI** : Organophosphorus insecticides
- **HPLC** : high-performance liquidechromatographie
- **DPPH** : 1,1-diphényl- 2-picryl-hydrazyl
- **TPC** : contenu phénolique totale
- **TFC** : contenu flavonoïdes totale
- **TEAC** : Trolox equivalent antioxydant capacity
- **ROS** : reactive oxygen species
- **P** : phoenix dactylifera L
- **BHA** :L'hydroxyanisole butylé
- **BHT** :L'hydroxytoluène butylé
- **FCR** : réactif de Folin-Ciocalteu

# **Introduction**

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme s'est servie des plantes qui il avait à sa disposition pour se nourrir et se soigner. La plupart de ces plantes renferment des substances naturelles connues pour leurs propriétés nutritives et leurs vertus thérapeutiques, leurs différents usages sont liés à la présence de biomolécule d'origine primaire et/ou secondaire qui possède un large éventail d'activité biologique attribuées à leurs grande diversité chimique (Najla, 2017).

La phytochimie ou chimie de la plante est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Malgré les multiples progrès de la médecine moderne. Il ya un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Aujourd'hui, les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produit pharmaceutique et cosmétique (Najla, 2017).

Parmi ces plantes, nous avons choisi Le palmier dattier (*phoenix dactylifera L*) est un arbre rustique s'adaptant aux régions les plus arides du monde. C'est un monocotylédone arborescente, de la famille des palmacées ou phoenicacées sous famille des coryphinées, du genre phoenix et de l'espèce phoenix dactylifera L. Il constitue la principale source de vie de la population saharienne. (Longo, 2001). Les différentes parties de cet arbre, notamment les tiges, les feuilles, les fruits et le pollen, ont été consommées et utilisées à des fins médicinales depuis les temps anciens jusqu'à aujourd'hui. La présence de divers composés bioactifs dans les différentes parties du palmier est responsable de ses propriétés thérapeutique, notamment des ces effets anticancéreux, anti-inflammatoire, antimutagène, hépato protecteurs, antihypertenseurs, antimicrobiens et immunomodulateurs (Pouresmaeil *et al.*, 2018).

D'autre part. Le stress oxydant est lié à de nombreuses pathologies , C'est pour cela que la recherche sur les antioxydants dans les plantes s'est beaucoup développée ces dernières années, afin de permettre de trouver les meilleurs antioxydants possibles dans l'espoir de protéger notre santé et même guérir ces différentes maladies (Guillouty, 2016).

Dans le cadre de notre recherche nous avons basé sur l'activité antioxydant trouvé dans le pollen et extrait des dattes de palmier (*phoenix dactylifera* L) in vitro telle dosage de polyphénols et flavonoïdes par la méthode piégeage du radical libre DPPH, aussi utilisé autre méthode comme voltammétrie cyclique, et l'étude des effets thérapeutiques de deux produits de palmier dattier(*phoenix dactylifera* L) « pollen et extrait des dattes » sur hépato-toxicité. Ces dernier traités ou à prévenir certaines des produits toxiques telle que paracétamol, CCL4, thioacétamide, phtalate de diéthyle et diméthoate qui fait lésion hépatique.

Nous avons mis dans notre manuscrit quatre chapitres

- **Le Première chapitre :** qui parle sur généralité de palmier dattier et leurs principaux produits de pollen et des dattes.
- **Le deuxième chapitre :** concerne le stress oxydatif et les métabolites secondaires poly phénols et flavonoïdes qui sont trouvé dans pollen et extrait des dattes du palmier dattier *phoenix dactylifera* L. Elle contient aussi une petite définition de radicaux libre et hépato-toxicité.
- **Le troisième chapitre :** étude expérimentale in vivo et in vitro.
- **Le quatrième chapitre :** Il représente les résultats obtenus après dosages des poly phénols et flavonoïdes dans le grain pollen et extrait des dattes de palmier dattier (*phoenix dactylifera*). Aussi détermination des paramètres biochimique telle les transaminases (ALAT, ASAT, ALP) et bilirubine, pour évalué l'activité antioxydants trouvé dans pollen et extrait de palmier dattier sur hépato toxicité.

# **Synthèse bibliographie**

**Chapitre -1-**  
**Généralités sur les**  
**palmiers dattiers**

### 1-1 Palmier dattier (*phoenix Dactylifera L*)

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) appartient au genre Phoenix, qui compte 14 espèces de palmiers pour la plupart ornementales ou sauvages, seul Phoenix dactylifera étant cultivé pour ses fruits (Ricardo Salomón-Torres *et al.*, 2021).

C'est « l'arbre » emblématique des régions arides et semi-arides de l'Ancien Monde. Espèce à usages multiples, elle fournit les dattes, très nutritives, consommées fraîches, sèches ou sous forme de produits dérivés (sirop, pâte, farine...). Toutes les autres parties de la plante sont également utilisées : le « tronc » ou stipe comme matériau de construction, les feuilles pour couvrir les toits ou fabriquer des clôtures ainsi que pour la vannerie (Muriel Gros-Balthazard *et al.*, 2013).

### 1-2 Etymologie

Le palmier dattier est une monocotylédone nommée *phoenix dactylifera* par Carl von Linné en 1753. De la famille des Arécacées, l'espèce est dioïque (Haifa Sebi *et al.*, 2016). Phoenix dérive de phoinix, un mot grec pour désigner le dattier. Dactylifera dérive du grec *dactulos* qui signifie doigt, en relation avec la forme du fruit (BENGAG, 2009).

### 1-3 classification botanique de palmier dattier (*phoenix dactylifera L*)

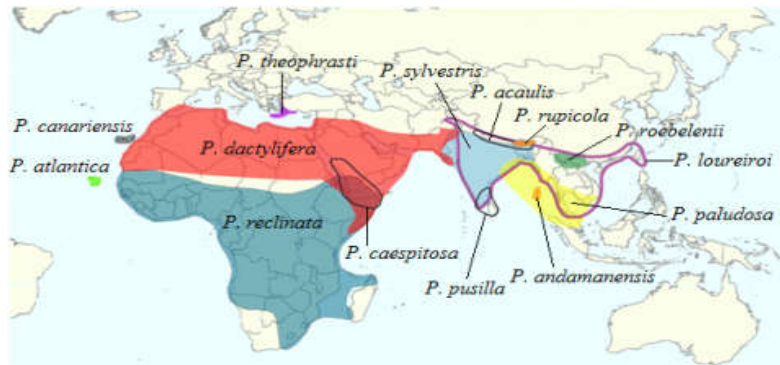
Selon (Aziz E. H., 2002), basée sur des données récentes de l'International Code of Botanical Nomenclature.

- *Embranchement* : Angiospermes
- *Classe*: Monocotylédones
- *Ordre*: Principes
- *Famille*: Arécacées
- *Sous-famille*: Coryphoidées.
- *Tribu*: Phoenicées
- *Genre*: Phoenix
- *Espèce*: *Phoenix dactylifera L*

### 1-4—l'origine du palmier dattier et répartition géographique

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) constitue une des plantes les plus anciennement cultivées. Comme le précise son nom, appartient à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes. Le palmier dattier est aussi "date palm" en Anglais, "nakhil" ou "tamr" en

Arabe, mais dans tout les pays, il porte le même nom latin, «*Phoenix dactylifera*». (Guettouchi A. , 2017).C'est « l'arbre » emblématique des régions arides et semi-arides de l'Ancien Monde (Muriel Gros-Balthazard *et al.*,2013



**Figure 01:** la distribution de *P. dactylifera* (Muriel Gros-Balthazard *et al.*,2013).

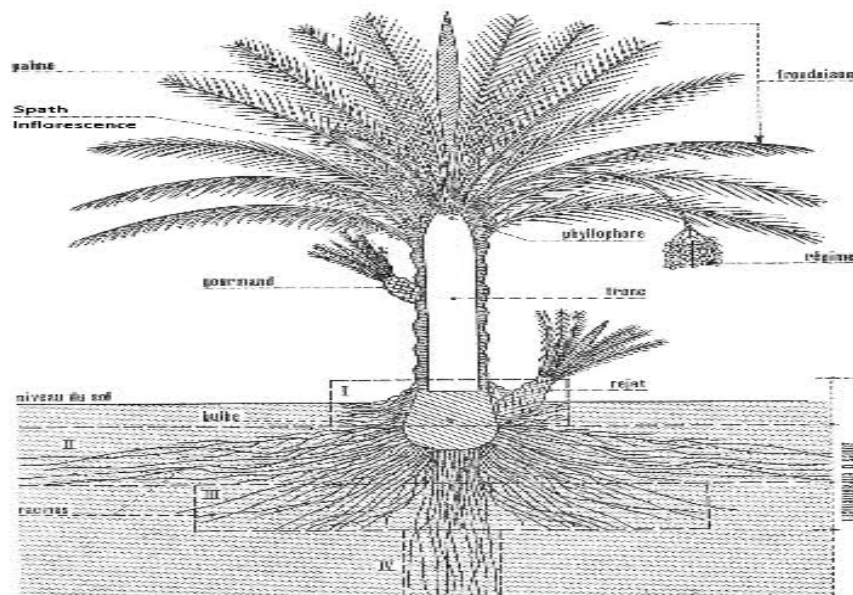
### 1-5 -La morphologie

➤ **1-5-1Système racinaire** : Le système racinaire, très développé, est peu ramifié, il renferme de très nombreuses racines souvent longues surtout lorsque la nappe phréatique est profonde. Ces racines sont de même épaisseur, les plus anciennes se détruisent constamment, elles sont remplacées par de nouvelles, système racinaire présente quatre zones d'enracinement : La zone I (Racines respiratoires) ; La zone II (Racines de nutrition) ; La zone III (Racines d'absorption) ; La zone IV (cette zone peut être très réduite et profonde) (Guettouchi A. , 2017).

➤ **1-5-2 Système végétatif aérien** : Le palmier dattier est une plante arborescente à un tronc cylindrique. Ce tronc élancé marqué par les vestiges des palmes reçoit le nom de stipe. Le stipe ne se ramifie pas, mais le développement des gourmands ou des rejets peut donner naissance à des pseudo-ramifications. Le diamètre du stipe dépend des facteurs écologiques et de la conduite. Il mesure environ 40 à 90 cm. Les palmes sont des feuilles composés, pennées. Les folioles sont régulièrement disposées en position oblique, le long du rachis. Les segments inférieurs sont transformés en épines (Guettouchi A. , 2017).



Le dattier est une espèce dioïque. Chaque individu ne porte que des inflorescences de même, sexe. Les spathes sont de forme allongée. Celles des inflorescences males sont plus courtes et plus renflées. La fleur femelle est globulaire d'un diamètre de 3 à 4 mm, elle comporte un calice court, formé de 3 sépales soudés, une corolle à 3 pétales et ovales et arrondis, de six étamines avortées staminodes, le gynécée comprend 3 carpelles. Chacun d'eux renferme un ovule. La fleur mal est d'une forme légèrement allongée, elle est constituée d'un calice formé de trois sépales soudés, d'une corolle formé de trois pétales légèrement allongés et se terminant en pointe, de six étamines et elle a une odeur caractéristique (Guettouchi A. , 2017).



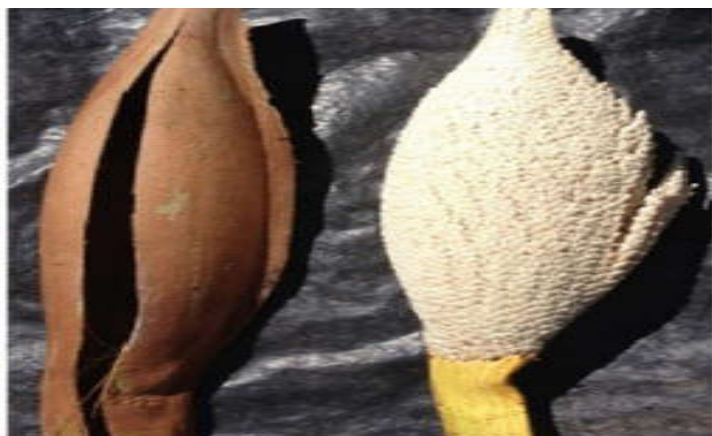
**Figure 02:** schéma du palmier dattier (Guettouchi A. , 2017).

Il ya Plusieurs produits du palmier, tels que les fruits de dattes et le jus de palme, le pollen de palmier ont été traditionnellement utilisés dans la médecine populaire pour le traitement de diverses maladies et troubles de la santé (Najla, 2017).

## 1-6- Pollen de palmier dattier

### 1-6-1 Définition

Le pollen de palmier fait partie des composés actifs naturels des plantes médicinales. Le pollen de palmier est une matière en poudre fine produite par les palmiers dattiers à floraison mâle. Les plantes sont pollinisées par le transfert du pollen de l'étamine d'une fleur austigmate d'une autre (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020). Le pollen est le nom donné aux fins grains de poussière contenus dans les anthères des fleurs, qui sont la source et l'unité de transport des gamètes mâles (Ricardo Salomón-Torres *et al.*, 2021).



