



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire

## Thème:

Contribution à l'étude biologique des dattes « *Phoenix dactylifera .L* » variété de TOLGA

Présenté par:

**Salah Eddine Maouche**

Devant le jury:

Pr. Djabri Belgacem	Pr	Université de Tébessa	Président
Mlle. Farhi Selma	MAA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. Taleb Salima	MCA	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr. Kehili Houssef Eddine	Dr	Université de Constantine	Co- encadreur

Date de soutenance : 24 Mai 2017

Note : .....

Mention : .....



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Qualité des produits et sécurité alimentaire

## Thème:

Contribution à l'étude biologique des dattes « *Phoenix dactylifera .L* » variété de TOLGA

Présenté par:

**Salah Eddine Maouche**

Devant le jury:

Pr. Djabri Belgacem	Pr	Université de Tébessa	Président
Mlle. Farhi Selma	MAA	Université de Tébessa	Promotrice
Dr. Taleb Salima	MCA	Université de Tébessa	Examinatrice
Dr. Kehili Houssef Eddine	Dr	Université de Constantine	Co- encadreur

Date de soutenance : 24 Mai 2017

Note : .....

Mention : .....

2016/2017

الهدف من هذا العمل هو الكشف عن كمية الفينولات و النشاط المضاد للأكسدة و اثار المناعة للمستخلص الخام (Phoenix dactylifère variété de Tolga).

تم تحديد محتوى الفينول الكلي بقياس كمية الفولين , ثم قياس النشاط المضاد للأكسدة عن طريق التحديد الطيفي للجلوثاثيون من جناسة الكبد , تم استخدام مسح الجذور DPPH و فحص FRAP في المخبر , لتحديد القوة المضادة للأكسدة للمستخلص (Phoenix dactylifère variété de Tolga) و قياس قدرة التحفيز المناعي للمستخلص النباتي على نشاط البلعمة باختبار معدل ازالة الكربون .

اضهرة النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة ان IC<sub>50</sub> DPPH و IC<sub>50</sub> FRAP للمستخلص النباتي Phoenix dactylifère variété de Tolga كانت على التوالي 152,16 ملغ /مل و 90,12 ملغ /مل و كان المحتوى الكلي للفينول 105,13 ملغ / مل من حمض الغالليك / مل من المستخلص , نلاحظ زيادة في بشكل كبير في الوظيفة البلعية لدى الحيوانات المحقونة بمستخلص (Phoenix dactylifère variété de Tolga) بكميات ( 50 , 150 , 200 ملغ / كلغ ) P < 0,05 و كانت كميت الفينولات في هذا المستخلص عالية جدا و نلاحظ و جود نتيجة ايجابية بين النشاط المضاد للأكسدة و اجمالي مستويات الفينول .

اظهر مستخلص Phoenix dactylifère variété de Tolga تأثير عالي على المناعة المحفزة و نشاط المضاد للأكسدة مع وجود تأثير عالي في 50 ملغ / كلغ

### الكلمات المفتاحية

نشاط المناعة المحفزة , DPPH,FRAP , جلوثاثيون, فارة , Phoenix dactylifère variété de Tolga ' الفينول الكلي

### Abstract

The aims of this work were the screening of the total phenols, measuring the antioxidant activity and detecting of the immunomodulatory effects of the crude extract of *Phoenix dactylifera L* “Tolga variety”.

The total phenolic content was determined by the Folin–Ciocalteu assay. The immunostimulant potential of the plant extract on the phagocytic activity was measured *in vivo* by the carbon clearance rate test. The antioxidant power of *Phoenix dactylifera L* “Tolga variety” was identified by spectrophotometric using DPPH radical scavenging, FRAP assay and dosage of glutathione from liver’s homogenate simultaneously.

Our results obtained in this study shown that total phenolic content was 105, 13  $\mu\text{g}$  of Gallic acid / ml of the extract. The IC<sub>50</sub> DPPH and IC<sub>50</sub> FRAP of *Phoenix dactylifera L* “Tolga variety” are 152,16 mg/ml and 92,12 mg/ml respectively. The phagocytic activity is increased significantly in animals injected with *Phoenix dactylifera* “Tolga variety” extract at doses (50, 150 and 200 mg/kg)  $P < 0,05$ . The clearance rate of carbon was significantly faster at the concentration 200 mg/kg when is compared to the two concentrations 50 and 150 mg/kg ( $P < 0,05$ ). The release of the GSH from the liver was significantly higher at the concentration of 50 mg/kg when is compared to the two concentrations 150 and 200 mg/kg ( $P < 0,05$ ).

The amount of total phenols in this extract was very high. A positive result was observed between *in-vitro* antioxidant activities potential and total phenolic levels of the extracts. *Phoenix dactylifera L* “Tolga variety” extract revealed an immunostimulatory effect on the reticuloendothelial system and *in-vivo* antioxidant activity with higher effect by the administration of 50 mg/kg.

**Keywords:** *Phoenix dactylifera L* “Tolga variety”, Total phenols, DPPH, FRAP, Immunostimulatory activity, Glutathione.

## Résumé

Les objectifs de ce travail ont été le dosage des polyphénols totaux, mesure de l'activité antioxydante et la détection des effets immunomodulateurs de l'extrait brut de *Phoenix dactylifera L* "variété Tolga".

La teneur phénolique totale a été déterminée avec le dosage de Folin-Ciocalteu. Les activités antioxydantes ont été mesurées par détermination spectrophotométrique du glutathion à partir de l'homogénat du foie. Le balayage des radicaux DPPH et le dosage du FRAP ont également été utilisés pour déterminer le pouvoir antioxydant de *Phoenix dactylifera* variété Tolga in vitro. Le potentiel immunostimulant de l'extrait végétal sur l'activité phagocytaire a été mesuré par le test du taux de clairance du carbone.

Nos résultats obtenus dans cette étude ont montré que IC<sub>50</sub> DPPH et IC<sub>50</sub> FRAP de l'extrait de *Phoenix dactylifera L* variété de Tolga étaient respectivement de 152,16 mg / ml et 92,12 mg / ml. Le contenu phénolique total était de 105,13 µg / ml d'acide gallique / ml de l'extrait. Le phagocyte a été augmenté de manière significative chez les animaux injectés avec l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga de à des doses (50,150 et 200 mg / kg) P <0,05. Le taux de clairance du carbone a été significativement plus rapide lors de la concentration de 200 mg / kg lorsqu'il est comparé aux deux concentrations 50 et 150 mg / kg (P <0,05), mais la libération du GSH du foie est significativement plus élevée à la concentration de 50 Mg / kg lorsqu'il est comparé aux deux concentrations 150 et 200 mg / kg (P <0,05).

La quantité de phénols dans cet extrait était très élevée. Un résultat positif a été observé entre le potentiel d'activités antioxydantes in vitro et les niveaux phénoliques totaux des extraits. L'extrait de *Phoenix dactylifera L* variété de Tolga a révélé un effet immunostimulant sur et une activité anti-oxydante in vivo avec un effet plus élevé par l'administration De 50 mg / kg.

## Mots-clés:

*Phoenix dactylifera L* "variété Tolga", phénols totaux, DPPH, FRAP, activité immunostimulatoire, taux de dégagement de carbone, glutathion.

# Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant "ALLAH" qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Mes remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté de la science de la nature et la vie et science exactes pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Je tiens à remercier **Pr DJABRI Belgacem** pour l'honneur qu'il me fait pour présider mon jury de Master, merci encore pour vous.

Je remercie chaleureusement **Dr TALEB Salima** qui a accepté d'examiner mon mémoire de Master d'en être le rapporteur.

Je tiens à témoigner mes sincères remerciements à **Dr KEHILI Housseem Eddine** et **Pr KAABOUCHE Zahia** qui ont contribué de près au bon déroulement de mon stage de fin d'étude et à l'élaboration de ce travail.

Je remercie vivement mon encadreuse **Melle FARHI Selma**, pour l'honneur qui m'a prodigué pour mener ce travail de recherche ; qu'il trouve ici ma gratitude, mon respect et ma reconnaissance.

Je tiens à remercier le personnel de laboratoire de chimie d'université de Tébessa spécialement **Dr BOUDIBA Sameh** pour son aide et sa serviabilité, merci infiniment.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement le personnel responsable des laboratoires pédagogiques de notre département pour leur disponibilité, son aide et ses conseils, merci beaucoup.

Mes vifs remerciements à **Melle SBIKI HOUDA** pour son aide, son soutien moral et son amitié parfaite ; merci beaucoup et j'ai l'honneur de connaître une personne comme vous.

Je remercie également *ma chère famille* surtout ma chère maman pour leur amour, leur soutien et leur disponibilité, que le bon dieu vous garde et vous protège.

J'envoie un remerciement très spécial mon amie **Amina** pour son aide, son humeur pendant toute cette période et je le souhaite la bonne chance, et le bon courage, merci beaucoup.

J'adresse mes vifs remerciements à **mes frères** leur humeur, leur disponibilité à tout moment, merci et que le bon dieu vous donne la santé et la joie.

Tous mes sincères remerciements à ceux qui ont directement contribué à ce travail de master : mes chers amis **Zaki, Zaid, Maroua, Amina, Yasmine, Kadair** nous avons partagé tous cette année avec des moments de bonheur et de joie.

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste abréviation

Introduction

## Partie 01 : Recherche bibliographique

I- Le système immunitaire.....	2
I-1- Description générale.....	2
I-2 Les cellules du système immunitaire .....	2
I-2-1 les lymphocytes T et B.....	2
I-2-2 Les granulocytes.....	3
I-2-3Les monocytes/macrophages.....	3
I-2-4 Les cytokines.....	3
I-2-5 Les anticorps.....	4
I-3 Immunomodulation.....	4
I-3-1 Classification des immunomodulateurs.....	4
Adjuvants immunitaires.....	5
Immunostimulants:.....	5
Immunosuppresseurs.....	5
I-4 Pharmacologie des plantes immunomodulatrices.....	5
II-Le stress oxydant.....	6
II-1 Définition.....	6
II-2 Origine du stress oxydant.....	6
II-3 Les radicaux libres.....	7
II-4 Origine des radicaux libres.....	7
II-5 Les antioxydants.....	7
II-5-1- définition.....	7
II-5-2- sources des antioxydants .....	7

II-5- 3- origine des antioxydants.....	8
A- Antioxydant synthétiques.....	8
B-Antioxydant naturels.....	8
1-La vitamine E.....	8
2-Les Caroténoïdes.....	8
3-La vitamine C.....	9
4-l'acide alphasalicylique.....	9
5-Les composés phénoliques.....	9
III- La plante.....	10
III-1 Classification.....	11
III-2 Distribution.....	11
III-3 Composition biochimique.....	11
III-4Phytothérapies des fruits dattier .....	13

## **Partie 02 : Matériel et méthodes**

I-Matériel et méthodes .....	15
I-1- Récolte des dattes.....	15
I-2-Préparation de l'extrait.....	15
II - Expérience in vitro.....	16
II-1- Dosage des polyphénols totaux.....	16
II-2- Test piégeage DPPH.....	17
II-3- Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power).....	18
III - Expérience in-vivo .....	20
III-1 Animaux.....	20
III-2 Traitement des souris.....	21
III-3 Prélèvement sanguin et organe.....	22
III-4- Activité phagocytaire.....	23
III-5- Dosage du glutathion réduit.....	23
III -5-1- Préparation de l'homogénat.....	24
III- 5 - 2 Dosage des protéines tissulaires.....	24
III-5-3-1- méthode de dosage du glutathion.....	25



III-6- Analyses statistiques..... 26

## Partie 03 : Résultats et discussions

Résultats et discussions ..... 28

I-Résultat in vitro..... 28

I-1 Teneur en polyphénols totaux..... 28

I-2-L'activité du piégeage du radical DPPH..... 28

I-3 Réduction de fer (FRAP)..... 29

II- Résultat in vivo : Evaluation de l'activité immunomodulatrice d'extrait..... 30

II-1L'indice phagocytaire (K) ..... 30

II-2 L'indice phagocytaire corrigée  $\alpha$ ..... 31

II-3 Taux de clairance du carbone  $\frac{1}{2}$ ..... 32

II-4 Valeurs de glutathion réduites GSH..... 33

Discussion..... 34

### Conclusion et perspectives

### Annexes

**Liste des Tableaux**

<b>Tableaux N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Classification botanique du palmier dattier, Phoenix dactylifera	11
2	Composition alimentaire des souris pour 1 kg de nourriture	21

## Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
1	fonctionnement de l'immunité induite par un antigène détecté	2
2	Différents effets biologiques des anticorps	4
3	Palmier dattier, <i>Phoenix dactylifera</i> L	10
4	Fruits des dattes de <i>Phonex dactylifera</i> variété de TOLGA	15
5	Dosage des polyphénols totaux	16
6	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	17
7	Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)	17
8	Réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	19
9	Test de la réduction du fer FRAP	19
10	Souris blanches mâles ( <i>MusMusculus</i> )	20
11	Méthode de traitement par injection intra péritonéale avec différentes concentrations de l'extrait des dattes de <i>Phoenix dactylifera</i> variété de Tolga	22
12	Méthode d'injection de carbone a travers la veine de la queue.	22
13	Prélèvement du sang et les organes	23
14	préparation de homogénat	24
15	courbe d'étalonnage des protéines tissulaires	25
16	Dosage du glutathion	26
17	Graphique de l'IC50 de l'extrait de <i>Phoenix dactylifera</i> .L variété de (TOLGA)	28
18	Pouvoir réducteur de L'extrait de <i>Phoenix dactylifera</i> .L variété de (TOLGA)	29
19	Effet de l'extrait de <i>Phoenix dactylifera</i> .L sur l'activité phagocytaire	30
20	Effet de l'extrait de <i>Phoenix dactylifera</i> .L sur l'indice phagocytaire corrigée $\alpha$	31
21	Eeffet de l'extrait de <i>Phoenix dactylifera</i> .L sur taux de clairance du carbone $\frac{1}{2}$	32
22	Eeffet de <i>Phoenix dactylifera</i> .L sur les Valeurs de glutathion réduites	33

## Liste d'abréviation

**CSF** : colony stimulating factors

**ERO**: Les espèces oxygénées réactives

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**RLO** : radicaux libres dérivés de l'oxygène

**BHA** : hydroxyanisole butylé

**BHT** : hydroxytoluène butylé

**PG** : gallate de propyle

**TBHQ** : hydroquinone de tert-butyle

**A $\beta$** :  $\beta$ -amyloïde

**LDL**: Low Density Lipoprotein

**MS** : matière sèche

**GSH** : glutathion réduit

**SH** : groupe actif thiol

**DPPH** :  $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle

**AAR%** : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

**Abs**: Absorbance

**FRAP**: Ferric reducing-antioxidant power

**PH** : potentiel hydrogène

**i.p** : injection intra péritonéale

**CI50** : concentration permettant l'inhibition de 50%

**SRE** : système réticulo-endothélial

**TBS** : Tert-butyldiméthylsilyle

## Liste d'abréviation

---

**DTNB** : l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque

**EDTA** : acide éthylène-diamine-tétraacétique acide édétique

**DO** : Densité optique

**SPSS**: Statistical Package for the Social Sciences

**DFC**: extracted from the five studied date cultivars

**CFU-GM**: colony forminge unit – granulocyte monocyte

**Abs**: Absorbance

**NADPH** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**UV** : ultraviolet

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : ferricyanure de potassium

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique

**NaCl** : chlorure de sodium

**BBC** : bleu de coomassie

# *Introduction*



## Introduction

Les immunostimulants ont été connus pour soutenir les fonctions de cellules T, activer les macrophages, les granulocytes, le complément et les cellules tueuses naturelles, en plus d'affecter la production de différents effecteurs moléculaires générées par cellules activées (**Wagner et al., 2003**).