**Figure 03:** pollen de palmier dattier *phoenix dactylifera L* (Ricardo Salomón-Torres *et al.*, 2021).

### 1-6-2 Contenu nutritionnel

Le grain de pollen est une source naturelle de protéines, de minéraux, de fibres alimentaires, de vitamines, de sucres, d'acides aminés, de lipides, d'hormones, de glucides, de stérols et d'enzymes, de cofacteurs et d'agents antibactériens et antioxydants. Peu d'études ont quantifié les propriétés phytochimiques de la PPD, cependant, on sait qu'elle est composée d'eau (5-36%) et de solides (64-95%) (Ricardo Salomón-Torres *et al.*, 2021).

Le pollen de palmier dattier est composé de 31,11 % de protéines brutes, 20,74 % de graisses brutes, 1,37 % de fibres brutes, 13,41 % de glucides, 28,80 % d'humidité et 4,57 % de

cendres, ainsi que 57,9 mg d'huile essentielle/g de contenu phénolique total (Mohamed Saleh *et al.*, 2021).

### 1-6-3 Conservations de pollen

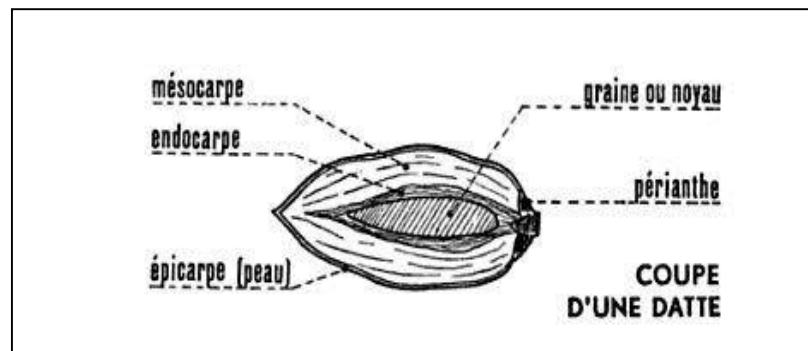
Le pollen frais stocké dans des conditions sèches conserve sa viabilité à température ambiante (24 °C) pendant quatre semaines ou plus, ce qui est suffisant pour la saison de pollinisation actuelle. Cependant, si le pollen est conservé pour des périodes plus longues, il doit être stocké à basse température dans des bouteilles ou des récipients en plastique scellés. Plusieurs études ont analysé différentes méthodes pour sa conservation sur des périodes d'un an ou plus, en utilisant des réfrigérateurs de 4 °C, des congélateurs de 20 et 80 °C, ainsi que la cryoconservation à 196 °C avec de l'azote liquide. D'après les différents tests de viabilité, le PPD subissait une dégradation même lorsqu'elle était conservée. Cependant, il a été conclu que le PPD cryoconservé conserve presque le même pourcentage de germination que le pollen frais. Il a également été constaté que le DPP stocké pendant plus d'un an à une température de 20 °C conserve un meilleur pourcentage de germination que celui stocké à 4 °C. Le pollen stocké pour les pollinisations de la saison suivante doit être conservé dans un récipient hermétique, de préférence avec un dessiccateur, afin de maintenir le pollen dans un état sec (Ricardo Salomón-Torres *et al.*, 2021).

### 1-7 Les dattes de palmier dattier

Les fruits du palmier dattier *Phoenix dactylifera L. (Arecaceae)*, qui sont cultivés dans les régions arides, sont largement consommés dans diverses préparations culinaires dans le monde entier (Abdulrahman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020).

Les dattes ont une riche source de fibres alimentaires, de vitamines et de minéraux. Un certain nombre d'études *in vitro* et *in vivo* ont été réalisées pour confirmer leur utilisation en médecine populaire. Il a été démontré que les extraits des dattes possèdent une myriade de propriétés pharmacologiques telles que des propriétés antioxydants (Abdulrahman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020).

La datte est constituée d'un mésocarpe charnu, protégé par un fin péricarpe, le noyau est entouré d'un endocarpe. La couleur de la datte est variable selon les espèces : jaune plus ou moins clair, jaune ambré translucide, brun plus ou moins prononcé, rouge ou noir. Sa consistance est également variable, elle peut être molle, demi-molle ou dure, les dattes à consistance dure sont dites dattes sèches, leur chair a un aspect farineux (Guettouchi A. , 2017).



**Figure 04:** fruit du dattier (Guettouchi A. , 2017)

# **Chapitre 2**

## **Stress oxydatif et les métabolites secondaires**

## **2-1 stress oxydatif**

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré. Une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose (Guillouty, 2016).

## **2-2 Les antioxydants**

Les antioxydants sont des substances qui inhibent ou ralentissent l'oxydation d'un substrat. Ils sont présents sous de nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires) (Guillouty, 2016).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut. La deuxième partie permet d'appréhender les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation (Guillouty, 2016).

### **2-2-1 Les polyphénols**

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans le règne végétal. Ils sont issus du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate. Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, champignons et les plantes. C'est pourquoi l'alimentation apporte des acides aminés essentiels non synthétisés par le corps humain (Najla, 2017).

Les composés phénolique ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques qui comportent un noyau aromatique contenant un ou plusieurs hydroxyle(s) et incluant différents groupes fonctionnels (dérivés esters, glycosides et autres) (Najla, 2017).

La structure des composés phénoliques varie depuis les molécules simples (phénols simples et acides phénoliques) vers les molécules hautement polymérisée (tanins condensés, lignines). Les composés phénoliques sont classiquement subdivisés en plusieurs classes et cela en fonction de leurs structure chimique et leur voie de biosynthèse. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, les flavonoïdes à des composés hautement polymérisés comme les tanins (Najla, 2017).

Les phénols réagissent rapidement avec les radicaux libres, notamment les peroxydes en donnant un radical phénoxy incapable de propager la réaction radicalaire. De plus, les polyphénols circulants sont majoritairement des formes conjuguées avec des sucres, ce qui laisse supposer que ce sont les métabolites conjugués des polyphénols qui sont biologiquement actifs (Guillouty, 2016).

### **2-2-2 Les flavonoïdes**

Ces composés représentent le groupe le plus vaste et le plus distribué dans le règne végétal. Le nom flavonoïde est issu du latin « Flavus » qui signifie jaune. Ce sont des pigments qui sont responsables de la coloration des fruits et des fleurs. Les différentes couleurs dépendent de la structure mais également du pH du milieu. Ils peuvent avoir comme rôle d'attirer les insectes pollinisateurs (Guillouty, 2016).

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyanes, flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, flavanols (Guillouty, 2016).

### **2-3 les radicaux libres**

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 (Guillouty, 2016).

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire,

de l'ordre de la microseconde, car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rattraper son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable. Il s'agit donc d'un intermédiaire de réaction. Cela va entraîner une réaction en chaîne qui va produire de nouveaux radicaux libres car la molécule agressée par le radical libre devient à son tour radicalaire (Guillouty, 2016) . 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 (Guillouty, 2016).

## **2-4hépato-toxicité**

Le foie joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie du milieu intérieur. Il est reçoit aussi du sang de la circulation systématique et participe à détoxification et à l'élimination de substance ayant pénétré l'organisme par d'autre vois, comme les voies cutanées et respiratoire.les atteintes hépatiques aiguës toxiques sont peu fréquentes mais elles peuvent être graves et conduire à l'insuffisance hépatocellulaire aiguë et au décès. Les toxiques hépatiques sont des toxiques dits « lésionnels » : ils agissent avec retardement et créent une véritable lésion d'organe qui évolue pour son propre compte (v.dnel et p.saviuc, 2005).

L'hépatotoxicité des médicaments est la principale cause de retrait du marché pharmaceutique et de l'interruption du développement des nouvelles molécules. La détection, la caractérisation, l'évaluation pronostique et le diagnostic d'atteinte hépatique reposent en grande partie sur des marqueurs sanguins biochimiques et biologiques (enzymes hépatique, bilirubinémie, facteurs de coagulation, albuminémie) (lucy meunier et domini quelarrey, 2018).

## **2-5 Relation entre le stress oxydatif et hépato-toxicité**

Le stress oxydatif peut être défini comme l'exposition d'une molécule et d'une cellule ou d'un tissu à un niveau excessif d'oxydants, en particulier aux radicaux libres, tels que le radical superoxyde ou hydroxyle, qui font généralement référence aux espèces réactives de l'oxygène (ROS). Le stress oxydatif peut survenir soit en raison de la surproduction de ROS ou de la diminution des niveaux d'antioxydants cellulaires. Le stress oxydatif peut entraîner de graves effets indésirables sur les cellules et les tissus en provoquant une peroxydation des lipides et des dommages à l'ADN (ding et ong, 2003).



# **Partie expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériels et méthodes**

### 3 -1 Matériels et méthodes

La présente étude consiste à l'étude de l'activité antioxydant du pollen du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) et de l'extrait des dattes in vitro et l'étude de l'effet thérapeutique du pollen de palmier dattier et des dattes contre l'hépatotoxicité induite par des produits chimiques toxiques comme « CCL4, paracétamol, Mercure et Thioacétamide » dans 15 des publications.

### 3-2 Matériel végétale

*Phoenix dactylifera L* est une plante médicinale traditionnelle utile appartenant à la famille des Acéracés, tout les produit de *P dactylifera* tel que les fruits , les grains, le pollen , les feuille et le sirops ont des utilisations bénéfique pour les humains et les animaux (Ali H. El-Far *et al.*, 2019). dans notre étude basé sur l'activité antioxydant qui trouvé dans pollen et fruits.

#### 3-2-1 pollen de palmier dattier (*phoenix dactylifera L.*)

- Le pollen de palmier dattier a été collecté. Après la collecte, le pollen a été séché à l'air et réduit en poudre fine à l'aide d'un broyeur. Le matériel en poudre a été stocké à + 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure (Amal Daoud *et al.*, 2015 ; Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

#### 3-2-2 les dattes de palmier dattier (*phoenix dactylifera L.*)

- Les échantillons des dattes ont été sélectionnés au stade de maturation de manière identique en termes de taille, de couleur, de stade de maturation, sans dommage ni calamité, et on tété stockés dans des sacs en papier à 4 °C jusqu'à leur utilisation (Emna Behija Saafi *et al.*, 2011 ; Adel Lekbir *et al.*, 2015).

### 3-3 plans expérimentaux *in vitro*

#### 3-3-1 Méthode d'extraction de matériel végétale

Il ya plusieurs méthodes Différent d'extraction de matériel végétale. Dans ce travaille nous avons choisir certain méthode pour grain de pollen :

- Solen (Amal Daoud *et al.*, 2015) les échantillons de matériel végétal en poudre (200 g) ont été extraits deux fois (800 ml) pendant 24 h à l'aide des solvants suivants, de polarité croissante : hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, acétone, éthanol et eau. Les macérats ont ensuite été filtrés sur papier filtre (Whatman) dans un entonnoir Buchner. La solution filtrée a été évaporée dans un évaporateur rotatif sous vide à 45 °C.
- Solen (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020), ils ont Prend 100g de matériel de pollen de palmier ont été macérés trois fois dans un mélange hydro-alcoolique en renouvelant chaque fois le solvant pendant 24 heures. Après filtration, l'extrait a subi des extractions successives liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole puis l'acétate d'éthyle et enfin le méthanol.

**Pour les dattes de palmier dattier :**

- (Emna Behija SAAFI-BENSALAH *et al.*, 2011), ils ont utilisé 200 mg d'échantillon ont été mélangés pendant 2h avec 2 ml de méthanol 50% à température ambiante, et sous agitation magnétique à une vitesse de 200 rpm. Après centrifugation à 1000g pendant 15min, le surnageant a été récupéré et le culot a subi une deuxième extraction dans les mêmes conditions. Et enfin les deux surnageant sont regroupés.
- Pour (Adel Lekbir *et al.*, 2015) prise Un gramme de fruits dénoyautés et nettoyés a été extrait avec 40 ml de méthanol à température ambiante pendant 24 heures sous agitation continue. Pendant 24 heures avec une agitation continue. Centrifugation et filtration, les extraits ont été concentrés sous pression réduite à 40 °C dans un évaporateur rotatif. Les extraits ont ensuite été redissous dans 10 ml du même solvant. Ces extraits concentrés ont été utilisés pour déterminer la teneur totale en phénoliques, en flavonoïdes et l'activité antioxydant des fruits du palmier dattier.

- (Samir Zeroual *et al.*, 2020) préparés les extraits organiques selon la méthode de Diallo avec de petites modifications. A 300 g de pâte de dattes de la variété Deglet Nour, a été ajouté 1,8 l d'un mélange méthanol-eau dans les proportions (80/20) (v/v). La préparation a été agitée pendant 24 heures et filtrée. Cette étape a été répétée trois fois. Le méthanol et l'eau ont été récupérés à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait hydro-méthanolique obtenu après évaporation a été épuisé successivement par quatre solvants de polarité croissante : hexane (Hex), dichlorométhane (Dcm), acétate d'éthyle (ETAC) et nbutanol (n-BuOH). Après évaporation des solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide maintenu à 45°C, les différents extraits secs ont été pesés et stockés à 4°C.