On s'attend à ce que les effets non spécifiques des extraits végétaux offrent une protection contre différents agents pathogènes, y compris les bactéries, les champignons, et les virus et constituent une alternative aux produits conventionnels chimiothérapie (**Atal et al., 1986**). La thérapie immunostimulante est maintenant reconnue comme alternative à la chimiothérapie conventionnelle pour une variété de maladies, impliquant des troubles de l'immunité réponse de l'hôte (**Upadhaya, 1997**). L'immunostimulation est également indiqué pour combattre l'immunosuppression et inefficacement système immunitaire fonctionnant, se manifestant par exemple par une réduction résistance aux maladies infectieuses, qui peut être la conséquence d'infections graves, physiques et psychologiques, le stress, l'alcoolisme, les dommages environnementaux tels que les pesticides, une chimiothérapie excessivement appliquée ou un traitement à long terme avec médicaments immunosuppresseurs (**Wagner, 1990**). Le système réticulo-endothélial se compose des cellules phagocytaires telles que les monocytes et les macrophages qui tuent l'organisme en vahisseur par phagocytose (**Sunitil et al., 2011**). Des nombreuses études épidémiologiques ont démontré les effets bénéfiques d'un régime riche en fruit et légumes, ces effets pourraient être en partie dus aux micro-constituants (caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines, minéraux, etc) contenues dans ces produits (**Chanforan, 2010**).

On sait que les antioxydants naturels des plantes telles que les polyphénols jouent un rôle important dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs et par conséquent induire des activités anticancéreuses, y compris la proapoptoté, l'ADN en dommageant effets antiangiogènes et immunostimulateurs (**Leong et al., 2010**). Le glutathion (L-g-glutamyl-L-cysteinylglycine) est le principal thiol non protéique impliqué dans la défense cellulaire antioxydante. Il s'agit d'un tripeptide composé de cystéine, d'acide glutamique et de glycine, et son groupe actif est représenté par le thiol (-SH) du résidu de cystéine. Le glutathion est une molécule omniprésente produite dans tous les organes, en particulier dans le foie (**Pastore et al., 2003**).

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle important dans beaucoup de processus biologiques tels que réduction-oxydation intracellulaire, les cycles métaboliques, le transport, la synthèse des protéines, le catabolisme et le métabolisme (**Ensafia et al., 2013**).

Les fruits des dattes (*Phoenix dactylifera*) sont communément consommés dans de nombreuses régions du monde, en particulier les pays arabes. Les fruits dattiers sont utilisés comme éléments nutritifs tandis que les grains de pollen utilisé dans le traitement de l'infertilité (**Mohamed et Al-Okbi, 2004**).

Les médicaments traditionnels, nous prenons de l'importance et nous étudions aujourd'hui pour trouver les bases scientifiques de leurs actions thérapeutiques. L'utilisation de plantes à base médicamenteuse dans la médecine est devenue de plus en plus populaire dans le monde, en particulier dans les pays asiatiques et africains. Les différentes parties de *Phoenix a dactylifère* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de divers troubles qui incluent des troubles de la mémoire, de la fièvre et inflammation (**Abedi et al., 2012**).

L'objectif de notre étude était d'évaluer *in vivo et in vitro* respectivement, les propriétés immunostimulantes et antioxydante, doser les polyphénols totaux et dépister le pouvoir réducteur des ions de fer et piégeage des radicaux libres DPPH de l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de TOLGA.

Dans le but de réaliser notre travail ; nous avons suivis un plans du travail

## **Ce travail comporte trois parties :**

1. Analyses bibliographique comprend :
  - Le système immunitaire
  - Le stress oxydant
  - La plante
2. Description du matériel et méthodes suivis pour atteindre nos buts.
3. Présentation de nos résultats obtenus et leurs discussions.



A photograph of a stack of several old, yellowed books. A pair of glasses is resting on the top book. The image is tilted slightly to the right.

*REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE*

## I- Le système immunitaire

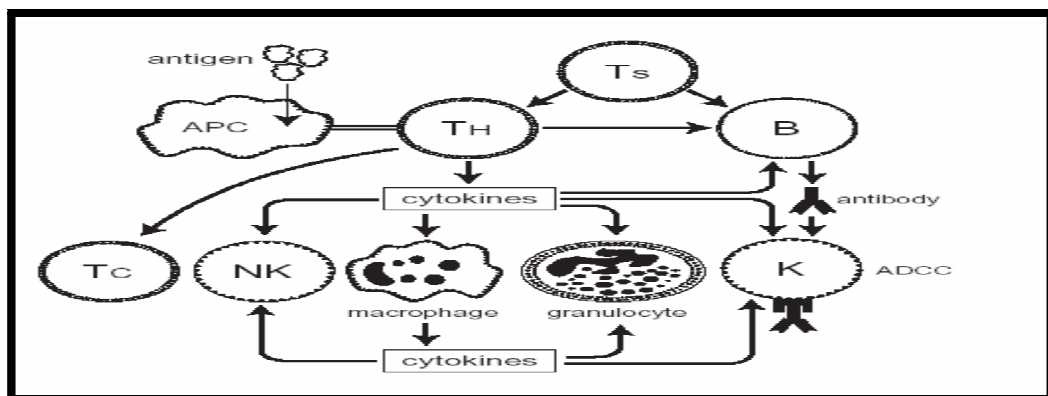
### I-1- Description générale

Le système immunitaire s'est développé au cours de l'évolution des espèces par nombreuses interaction hôtes-agents infectieux. Il contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme hôte en éliminant les constituants étrangers (virus, bactéries et d'autres microorganismes, greffes, allergènes) et les constituants du soi modifiés. Il assure cette fonction en étroite relation avec les autres systèmes physiologiques, notamment les systèmes nerveux et endocrinienne, avec lesquels il communique par l'intermédiaire de médiateurs solubles, (neurotransmetteurs, hormones, cytokines) et récepteurs spécifique communs à ces systèmes. Par conséquent, plusieurs composantes du système immunitaire et des éléments de réponse aux agressions sont couramment utilisées en médecine comme bio- indicateurs de l'organismes entier (Kouassiet *al.*, 2003).

### I-2 Cellules du système immunitaire

#### I-2-1 Lymphocytes T et B

Les lymphocytes T constituent une population très hétérogène, notamment quant à leur fonction puisque les uns assurent la régulation de réponse immunitaire (lymphocytes T auxiliaires ou helpers ; lymphocytes T suppresseurs) ; tant dit que d'autre sont les acteurs de l'immunité à médiation cellulaire (lymphocytes T cytotoxique, lymphocytes T sécréteurs de cytokines). Lymphocytes B semblent moins mobile que lymphocytes T il se trouve dans les zones non thymo-dépendantes des organes lymphoïdes, sous l'influence d'une stimulation antigénique, ils sont caractérisés par la présence à leur surface d'immunoglobulines de type IgM et IgD (Philippe, 2007).



**Figure1 : Fonctionnement de l'immunité induite par un antigène détecté (Kidd2003).**

## **I-2-2 Les granulocytes**

Les granulocytes sont des globules blancs majoritaires du sang. On distingue trois types de granulocytes différents par leur granulation interne et par leur fonctionnement, les éosinophiles, les basophiles et les neutrophiles. Les granulocytes ont un rôle central dans l'immunité innée particulièrement dans la défense antibactérienne (**Rinaldi et al., 2007**).

## **I-2-3 Les monocytes/macrophages**

En immunologie, on appelle communément macrophages toutes ces cellules du système phagocytaire mononucléé. En fait, ce terme est partiellement impropre puisque, en dehors de particule d'assez grandes tailles absorbées par phagocytose, ces cellules peuvent aussi absorber des antigènes de très petite dimension par pinocytose. Ces macrophages proviennent de la différenciation dans la moelle hématopoïétique, d'un précurseur cellulaire commun aux lignées monocytaires et granulocytaires appelé CFU-GM (pour colony forming unit – granulocyte monocyte), sous l'influence de facteurs dénommés colony stimulant factors (CSF), cette cellule souche donne naissance à des monoblastes, qui se transforment en pro-monocytes, puis en monocytes qui passent alors dans le sang circulant; ces monocytes se différencient en macrophages après avoir migré dans différents tissus correspondant au système réticulo-histiocytaire (**Philippe, 2007**).

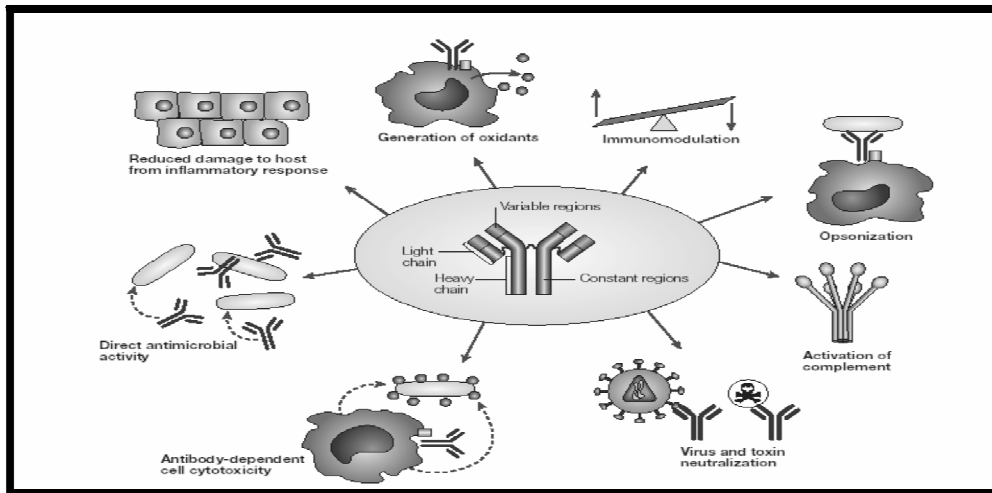
## **I-2-4 Les cytokines**

Les cytokines sont de petites molécules, secrétées par les cellules en réponse à un stimulus, elles peuvent produire un effet dans la cellule qui produit et sont très importantes à la signalisation entre les cellules; chaque cytokine produit souvent plusieurs effets biologiques, plusieurs variétés de cellules libèrent des cytokines mais chaque type libère seulement certaines de ces molécules (**Peter et al., 2001**).

En groupe les cytokines induisent la croissance, la différenciation, le chimiotactisme, l'activation et ou l'augmentation de la cytotoxicité, de plus il n'est pas rare que certaines cytokines ayant les mêmes activités alors que d'autres ayant des activités opposées soient libérées par un stimulus particulier, ainsi l'effet biologique résultant est la somme de toutes ces activités (**Peter et al., 2001**).

## **I-2-5 Les anticorps**

Les anticorps sont des glycoprotéines qui se lient aux antigènes ayant une spécificité et une affinité élevées (ils se tiennent très serrés), ces molécules ont d'abord été identifiées dans le sérum et sont également appelées « immunoglobulines » ce terme est utilisé alternativement avec le terme « anticorps », chez l'Homme il existe cinq classes d'anticorps (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) (**Peter et al., 2001**).



**Figure 2: Différents effets biologiques des anticorps (Casadevall et al., 2004).**

### I-3 Immunomodulation

Il peut être définie comme une substance biologiques ou synthétiques, qui peuvent stimuler, supprimer ou moduler tout système immunitaire, y compris les innés et adaptatifs de la réponse immunitaire (Sharma et al., 2011).

#### I-3-1 Classification des immunomodulateurs

En clinique les immunomodulateurs peuvent être divisé en trois catégories :

**Adjuvants immunitaires :** Ces agents sont utilisés pour améliorer l'efficacité des vaccins et par conséquent, pourraient être Stimulants immunitaires spécifiques (Agarwal et Singh, 1999).

L'un des exemples les plus connus est l'adjuvant de Freund (Billia et Matthys, 1999) ; les immunoadjuvants tiennent la promesse d'être les véritables modulatrices réponses. Ils sont proposé de les exploiter pour choisir entre cellulaire et humoral, Th1 (cellules T1 auxiliaires) et Th2, immunoprotecteur, immunodestructeur, (IgE) par rapport à l'immunoglobine G (IgG), ce qui pose un réel défi pour les concepteurs de vaccins (Agarwal et Singh 1999).

**Immunostimulants:** Selon la définition, ces agents sont intrinsèquement de nature non spécifique, renforçant la résistance du corps contre l'infection (Sharma et al., 2011).

Ils peuvent agir par une réponse immunitaire innée et par une réponse immunitaire adaptative (Sharma et al., 2011).

Chez les individus en bonne santé, les immunostimulants devraient servir de prophylaxie et des agents promoteurs, c'est-à-dire des immunopotentiateurs en augmentant le niveau bas de réponse immunitaire et chez l'individu présentant une altération de la réponse immunitaire en tant qu'agents immuno-thérapeutiques (Sharma et al., 2011).

**Immunosuppresseurs :** Il s'agit d'une structure et groupe hétérogène fonctionnellement hétérogène, qui souvent administrés concomitamment en combinaison pour traiter les rejets de greffes d'organes et maladies auto-immunes (**El-Sheikh, 2006**).

### **I-4 Pharmacologie des plantes immunomodulatrices**

Il existe un besoin excessif de comprendre le profil immunologique, l'administration et le dosage du médicament à base de plantes, étant donné que les doses élevées tendent à être immunosuppressives des faibles doses de celles-ci tendent à devenir immunostimulatrices. Enfin, il convient de noter que la plupart des modèles *in vitro* ou *in vivo* ne sont pas suffisants ou ne sont pas assez simples pour assurer une étude réaliste sur un médicament (**Sharma et al., 2011**).

De nombreux phytoconstituants provenant de plantes comme les polysaccharides sont considérés comme des modificateurs de la réponse biologique et on a signalé qu'ils augmentent diverses réponses immunitaires, telles que l'activation du complément, la prolifération des lymphocytes et la stimulation des macrophages (**Sharma et al., 2011**).

Les activités immunopharmacologiques des composés phénoliques sont toujours complexes et ne sont pas vraiment compris. Les résultats *in-vitro* ne concordent pas toujours avec les observations *in-vivo* (**Sharma et al., 2011**).

De plus, les effets des différents flavonoïdes peuvent être antagoniste; dans certains cas, ils sont immunosuppresseurs et dans d'autres, immunostimulateurs. Nombreux flavonoïdes ont influencé la fonction des enzymes systèmes qui sont impliqués de façon critique dans certaines réponses et dans la génération de processus immunitaire, en particulier dans la transduction de signaux d'activation (**Tanaka et al., 1999 ; Chopra ; et al., 1958**).

## II-Le stress oxydant

### II-1 Définition

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire. lorsque des espèces réactives de l'oxygène (ERO) commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense anti-oxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamine E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, et des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines (**Barouki , 2006 ; Finkel , 2003 ; Delattre et al.,2005** ) .

Dans un premier temps, la cellule ne modifie pas ses propriétés biologiques. Siles ERO continuent à s'accumuler, une adaptation plus consistante de la cellule est nécessaire avec l'induction de gènes codant des enzymes anti-oxydantes, des protéines chaperons, des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN et des protéines. On observe aussi une répression des systèmes susceptibles de libérer des ERO, notamment la chaîne respiratoire, les cytochromes P450 et la NADPH oxydase (**Barouki et Morel, 1999 et 2001 ; Barouki, 2006**).

### II-2 Origine du stress oxydant

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité, comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (**Alain, 2003**).

## II-3 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électrons à partir d'un composé non radical. (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

## II-4 Origine des radicaux libres

Le métabolisme cellulaire produit à l'état physiologique plusieurs variétés de RLO (**Origine des radicaux libres**). Dans certaines conditions pathologiques, ces RLO peuvent être modulés qualitativement et quantitativement (**Afonso et al., 2007**) et (**Halliwell et Gutteridge, 1990**).

Tous les RLO ne sont pas extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant une à une autre molécule : ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants.

En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

## II-5 Les antioxydants

### II-5-1- définition

Les antioxydants ont été définis comme des substances capables de concurrencer d'autres substrats oxydables à des concentrations relativement basses et donc de retarder ou d'empêcher l'oxydation de ces substrats (**Afonso et al., 2007**).

### II-5-2- sources des antioxydants

On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydants (**Hozawa et al., 2007**).

## II-6- 3- origine des antioxydants

Les antioxydants sont classés dans deux catégories :

- Les antioxydants synthétiques
- Les antioxydants naturels

### A- Antioxydant synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que L'hydrox yanisole butylé (BHA), l'hydroxy toluène butylé (BHT), le gallate de propyle (PG) et l'hydroquinone de tert-butyle (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. leur sécurité pose toujours un problème cependant leurs innocuités et leurs sécurité pose toujours un problème sont fortement discutés, ainsi que le besoin de rechercher des matériaux surs proviennent des sources naturelles (**Wang et al ., 2003** ) .

### B-Antioxydant naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in-vivo* ont été proposé. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant la perméabilité et elles ont également une capacité de piéger les acides gras libres (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

### 1-La vitamine E

C'est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose. La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ), d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E. Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus bioactive que la vitamine E synthétique (**Burton et Ingold, 1986**).

### 2-Les Caroténoïdes

Sont une classe de composés phytochimiques très importante, trouvés dans les légumes et fruits, également dans le lait, empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication, empêchent l'expression des oncogènes, augmentent l'activité de communication des gap jonctions. Les exemples de caroténoïdes, incluent l'alpha-carotène, bêta-carotène, lycopène, phytofluène, phytoène, lutéine, neoxanthine, viloxanthine, anthéroxanthine, alpha cryptoxanthine et bêta cryptoxanthine. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singlet. Les



caroténoïdes sont impliqués dans la prévention de nombreux types de cancer ; cancer de prostate ; cancer du poumon (**Perez et al., 2005**).

### **3-La vitamine C**

C'est largement répandu dans les fruits, l'influence sur les dégâts protéiques a été examinée dans des études d'apports de suppléments, principalement sur des modèles de rats et il y a eu quelques essais chez l'homme (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

### **4-l'acide alphalipoïque**

Fut identifié comme vitamine. Il a depuis été reclassé comme antioxydant et peut piéger les radicaux libres aux niveaux intracellulaire et extracellulaire. Du fait qu'il est aussi bien liposoluble qu'hydrosoluble, il peut accéder à toutes les parties de nos cellules. L'acide lipoïque réduit la glycation et favorise le transfert du glucose sanguin aux cellules en stimulant l'activité insulinique (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

### **5-Les composés phénoliques**

Leur prise a été largement rapportée pour protéger contre le développement de maladies coronariennes. De nombreuses preuves existent montrant que les composés phénoliques peuvent prévenir l'oxydation des LDL (**Koechlin et Ramonatxo, 2006**).

### III- La plante

Le nom botanique du palmier dattier, *Phoenix dactylifera L.*, est vraisemblablement dérivé d'un nom phénicien «phénix», qui signifie datte et «dactylifera» dérivé d'un mot grec «daktulos» signifiant un doigt illustrant la forme du fruit (**Linné, 1734**).

Une autre source renvoie ce nom botanique à l'oiseau égyptien légendaire "Phoenix", qui a vécu jusqu'à 500 ans, et s'est jeté dans un feu dont il a augmenté avec une croissance renouvelée (**Plin, 1489 et Van Zyl, 1983**). Cette ressemblance avec la paume de la datte, qui peut également se reproduire après des dégâts de feu, fait que l'oiseau et le palmier de datte partagent ce nom, tandis que «dactylifera» provient du mot hébreu «dachel» qui décrit la forme du fruit (**Popenoe, 1938**).



**Figure 3 : Palmier dattier, Phoenix dactylifera L**

### III-1 Classification

**Tableau 1:** Classification botanique du palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L selon (Linné, 1734)

<b>Subdivision</b>	<b>Spermatophytina</b>
<b>Classe</b>	<b>Magnoliopsida</b>
<b>Sur ordre</b>	<b>Lilianaes (monocotyledons)</b>
<b>ordre</b>	<b>Arecales</b>
<b>Famille</b>	<b>Arecaceae</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Phoenix</i></b>
<b>Espec</b>	<b><i>Phoenix dactylifera</i> .L</b>

### III-2 Distribution

Appartenant aux Angiosperms-Monocotylédones, Palmaceae est une famille d'environ 200 genres et 1 500 espèces (Dowson, 1982). *Phoenix* (Coryphoideae Phoeniceae) est l'un des genres qui contient une douzaine d'espèces, toutes originaires des régions tropicales ou subtropicales d'Afrique ou d'Asie du Sud, y compris *Phoenix dactylifera* L. (Munier, 1973). Selon Dransfield et Uhl (1986), le palmier dattier est classé comme suit: pays méditerranéens, Afrique et une partie de l'Asie; Introduit en Amérique du Nord et en Australie.

### III-3 Composition biochimique

La teneur en eau est en fonction des variétés, stade de maturation et du climat (Matallah., 1970). Selon Booij et al., 1992, l'humidité décroît des stades verts aux stades murs. D'après MUNIER (1973) ; la teneur en eau varie d'une classe à une autre, les dattes de consistances molles ont une humidité supérieure à 20%, par contre les dattes sèches ont une humidité inférieure à 20% et les dattes de consistance demi-molles ont une humidité variant entre 20-30%.

Les sucres sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement trois types : saccharose, fructose et glucose (Estanove, 1990; Acourene et Tama, 1997).

Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol (Favier et al., 1993; Siboukeur, 1997). La teneur en sucres totaux est très variable, elle dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 70 et 90 % du poids et de la matière sèche (Belguedj, 2001).

Les fibres : La datte est riche en fibres, elle en apporte 8.1 à 12.7 % du poids sec, (Al-Shahib et Marshall, 2002). Selon Benchabane (1996), les constituants pariétaux de la datte

sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les dattes fines, comme la Deglet-Nour, ne contiennent qu'une faible proportion en cette substance, mais des proportions plus élevées atteignant parfois plus de 10 % dans le cas des dattes communes particulièrement fibreuses (**Munier, 1973**).

**Les protéines** : Les dattes présentent des teneurs faibles en composés protidiques, généralement moins de 3% (MS). La pulpe des variétés algériennes renferme une faible quantité de protéines variant entre 0.38 et 2.5% (**Noui 2007**). **Favier et al., (1993)** ont noté la présence des acides aminés suivants dans la datte: Isoleucine, Leucine, Lysine, Méthionine, Cystine, Phénylalanine, Tyrosine, Thréonine, Tryptophane, Valine, Arginine, Histidine, Alanine, Acide aspartique, Acide glutamique, Glycocolle, Proline, Sérine.

**Les acides gras** : La datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais. Cette teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation. **Yahiaoui (1998)** a étudié la composition en acides gras qui se trouvent dans la variété DegletNour, celle-ci est comprise entre 7 et 13% (**Djouab, 2007**).

**Les minéraux** : La caractéristique la plus remarquable des dattes réside dans la présence de minéraux et d'oligoéléments particulièrement abondants dépassant nettement les autres fruits secs (**Benchelah et Maka, 2008**).

**Les vitamines** : La pulpe de dattes contient des vitamines en quantités variables avec les types de dattes et leur provenance. En général, elle contient des caroténoïdes et des vitamines du groupe B en quantités appréciables, mais peu de vitamine C (**Munier, 1973**).

**Les composés phénoliques** : La datte renferme des métabolites secondaires dites composés phénoliques. L'analyse qualitative des composés phénoliques de la datte a révélé la présence des acides cinnamiques, des flavones, des flavanones et des flavonols (**Mansouri et al., 2005**). Selon **Henk et al., (2003)**, les polyphénols jouent un rôle important dans le corps : ils ont des effets anti-inflammatoires, antioxydants, abaissent la tension artérielle et renforcent le système immunitaire.....etc. **constituants mineurs** : Bien que 95% des constituants sont cités ci-dessus, il existe d'autres composés sous forme de traces tels que : -les acides organiques : l'acide citrique, l'acide malique.....

**Les substances volatiles** : l'éthanol, l'isobutanol, l'isopentanol. **Les pigments** : les caroténoïdes, la chlorophylle..... (**Benchabane, 1996**).

### III-4Phytothérapies des fruits dattier

Propriétés biologiques du fruit de datte, celles-ci ont trait aux activités antioxydants, antibactériennes et médicinales qui restent fondamentalement complémentaires et parfois indissociables. Leur importance en ce qui concerne le fruit de datte est telle qu'elles suscitent un intérêt grandissant se matérialisant par de nombreuses publications inhérentes à des tests *in-vitro* et *in- vivo* ainsi qu'à la mise en évidence d'innombrables substances bioactives (**Vayalil, 2012**).

Le fruit de datte, incluant pulpe et noyau, est riche en antioxydants dont les polyphénols avec de concentrations pouvant atteindre plus de 6 mg/g de pulpe pour certaines variétés (**Wu et al., 2004**). Selon les conditions de culture, ces substances sont dotées d'un effet protecteur contre les radicaux libres souvent incriminés dans le stress oxydatif et le phénomène de vieillissement. Après consommation et métabolisation, ces molécules manifestent des impacts bénéfiques en termes d'effets antihyperlipidémique, hépatoprotecteur et neuroprotecteur (**Wan et Mohd, 2013**). (**Saafi, 2011**) a déjà démontré, par des tests sur des animaux de laboratoire, l'aptitude des extraits du fruit de datte à restaurer les dommages induits par le diméthoate (insecticide très répandu) sur le foie en s'appuyant sur quelques marqueurs comme l'inhibition de la peroxydation hépatique.