### **3-4 Dosage des poly phénols et les flavonoïdes totaux**

#### **3-4-1 Analyse HPLC**

Les composés phénoliques ont été séparés et identifiés par un système de chromatographie en phase inverse à haute performance équipé d'un détecteur à réseau de diodes UV (DAD) et d'une colonne chromatographique remplie d'un gel de silice greffé, de type octadécyle RP-HPLC-C18 (25cm x 46 mm). Le détecteur (DAD) a été réglé sur un balayage de 200 à 400 nm, la température de la colonne étant maintenue à 25 °C. Le volume injecté était de 20 µL et la phase mobile utilisée était composée de deux solvants A et B : Solvant A (acétonitrile), Solvant B (acide acétique 0,2%). La méthode de séparation adoptée était l'élution par gradient avec une vitesse fixée à 1 ml/min. L'identification des phénols et dans les mêmes conditions chromatographiques des flavonoïdes a été réalisée en comparant les temps de rétention avec des composés authentiques injectés (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

#### **3-4-2- Détermination du contenu phénolique total (TPC)**

Le contenu phénolique total de chaque extrait a été déterminé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Brièvement, une solution diluée d'acide gallique dans du méthanol (0,3-0,03 mg/mL) a été mélangée avec 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu, suivi de 0,8 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5 %). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 min dans une chambre noire. L'absorbance du mélange obtenu est directement mesurée par spectrophotomètre UV-visible à 765 nm. La concentration en composés phénoliques totaux dans les extraits a été exprimée en mg d'équivalent acide gallique (GAE) par g de poids sec. Le coefficient de corrélation obtenu de la

courbe d'étalonnage était  $R^2 = 0,999$ . Tous les résultats présentés sont des moyennes ( $\pm$ SEM) et ont été analysés dans trois répétitions (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

### 3-4-3 -Teneur totale en flavonoïdes (TFC)

Cette méthode est basée sur l'oxydation des flavonoïdes par des solutions de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ , 5%) et de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10%) conduisant à la formation d'un complexe brunâtre ayant une absorbance maximale de 510 nm. La densité optique (OD) observée (La densité mesure l'intensité perdue, lorsque la lumière passe à travers un composant optique) a été comparée à celle obtenue par une concentration connue de Rutine utilisée comme standard. Dans chacun des tubes à essai, nous ajoutons 500  $\mu\text{L}$  de solutions de Rutine dans du méthanol (entre 0.3-0.03 mg/mL) à différentes concentrations. Ensuite, nous mettons successivement 75  $\mu\text{L}$  d'une solution de  $\text{NaNO}_2$  (5%). Après 5 minutes, nous ajoutons 125  $\mu\text{L}$  d' $\text{AlCl}_3$  (10%) et après 6 minutes, nous ajoutons 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  (1N) et 500  $\mu\text{L}$  d'eau distillée. Le mélange réactionnel est incubé pendant 30 min dans une chambre noire. Une courbe de calibration est préparée à différentes concentrations avec des solutions standards de Rutine. L'absorbance du mélange obtenu est directement mesurée par spectrophotomètre UV-visible à 420 nm et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent rutine /g de matière sèche (ER /g MS). Les données ont été analysées dans trois expériences distinctes. Le coefficient de corrélation obtenu pour la courbe d'étalonnage était  $R^2 = 0,899$ . Les résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne ( $\pm$  SEM). La même technique a été appliquée aux extraits de plantes (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

## 3-5 Activité antioxydant

### 3-5-1 Activité antioxydants (voltampérométrie cyclique)

L'évaluation de la capacité du composé dans les extraits à piéger les radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres. La méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydant dans cet article est la méthode de voltampérométrie cyclique. Les mesures électrochimiques présentent des avantages pour la détermination de l'activité antioxydant, notamment leur utilisation comme preuve rapide de la capacité antioxydant d'un grand nombre de composés organiques. Les potentiels d'oxydation mesurés par voltampérométrie cyclique, ont été utilisés pour comparer le pouvoir

antioxydant de composés tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, etc. La voltampérométrie cyclique a été appliquée avec succès pour analyser les antioxydants présents dans les extraits de plantes et les standards phénoliques (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

### 3-5-2 Activité de piégeage des radicaux DPPH (1,1-diphényl- 2-picryl-hydrazyl)

La capacité d'inhibition des radicaux libres a été évaluée en mesurant leur capacité à piéger les radicaux libres. Tout d'abord, une solution de travail de DPPH (1 mg de DPPH/10 mL d'éthanol), des solutions de nanoparticules (0-600 IM/mL) et une solution de réaction (1 mg de solution de travail de DPPH/1 mg de diverses concentrations de solution de nanoparticules) ont été préparées, puis le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes. L'hydroxyanisole butylé (BHA) a été considéré comme un contrôle positif. Enfin, l'absorption des échantillons a été mesurée à 517 nm par rapport à un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Bio-Rad SmartSpec TM plus). Le blanc a été préparé à partir du mélange réactionnel sans solution de DPPH. Le BHT et la vitamine E ont été utilisés comme témoins positifs. L'expérience a été réalisée en trois exemplaires. La diminution de l'absorption de la solution de DPPH a été calculée de la manière suivante équation : Activité de piégeage des radicaux DPPH (%) =  $[A_0 - A_1] \times 100 / A_0$  où  $A_0$  désigne l'absorbance de la réaction témoin contenant tous les réactifs sauf le composé testé, et  $A_1$  l'absorbance du composé testé. Les résultats ont été exprimés en tant que valeurs IC<sub>50</sub> (µg/ml), se référant à la quantité d'échantillon nécessaire pour diminuer l'absorbance des radicaux DPPH de 50% (Amal Daoud *et al.*, 2015), aussi autre chercheur exprimé leur résultat par pourcentage (%) (Adel Lekbir *et al.*, 2015).

## 3-6 Plan expérimentale *in vivo*

### 3-6-1 Méthode

Dans la cette travaille nous avant 5 critères, pouvant influences sur l'analyse des résultats rapporté sur l'effet de l'activité antioxydants de grain de pollen et extrait des différentes dattes du palmier dattier de (*Phoenix dactylifera L*) sur la protection de foie, ces critère sont la dose , période de traitement ,les agents toxiques et voies d'injection, voie d'administration de grain de pollen ou extrait des dattes , type d'extrait de grain du pollen et des dattes .

L'évaluation de l'effet antioxydant sur hépatotoxicité de différent extrait des dattes et de grain de pollen en évidence reposé sur la mesure du paramètre hépatique, l'analyse des nombreux paramètres hépatiques telles les transaminases (ALT, AST, ALP) ; bilirubine et protéine totale . Cette étude réalisée sur des rats wistar et les lapins, après anesthésiés ou dissection des animaux.

### 3-6-2 Evaluation d'activité antioxydant *in vivo*

#### 3-6-2-1 Voie d'administration des extraits étudiés

Le protocole expérimental appliqué dans la publication analysée est initié par la sélection des groupes : groupe témoin non induit, groupe induit sans traitement (contrôle négative), groupe induit et Co-traité par le pollen et l'extrait des dattes de palmier dattier (contrôle positif) et le groupe qui reçoit oralement les extraits antioxydants de référence uniquement par voie d'administration et leur dose illustré dans le tableau (2) et(4). .

**Tableau 01:**la dose et voie d'administration des agents toxiques.

Agents toxiques	Dose d'agent toxique	Voie d'injection	Référence
APAP	1000 mg/kg	Intra péritoniale	(Abdulrahman Khazim Al-Asmari <i>et al.</i> , 2020)
CCL	500 mg /kg	Intra péritoniale	(Abdulhussein <i>et al.</i> , 2012)
DEP	330 ml /kg	Intra péritoniale	(Y. Bentayeb <i>et al.</i> , 2014)



**Tableau 02:** la dose et voie d'administration de pollen.

Type de DPP	Voied'administra tion	Dose de DPP	Période de traitement	Référence
Forme galénique	orale	50mg /Kg 100mg/kg	14joures	(Abdulrahman Khazim Al-Asmari <i>et al.</i> , 2020)
Suspension	orale	150 mg/kg	2foispar semaine	(Abdulhussein <i>et al.</i> ,2012)
Suspension	orale	240mg /kg/ jour	1fois /jour pendant 30 jours	(Y. Bentayebet <i>al.</i> , 2014)

**Tableau 03:** la dose et voie d'administration des agents toxiques.

Agent toxique	Dose de agent toxique	Voied'injection	Référence
APAP	2g/kg	orale	(Ikponmwosa-Eweka <i>et al.</i> , 2019)
MC	50mg/kg	intrapéritoniale	(Shiva Roshankhah <i>et al.</i> , 2020)
TAA	-	intrapéritoniale	(Mohamed Bastway Ahmed <i>et al.</i> , 2008)
CCL4	1,0 ml/kg	intrapéritoniale	(S. Naskaret <i>al.</i> , 2010)
D	20mg/kg	orale	(Emna Behija Saafi <i>et al.</i> , 2011)

**Tableau 04:** la dose et voie d'administration extrait des dattes.

Type d'extrait	Voie d'administration	Dose d'extrait	Période de traitement	Référence
- ethanolique - aqueuse	orale	400mg/kg	Pendant 7 jours.	(Ikponmwosa-Eweka <i>et al.</i> , 2019)
ethanolique	orale	30,90,270 mg/kg	pendant 5 semaines	(Shiva Roshankhah <i>et al.</i> , 2020)
l'eau froid	orale	4 ml/kg	pendant 30 jours consécutifs	(Mohamed Bastway Ahmed <i>et al.</i> , 2008)
hydrométhanolique	orale	300mg/kg/jour	pendant 8 jours	(S.Naskar <i>et al.</i> , 2010)
aqueuse	orale	4ml/kg	pendant 2 mois.	(Emna Behija Saafi <i>et al.</i> , 2011)

### 3-7 Agents indicateur de hépatotoxicité

Dans l'étude d'évaluation d'effet antioxydant d'extrait et pollen de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) contre hépatotoxicité. Ces chercheurs induit la toxicité de ces agents par même voie d'administration intrapéritoniale qui indiqué dans les (tab01) et (tab03).

#### ➤ Paracétamol

Le paracétamol (acétaminophène) est un analgésique oral efficace, avec peu d'effets indésirables lorsqu'il est utilisé à la dose recommandée, C'est une des principales causes d'insuffisance hépatique aiguë (Robin E Ferner honorary *et al.*, 2011).

#### ➤ Thioacétamide

Le thioacétamide (TAA) est une hépatotoxine expérimentale, un composé contenant du thono-soufre et doté d'une activité cancérigène et endommageant le foie. Peu après son

administration, le TAA subit un métabolisme en acétamide et en thioacétamide-oxyde par le système oxydase à fonction mixte. Les espèces oxygénées provenant du thioacétamide (TAA) induisent une cirrhose du foie chez le rat qui ressemble à la maladie humaine (Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008).

#### ➤ **Tétrachlorure de carbone**

Le tétrachlorure de carbone, également connu sous le nom de tétrachlorométhane, est un liquide incolore, ininflammable, lourd, à l'odeur douce, aromatique et non irritante. Il est utilisé comme fumigant agricole et comme solvant dans la production de semi-conducteurs, dans le traitement des graisses, des huiles et du caoutchouc et dans des applications de laboratoire. L'exposition à de fortes concentrations de tétrachlorure de carbone (y compris les vapeurs) peut affecter le système nerveux central, dégénérer le foie et les reins, L'exposition chronique au tétrachlorure de carbone peut causer des dommages au foie et aux reins et peut entraîner un cancer (Abdulhussein *et al.*, 2012).

#### ➤ **Phtalate de diéthyle**

Les phtalates sont une classe de produits chimiques largement utilisés, et ils ont été considérés comme un groupe de polluants environnementaux qui présentent des dangers pour la santé publique en raison de leur potentiel élevé d'exposition humaine et de leur toxicité démontrée chez les rongeurs. Le phtalate de diéthyle (DEP) a été utilisé comme plastifiant de l'acétate de cellulose et de l'acide méthacrylique, et en particulier comme solvant et fixateur de cosmétiques (Y. Bentayebet *et al.*, 2014).

#### ➤ **Diméthoate**

Le diméthoate (O,O-diméthyl S-méthyl carbamoylphosphoro- dithioate) est l'un des OPI les plus importants utilisés à grande échelle sur un grand nombre de cultures contre plusieurs ravageurs. Le diméthoate induit une hyperglycémie et provoque divers effets toxiques sur le pancréas des rats après une exposition aiguë, subchronique et chronique. Des études antérieures ont montré que l'exposition aiguë et subchronique au diméthoate modifie le statut antioxydant et l'histologie du foie et du cerveau chez le rat. L'implication du stress oxydatif suite à l'exposition au diméthoate et aux OPI en général a été rapportée (Emna Behija Saafi *et al.*, 2011).