De plus, les activités antimutagènes (**Vayalil, 2012**) et anti-inflammatoires (**Rahmani et al., 2014**) du fruit de datte ont été aussi rapportées, lesquelles pourraient être liées à la présence du sélénium (**Al-Shahib et Marshall, 2003**) et du bore (**Ashraf et Hamidi, 2011**), minéraux auparavant évoqués par (**Brown et Arthur, 2001**) et (**Meacham et al., 2010**) en tant qu'agents précurseurs essentiels de ces activités. Notons que la perte de l'homéostasie qui s'établit dans la cellule est à l'origine du stress oxydatif (**Migdal et Serres, 2011**), lui-même inducteur des conditions d'apparition de maladies comme l'athérosclérose, l'hypertension, les maladies ischémiques et les inflammations (**Tiwari, 2001**).

Enfin le fruit dattier est peut être considéré comme un aliment fonctionnel (**Ninane et al., 2009**). Après avoir détecté dans des fruits des dattes tunisiens 80 composants volatils, dont un peu plus de la moitié non encore connus, (**El Arem et al., 2011**) suggèrent l'emploi de ces variétés comme ingrédients alimentaires fonctionnels.

*MATERIEL ET  
METHODES*



### I-Matériel et méthodes

Notre travail a pour objectif le dosage des phénols totaux, mesuré de l'activité antioxydante et les effets immunomodulateurs de l'extrait brut de *Phoenix dactylifera L* "variété Tolga".

La partie expérimentale à été réalisée dans la période 15 mars 2017 jusqu'à 01 mai 2017 à Université de Constantine 1, Département de chimie Laboratoire de recherche d'obtention de substances thérapeutiques, laboratoire de département de biologie appliqué et laboratoire de chimie Université de Larbi Tebessi .

#### I-1- Récolte des dattes

Les dattes sont récoltées en octobre, la récolte des dattes constitue une opération particulièrement importante qui détermine la qualité des fruits. En effet, les fruits récoltés d'une manière propre et adéquate permettent une grande économie de temps lors du nettoyage. Au contraire, Les dattes récoltées d'une manière impropre (souillées par le sable ou abîmées lors de la chute) entraînent un travail supplémentaire.

La collecte, la manutention et le transport des dattes lors de la récolte sont effectuées dans des corbeilles, Les dattes récoltées sont ensuite lavées, essuyées et conservées à température de réfrigération.



**Figure 4 : fruits des dattes de *Phoenix dactylifera* variété de TOLGA**

#### I-2-Préparation de l'extrait

1,5 g de dattes *Phoenix dactylifera* variété de TOLGA a été solubilisé avec 10 ml d'acétone (70%, 30%) et centrifugé à 1000 Tours / mn pendant 15 minutes. Ensuite, le surnageant a été récupéré et solubilisé une autre deux fois dans 10 ml d'acétone absolue. Le surnageant a été récupéré et évaporé à l'aide d'un rota vapeur pendant 45 min (dont le but d'éliminer

l'acétone). Enfin l'extrait mis en séchage et conservé dans des flacons stériles à 5 C° (Kehili, 2014).

### II - Expérience in vitro

#### II-1- Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait brut de datte *Phoenix dactylifera* variété de Tolga a été effectué par spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin - Cicalteu (Singleton et al., 1999).

Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin - Cicalteu consiste en une solution jaune acide (Ac) contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin - Cicalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro polyacides d'où la formation d'un complexe bleu (Daels, 1999).



**Figure 5 : Dosage des polyphénols totaux**

Dans un tube à essai, on introduit 200 µl de l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga, On ajoute 1 ml du réactif de Folin et 800 µl de la solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 7.5% (7.5g dans 100 ml) et bien agité à l'aide de Vortex. En suite les tubes sont stockés à l'obscurité et température ambiante (23±2 C°) pendant 1 heure, suit d'une heure à 0 C°.

L'absorbance est lue à 760 nm avec spectrophotomètre. Les résultats sont tous exprimés avec l'utilisation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique, qui a été préparé avec des points de 20 µg/ml à 60µg/ml avec R<sup>2</sup> = 0,996.



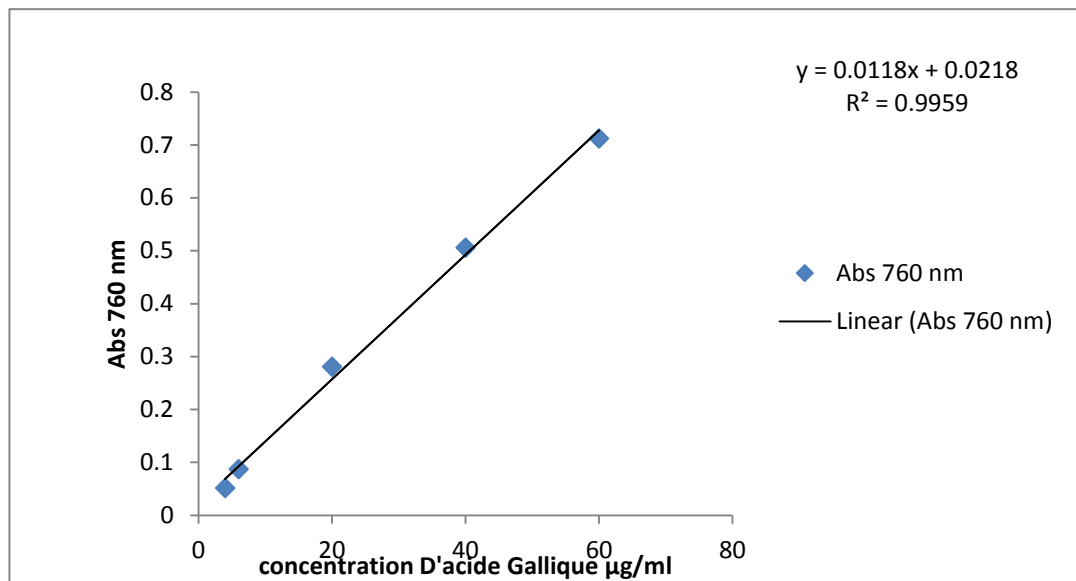


Figure 6: courbe d'étalonnage d'acide gallique

### II-2- Test piégeage DPPH

La réduction du radical libre DPPH° (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (MOLYNEUX, 2004) .

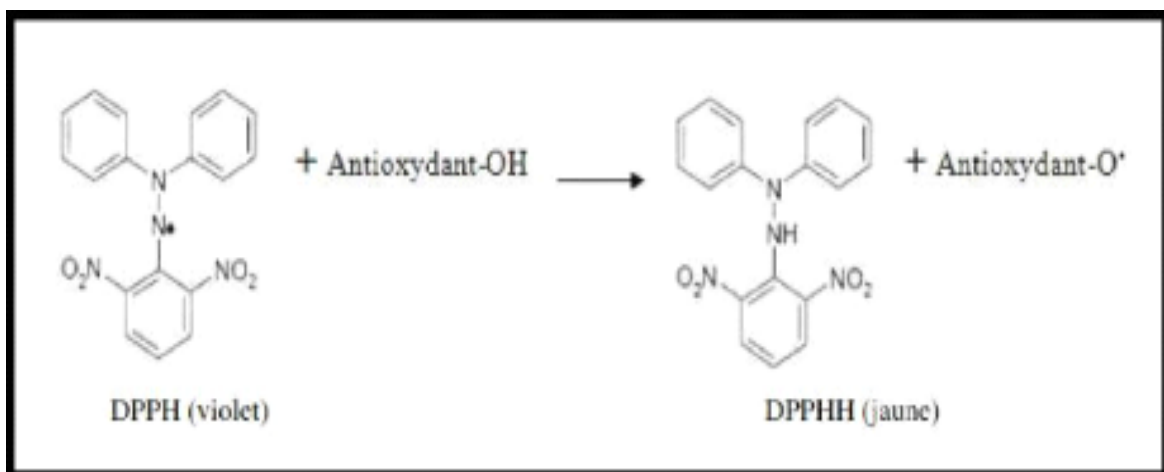


Figure 7 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012)

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par **LOPES-LUTZ et al. (2008)** (**Athmanea et al., 2010**). 50µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

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

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

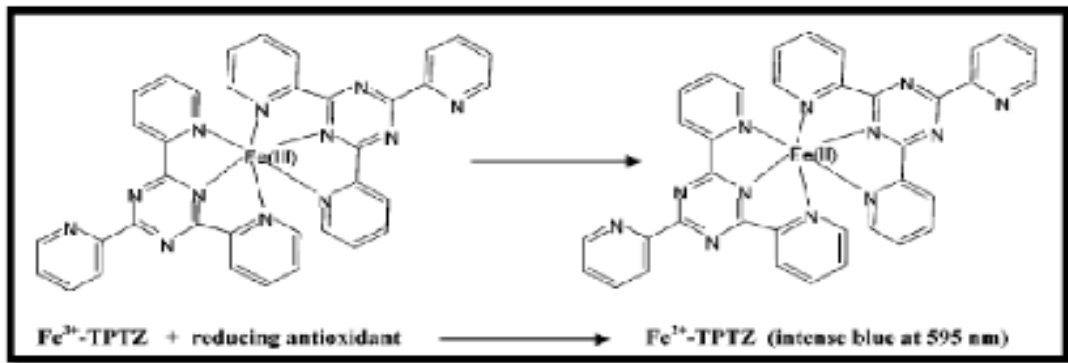
Abs : Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs : Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif (**Meddour, 2013**).

Cette manipulation est effectuée à différentes concentrations d'extraits étudiés, la trace d'une courbe de % d'inhibition en fonction de la concentration permet la détermination de la CI50, concentration permettant l'inhibition de 50% du radical DPPH.

### II-3- Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par (**Bougandoura, 2013**). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (**Ou et al., 2001**).



**Figure 8:** la réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (Prior et *al.*, 2005).

0,5 ml de l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5 mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Un aliquote (2,5 ml) de surnageant est combinée avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS).



**Figure 9 :** Test de la réduction du fer FRAP

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par la réaction suivant :

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = \frac{[(\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1)]}{\text{Abs}_1} \times 100$$

Pouvoir réducteur de fer (%) =  $[(\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1) / \text{Abs}_0] \times 100$ .

Abs : est l'absorbance de FeCl<sub>3</sub>.

Abs<sub>1</sub> : est l'absorbance de FeCl<sub>3</sub> solution en présence de l'extrait (**Ghasias *et al.*, 2008**).

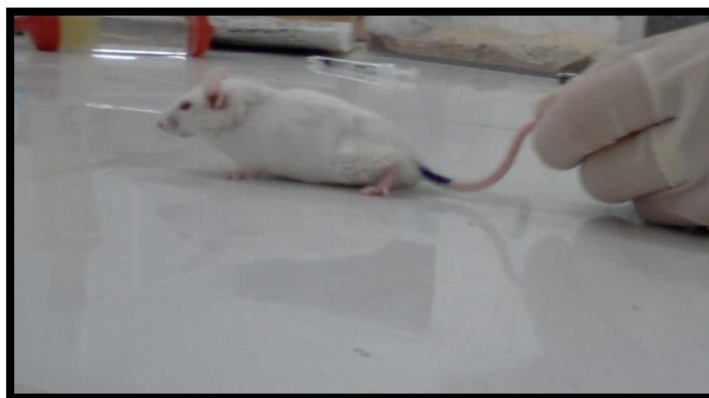
CI50 est calculée à partir d'une courbe de % de pouvoir réducteur de fer en fonction de la concentration des extraits utilisés.

### III - Expérience *in-vivo*

#### III-1 Animaux

le but du test *in vivo* est d'évaluer les propriétés immunostimulantes et antioxydant de l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de TOLGA.

L'expérience a été réalisée sur 20 souris mâles blanches (*MusMusculus*), (1 à 2 mois) pesant entre (22-28 g). Ils ont été utilisés pour la détermination de l'activité phagocytaire et dosage du glutathion. Tous les animaux étaient nés dans une animalerie à l'institut de pharmacie de Constantine, logés dans des cages avec un accès facile à l'eau et à l'alimentation quotidienne sachant que la Température de l'animalerie est de (25 °C). La composition du régime alimentaire est présentée au tableau 2



**Figure 10: Souris blanches mâles (*MusMusculus*).**

**Tableau 2 :** Composition alimentaire des souris pour 1 kg de nourriture

Composition alimentaire	Quantité en g / Kg de nourriture	Pourcentage (%)
<b>Blé</b>	620	62
<b>Soya</b>	260	26
<b>Phosphate</b>	16	1,6
<b>Calcaire</b>	9	0,9
<b>Cellulose</b>	10	1
<b>Minéraux</b>	10	1
<b>Vitamines</b>	10	1

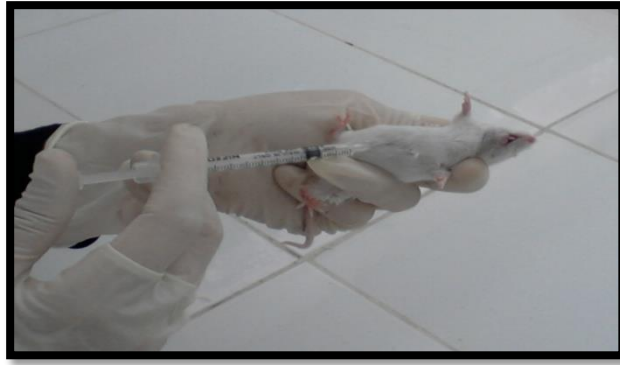
### III-2 Traitement des souris

Le but de traitement pour évaluer l'activité immunomodulatrice de l'extrait des dattes de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga a différentes concentrations

Après une période d'adaptation de 10 jours, nous avons commencé le traitement. Ces souris ont été répartis en quatre lots égaux à raison de 5 souris par lot, il s'agit:

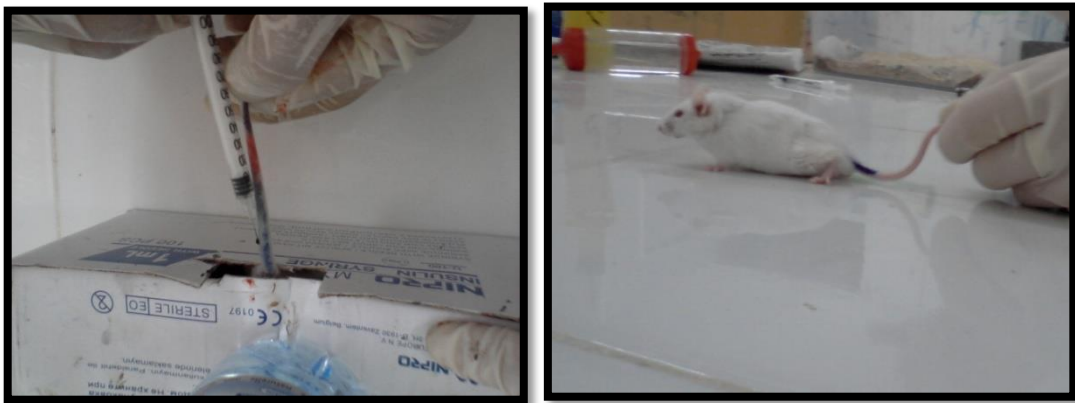
Le groupe **I** (Contrôle) a reçu 0,9% de NaCl (0,5ml/souris, injection intra péritonéale).