### ➤ **Mercure**

Le MC, de couleur jaunâtre, est formé de chlore et de mercure. Outre les applications chimiques du MC dans les laboratoires, il était auparavant utilisé dans certains traitements de maladies comme la syphilis. Mais aujourd'hui, cet agent n'est pas largement utilisé en raison de ses effets toxiques sur les activités et la structure des cellules et sur les macromolécules intracellulaires telles que l'ADN. Et des organites comme la membrane cellulaire (Shiva Roshankhah *et al.*, 2020).

## **3-8 Analyses des paramètres hépatiques**

### **3-8-1 Méthode de dosage d'ALT, AST, ALP**

Des échantillons de sang ont été obtenus par la technique de ponction cardiaque de chaque animal anesthésié à l'aide d'aiguilles de seringue jetables de 3cm. Les échantillons ont été centrifugés à 2500 (rpm) pendant 15 minutes, puis le sérum a été stocké dans un congélateur à -18 C jusqu'à utilisation, pour mesurer les paramètres biochimiques suivants : Activité (UI/L) de la phosphatase alcaline (ALP) sérique par colorimétrie; La méthode colorimétrique a été adaptée pour la détection de l'activité de l'ALT et de l'AST en utilisant le kit ALT et AST dans le sérum (Abdulhusseinet *al.*,2012).

### **3-8-2 Méthode de dosage de bilirubine**

L'albumine sérique et les protéines totales (PT) sériques et tissulaires ont été estimées selon la méthode de Doumas par les kits CS600 et CS610 (Crescent Diagnostics), respectivement.

Le principe est basé sur la formation d'un complexe bleu/violet lorsque les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec les ions Cu (II) en solution alcaline (réaction de biuret). Du tartrate de K Na et des solutions de KI ont été ajoutés comme stabilisateurs. L'absorbance a été mesurée à 546 nm et la protéine a été calculée comme suit : (Absorbance de l'échantillon / Absorbance de l'étalon) × concentration de l'étalon (Abdulrahman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020).

# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussion**

#### 4-1 dosages de polyphénols et flavonoïdes

Dans les 15 publications sélectionnées, Le dosage de polyphénols et du flavonoïdes a été mesurés en utilisant les méthodes colorimétriques de Folin-Ciocalteu. L'évaluation de la teneur totale de polyphénols et flavonoïdes a été mesuré dans différents extraits « aqueux, acétone, méthanol, hexane, ... ».

Les résultats des 15 publications ont été représentés dans le (tableau 05) et (tableau 06).

#### 4-2 Teneurs totales de polyphénols et flavonoïdes dans pollen palmier dattier

Dans l'ensemble, les résultats de tableau (05) indiquent que les extraits du DPP sont riches en composé phénoliques et flavonoïdes. Cette richesse est plus significative lors de l'extraction par l'extrait éthanolique et d'acétone,

**Tableau 05:** contenu totale de polyphénols et flavonoïdes par divers extraits et région dans 100g de pollen.

Région	Extrait	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg GAE/g)	Références
Kerkennah (Tunisie)	Chloroforme	53,53 ± 5.30	3,79 ± 0.26	(Amal Daoud <i>et al.</i> , 2015)
	Acétone	197,62 ± 7.41	30,85 ± 1.98	
	Acétate d'éthyle	31,93 ± 1.62	9,48 ± 1.51	
	Aqueux	180,04 ± 6.72	27,05 ± 1.84	
Tozeur (Tunisie)	Chloroforme	133.14 ± 6.53	7.69 ± 1.13	(Amal Daoud <i>et al.</i> , 2015)
	Acétone	213.36 ± 5.72	75.10 ± 4.37	
	Acétate d'éthyle	100.36 ± 4.69	69.72 ± 3.76	
	Aqueux	237.74 ± 9.58	73.59 ± 5.62	
Hamraya (Algérie)	Méthanol	229.59	46.90	(Nour Eddine TAMMA <i>et al.</i> , 2020)
Oued alanda (Algérie)	méthanol	494.496	33.11	(Nour Eddine TAMMA <i>et al.</i> , 2020)

Dans ces publications on a observé que les polyphénols et les flavonoïdes trouvés dans tous les extraits de PPD à révéler des concentrations différentes d'un extrait à l'autre ; par exemple cela a été constaté dans la recherche de (Amal Daoud *et al.*, 2015) où ils ont utilisé différents extraits « Chloroforme, Acétone, Acétate d'éthyle et aqueux ». Le bon rendement d'extraction du TPC et du TFC obtenus avec l'acétone peuvent être attribués à sa bonne solubilité, sa faible toxicité, sa polarité moyenne et sa capacité d'extraction élevée (Amal Daoud *et al.*, 2015).

Tandis que (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020) ont utilisé l'extrait méthanolique de pollen de palmier dattier cultivée dans l'oued Souf (Algérie). Les résultats obtenus par ces chercheurs ont montré que le rendement du méthanol est l'un des meilleurs solvants pour l'extraction des composés phénoliques par rapport aux autres solvants, il montre un rendement d'extraction. Il y a aussi d'autres facteurs influencent sur le rendement de TPC et TFC comme : les méthodes d'extraction, les facteurs génétiques, aux variations géographiques, aux changements climatiques et qualité du sol d'une région (Amal Daoud *et al.*, 2015 ; Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

#### 4-2-1 Identification des composés phénoliques (analyse HPLC)

L'utilisation de l'analyse HPLC a pour objectif de qualifier et quantifier les constituants phénoliques dans les extraits étudiés. Les résultats obtenus par (Amal Daoud *et al.*, 2015) ont révélé la présence de huit composés phénoliques : l'acide gallique, la catéchine, l'acide caféique, l'épicatéchine, l'acide vanillique, coumarine, quercétine et rutine. Ces composés pouvaient être classés en acides phénoliques et en flavonoïdes. Les acides phénoliques les plus courants étaient les acides cinnamiques (coumarine et acide caféique) et les acides benzoïques (acides gallique et vanillique) et pour les flavonoïdes les plus courants étaient l'épicatéchine, la catéchine, la rutine et la quercétine.

On observe que les teneurs en acides phénoliques du PPD variaient d'un extrait à l'autre. Le composant le plus abondant dans l'extrait aqueux c'est l'acide caféique (84,35 %) alors qu'on a enregistré lors de l'extraction dans l'extrait d'éthanol pour la DPP de région Kerkennah (Tunisie) notamment et l'acide vanillique (56,23 %). Par contre le DPP de région Tozeur, était plus riche

en acides phénoliques, montrant des quantités plus élevées de coumarine dans les extraits d'éthanol (55,76%), d'acétone(42,08%) et d'acétate d'éthyle (30,50%) et des quantités significatives d'acide caféique(41,98%) dans l'extrait d'acétone. Parmi les composés flavonoïdes, l'épicatéchine était la plus abondante dans la PPD Kerkennah de et la PPD de Tozeur, indépendamment du solvant d'extraction utilisé.

En ce qui concerne (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020) on observé une différence dans les compositions phénoliques et flavonoïdes d'un extrait méthanolique de PPD d'une région à l'autre, par exemple dans la région hamrayaon a Acide chlorogénique (0.075 mg/g) , Acide vanillique (1.12 mg/g) , Vanilline (6.92 mg/g), Acide p-coumarique (8.90 mg/g) , Rutine (0.77 mg/g) , Naringénine (0.53 mg/g) et Quercétine (4.51 mg/g) . Mais dans la région d'Oued Alanda en obtenus les composés suivant : Acide gallique (1.80mg/g), Acide chlorogénique (0.932mg/g), Acide vanillique(0.187mg/g).

Suite les résultats obtenus par ces chercheurs (Amal Daoud *et al.*, 2015 ; Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020), montrons que La variabilité des composés phénoliques et flavonoïdes observée pour les cultivars de quatre régions pourrait être attribuée à plusieurs facteurs biologiques, y compris les différences génotypiques et agronomiques , ainsi que d'autres paramètres édaphiques et environnementaux, tels que les stades de maturation, la salinité, la température, le stress hydrique et les conditions d'intensité lumineuse.

Ces résultats peuvent être expliqués aussi au rôle physiologique de chaque composé pendant les différentes étapes de la croissance, l'acide gallique aide à l'adaptation avec les conditions climatiques, l'acide caféique accélère le vieillissement des plantes, la vanilline accélère la maturité des fruits en modifiant le goût et la saveur du fruit ; quant au p-coumarique acide joue un rôle dans la réduction de la croissance (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020).

#### **4-3 Teneurs totales de polyphénols et flavonoïdes dans extraits des dattes**

Tableau (06) représenté différents résultats du contenu phénolique et flavonoïdes de divers cultivars de palmier dattier. (Emna Behija Saafi *et al.*, 2011) Étudié L'analyse de la teneur en



polyphénols de quelques variétés de dattes collectées (Allig, kentichi, Deglet- nour) par extrait méthanol dans Tunisie, la deuxième chercheur(Samir Zeroua *et al.*, 2020)utilisé Deglet- nourde Région tolga dans les extrait (Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle, n-butanol). Mais (Adel Lekbiret *et al.*, 2015) parle sur des extraits méthanolique de six cultivars algérienne (Abdelazaz, Degla-Beida, Haloua, Deglet-Nour, Hamraya, Tinicine) dans la région Touggourt.

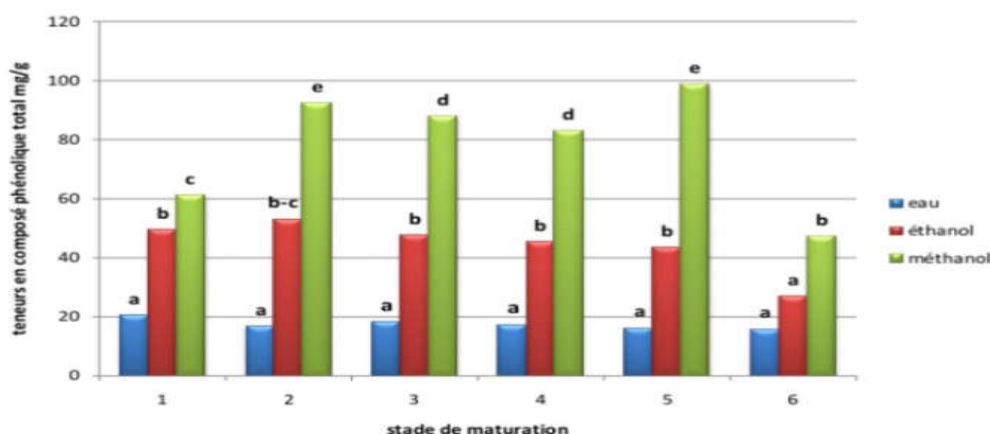
**Tableau 06:** contenu totale de polyphénols et flavonoïdes dans différents types des dattes et des extraits.

Région	Type des dattes	Types d'extraits	TPC (mg QE/100 gDW)	TFC(mg QE/100 gDW)	Références
Tunisie	Allig	Méthanol	447,73±14,02	-	(Emna Behija Saafi <i>et al.</i> , 2011)
	kentichi		209,42±1,92	-	
	Deglet- nour		230,90±0,15	-	
Tolga (Algérie)	Deglet- nour	Hexane	1389,5±207	98,35±2,35	(Samir Zeroual <i>et al.</i> , 2020)
		Dichlorométhane	1668±136,5	175,6±3,15	
		Acétate d'éthyle	5971,5±434	208,35±3,9	
		n-butanol	946,5±75,5	116,65±6,3	
Touggourt (Algérie)	Abdelazaz	Méthanol	211,58 ± 6,21	15,89 ± 0,72	(Adel Lekbir <i>et al.</i> , 2015)
	Degla-Beida		176,92 ± 2,07	27,67 ± 0,55	
	Haloua		228,95 ± 12,07	40,78 ± 1,78	
	Deglet-Nour		219,59 ± 1,95	21,96 ± 0,89	
	Hamraya		248,64 ± 4,14	27,26 ± 1,07	
	Tinicine		173,71 ± 1,37	19,54 ± 1,75	

Les résultats de (Emna Behija Saafi *et al.*, 2011) ont révélé une augmentation significative de TPC dans Allig par rapport à d'autres fruits kentichi et deglet-nour (tab 06). Ils ont étudié aussi effet de stockage, après une année sur même collection des dattes (allig, kentichi, deglet-nour) En effet les variétés Allig et Deglet Nour, après le stockage montré une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur en polyphénols (respectivement, 471,55 et 327,84 mg EAG/100g MF).

Par ailleurs, (Adel Lekbir *et al.*, 2015) ont étudiés d'autres types des dattes comme Abdelazaz, Degla-Beida, Haloua, Deglet-Nour, Hamraya, Tinicine. Les résultats du contenu phénolique total ont montré que le contenu phénolique maximum a été trouvé dans la datte Hamraya (249 mg GAE/100 g de p.c.) et le contenu phénolique minimum a été trouvé dans la datte Tinicine (174 mg GAE/100 g de p.c.). Tous les types des fruits de dattes sont riches en phénoliques mais à concentration différents. La concentration phénolique dans la différente variété a été classé comme suivant: Hamraya > Haloua > Deglet- Nour > Abdelazaz > Degla-Beida > Tinicine.

Concernant le rendement des extraits, étudié par (Samir Zeroual *et al.*, 2020) s'avéré que des extraits d'hexane, de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle sont très faibles, variant entre 0,03 et 0,11%. Alors que les extraits alcooliques (n-BuOH) sont élevés (2,84%), et l'extrait brut (Eau-MeOH) Degla-Nour qui a donné la valeur la plus élevée (64,28%). Soutenez cette étude à l'étude de (Sihem BEN MAACHIA *et al.*, 2020) qui trouvé Le méthanol s'est révélé les olvant le plus adéquat pour extraction des composés phénoliques des fruits de datte (fig 05). (Samir Zeroual *et al.*, 2020) indiqué la présence d'autre composé comme tanins dorés Composés phénoliques, sucre réducteur et Terenoïdes dans la majorité des extraits.



**Figure 05:** teneurs composé phénolique de variété dattes deglet-nour (Sihem BEN MAACHIA *et al.*, 2020).

#### 4-4 Evaluation de l'activité antioxydants

Les activités antioxydants des extraits de grain de pollen et des extraits des dattes ont été étudiées par plusieurs méthodes colorimétriques complémentaires, à savoir les tests de blanchiment au DPPH et au  $\beta$ -carotène, voltammétrie cyclique et FRAP.

##### 4-4-1 Activité antioxydants de pollen (*phoenix dactylifera L*)

Pour les études de l'activité antioxydants de pollen de palmier dattier qui faites par (Amal Daoud *et al.*, 2015) et (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020), les chercheurs utilisé le test de piégeage des radicaux DPPH et voltammétrie cyclique respectivement. Le DPPH est une méthode facile, rapide et sensible. Ce test fournit des informations sur la capacité d'un antioxydant à inhiber les dommages oxydatifs des cellules en empêchant les espèces radicalaires réactives d'attaquer les biomolécules clés, telles que les lipoprotéines et les acides gras polyinsaturés (Amal Daoud *et al.*, 2015).

Les résultats ont révélé que tous les extraits présentaient des effets de piégeage dépendants de la dose. Le résultat de cette méthode montré que les extraits PPD de deux région ont été capables d'inhiber la peroxydation lipidique de manière dose-dépendante. Les concentrations assurant une inhibition de 50 % ; ont été exprimées en valeurs IC50. Le PPD de Tozeur montrant une activité antioxydant supérieure à celle du PPD de Kerkennah. Parmi tous les extraits, l'extrait

d'acétone a montré la plus grande activité de piégeage des radicaux libres ( $IC_{50} = 46,56 \pm 0,28 \mu\text{g/ml}$ ), suivi par l'acétate d'éthyle ( $IC_{50} = 67,50 \pm 0,95 \mu\text{g/ml}$ ). Les activités de piégeage des autres extraits étaient, cependant, significativement faibles « aqueux et Chloroforme ». Il est trouvé même résultats de méthode DPPH, le DPP de Tozeur présentait une activité antioxydant plus élevée que le DPP de Kerkennah (Amal Daoud *et al.*, 2015).

L'activité antioxydants de la PPD pouvait être attribuée aux différences dans leur composition chimique et principale menteurs schémas d'hydroxylation et de méthylation, à la présence de nombreux composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les polyphénols et d'autres molécules telles que les protéines, l'ascorbate, le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -tocophérol et le lycopène qui renforcent l'activité antioxydant de la PPD (Amal Daoud *et al.*, 2015). Ces résultats confirment les données obtenus précédemment par (Nour Eddine TAMMA *et al.*, 2020) qui utilisé le test voltammétrie cyclique considérée comme une étude nouvelle et moderne.

#### 4-4-2 Activité antioxydant les extraits des dattes de palmier dattier

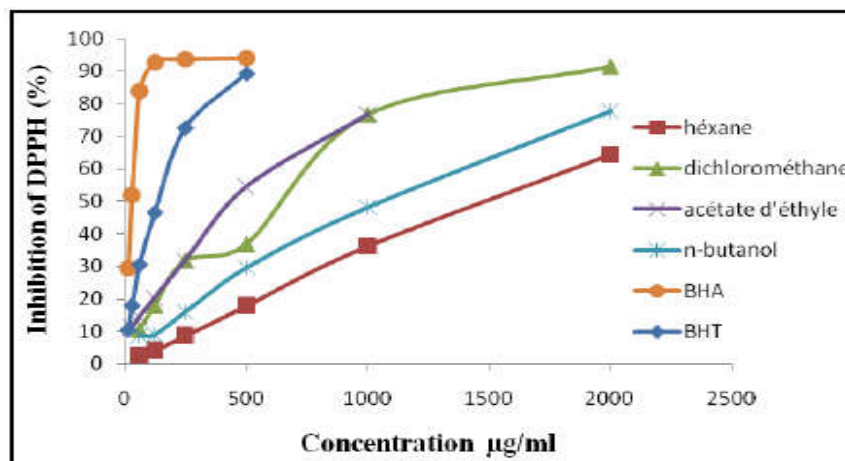
Le tableau 07 énumère l'évaluation de l'activité antioxydant des dattes *de phœnix dactylifera L.* Les auteurs ont utilisé les tests de piégeage des radicaux libres DPPH.

**Tableau 07:** la capacité antioxydant de test DPPH dans les extraits des dattes.

Référence	Type des dates	TPC (mg/100 g pc)	DPPH (EC50)
(Emna Behija SAAFI-BENSALAH, 2011)	Allig	447,73±14,02	1,49±0,25
	kentichi	209,42±1,92	0,61±0,08
	Deglet- nour	230,90±0,15	0,69±0,11
Référence	Type des dates	TPC (mg/100 g pc)	DPPH (%)
(Lekbir, et al., 2015)	Abdelazaz	211,58 ± 6,21	76,88 ± 3,38
	Degla-Beida	176,92 ± 2,07	62,17 ± 0,41
	Haloua	228,95 ± 12,07	74,93 ± 0,98
	Deglet-Nour	219,59 ± 1,95	72,01 ± 0,46
	Hamraya	248,64 ± 4,14	75,57 ± 0,32
	Tinicine	173,71 ± 1,37	51,31 ± 2,57

Les résultats de (tab 08) montrent une relation positive significative entre la capacité de piégeage du DPPH et la teneur en polyphénols. La capacité de piégeage du DPPH des constituants phénoliques pourrait être attribuée à la présence des groupes hydroxyle qui peuvent donner l'électron et neutraliser le radical libre existant dans le mélange réactionnel.

(Samir Zeroual *et al.*, 2020) ont étudié l'activité antioxydant de l'extrait du Deglet noir ont utilisés différents solvants d'extraction «Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle, n-butanol» (fig06) par la méthode de piégeage des radicaux FRAP et DPPH en la comparant aux témoins (BHA et BHT). L'inhibiteur d'oxydation le plus élevé a été atteint par l'extrait dichlorométhanologique (91,3 %), suivi par l'acétate d'éthyle (77,69 %), le n-butanol (76,62 %) et l'activité antioxydants de l'hexane (64,46 %). Tous les extraits de dattes ont présenté un bon pouvoir réducteur qui a varié de manière significative. Les résultats du pouvoir réducteur obtenus à partir d'un étalonnage de différentes concentrations d'acide ascorbique exprimées en  $\mu\text{g}$  EAA/0,5mg d'extrait. Le meilleur réducteur a été obtenu par l'extrait d'acétate d'éthyle (59,39 $\mu\text{g}$  EAA/0,5mgd'extrait), tandis que l'hexane, le n-butanol et le dichlorométhane ont montré le plus faible pouvoir avec des valeurs est 14, 92, 8,77 et 0,19 $\mu\text{g}$  EAA/0,5mgd'extrait respectivement.



**Figure 06:** activité antioxydante exprimée en pourcentage d'inhibition de DPPH en présence des différents extraits (Samir Zeroual *et al.*, 2020).

#### **4-5 Evaluation de l'activité antioxydant de grain de pollen et d'extrait des dattes *in vivo***

Dans la présente étude on a choisi 8 publications pour évaluer l'activité antioxydant et démontrer le rôle bénéfique et protecteur de l'extrait des dattes et les grains de pollen de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) contre l'hépatotoxicité induite par différent agent toxique tel que le paracétamol, tétrachlorure de carbone, mercure, Théocétamide, Phtalate de diéthyle et Thioacétamide.

##### **4-5-1 Evaluation de l'activité antioxydant de pollen palmier dattier contre l'hépatotoxicité**

L'hépatotoxicité désigne la tendance d'un agent, généralement un médicament ou autre substance toxique à provoquer une altération des fonctions hépatique caractérisé par des lésions hépatiques (Bakhe et Elsadek *et al.*, 2017).

L'ALT et AST sont des indicateurs le plus utilisé pour indiquer les lésions hépatiques. Il représente les marqueurs de la nécrose hépatocellulaire (Mohamed Bastway Ahmed., 2008). Les résultats montrent l'existence d'une augmentation de taux des transaminases tel que l'enzyme aspartate transférase (TGO) et alanine transférase (TGP) et augmentation d'ALP et bilirubine totale.(Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008 ; S. Naskar *et al.*, 2010 ; Emna Behja Saafi *et al.*, 2011 ; Abdbulhusseni *et al.*, 2012 ; Y. Bentayab *et al.*, 2014 ; Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019 ; Abdulraman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020 ; Shiva Roshankhah *et al.*, 2020 ). chez les rats ou les lapins intoxiqués par (paracétamol, tétrachlorure de carbone et le Phtalate de diéthyle) par rapport aux témoins , après le traitement par le DPP on observe une diminution non ou moins significatif chez les groupes traité par rapport aux groupes intoxiqués (Tab 08) et (tab 09) et (fig 07 ).

Selon (Abdulraman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020 ) les résultats montrent que l'utilisation d'une faible dose de traitement par 50 mg/kg de grain de pollen provoque une diminution non significative de ALT, AST et la bilirubine avec une diminution moins significative de ALP. On peut également enregistrer un rétablissement de l'effet toxique à partir des résultats de cette dose de traitement (Tab 08) et (Tab 09).

Pour le groupe traité par une forte dose de même traitement (100 mg /kg) les résultats montre une diminution moins significative de ALT, AST et bilirubine avec une diminution significative de ALP .Par apport au groupe intoxiqué, les résultats de la forte dose utilisé marque une élimination de l'effet d'agent toxique, c'est-à-dire effet dose dépendante (Tab 08 et Tab 9).

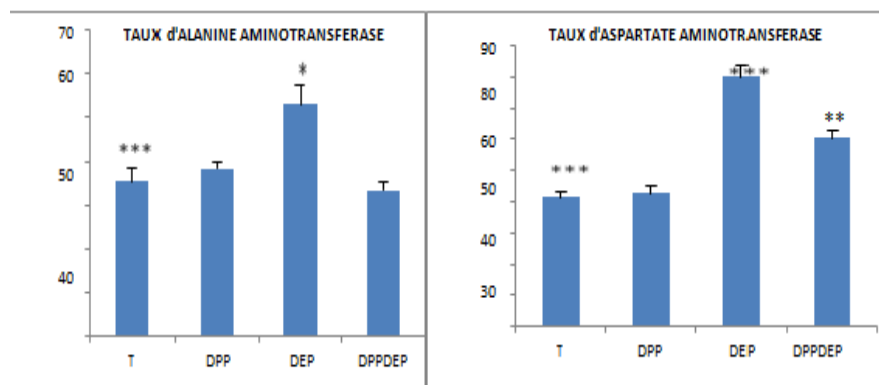
D'après (Abdulhusseni *et al.*, 2012) on observent une augmentation en parallèle de l'effet toxique et le nombre des jours. Donc l'augmentation de ces derniers influe sur l'effet d'agent toxique (Tab 08 et Tab 09).

**Tableau 08 :** effet grain de pollen sur l'ALT et AST des rats et des lapins après intoxication par paracétamol et CCL4.