Les groupes **II, III Et IV** ont été administrés par injection intra péritonéale avec différentes concentrations de l'extrait des dattes de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga(50, 150 et 200 mg / kg) respectivement.



**Figure 11: Méthode de traitement par injection intra péritonéale avec différentes concentrations de l'extrait des dattes de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga**

Après 48 h d'injection intra péritonéale, les souris ont été administrées avec une suspension d'encre de chine à une dose de 0,1 ml / 10 g du poids de souris à travers la veine caudale. Le mélange consistait en encre au carbone noir 3 ml, solution saline 4 ml et solution à 3% de gélatine 4 ml (Kehili, 2014).



**Figure 12: Méthode d'injection de carbone a travers la veine de la queue.**

### III-3 Prélèvement sanguin et organe

Après 3 jours de traitement, le sang est prélevé pour mesurée l'activité phagocytaire du système réticulo-endothélial et les organes pour dosage de paramètres du stress oxydatif GSH (Kehili, 2014).



**Figure 13 : Prélèvement du sang et des organes**

Des échantillons de sang ( $\approx 14$  gouttes ou  $25 \mu\text{l}$ ) étaient alors retiré du plexus rétro-orbitaire à 5 et 15 minutes après Injection d'encre de carbone colloïdale par l'intermédiaire d'un capillaire de verre d'héparine et lysés dans une solution de carbonate de sodium à 0,1% (4 ml). La densité optique a été mesurée par spectrophotométrie à 676nm.

Le foie et la rate de chaque souris des groupes traités avec l'extrait des dattes de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga ont été pesés immédiatement.

Le prélèvement effectué à partir de la zone rétro-orbitaire parce qu'elle possède le haut débit sanguin.

### III-4- Activité phagocytaire

Le taux de clairance de carbone a été mesuré en utilisant la méthode de **Biozzi et al. (1953)**. Les souris ont été divisées en quatre groupes et réparties sur 4 lots.

L'activité phagocytaire est exprimée par l'indice phagocytaire  $K$  qui mesure tout la fonction du système réticulo-endothélial (SRE) dans le contact avec le sang circulant et par l'indice phagocytaire  $\alpha$  corrigé qui exprime cette activité par unité de poids d'organes actifs: foie et rate. Le taux de liquidation est exprimé comme la demi-vie de carbone dans le sang ( $t_{1/2}$ , min.). Ceux-ci sont calculés au moyen des équations suivantes (**Biozzi et al., 1970**).

$$K = \frac{\ln DO_1 - \ln DO_2}{T_2 - T_1}$$

$$\alpha = x = \sqrt[3]{K} \left( \frac{\text{Poids du corps}}{\text{Poids du foie} + \text{Poids de la rate}} \right)$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K}$$

### III-5- Dosage du glutathion réduit

Le taux de glutathion réduit dans le foie a été mesuré par spectrophotométrie en utilisant de l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) en tant qu'agent colorant, en suivant le procédé de la concentration du GSH sont mesurés par la méthode **Weckbecker et Cory(1988)**. La méthode d'analyse spectrophotométrique pour GSH implique l'Oxydation de GSH par le réactif sulfhydryle acide 5,5'-dithio-bis2-nitrobenzoïque (DTNB) pour former l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque dérivé jaune, mesurable à 412 nm.

#### III -5-1- Préparation de l'homogénat

Le poids de 0,5 g du foie a été homogénéisé dans 2 ml d'une solution tampon de TBS (Tri-butyl diméthylsilyle), Ensuite, les homogénats ont été centrifugés à 9000 tours / min pendant 15 minutes à 4 ° C, après le surnageant a été utilisé pour la détermination du glutathion réduit (GSH).



Figure 14: préparation de homogénat

#### III- 5 - 2 Dosage des protéines tissulaires

La concentration des protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide ortho-phosphorique, de l'éthanol ainsi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (NH<sub>2</sub>) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines (**Bradford, 1976**).



- Prélever 20µl de l'homogénat
- Ajouter 1 ml du réactif coloré (BBC).
- Agiter et laisser 5 min pour la stabilisation de couleur.
- Mesurer l'absorbance optique à 595nm contre un blanc contenant l'eau distillée à la place de l'homogénat. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage
- $R^2 = 0,9887$  /  $Y = 1,2923x + 0,0692$

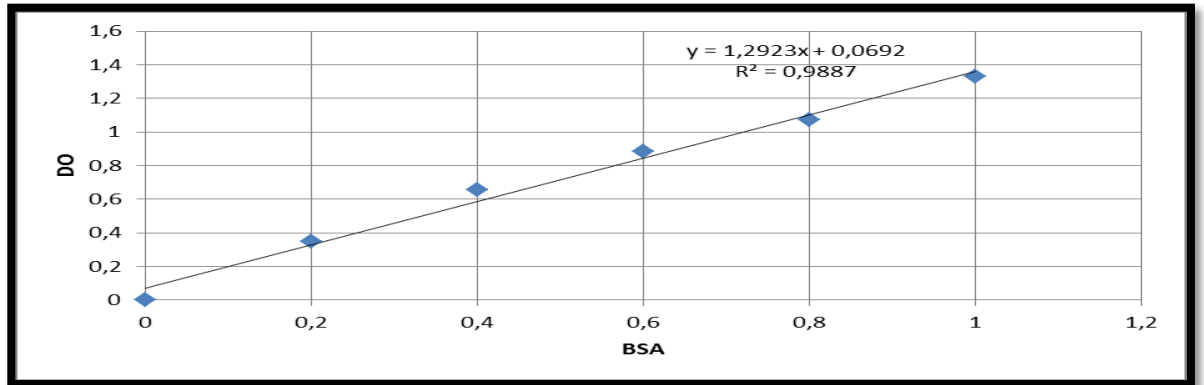


Figure 15 : courbe d'étalonnage des protéines tissulaires

### III-5-3-1- méthode de dosage du glutathion

L'échantillon d'homogénat de foie 0,8 ml a été déprotéiné avec 0,2 ml d'acide 5-sulfo salicylique Solution (0,25%) et a été laissé dans un bain de glace pendant 10 min. Après centrifugation à 1000Tours / mn, pendant 5 min pour éliminer la protéine précipite. 0,5 ml de surnageant a été mélangé avec 1 ml de tampon Tris / EDTA (pH = 9,6) et 0,025 ml de réactif DTNB (0,01 M 5,5'-dithio-bis2-Acide nitro benzoïque) et laissé à température ambiante pendant 5 min. Ensuite, l'absorption à 412 nm était mesurée par spectrophotomètre en comparant à la réaction en blanc. La concentration de glutathion a été obtenue en calculant directement les formules suivantes:

$$[GSH] = \frac{Abs \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg de pr t}} \text{ nM GSH \backslash mg pr t}$$

**Abs** : l'absorbance

**1** : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml SSA);

**1.525** : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant

(0.5 ml surnageant + 1 ml Tris –EDTA + 0.025 ml DTNB);

**13100** : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement –SH à 412 nm);

**0.8**: Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml;

**0.5** : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.



**Figure 16 : Dosage du glutathion**

### III-6- Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide de logiciel (SPSS), versions 20. Dans chaque essai, les données expérimentales représentent la moyenne  $\pm$  écarts-types. Les résultats ont été analysés pour déterminer les différences entre les groupes à travers les traitements alimentaires en utilisant le test ANOVA et le test de comparaison multiple de Tukey.

Les valeurs de P inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.



*RESULTATS ET  
DISCUSSIONS*

### Résultat

#### I-Résultat *in vitro*

##### I-1 Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux, nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau de l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA).

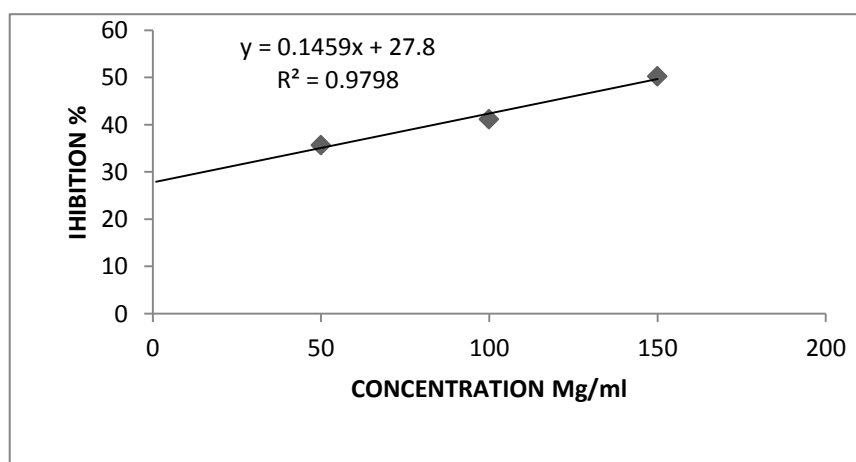
La teneur en composés phénoliques totales des fruits dattiers *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA) est calculée à partir de la courbe d'étalonnage (**Figure 7**) en utilisant l'acide gallique comme composé de référence.

La teneur en polyphénols de l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA) est  $(105,13 \pm 1,23)$   $\mu\text{g}$  d'acide gallique/ml de l'extrait. Ce résultat confirme que l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA) est riche en polyphénols.

##### I-2-L'activité du piégeage du radical DPPH

Les résultats sont exprimés en termes de IC<sub>50</sub>, concentration qui inhibe 50% du radical libre de DPPH.

La valeur IC<sub>50</sub> de l'extrait de a été déterminée à partir de l'équation suivante du graphique :  $y = 0,145x + 27,8 / R^2 = 0,9798$  est correspond à:  $\text{IC}_{50} = (152,16 \pm 0,13)$  mg/ml.

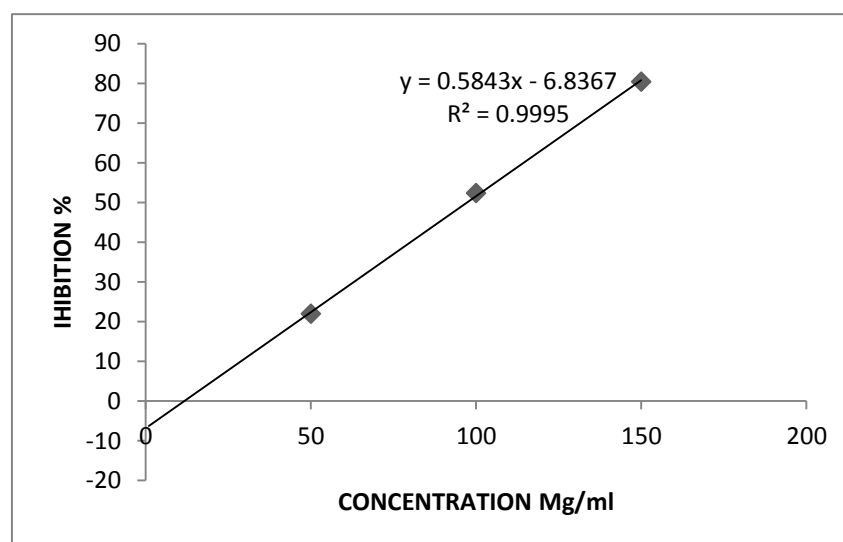


**Figure 17** : Graphique de l'IC<sub>50</sub> de l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA)

Enfin, nous pouvons conclure que l'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) est efficace sur le radical DPPH.