Paramètres	Dose mg /kg	Contrôle positif UI/L	Contrôle négatif UI/L	Type d'agent toxique+Grain de pollen (mg/kg)	Référence	
AST	50	79.08 ± 4.33	296.16±9.22***	280.83 ±6.27	(Abdulraman Khazim Al-Asmari <i>et al.</i> , 2020 )	
	100	79.08 ± 4.33	296.16±9.22***	269.66±4.97*		
ALT	50	30.36 ± 2.38	206.66±16.52***	195.00 ± 7.91		
	100	30.36 ± 2.38	206.66±16.52***	165.00±3.29*		
AST	150	135.80± 3.36	132.20±5.84	132.40±4.069		(Abdulhusseni <i>et al.</i> , 2012)
		135.14±22.6	158.92±23.71	151.20±1.827		
		137.32±12.52	178.70±3.40	139.90±7.58		
		142.80±3.70	195.30±5.19	148.00±5.35		
ALT	150	47.40 ±4.4	41.80±3.78	40.80±2.63		
		45.62±6.61	64.24±3.14	47.60±1.13		
		45.02±3.41	89.81±4.39	49.14±1.18		
		47.62±7.44	92.60±5.74	48.00±4.81		

**Tableau 09:** effet de grain de pollen sur l'ALP et bilirubine des et des lapins après intoxication par paracétamol et CCL4

Paramètre	Dose mg / kg	Contrôle positif UI/L	Contrôle négatif UI/L	Type d'agent toxique+ Grain de pollen (mg/ kg)	Référence
ALP	50	311.50±6.27	604.00±6.08***	536.16±12.16**	(AbdulramanKha zim Al-Asmari <i>et al.</i> , 2020)
	100	311.50±6.27	604.00±6.08***	573.83±10.89*	
bilirubine	50	0.53±0.02g/dl	2.66±0.11***g/d l	2.33 ± 0.7 g/dl	(Abdbulhusseni <i>et al.</i> , 2012)
	100	0.53±0.02g/dl	2.66±0.11***g/dl	2.02 ± 0.08**g/dl	
ALP	150	137.60±7.76	140.80±8.36	143.80±10.45	(Abdbulhusseni <i>et al.</i> , 2012)
		138.54±4.8	165.70±8.23	140.80±5.20	
		138.20±7.6	186.20±8.8	139.80±2.26	
		141.00±9.8	190.40±8.26	146.20±5.23	
bilirubine	150	0.47± 0.011	0.48±0.012	0.49±0.015	(Abdbulhusseni <i>et al.</i> , 2012)
		0.44±0.012	0.60±0.02	0.46±0.013	
		0.45±0.024	0.82±0.166	0.47±0.086	
		0.46±0.005	1.11±019	0.48±0.022	

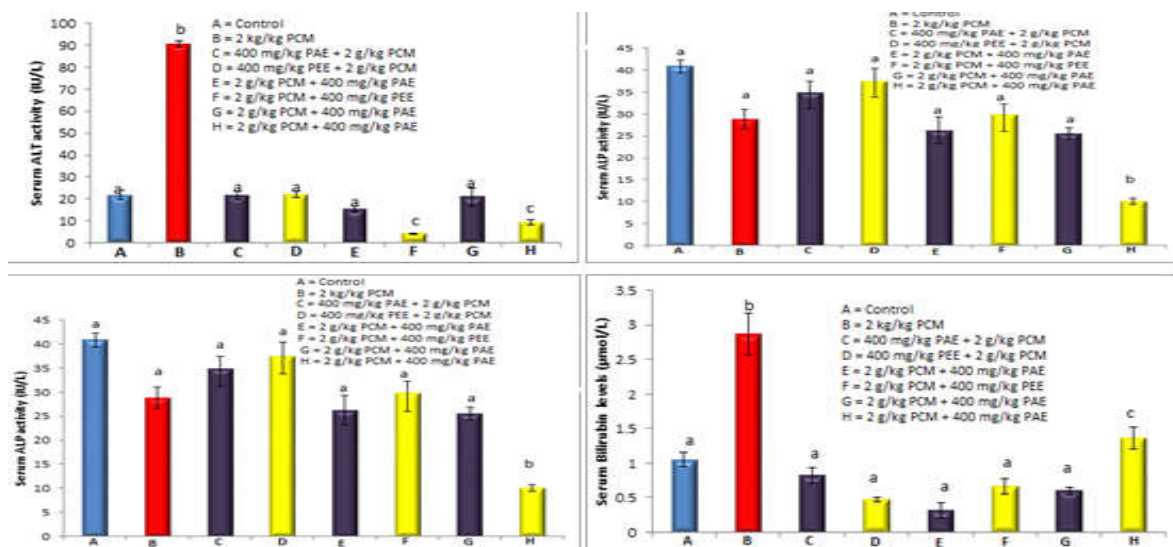
**Figure 7:** effet de DPP sur le taux d'ALT et AST (Y. Bentayab *et al.*, 2014)



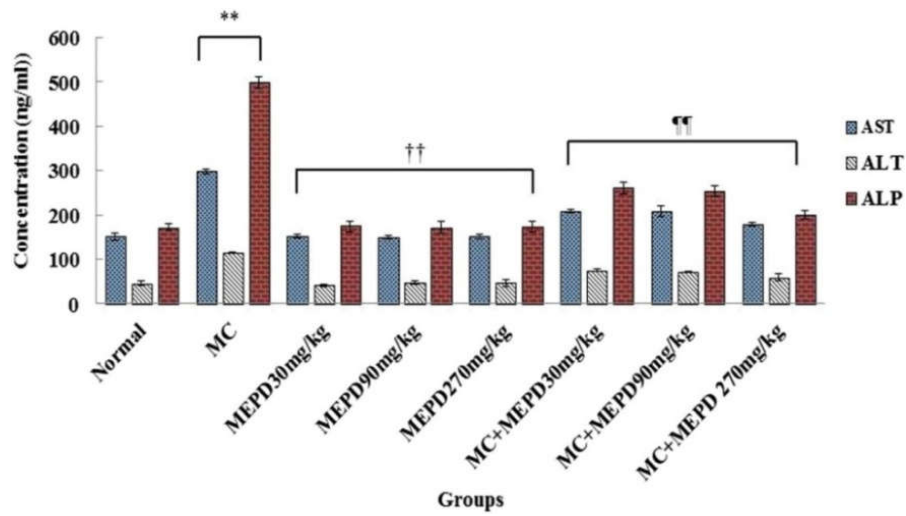
#### 4-5-2 Evaluation de l'activité antioxydant d'extrait des dattes du palmier dattier contre l'hépatotoxicité

Les études menés par (Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008 ; S.Naskaret *et al.*, 2010 ; Emna Behja Saafi *et al.*, 2011 ; Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019 ; Shiva Roshankhah *et al.*, 2020) ont enregistré que lors de l'administration des doses toxiques des produits chimiques tels que tétrachlorure de carbone, mercure, diméthoate, thioacétamide et paracétamol; une augmentation significative de alanine aminotransférase, aspartate aminotransférase , phosphatase alcaline et bilirubine totale sérique a été constaté par rapport aux témoins . Ces recherche indiquent clairement que l'administration du l'extrait des dattes avec l'agent toxique a provoqué une diminution significative du d'ALT, AST, ALP et bilirubine totale sérique par rapport aux groupes intoxiqués (Fig 08 ,09 et 10) et (Tab 10 et Tab 11).

L'étude fait par (Shiva Roshankhah *et al.*, 2020) a démontré aussi qu'il y a une amélioration de la dés intoxication du foie lors de l'augmentation des doses de l'extrait des dattes (Fig 09). Tandis que L'étude fait par (Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019)on révélé que l'extrait éthanolique est meilleur que l'extrait aqueuse pour réduire l'effet toxique (Fig 08).



**Figure 8:** effet d'extrait des dattes sur l'ALT, AST, ALP et bilirubine des rats intoxiqué au paracétamol. (Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019)



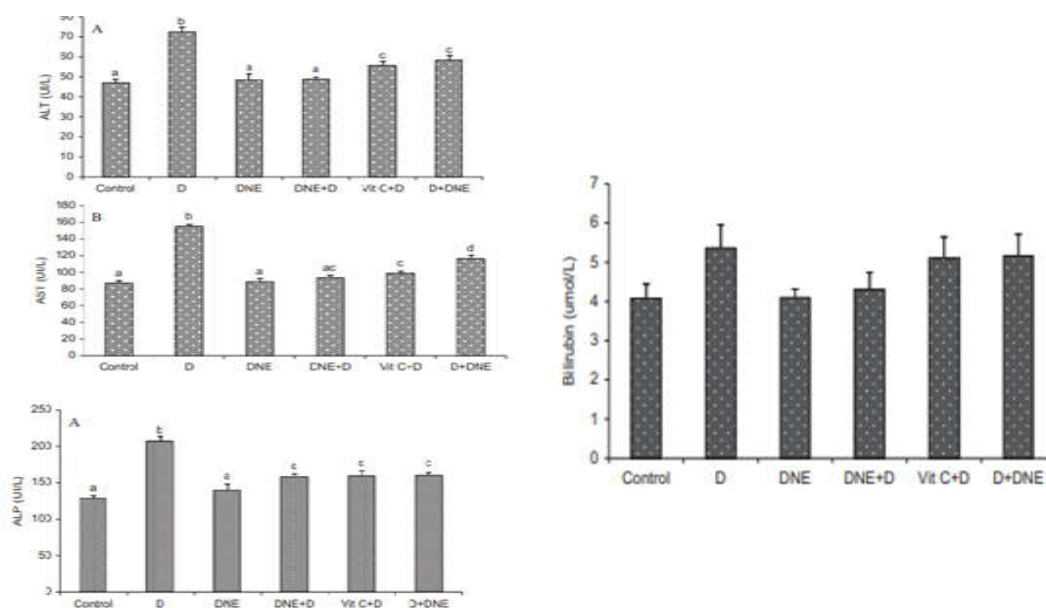
**Figure 9:** Effet de *Phoenix dactylifera* sur l'activité ALP, ALT et ALP Chez les rats Intoxiqués au mercure (Shiva Roshankhah *et al.*, 2020)

**Tableau 10 :** effet de *phoenix dactylifera* sur L'AST et ALT chez les rats l'intoxication

La dose	paramètre	Contrôle positif UI/L	Contrôle négatif UI/L	Type d'agent toxique+extrait (mg/ kg )	Reference
-	ALT	23.25 ± 1.29	78.38+++±1.61	51.30***±1.71	(Mohamed Bastway Ahmed <i>et al.</i> , 2008)
	AST	39.81 ± 2.36	117.73+++±5.06	68.33***±3.52	
300 mg/kg/j	ALT	241.84	1259.44	826.33*	(S.Naskar <i>et al.</i> , 2010)
	AST	54.2991.26	138.8710.12	123.081.518*	

**Tableau 11:** effet de *phoenix dactylifera* sur L'ALP et bilirubine chez les rats après intoxication

La dose	paramètres	Contrôle positif	Contrôle négatif	Type d'agent toxique +extrait (mg/kg)	Reference
-	ALP( UI/L)	60.04 ±2.35	125.38+++±5.55	98.53**±1.92	(Mohamed Bastway Ahmed <i>et al.</i> , 2008)
	bilirubine (mg/dl)	0.57 ± 0.05	4.49+++±0.17	2.24***±0.14	
300 mg/kg/j	ALP (UI/L)	9.511.12	44.664.02	29.092.98*	(S.Naskar <i>et al.</i> , 2010)
	Bilirubine (mg/100 ml)	1.100.19	3.120.2	3.050.1	

**Figure 10:** effet de extrait de Deglet-Nour sur le taux ALT, AST, ALP et bilirubine (Emna Behja Saafi *et al.*, 2011).

Le paracétamol c'est un médicament métabolisé dans le foie par les voies de la glucuronidation et de la sulfatation, l'acétaminophène subir une oxydation directe de deux électrons pour obtenir NAPQI, L'utilisation recommandée d'APAP limite la production de NAPQI qui est rapidement conjugué au glutathion pour être ensuite excrété. Un surdosage par le paracétamol déclenche une saturation de ces voies, ce qui entraîne une déplétion du glutathion hépatique médiée par le cytochrome P450, Ces processus inhibent les enzymes dépendant du glutathion et génère des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule (AbdulrahmanKhazim Al-Asmari *et al.*, 2020 ; Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019) ; en quantités excessives attaquent les lipides polyinsaturés de la membrane, ce qui entraîne une peroxydation des lipides et des dommages à la membrane des hépatocytes. Un nouveau mécanisme indépendant du cytochrome P450 de la toxicité du paracétamol propose que les mitochondries soient les principales sources de ROS qui dégradent la fonction mitochondriale et utilisent des voies de signalisation pour initier la mort cellulaire nécrotique (Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019).

Le métabolisme de tétrachlorure de carbone début par le radical libre trichrométhyle (CCL3) est l'action de la fonction mixte de système oxygénase cytochromeP450, ce radicale libre réagit rapidement avec l'oxygène pour donner un radicale libre trichrométhyle peroxy très réactif le s-oxyde de Théocétamide (Bakheet Elsadek *et al.*, 2018). Le s-oxyde de thioacétamide est un hépatotoxine directe responsable de la modification de la perméabilité cellulaire. Il provoque l'inhibition de l'activité mitochondriale suivie de la mort cellulaire (Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008).

Dans l'organisme les radicaux libres attaque les lipides, les protéines et les acides nucléiques provoque des dommages oxydatifs qui entraînent différentes maladies (Ali Ahmed *et al.*, 2016) dans l'hépatotoxicité les radicaux libres attaquent les lipides initiant ainsi la peroxydation lipidique de la membrane des hépatocytes (Bakheet Elsadek *et al.*, 2017).

Lorsque la membrane plasmique des hépatocytes est endommagée, une variété d'enzymes normalement situées dans le cytosol est libérée dans le flux sanguin L'ALT et l'AST, ALP et bilirubine total sérique (Bakheet Elsadek *et al.*, 2017). L'ALT est principalement localisée dans le foie alors que l'AST est présent dans une grande variété de tissus, notamment le cœur, les reins, le cerveau et le foie. L'AST est présente à la fois dans les mitochondries et le cytosol des

hépatocytes, mais l'ALT ne se trouve que dans le cytosol des hépatocytes donc l'ALT est plus précisé pour le diagnostic de l'insuffisance hépatique (Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008).

Le PPD et les dattes du palmier dattier sont riches en substances bioactif, tel que la rutine, des flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces composons sont des antioxydants exogènes qui possèdent une activité antioxydant (AbdulrahmanKhazim Al-Asmari *et al.*, 2020). La supplémentation par un traitement riche en grains de pollens ou l'extrait des dattes attribué à une amélioration de la capacité de détoxification du foie (Ali Hafez El - Far *et al.*, 2016). Ils jouent un rôle significatif dans la modulation de l'activité des enzymes hépatiques TGO, TGP, ALP et bilirubine totale sérique en cas d'intoxication par des produits chimique (Abdulhusseni *et al.*, 2012).

La diminution significative des transaminases, ALP et bilirubine indique que les grains de pollen de palmier ont la capacité de maintenir la fonction hépatique grâce à ses composants tels que les vitamines C, E les flavonoïdes qui protègent la membrane cellulaire de l'oxydation et influencent directement la réponse cellulaire au stress oxydatif par la modulation des voies de transduction du signal (Abdulhusseni *et al.*, 2012). Les composés phénoliques peuvent agir en piégeant les radicaux libres contre les dommages oxydatifs. Ils ont la capacité d'inhiber l'activité aramatose du cytochrome P450 en favorisant la régénération du foie. Les flavonoïdes (quercétine, la catéchine) protègent également le mécanisme de défense antioxydant en augmentant l'absorption de la vitamine C (Aly Abdullah Al-Qarawi *et al.*, 2004).

La richesse du pollen et des dattes en composants comme les vitamines A, E et les minéraux comme le zinc confirme le rôle antioxydant de ces derniers dans le maintien et l'amélioration de la fonction hépatique. La vitamine E et le zinc régulent de nombreux enzymes et systèmes de transcription des gènes qui sont essentiels au métabolisme, à la croissance et à la production (Abdulhusseni *et al.*, 2012).

Les études mené par (Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019), ont confirmé que les flavonoïdes présents dans le fruit du palmier dattier sont des antioxydants qui peuvent agir comme stabilisateurs des membranes des hépatocytes. Ils sont à l'origine de la baisse de concentration de bilirubine, ce qui implique que les fruits de palmier dattier à des potentiels prophylactiques, mélioratifs et curatifs pour les troubles hépatiques.

Des études antérieures *in vivo* de (Mohamed Bastway Ahmed *et al.*, 2008); indiquent que le métabolisme microsomal hépatique des médicaments diminue en cas de carence en acide ascorbique. La vitamine C des dattes pourrait également jouer un rôle majeur dans l'hépatoprotection.

Les dattes sont riches aussi on Systérol est responsable de l'activité hépatoprotectrice ces composés antioxydant protège contre la dégradation peroxydative de la membrane cellulaire qui provoque des changements morphologiques fonctionnels dans celle-ci, ce qui entraîne une fuite cellulaire et une perte de l'intégrité fonctionnelle de la membrane (Aly Abdullah Al-Qarawie *et al.*, 2004).

En résulte que les dattes et les pollens de palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) possède grand valeur pour la santé humain il protège l'être humain contre les problèmes qui affligent le foie.

#### **4-6 Comparaison entre l'effet hépatoprotectrice de l'extrait des dattes et du grain de pollen**

Le résultat d'activité d'ALT, AST, ALP et bilirubine obtenue par (Abdulrahman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020 ; Abdulhussein *et al.*, 2012 ; Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019 ; S. Naskar *et al.*, 2010), après le traitement par le PPD provoque une diminution moins significative mais en cas de traitement par la même dose avec l'extrait des dattes on remarque une diminution hautement significative (Annexe 2). C'est-à-dire le grain de pollen fait une diminution de l'effet toxique de APAP et CCL4 mais l'extrait des dattes élimine l'effet toxique, cette différence dans l'effet protectrice dépend de différence du quantité et la qualité des composé bioactive à effets antioxydants.

Les grains de pollens du palmier dattier contient la rutine, la quercitrine des flavonoïdes et des composés phénoliques, les vitamines A, E, C, qui protègent la membrane cellulaire contre la peroxydation lipidique (Abdulhussein *et al.*, 2012 ; Abdulrahman Khazim Al-Asmari *et al.*, 2020 ) par contre l'extrait des dattes possède une quantité appréciable de Vit C à une activité chimioprotectrice contre les lésions hépatocellulaires (S. Naskar *et al.*, 2010 ; Ikponmwosa-Eweka *et al.*, 2019 ) Les composés phénolique totaux de pyrocatechol et d'acide gallique de extrait des datte sont de 6,2 et 2,906 µg/mg, respectivement. La teneur totale en flavonoïdes de l'HEPD est de 4,79 µg d'équivalents de quercétine (QE)/mg d'extrait (annexe 5 et Annexe 6), La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est principalement dirigée vers les radicaux hydroxyles,

superoxyde ainsi que peroxyde et alcoxyde. De plus, comme ces composés présentent une forte affinité pour les ions fer leur activité antiperoxydante pourrait également être attribuée à une capacité concomitante de chélation du fer. La teneur en vitamine C de l'HEPD est de 0,66mg/g. En tant qu'antioxydant hydrosoluble (ne pouvant pas être stocké dans notre corps) (Annexe 4 et Annexe 5), la vitamine C est dans une position unique pour "piéger" les radicaux peroxydes aqueux avant que ces substances destructrices n'aient la possibilité d'endommager les lipides (S. Naskar, 2010) d'après étude de (Ahmed.A,2016) en utilisant trois sirops de dattes Saudi, Rotab et Iraq, le Rotab a des effets antioxydants hépatoprotecteurs plus forts en raison de son contenu phénolique total et flavonoïde élevé mais le sirop Irakien a une activité plus faible en raison de son faible contenu phénolique total et flavonoïde (Ahmed.A,2016) donc la variété de l'effet antioxydant entre le grain de pollen et l'extrait de différentes dattes dépend de la quantité des composés antioxydants (annexe 1).

# **Conclusion**



## Conclusion

De nombreux travaux de pharmacologie sur la plante *Phoenix dactylifera* L ont montré plusieurs propriétés antioxydant, anticancéreuse, hypocholestérolémie, anti-inflammatoire, antidiabétique et un effet hépato-protecteur, qui protègent les cellules du foie de hépato-toxicité de certaines substances chimiques.

Dans ce contexte notre travail a pour but de contribuer à l'évaluation de l'étude de l'activité anti-oxydante *in vitro* des extraits des dattes et extrait de grain de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L).

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux et la teneur en flavonoïde totaux est réalisée par le réactif Folin-ciocalteu, et détermination de qualité de ces constituants par la méthode HPLC, on utilise le test anti-radicalaire le plus puissant, elle est très proche à les standard BHA pour mesurer l'activité antioxydante. Les résultats de dosage des composés bioactifs montrent que les deux produits de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) le grain de pollen et extrait des dattes possèdent des métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes (quercétine, la catéchine) et contiennent des vitamines telles que la vitamine A, E, C qui jouent un rôle antioxydant.

L'étude *in vivo*, les composants actifs de palmier dattier qui aideront au traitement des maladies cardiaques, hépatiques, gastriques, et neuronales. Le traitement actuel pour les maladies par les médicaments synthétiques est coûteux, présente des effets indésirables, altère les voies génétiques et métaboliques. Ainsi, une approche sûre, efficace et abordable est nécessaire pour contrôler le développement et la progression des maladies. Les dattes et le pollen et leur composant constituent un bon remède car ils sont peu coûteux, efficaces et faciles d'accès. Des recherches antérieures ont montré que l'effet thérapeutique des dattes et de pollen dans la gestion des maladies par le biais de l'action antioxydante, anti-inflammatoire et anti-tumoral.

Dans ce contexte notre travail a pour le but d'évaluer l'effet thérapeutique de pollen et d'extrait de dattes sur l'hépatotoxicité induit par des produits chimiques (paracétamol, CCL4, TAA, MC) aux différents animaux (lapin, rats ..).

Nos résultats semblent être très utiles pour confirmer les effets néfastes de ces produits toxiques. Nous avons montré que l'administration de différentes doses de produits a provoqué des perturbations de plusieurs fonctions de l'organisme :

- Provoque la lésion hépatique et causé de grave dommage de foie.
- Modifié le statu antioxydant et l'histologie de foie.
- L'augmentation significative de taux des enzymes hépatique ASAT, ALAT, ALP
- Diminuant le taux métabolique cellulaire et le changement de destruction du foie.
- Augmentation significative de la bilirubine dans le sang

En revanche, la supplémentation et le traitement par l'extrait aqueux des dattes et la DPP comme des agents potentiel contre le stress oxydatif induit par les produits toxiques (CCL4 ; Diméthoate et APAP ...) ; amélioré la fonction hépatique.

Les sommes de ces résultats témoignent le rôle protecteur de PPD qui pourrait être dû à ses actions antioxydants, stabilisatrices des membranes ainsi qu'anti hyperlipidémiques exercées par la modulation des marqueurs biochimiques. La large gamme d'effets pharmacologiques de la PPD peut être attribuée aux ingrédients puissants et bénéfiques, notamment les phénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines, les minéraux, les acides aminés, les acides gras et les acides organiques. En outre, les résultats suggèrent également que l'effet protecteur de l'extrait aqueux des dattes ; peut être dû aux riches vitamines et antioxydants contenus dans l'extrait. Cette étude met en évidence l'intérêt d'évoluer vers l'utilisation de plantes médicinales naturelles à activité antioxydant pour la protection contre les maladies. Cela peut fournir une base scientifique pour l'utilisation conventionnelle de l'ADE comme protocole nutritionnel de gestion.

En perspective, nous proposons :

- Autre étude approfondies sur d'autre effet thérapeutique de l'extrait des dattes et le grain de pollen.
- D'autre recherche pour le découvert d'autre propriété a effet thérapeutique
- D'autre recherche pour la découverte des autres constituants de la plante *Phoenix dactylifera L.*
- D'autres recherches pour utilisation ces substances « pollen et dattes » dans l'industrie pharmaceutique moins nuisible par rapport utilisation de produit chimique.

# **Bibliographie**

---

## Bibliographie

1. Ahmed, A., Bano, N., Tayyab, M. (2016). Phytochemical and Therapeutic Evaluation of Date (*Phoenixdactylifera*). A Review. *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine* , 9, 11-17.
2. Al-Asmari, A. K., Al-Said, M. S., Abbasmanthir, R., Al-Buraidi, A., Ibrahim, K. E., & Rafatullah, S. (2020). Impact of date palm pollen (*Phoenix dactylifera*) treatment on paracetamol- induced hepatorenal toxicity in rats. *Clinical Phytoscience* , 12.
3. Araak, J. K. (2012). The Protective Role of Date Palm Pollen (*Phoenix dactylifera* L.) on Liver Function in Adult Male Rats Treated with Carbon Tetrachloride. *Proceeding of the Eleventh Veterinary Scientific Conference* , 132-141.
4. Aziz, E. H. (2002, 04 20). Modélisation de l'architecture du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et application à la simulation du bilan radiatif en oasis. Université Cadi Ayyad Faculté des Sciences-Semlalia, Marrakech.
5. BEN MAACHIA, S., SMIDA, Y., TAHA, R., & NAMSI, A. (2020). Recherche de Méthode d'extraction optimale des composés phénoliques chez les fruits de dattes. *ResearchGate* .
6. BENGAG, A. (2009). caractérisation phytochimique et activité antioxydante de quelques cultivars de phoenix dactylifera L. département de biologie: université d'oran E s-Sénia.
7. Changjiang Guo, J. Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* , 1719–1726.
8. Daoud, A., Malika, D., Bakari, S., Hfaiedh, N., Mnafigu, K., Mnafigu, A., et al. (2015). Assessment of polyphenol composition, antioxidant and antimicrobial properties of various extracts of Date Palm Pollen (DPP) from two Tunisian cultivars. *Arabian Journal of Chemistry* .
9. ding, w. x., ong, c. n. (2003). role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiology letters* , 1-7.