### I-3 Réduction de fer (FRAP)

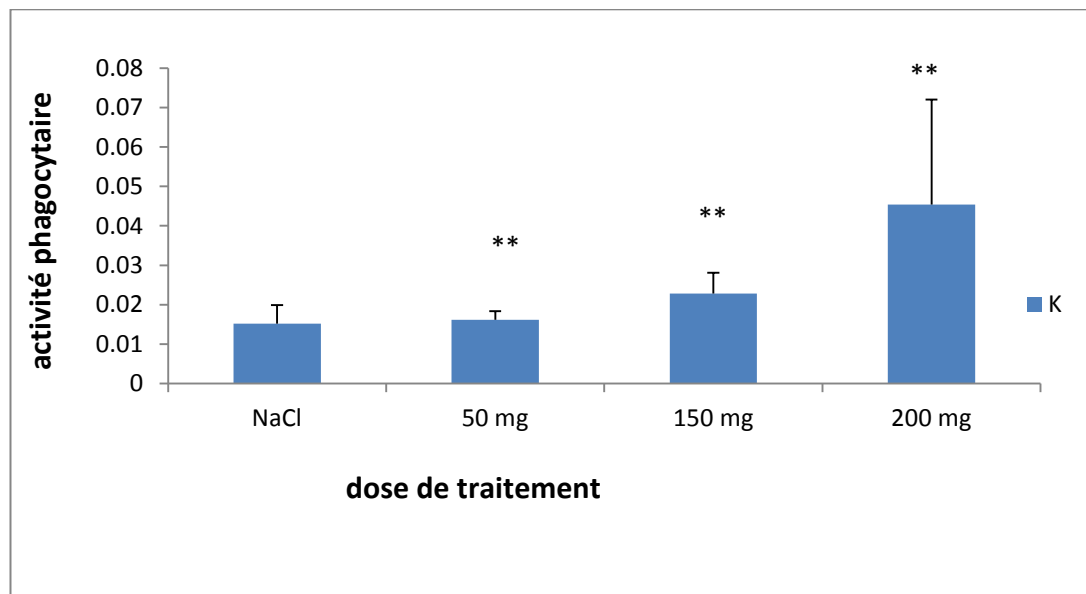
D'après la courbe, nous avons mesuré le pouvoir réducteur de L'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) en fonction leur absorbance.



**Figure 18:** Pouvoir réducteur de L'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA)

D'après nos résultats, L'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) montre une augmentation de la réduction du fer de façon proportionnelle aux concentrations utilisées. L'extrait *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) présente une activité antioxydante très importante ; pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 180 mg /ml. La valeur IC50 de l'extrait de a été déterminée à partir de l'équation suivante du graphique :  $y = 0,583 x - 6.8367 / R^2 = 0.97995$  est correspond à:  $IC_{50} = (92,12 \pm 0.63)$  mg/ml.

### II- Résultat *in vivo* : Evaluation de l'activité immunomodulatrice d'extrait II-1L'indice phagocytaire (K)



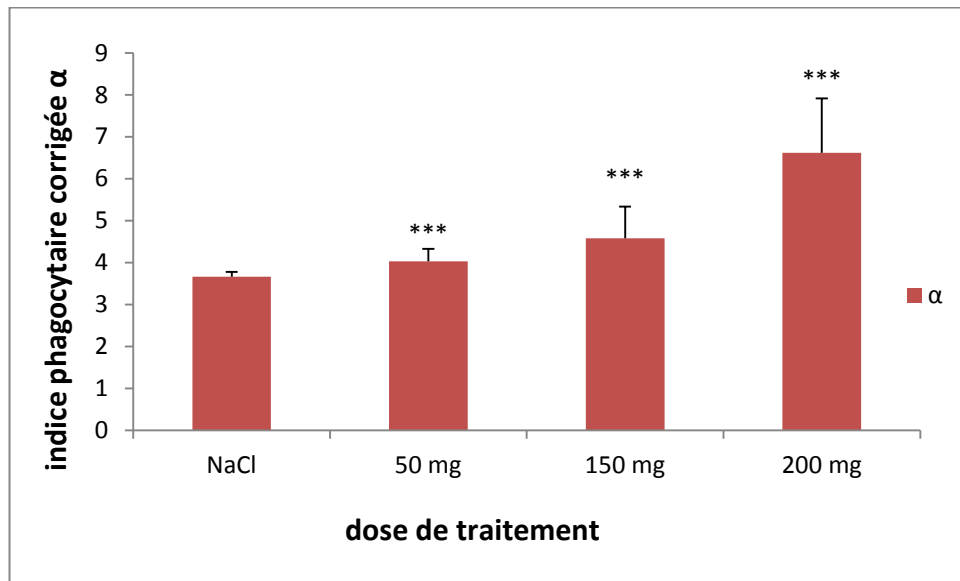
**Figure 19** : effet de l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* sur l'activité phagocytaire

\*\* : différence statistique significative ( $p < 0,05$ )

Les données ont montrées qu'il existe une différence hautement significative entre les groupes dont les moyennes pour l'indice phagocytaire (K) (NaCl, 50 mg, 150 mg et 200 mg)  $P = 0,01$ . La **Figure15**, montre que l'indice phagocytaire du groupe 200 mg ( $0,04 \pm 0,026$ ) a été augmenté de manière significative en comparaison avec le groupe contrôle NaCl ( $0,01 \pm 0,004$ )  $P = 0,016$ . Ensuite, l'indice phagocytaire a été diminué dans le groupe 150 mg ( $0,02 \pm 0,005$ ) et aussi de manière significative dans le groupe 50 mg ( $0,016 \pm 0,002$ ), en comparaison avec groupe 200mg ( $0,04 \pm 0,026$ )  $P = 0,087$  et  $P = 0,020$  respectivement.

Les résultats indiquent que l'extrait de *Phoenix dactylifera .L* variété de (TOLGA) a augmenté l'activité phagocytaire à 200 mg/kg par la stimulation du système réticulo-endothélial (SRE) et ensuite à 50 et 150 mg/kg. Enfin, l'extrait utilisé a augmenté l'activité phagocytaire, d'une manière dépendante de la dose (kehili et al., 2014).

### II-2 L'indice phagocytaire corrigée $\alpha$

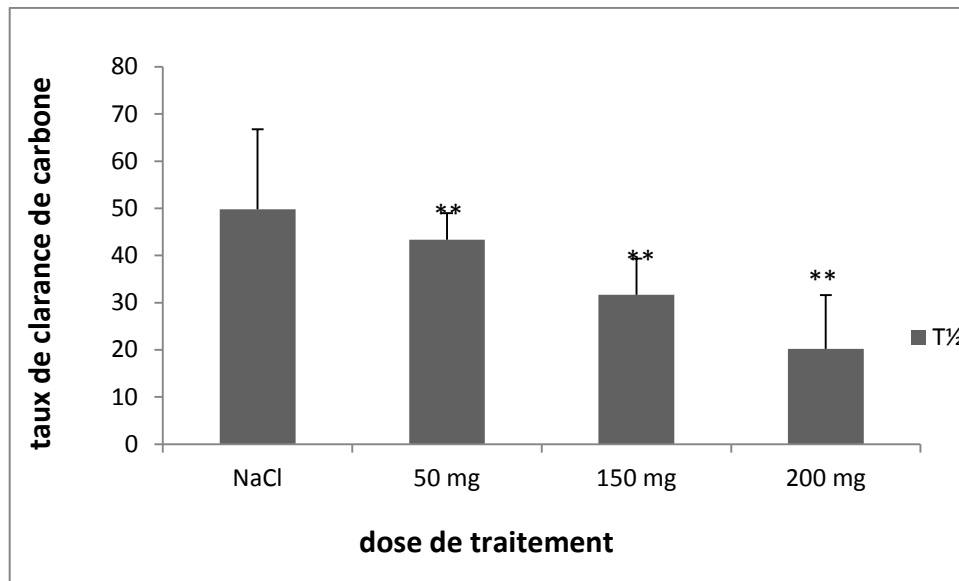


**Figure 20:** effet de l'extrait de *Phoenix dactylifera. L* sur l'indice phagocytaire corrigée  $\alpha$

\*\*\* : différence statistique hautement significative ( $p < 0,05$ )

Les résultats de cette étude montrent qu'il existe une différence très hautement significative entre les moyennes de l'indice phagocytaire corrigée  $\alpha$  entre les groupes (NaCl, 50 mg, 150 mg et 200 mg)  $P = 0,000$ . L'indice phagocytaire corrigée  $\alpha$  a été augmenté mais pas de façon non significative dans les groupes (50 mg, 150 mg) lorsque il est comparé au groupe témoin (NaCl)  $P > 0,05$ , mais l'indice phagocytaire corrigée  $\alpha$  du groupe 200 mg / kg a été plus élevée que les autres groupes ( $6,62 \pm 1,29$ )  $P = 0,000$  de façon très hautement significative.

### II-3 Taux de clairance du carbone $\frac{1}{2}$



**Figure 21** : effet de l'extrait de *Phoenix dactylifera* .L sur taux de clairance du carbone  $\frac{1}{2}$

\*\* : différence statistique significative ( $p < 0,05$ )

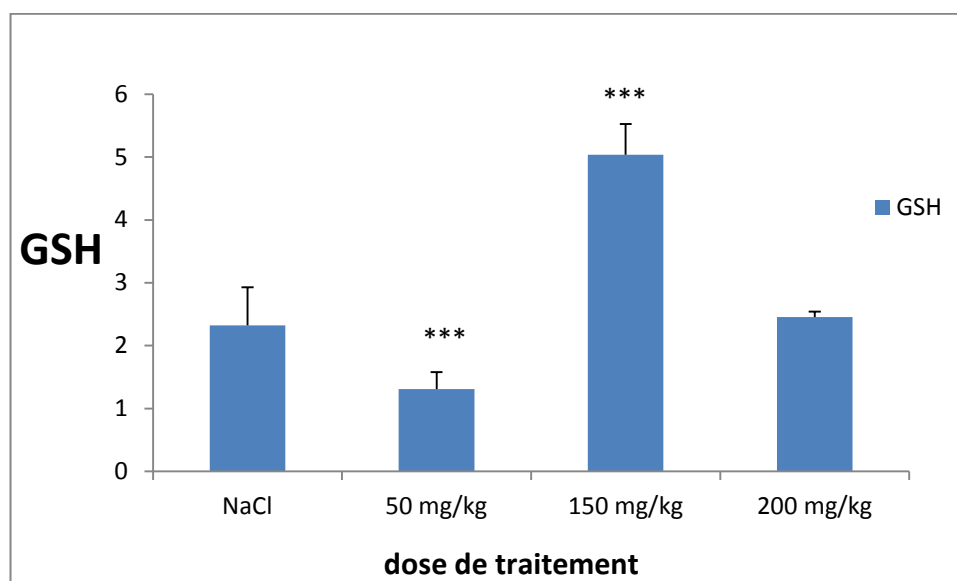
Les données ont montrées qu'il y avait une différence hautement significative entre les groupes (NaCl, 50 mg, 150 mg et 200 mg)  $P = 0,004$ . , les moyennes pour les taux de clairance du carbone dans **la Figure 22** montre que le taux d'épuration de carbone était significativement plus rapide dans le groupe 200 mg ( $20,22 \pm 11,40$ ) comparé au groupe contrôle NaCl ( $49,77 \pm 16,98$ )  $P = 0,004$ .

Ensuite, la clairance du carbone a été lente dans le groupe 150 mg ( $31,69 \pm 7,56$ ) et a encore ralenti de façon significative dans le groupe 50 mg ( $34,37 \pm 5,58$ ), et ce en comparaison avec le groupe 200 mg ( $20,22 \pm 11,40$ )  $P = 0,401$  et  $P = 0,023$  respectivement.

Cela indique que l'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) a amplifié l'activité de clairance du carbone à 200 mg/kg, et donc stimulé l'activité phagocytaire. Ensuite, l'extrait *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) a réduit l'activité phagocytaire à 50 et 150 mg/kg.



### II-4 Valeurs de glutathion réduites GSH



**Figure 22** : effet de *Phoenix dactylifera* .L sur les Valeurs de glutathion réduites.

\*\*\* : différence statistique hautement significative ( $p < 0,05$ )

Il ya une relation proportionnelle entre la libération du glutathion dans le sang et l'activité antioxydante. Si le taux de GSH dans l'homogénat du foie est élevé ça implique que la libération de ce dernier est faible donc ; automatique implique une faible activité antioxydante.

La dernière partie de cette étude a révélé qu'il existe une importance différence entre les moyennes pour les valeurs du glutathion entre les groupes (NaCl, 50 mg, 150 mg et 200 mg)  $P = 0,007$ . La valeur de glutathion a été diminuée de manière hautement significative en groupes 50 mg, par rapport au groupe contrôle  $P = 0,000$ , et une augmentation significative dans le groupe 150 mg par rapport au groupe NaCl  $P = 0,000$ , et aucune différence significative entre le groupe 200 mg et le groupe contrôle  $P > 0,05$

Cela indique que la libération des particules de glutathion du foie est en fonction des concentrations de l'extrait *Phonenix dactylifera* variété de (TOLGA). Ces résultats montrent que notre extrait est capable d'améliorer l'activité antioxydante.

### Discussion des résultats

La qualité nutritionnelle et/ou fonctionnelle du fruit du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est naturellement acquise. À partir des âges, les dattes sont consommées par les humains pour les propriétés bénéfiques et les valeurs nutritionnelles (**Shafi et Al-Daihan, 2012**).

Pour cette étude, nous avons émis l'hypothèse que le l'extrait étudiée pourraient être une source potentielle d'éléments naturels actifs.

Les résultats obtenus montrent que notre extrait est riche en composés phénoliques totaux ; ce résultat est en accord avec (**Hasnaouiet al ., 2012** ) qui signalé que les propriétés de l'extrait des dattes pourrait être utilisé dans les industries alimentaires en tant que source importante de fibres alimentaires et d'antioxydants naturels (teneur en polyphénols) et comme ingrédient fonctionnel pour la stabilisation d'un produit alimentaire.

Une très bonne activité de piégeage des radicaux ont été trouvées pour l'extrait des dattes *Phonenix dactylifére* variété de TOLGA. Ce résultat est également conforme à ceux de (**Benamara et al .,2017**) qui a signalé que le pouvoir réducteur des deux extraits dattier est due à la présence du lycopène et de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron.

**Saafi (2011)** a déjà démontré, par des tests sur des animaux de laboratoire, l'aptitude des extraits du fruits dattiers à restaurer les dommages induits par le diméthoate (insecticide très répandu) sur le foie en s'appuyant sur quelques marqueurs comme l'inhibition de la peroxydation hépatique plus les activités antimutagènes (**Vayalil , 2002**)

En plus de sa valeur énergétique et de sa saveur sucrée et aromatisée, le fruit dattier présente aussi une activité biologique intéressante qui s'exprime en termes d'activité antioxydante et de propriétés médicinales sous-jacentes (**Benamara et al ., 2017**).