10. Emna Behija SAAFI-BENSALAH, A. E. (2011). Influence de la saison de récolte et du stockage sur les activitésantioxydantes des dattes de l'espèce Phoenix dactylifera L. de TUNISIE. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products (TJMPNP)* , 133-141.
11. Gros-Balthazard, M., Newton, C., Ivorra, S., Tengberg, M., Pintaud, J., & Terral, J. (4 | 2013). Origines et domestication du palmier dattier (Phoenix dactylifera L.). *Revue d'ethnoécologie* .
12. Guettouchi, A. (2017). Caractérisation Botanique et moléculaire du palmier dattier (Phoenix dactylifera L.) de la région de Bou-Sâada. Département de Biologie et Ecologie Végétale: Université Frères MENTOURI Constantine.
13. Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES: UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER.
14. Ikonmwosa-Eweka, O., EROMOSELE Eromosele, A. (2019). Comparative Evaluation of Biochemical Effects of Date Palm (Phoenix dactylifera)Fruit Extracts on Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Wistar rats. *23*, 641-646.
15. J. Haleng, J. P. ( 2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege* , 628-638.
16. KEHILI, H. E. ( 2016). Biological activities of Phoenix dactylifera and Treg in Rheumatoid arthritis induced by hyperhomocysteinemia and formalin and on tumoral process. Department of Animal Biology: University of Frères Mentouri Constantine.
17. Lekbir, A., Lombarkia, O. A., Haddad, S., Mizane, B., Nou, i., Abdeddaim, M., et al. (2015). PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITYOF SIX ALGERIAN DATE PALM (Phoenix dactyliferaL.) CULTIVARS. *Annals. Food Science and Technology* , 201-206.
18. Longo, A. C. (2001). Valorisation des Sous-Produits du Palmier Dattier en Vue. *Production et Valorisation – Biomasse* , 59-64.
19. Lucy Meunier, D. I. (2018). nouveautés dans les biomarqueurs de l'hépatotoxicité des médicaments et des plantes médicinales . *hépto- gastro* , 25 (6), 570-579.

- 
20. Masoud Homayouni-Tabrizi, E. K. (2018). Silver–palm pollen nanocomposite exhibits antiproliferative, antioxidant, and proapoptotic properties on MCF-7 breast cancer cells. *Research on Chemical Intermediates* .
  21. Mohamed Bastway, A., Abdel-Salam, N., Hasonaand, H., & Selemain, A. (2008). Protective Effects of Extract from Dates (*Phoenix Dactylifera* L.) and Ascorbic Acid on Thioacetamide-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* , 193-201.
  22. Najla, B. (2017). analyse phytochimique des sous-produits du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. ( *Arecaceae* ) et évaluation in vitro de leurs activités biologiques. sciences biologiques: université des sciences et de la technologie houari boumediene.
  23. Otify, A. M., El-Sayed, A. M., Michel, C. G., & Farag, M. A. (2019). Metabolites profiling of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) commercial by-products (pits and pollen) in relation to its antioxidant effect: a multiplex approach of MS and NMR metabolomics. *Metabolomics* , 1-17.
  24. Pouresmaeil, M. H.-T. ( 2018). Silver–palm pollen nanocomposite exhibits antiproliferative, antioxidant, and proapoptotic properties on MCF-7 breast cancer cells. *Research on Chemical Intermediates* .
  25. Salomón-Torres, R., Krueger, R., García-Vázquez, J. P., Villa-Angulo, R., Villa-Angulo, C., Ortiz-Uribe, N., ... & Samaniego-Sandoval, L. (2021). Date Palm Pollen: Features, Production, Extraction and Pollination Methods. *Agronomy*, 11(3), 504.
  26. Robin E Ferner honorary, J. W. (2011). Management of paracetamol poisoning. *CLINICAL REVIEW* , 1-9.
  27. S. Naskar, A. I. (2010). In Vitro and In Vivo Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of *Phoenix dactylifera* Fruits . *JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH* , 144-157.
  28. Saafi, E. B., Louedi, M., Elfeki, A., Zakhama, A., Hammami, 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* , 433- 441.

- 
29. Saleh, M. K. (2021). Effect of Date Palm Pollen Supplementation on the Egg Production, Ovarian Follicles Development, Hematological Variables and Hormonal Profile of Laying Hens. *animals* , 13.
  30. Sebi, H., Bchir, B., Karra, S., Ghribi Abir, M., Attiai, H., Blecker, C., et al. (2016). POLLEN DU PALMIER DATTIER. *Quatrièmes Journées Scientifiques de l'Agro-Alimentaire (JSAA-2016)* .
  31. Shiva Roshankhah, A. A. (2020). Anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidant actions of MiddleEastern Phoenix dactylifera extract on mercury-induced hepatotoxicity. *Molecular Biology Reports* , 6053–6065 .
  32. TAMMA, N. E., REBIAI, A., BENCHIKHA, N., & HIMA, A. (2020). A COMPARATIVE STUDY OF THE ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF THE PHENOLIC EXTRACTS FROM PALM POLLEN GROWING IN OUED SOUF (ALGERIA). *researchGate* .
  33. v.dnel, p. (2005). syndrome hépatotoxique . *médecine d'urgence* , 41-50.
  34. Y. Bentayeb, Y. M. (2014). The Protective Role of the Date Palm Pollen (Phoenix Dactylifera) on Liver andHaematological Changes Induced by the Diethyl Phthalate. *World Journal of Environmental Biosciences* , 7, 90-94.
  35. Zeroual, S., Daoud, I., G. ., Ghalem, S. (2020). In vitro and Molecular Docking Studies of DPPH with Phoenix dactylifera L.(Deglet-Nour) Crude Fruits extracts and Evaluation of their Antioxidant Activity. *Asian J. Research Chem.* , 52-59.

# **Annexes**



**Annexes 1 :** Acides phénoliques et flavonoïdes dans l'extrait de fruit de datte Ajwa (Bakheet Elsadek *et al.*, 2017).

Acides phénoliques	Teneur (mg %)	Flavonoïdes	Teneur (µg/100 g)
Acide coumarique	14,12	Quercétine	28,08
Acide férulique	11,8	Catéchine	16,08
Acide gallique	6,01	Lutéine	11,89
Acide hydroxybenzique	3,18	Epicatéchine	9,08
Acide hydroxycinnamique	0,121	Apigénine	5 ,01

**Annexes 2 :** Effet du prétraitement avec la l'extrait de fruit de datte Ajwa sur les changements induits par le CCl4 dans l'ALT, l'AST, l'ALP, l'albumine (Bakheet Elsadek *et al.*, 2017).

Groupes de paramètres	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	Albumine (g/dl)
Contrôle saline	33.7± 2.84	34.5± 2.55	91.3± 5.70	4.0± 0.16
CCl4	258.7± 13.60a	259.4± 18.20a	315± 9.97 a	1.8± 0.13a
Dates + CCl4	68.6± 5,08a,b	71.3± 6,73a,b	155.4± 9,80a,b	3.6± 0.19b

**Annexes 3 :** Détermination de la vitamine C

Prélever 25,00 ml (contenant 25 mg de vitamine C) de solution étalon de vitamine C dans un erlenmeyer de 125 ml ; ajouter 10 gouttes de solution d'amidon à 1%. Titrer la solution contre une solution d'iode (0,125% d'iode, 1% d'iodure de potassium) avec 1,00 mg/ml d'acide ascorbique (fait frais) jusqu'à ce que le point final soit atteint (premier signe de couleur bleue qui persiste après 20 secondes de tourbillonnement de la solution).Le volume de solution d'iode nécessaire est noté. Ensuite, 25 ml d'extrait HEPD (contenant 25 mg d'extraits) sont titrés avec la solution iodée. Le volume de solution iodée nécessaire est noté. La quantité de vitamine C présente dans les différents extraits de fruits est déterminée par la comparaison de la solution d'iode requise. (S. Naskar *et al* , 2010)

**Annexes 4 :** Détermination de la vitamine C

La teneur en vitamine C de l'HEPD est de 0,66mg/g (Fig. 3). En tant qu'antioxydant hydrosoluble (ne pouvant pas être stocké dans notre corps), la vitamine C est dans une position unique pour "piéger" les radicaux peroxydes aqueux avant que ces substances destructrices n'aient la possibilité d'endommager les lipides. (S. Naskar *et al* , 2010)

#### Annexes 5 :

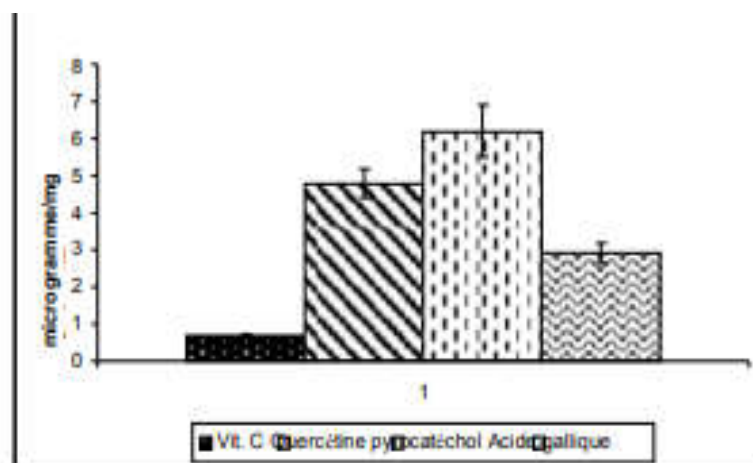


Figure 01 : Teneur totale en phénolique, flavonoïdes et vitamine C des fruits HEPD. (S. Naskar *et al* , 2010)

#### Annexe 6 : Estimation de la teneur totale en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une grande classe de dérivés de benzo-pyrone, omniprésents dans les plantes et présentant une activité antioxydante. La teneur en flavonoïdes de différents extraits de fruits est présentée dans la figure 3. La teneur totale en flavonoïdes de l'HEPD est de 4,79  $\mu\text{g}$  d'équivalents de quercétine (QE)/mg d'extrait. (S. Naskar *et al* , 2010)

La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est principalement dirigée vers les radicaux hydroxyles, superoxyde ainsi que peroxyde et alcoxyde. De plus, comme ces composés présentent une forte affinité pour les ions fer (qui sont connus pour catalyser de nombreux processus conduisant à l'apparition de radicaux libres), leur activité antiperoxydante pourrait également être attribuée à une capacité concomitante de chélation du fer. (S. Naskar *et al* , 2010)

### المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تحليل النتائج الواردة في 15 مقال حول تأثير نشاط مضادات الأوكسدة الوقائية لشجرة النخيل *Phoenix dactylifera L.* على نشاط الكبد. حيث ان الدراسات المخبرية تتمثل في تحديد محتوى الكلي للفلافونويد (TFC) و البولي فينول (TPC) و نشاط مضادات الأوكسدة ونوعية هذه المحتويات. اما بالنسبة للدراسات في الجسم تم تحديد قيمة الإنزيمات الكبدية بعد العلاج بمستخلص التمر و حبوب اللقاح حيث أثبتت النتائج المحصل عليها في المخبر ان مستخلص التمر و حبوب اللقاح تحتوي على مركبات الفلافونويد و البولي فينول التي لها دور مضاد الأوكسدة اما للنتائج المحصل عليها بالنسبة للدراسات في الجسم وجدت ارتفاع في قيمة الأنزيمات الكبدية بعد التسمم لكن بعد العلاج تم الحصول على انخفاض في هذه الإنزيمات الكبدية

**الكلمات المفتاحية:** *Phoenix dactylifera L.*، مضادات الأوكسدة، الفلافونويد، الفينول، حبوب الطلع.

### Résumé

L'objectif de cet étude analyse des résultats rapportés par 15 publications sur l'activité antioxydant hépatoprotecteur de *Phoenix dactylifera L.* Les études *in vitro* ; déterminent Le contenu phénolique totale (TPC), le contenu totale de flavonoïde (TFC) par Folin-Ciocalteu, et l'activité antioxydant par DPPH et la qualité de ces contenues par HPLC. Les études *in vivo* déterminent le Taux d'ALT, AST, ALP et bilirubine par une méthode colorimétrique. Après le traitement par l'extrait des dattes et le grain de pollen ; les résultats obtenus *in vitro* montre que l'extrait des dattes et le grain de pollen contiennent les flavonoïdes et les polyphénols à rôle antioxydants. De ces résultats *In vivo* on obtient par les enzymes hépatiques et la bilirubine une augmentation après l'intoxication et qui est la cause de la lésion hépatique ; mais après le traitement on obtient une diminution de ces enzymes hépatiques et augmentation des paramètres antioxydant dépend au potentielle antioxydant de ces extraits.

**Mots clés :** *Phoenix dactylifera L.*, Antioxydant, Flavonoïde, phénolique, grain de pollen

### Abstract

The objective of this study is to analyze the results reported by 15 publications on the hepatoprotective antioxidant activity of *Phoenix dactylifera L.* The *in vitro* studies determine the total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) through Folin-Ciocalteu, and the quality through HPLC of this antioxidant activity through DPPH and the *in vivo* studies determine the ALT, AST, ALP and bilirubin levels by colorimetric. After the treatment with the extract of dates and pollen grain, the results obtained *in vitro* show that the extract of dates and DPP contain flavonoids and polyphenols with antioxidant role. From these *in vivo* results we obtain an increase in liver enzymes and bilirubin after intoxication and that is the cause of liver damage; but after treatment we obtain a decrease in these liver enzymes and an increase in antioxidant parameters depending on the antioxidant potential of these extracts.

**Key words:** *Phoenix dactylifera L.*, Antioxidant, Flavonoid, phenolic, DPP