Certains des produits végétaux sont censés améliorer la nature résistance du corps à l'infection, sur la base de leur des constituants comme les polysaccharides, les lectines, les saponines et Les flavonoïdes, etc. Certains d'entre eux stimulent à la fois «humorale et cellulaire

Immunité méditée", tandis que d'autres n'activent que la cellule Composants du système immunitaire (**Compton et Jones ,1985**).

Le SRE élimine les substances particulières, telles que les bactéries et les altérations des matériaux endogènes, tels que des agrégats de fibrine (**Sigurd et al., 1965**).

La phagocytose est le mécanisme par lequel les microorganismes et les corps étrangers, les cellules mortes ou blessées sont enlevé. La mesure de l'activité des SRE dépend de l'estimation du taux de la clairance du sang de matériaux étrangers, tels que le carbone colloïdal (**Sigurd et al., 1965**).

L'amélioration de l'activité phagocytaire du macrophage mononucléaire et de l'immunité non spécifique, qui comprend l'opsonisation des particules étrangères avec des anticorps et un complément C3b, entraînant un dégagement plus rapide des particules étrangères du sang (**Furthvan et Bergvanden, 1991**).

L'étude de **Sener (2005)** a démontré que les polyphénols de cacao sont des stimulants puissants du système immunitaire inné et la première réaction de l'immunité adaptative. Les molécules intensifient modifient les lymphocytes médités, la réponse immunitaire et sa durée. Par conséquent, de telles molécules peuvent, être potentiellement appliqué comme adjuvants dans les vaccins et préparations allergiques (**Rantaet al ., 2012** ).

L'effet immunostimulateur a été montré après l'isolement et la culture des monocytes purifiés, des cellules CD4 et CD8 en présence de polyphénols de cacao et après ils ont été confrontés à des lipopolysaccharides (**Sener, 2005**). L'activité a été étudiée par la clairance du carbone phagocytaire par la fonction phagocytaire du système réticulo-endothélial qui est connu pour être important dans l'élimination et la destruction des organismes pathogènes provenant des tissus et du sang (**Shergren et al . , 1967** ) .

Le glutathion est un antioxydant majeur et un élément vital de l'hôte défenses. En plus de se protéger contre les blessures par radicaux libres, important dans l'activation des lymphocytes, critique pour la fonction de cellules tueuses naturelles et de cytotoxicité à médiation lymphocytaire, et peut jouer un rôle dans la protection des neutrophiles et des macrophages Contre les dommages oxydatifs (**Hong et al ., 1991** ) .

Dans cette étude, nous avons observé que les animaux administrés avec L'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de (TOLGA) stimulent l'indice phagocytaire aux différentes concentrations.

Donc, ces résultats est en accord avec ceux(kehili et al .,2014) et (Benmebarek al ., 2013 ) et (Bouratouaetal .,2016)et (Nassar et al ., 2014)qui ont signalé que l'administration de L'extrait *Phoenix dactylifera* AZARZA et l'extrait de *S. mialhesiet* et l'extraits bruts des parties aériennes de trois espèces endémiques administrai dans les souris sont augmentés l'indice phagocytaire à différentes concentrations.

Le traitement par l'extrait de *Phoenix dactylifera.L* variété de (TOLGA) a amélioré le taux de dégagement de carbone du sang lorsqu'il est comparé au groupe contrôle, ces résultats est en accord avec ceux ( kehili et al ., 2014) et (Benmebarekal ., 2013 ) et (Bouratouaetal .,2016) et(Nassar et al ., 2014)qui ont signalé que l'administration de L'extraction *Phoenix dactylifera* AZARZA et l'extrait de *S. mialhesi* et l'extrait butanolique d'*Hypericum tomentosum* subsp et l'extraits bruts des parties aériennes de trois espèces endémiques dans les souris sontamélioré le taux de dégagement de carbone .

Les cellules du système réticulo-endothélial jouent un rôle important dans La clairance des particules de la circulation sanguine. Lorsqu'il est colloïdal des particules de carbone sous forme d'encre sont injectées directement dans la circulation systémique, taux de dégagement de carbone du sang par macrophage augmente pendant le traitement des rats par l'extrait méthanolique de feuilles *Morus Alba* Linn (Mulberry). (Bharani et al., 2010).

Cela est dû à le fait qu'il contient des substances naturelles physiologiquement actives telles que les terpénoïdes, Flavanoïdes (Laggoune et al., 2011).Neha et Mishra(2011)ont déjà signalé que naturellement les composés phénoliques ont une activité immunomodulatrice.

La dernière partie de cette étude ont a trouvé que *Phonenix dactylifére* variété de TOLGA amélioré l'activité antioxydante, ce résultat est confrérie à (Hasnaouietal ., 2012 ) et (kehili et al ., 2014) qui ont signalé que la confiture des dattes *Phonenix dactylifére* Moroccan et l'extrait *Phonenix dactylifére* variété de AZARZA sont réduit les particules de glutathion du foie et améliore la concentration de glutathion réduite et l'activité antioxydante .

En outre, les récentes découvertes des plantes ont révélé de nombreux composés comme les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes, les composés phénoliques et les vitamines ayant été prononcés antioxydant, anti-inflammatoire et immunostimulant (Wagner, 1990).



*Conclusion*

## CONCLUSION

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt et devient aussi importante dans la recherche biomédicale. Cet intérêt de ces plantes médicinales représente d'une part une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part, du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les liqueurs naturelles issues des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles peuvent les attribuer comme des sources naturelles à un pouvoir antioxydants très élevé.

Les fruits des dattes consommés frais mais aussi sous forme transformées, sont reconnus pour ses qualités nutritionnelles riches en micro constituants, tels les caroténoïdes (lycopène en particulier), les composés phénoliques et les vitamines.

La famille des polyphénols renferme de nombreux composés d'intérêt nutritionnel et valorisables dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et dans la cosmétologie en raison de leurs propriétés réductrices (antioxydant), de leur capacité à interagir avec les ions métalliques et une grande variété de protéines.

L'objectif de notre travail était l'évaluation de l'effet antioxydant et les propriétés immunostimulantes des fruits dattiers *Phoenix dactylifera* variété Tolga.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait brut de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga est riche en polyphénols totaux ; sachant qu'il contient 105,13 µg d'acide gallique / ml d'extrait. L'extrait utilisé a exhibé aussi un haut pouvoir antioxydant contre le piégeage des radicaux libre (DPPH) et les ions du fer (FRAP) avec CI50, 52,16 mg / ml et IC50 92,12 mg respectivement.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de *Phoenix dactylifera* .L variété de (TOLGA) a augmenté l'activité phagocytaire à 200 mg/kg par la stimulation du système réticulo-endothélial (SRE) et ensuite à 50 et 150 mg/kg. En effet, Le taux de clairance du carbone a été significativement plus rapide lors de la concentration de 200 mg / kg lorsqu'il est comparé aux deux concentrations 50 et 150 mg / kg (P <0,05).

La dernière partie de cette étude a révélé qu'il existe une importance différence entre les moyennes pour les valeurs du glutathion entre les groupes (NaCl, 50 mg, 150 mg et 200 mg) P = 0,007. La valeur de glutathion a été diminuée de manière hautement significative en groupes 50 mg, par apport au groupe contrôle P = 0,000, et une augmentation significative dans le groupe

## Conclusion et perspectives

---

150 mg par apport au groupe NaCl  $P= 0,000$ , et aucune différence significative entre le groupe 200 mg et le groupe contrôle  $P >0,05$ . Ces résultats montrent que notre extrait est capable d'améliorer l'activité antioxydante.

Enfin, nous pouvons affirmer que l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété Tolga présentait un effet immunostimulant et antioxydant dépendant de la dose sur le système réticulo-endothélial.

En perspectives, il serait intéressant de développer cette recherche de point de vue opérationnel par approfondissement de la connaissance sur :

- Analyses chimique de l'extrait utilisé
- Etude histologie et immuno histochimique du foie
- Appliquer l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga comme un agent liant dans l'industrie pharmaceutique.
- Appliquer l'extrait de *Phoenix dactylifera* variété de Tolga comme un agent liant antioxydants dans l'industrie agroalimentaire.



*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*



## Références bibliographiques

---

- Abedi A, Parviz M, Karimian S. M and Rodsari S. , 2012.** The Effect of Aqueous Extract of Phoenix Dactylifera PollenGrain on Sexual Behavior of Male Rats. *J Phys Pharm Adv*; 2(6): 235-242.
- Acourene S., Tama M., 1997.** Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de datte de la région de Ziban. *Revue recherche Agronomique*, Ed. INRAA, 1, 59-66.
- Afonso V, Romuald C, DragoslavM, Pascal C, Abderrahim L. 2007.** In :Radicauxlibresdérivés de l'oxygène et superoxydesdismutases : rôledans les maladies rhumatismales dans *Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases* ; *Revue du Rhumatisme* 74 636–643 .
- Agarwal SS, Singh VK. , 1999.**Immunomodulators: a review of studies on Indian medicinal plants and synthetic peptides. Part I: medicinal plants. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.*, 65, 179-204.
- Al-Shahib W, Marshall RJ 2003.** The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *Inter J Food Sci Nutr*, 54,247–59 .
- Al-Shahib W., Marshall R.J., 2002.** Dietary fiber content of dates from 13 varieties of date palm Phoenix dactylifera L. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 719-721.
- Ashraf Z, Hamidi-Esfahani Z 2011.** Date and date processing: a review. *Food Rev Inter* 27:101–33.
- Atal CK, Sharma ML, Khariya 1986** in: Immunomodulating agents of plant origin. *J Ethnopharmacol*, 18:133–141.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S., 2010.** Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L. *Lebanese Science Journal*. Vol 11 (1):72.
- Barouki R, 2006.** In : *Stress oxydant et vieillissement , medecine/sciences , 22 : 266-72 .*
- Barouki R, Morel Y., 2001.** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress : mechanisms and biological implications. *BiochemPharmacol* ; 61 : 511-6.
- Barouki R, Morel Y., 2001.** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress : mechanisms and biological implications. *BiochemPharmacol* , 61 : 511-6.
- Belguedj M., 2001.** Caractéristiques des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-Est Algérienne. *INRAA El-Harrach* 11, Alger, 289.
- Benamara S. Djouab A. Boukhiar A. Iguergaziz N. Benamara Dj. ,2017.** in *Fruit du dattier (Phoenix dactylifera L.) : fruit ordinaire ou alimentsanté -1113-4*

## Références bibliographiques

---

- Benchabane A. , 1996.** Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte". In Options méditerranéennes, série A, 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Spain. 205-210.
- Benchabane A., 1996.**Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte". In Options méditerranéennes, série A, 28. Séminaires méditerranéens. Ed. IAM, Zaragoza, Spain, 205-210.
- Benchelah, A.-C. et Maka, M.,2008.** Les Dattes, intérêt et nutrition. Phytothérapie (ethnobotanique)., 6: 117 -121.
- Benmebarek A, Zerizer S, Laggoune S, Kabouche Z., 2014.** Immunostimulatory activity of *Stachys mialhesi* de Noé. Allergy Asthma Clin Immunol 2013;2:1492-9.
- Besbes S., Drira, L., Blecker, K., Deroanne, C.andHamadi, A. ,2009.** Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): compositional, functional and sensory characteristics of date jam. J. Food. Chem. 112, 406-411.
- Bharani SE, Asad M, Dhamanigi SS and Chandrakala GK.,2010.** Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Morus Alba* Linn (Mulberry) leaves. Pak. J. Pharm. Sci; 23 (1): 63-68.
- BilliauAlfons, Matthys Patrick 1999,** Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. J. Leukoc. Biol. 70, , 849–860.
- Booij I, Piombo G., Risterucci J. M., Coupe m., Thomas D., Ferry M., 1992.** Etude de la composition chimique de dates à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivar de palmier dattier (*Phœnix dactylifera* L.). Journal of Fruits, vol. 47, 6, 667-677.
- Bougandoura N., Bendimerad N., 2013.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. (9): 15.
- Bouratoua A, Ouassila T, Kabouche A, Zerizer S , and Kabouche Z. ,2016 .** Activities Of *Hypericum tomentosum* subsp. *Pubescens* In *Chemistry of Natural Compounds*, 016, 1806-1
- BradfordM. , 1976.** Anal. Biochem. description originale de la méthode de Bradford, 72, 248-254 .
- Brown KM, Arthur JR ., 2001** Selenium, selenoproteins and humain health: a review. Public Health Ntr, 4:593–9 .
- Casadevall A., Dadachova E., & Pirofski L. A., 2004.** Passive antibody therapy for infectious diseases. Nature Reviews| Microbiology, 2, 695- 703.

## Références bibliographiques

---

- Chanforan C., 2010.** Stabilité de microconstituants de la tomate ( composés phénolique, carténoïde, vitamine C et E) au cours des procédés de transformation :études en systèmes modèles mis en point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate . Thèsedoctorale. 54-68 ,84-88.
- Chopra RN, Chopra KL, Handa, Kapur ID 1958,** Indigenous drugs of India. UN Dhar and Sons Pvt. Ltd., Calcutta,.
- Compton JS and Jones G C., 1985.**Mechanism of Dye Response and Interference in the Bradford Protein Assay. Analytical Biochemistry; 15, 369-374.
- Congo M., 2012.** etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de salvadora persica L. (salvadoraceae).thèse de pharmacie. université d'ouagadougou burkina faso : 42.
- Daels rakotoarison D. (1999).** Extraits phénoliques d'aubépine, de cola et d'églantier.Thèse de doctorat, université de Lille-II, France.
- Dawson V H W., 1963.** Récolte et conditionnement des dattes. FAO ROME.
- Delattre J, Théron P, Bonnefont-Rousselot D., 2005.** Espèces réactives de l'oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier, 281-309 .
- Djouab, A., 2007.** Contribution à l'identification des constituants mineurs de la datte Mech-Degla. Essai de valorisation par incorporation dans une recette de margarine allégée. Memoire de Magister.option génie alimentaire, Université de Boumerdès.24.
- Dowson, V.H.W. , 1982** Date production and protection with special reference to North Africa and the Near East. FAO Technical Bulletin. 35. 294.
- Dransfield, J. & N.W. UHL 1986 :** An outline of a classification of palms. Principes 30 (1): 3-11.
- El Arem A, Flamini G, Saafi EB, et al .2011.** Chemical and aroma volatile compositions of date palm (Phoenix dactylifera L.) fruits at three maturation stages. Food Chem ,127,1744–54 .
- El-Sheikh ALK ., 2008,** Thesis on Renal transport and drug interactions of Immunosuppressants. Radbound University Nijmegen., 62.
- Ensafia A, Karimi-Malehb H and Mallakpour S A., 2013.** new strategy for the selective determination of glutathione in the presence of nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) using a novel modified carbonnanotube paste electrode. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces; 104: 186– 193.

## Références bibliographiques

---

- Estanove P., 1990.** Note technique : Valorisation de la datte. In Options méditerranéennes, série A, N°11. Systèmes agricoles oasiens. Ed. CIHEAM, 301-318.
- Favier J.C., Ireland R.J., Laussucq C., et Feinberg M., 1993.** Répertoire général des aliments. table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. Orstom Editions, Lavoisier, Inra Editions, 27- 28
- Favier J.C., Ireland R.J., Laussucq C., et Feinberg M., 1993.** Répertoire général des aliments. table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III, Ed. orstom editions, lavoisier, inra editions, 27- 28.
- Favier A, 2003.** In: Mécanismes biochimiques , Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ,108-114 .
- Finkel T. 2003** Oxidant signals and oxidative stress. *Curr Opin Cell Biol* , 15 , 247-54.
- Furthvan R, Bergvanden BM .1991 .:** Clinical immunology. 1st edition. London: Gower Medical Publishing,67.
- Halliwell B, Gutteridge JM 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*,186:1–85.
- Hasnaoui A, Elhoumaizi MA, Borchani C, Attia H and Besbes S ., 2012 .** Physicochemical Characterization and Associated Antioxidant Capacity of Fiber Concentrates from Moroccan Date Flesh. *Int. J Latest Trends Agr. Food Sci*; 2 (2): 94- 102.
- Henk J., Zwir E. et Rik, L., 2003.** Caroténoïdes et flavonoïdes contre le stress oxydatif. *Arômes Ingrédients Additifs*. 44: 42-45.
- Hozawa A, Jacobs D, Steffes M, et al. 2007.** Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress, and endothelial dysfunction : the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)/ Young Adult Longitudinal Trends in Antioxidants (YALTA) Study. *ClinChem*, 53, 1-9 .
- Kehili HS, Zerizer S, Kabouche Z.,2014** Immunostimulatory activity of *Phoenix dactylifera*. *Int J Pharm Pharm Sci*,6,73-6.
- Khalil K.E., Abd-El-Bari M.S, Hafiz .N.E. and Ahmed E.Y. ,2002.** Production, evaluation and utilization of date syrup Concentrate (Dibis). *Egypt. J. Food Sci*, 30(2): 179- 203.
- Kidd P., 2003.** Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative Medicine Review*, 8, 223-246.
- Koehler C. , Ramonatxo , (2006).** In / *Nutrition clinique et métabolisme* 20 (2006) 165–177 .

## Références bibliographiques

---

- kouassiÉ ,Revillard J-P , Fournier M , Ayoutte P , Roy R , Brousseau P , Hadji L., 2003** Système immunitaire. In : Environnement et santé publique – fondements et pratique , . 687 – 698 .
- Laggoune S, Zeghib A, Kabouche A, Kabouche Z, Maklad YA, Leon F, Brouard I, Bermejo J, Calliste CA., 2011 .** Duroux JL: Components and antioxidant, anti-inflammatory, anti-ulcer and antinociceptive activities of the endemic species *Stachys mialhesi* de Noe. *Arabian Journal of Chemistry*, 4,361–377.
- Leong ACN, Kinjo Y, Tako M, Iwasaki H, Oku H, Tamaki H ., 2010.** Flavonoid glycosides in the shoot system of okinawataumu (*Colocasia*). *Food Chem*;119:630-5.
- LINNÉ 1734** cited in KEANEY, T.H. (1906): Date varieties and Date Culture in Tunis. Washington, U.S.D.A; Bureau of Plant Industry, Bulletin. 92.
- Mansouri A., Guendez E., Kokkalou E. and Kefalas P., 2005.** Phenolic profile and antioxidant activity of Algerian ripe date palm (*Phoenix dactylifera*). *Food.Chem.*89:411-420.
- Matallah M., 1970-** Contribution à la valorisation de la datte algérienne. Mémoire d'Ingénieur agronomes, INA. El-Harrach, Alger. 113.
- Meacham S, Karakas S, Wallace A, et al 2010** Boron in human health: evidence for dietary recommendations and public policies. *Open Miner Process J* 3:36–53
- Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A., 2013.** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparidacée *spinosa* l. *Lebanese Science Journal*. Vol 14 (1): 52p.
- Meryem Nassar, Sakina Zerizer, Zahia Kabouche, Ahmed Kabouche, Sara Bechkri .2015.** activities exhibited by three plants from lamiaceae family In *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 7, Issue 9,
- Migdal C, Serres M ., 2011** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci* 27:405–12
- Mohamed D, Y. Al-Okbi S 2004** *In vivo* evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of different extract of date fruits in adjuvant arthritis. *Polish journal of food and nutrition sciences*; 13/54 (4): 397–402.
- Molyneux P., Songklanakarin J., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* .Vol 26 (2) : 211-219.
- Morel Y, Barouki R. 1999.** Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J*; 342 : 481-96 .

## Références bibliographiques

---

- Munier P., 1973.** Le palmier dattier. Ed G-P Maisonneuve, la rose. Paris.
- MUNIER P., 1973.** Le Palmier-dattier-Techniques agricoles et productions tropicales; Maison Neuve et Larose, 217; Paris.
- Neha J, Mishra RN.,2011.:** Immunomodulator activity of Trikatu mega Ext. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences,160–164.
- Ninane V, Mukandayambaje R, Berben G . 2009.** Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation réglementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir. *BiotechnolAgron Soc Environ* 13:459–66
- Noui Y. , (2007).** Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Mémoire de Magister en génie alimentaire, Université de Boumerdès.33.
- Noui y., 2007 .** caractérisation physico-chimique comparative des deux principaux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Mémoire de magister, université Mohamed BOUGUERA - Boumerdès, 112.
- Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R L., 2001.** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* (49): 4619-4626.
- Pastore A, Federici G, Bertini E and Piemonte F., 2003.** Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *ClinicaChimicaActa*; 333: 19–39.
- Perez-Jimenez, F., Alvarez de Cienfuegos, G., Badimon, L.,Barja., 2005 .** International conference on the healthy effect of virgin olive oil.Consensus report, Jaen (Spain).(2004). *Journal of Clinical Investigation*, 35 : 421-424.
- Peter J.Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton , Ivan M . Roitt , 2001.** In : *Fondements de l'immunologie – édition 7*, 185-186 .
- Philippe L., 2007.** In : *immunologie générale – édition 8* , 15 – 53 .
- PLINY, C., 1489. :** The elder. *Trans. Historianaturale*, Book XIII, cap. iii, 3 columns on the palmae. Translated into Italian by CristoforoLandioroFiorentino and published by Bartolamio de Zani de Portesio.
- Popenoe, W. ,1938 :** The Date. Ch. 6. in: *Manual of tropical and subtropical fruits*. New-York: The Mcmillan Company.
- Prior R L., Wu X., Schaich K., 2005.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements . *Agric. Food Chem.* (53) : 4290-4302.

## Références bibliographiques

---

- Ranta K, Nieminen K S Ekholm F, Polakova M U, Roslund M, Saloranta T, Leino R and Savolainen J., 2012.** Evaluation of Immunostimulatory Activities of Synthetic Mannose Containing Structures Mimicking the  $\beta$ -(1 2)-Linked Cell Wall Mannans of *Candida albicans*. *Clinical and Vaccine Immunology*; 19 (11): 1889–1893.
- Rinaldi M., Moroni P, Paape MJ, Bannerman DD., 2007.** Evaluation of assays for the measurement of bovine neutrophil reactive oxygen species. *VetImmunolImmunopathol* 115, 107–125.
- Rohini Sharma, Ajay Rohilla, \*Vikrant Arya , 2011.** in : a short review on pharmacology of plant immunomodulators
- Saafi EB .,2011.** Protective effect of date palm fruit extracts (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Exp Toxicol Pathol* 63,433–41.
- Saafi EB., 2011.** Protective effect of date palm fruit extracts (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *ExpToxicolPathol*. 63;433–41 .
- Sener G., et al.2005:** Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int Immunopharmacol*,1387–1396.
- Shafi Bhat R et Al-Daihan S.,2012.** Antibacterial properties of different cultivars of *Phoenix dactylifera* L and their corresponding protein content. *Annals of Biological Research*, 3 (10):4751-4757.
- Shergren N JB, Block J and Wolff M S .,1967.**Reticuloendothelial System Phagocytic Function in Patients with Hodgkin's Disease. *Journal Clinical Investigation*; 46 (5): 855-862.
- Siboukeur O., 1997.** Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse de Magister, INA. El-Harrach, Alger, 106.
- Sigurd J, Normann MD, Earl P, Benditt MD.,1965.** Function of the reticuloendothelial System. Seattle: Department of Pathology, University of Washingt,693–707.
- Singleton VL.,Orthofer R.,Lamuela-Raventos . ,1999.** «Analysis of total phenols and other oxidants substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.*Methods Enzymol* 299: 152-178.
- Sunitil K, Priyanka G, Shalini S, Dinesh K., 2011.**A review on immunostimulatory. *J Chin Integr Med*;9:117-28.
- Tanaka T, Sugiura H, Inaba R, Nishikawa A, Murakami A, Koshimizu K, Ohigashi H 1999.** Immunomodulatory action of *Citrus aurapteneon* macrophage functions and cytokine production of lymphocytes in female BALB/c mice. *Carcinogenesis*, 20, 1471-1476.

## Références bibliographiques

---

- Tiwari AK., 2001** Imbalance in antioxidant defence and human diseases: multiple approach of natural antioxidants therapy. *CurrSci* ,81;1179–87 .
- Upadhaya SN., 1997.** Therapeutic Potential of Immunomodulatory Agents from Plant products. In *Immunomodulation*. 1st edition. Edited by Upadhaya SN. New Delhi: Narosa publishing house; 149–150.
- Van Zyl, H.J. 1983** : Date Cultivation in South Africa. Information Bulletin No. 504; Compiled by the Fruit and Fruit Technology Research Institute, Department of Agriculture, Stellenbosch, RSA. 26.
- Vayalil PK., 2002.** Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. Arecaceae). *J Agric Food Chem* 50:610–7.
- Wagner H, Kraus H, Jurcic K., 2003.** Search for potent immunostimulating agents from plants and other natural sources. In *Immunomodulatory agents from plants*. 1st edition. Edited by Wagner H. Switzerland: Birkashauserverlag Basel;:1–6
- Wagner H., 1990.** Search for plant derived natural products with immunostimulatory activity (recent advances). *Pure& Appl. Chem*; 62 (7): 1217-1222..
- Wan Ismail WI, MohdRadzi MNF., 2013.** Evaluation on the benefits of date palm (*Phoenix dactylifera*) to the brain. *AlternatIntegrat Med* 2:1–3.
- Wang L, Jui-hung Y, Hsiao-ling L and Ming-juan W., 2003.** In : *Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 11,. 1, 60-66.*
- Weckbeker G et Cor J., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathoine-depleted mous leukemia L1210 cells in vitro.*Cancer letter* 40: 257-260.
- Wu X, Beecher GR, Holden JM, et al. 2004** .Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agric Food Chem* 52:4026–37
- Yahiaoui K., 1998.** Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte « D-N » au cours de la maturation. Mémoire de Magister. I.N.A. El-Harrach. Alger.6.





# *Annexes*

## Annexe 1 : Préparation des solutions

### 1. Préparation de brade Fored

- 0,1 g de bleu de Comassi +50 ml éthanol (96 %).
- Agitation pendant 2 h.
- Ajoutez 100 ml acide Orthophosphorique.
- Filtration à l'aide de papier filtre (Watmane) .

### 2. Préparation d'Acide sulfosalisilique

- Dissoudre 250 mg (acide silfosalisilique) dans 100 ml H<sub>2</sub>O distillé.

### 3. Préparation de tris + EDTA

- Dissoudre 12,114 g Tris + 1,87 g de EDTA dans 250 ml de H<sub>2</sub>O distillée et en ajustez le pH en ajoute (HCL + NaOH) .

### 4. Préparation de DTNB

Dissoudre 200 mg DTNB dans (50 ml de Méthanol (96 %)).

### 5. Préparation de TBS

- 8 ,775 g de NaCl + 1 L de H<sub>2</sub>O distillée (PH : 7,4).
- 6 ,057 tris et complète jusque 1L par NaCl.

### 6. Préparation et injection de l'extrait

- Solubilise l'extrait dans 10 ml NaCl

Exp : 50 mg → 10 ml NaCl

La dose à injecter est 50 mg \ kg

50 mg → 1000 g

1,5 mg → 30 g poids de souris

La plante on a

50 mg → 10 ml

1,5 mg → x c'est le volume à injecter

X = 0,3 ml de la solution extrait + NaCl

- NaCl 0,9 %

0,9 g NaCl + 100 ml eau distillée

- Gélatine 3%

3 g gélatine + 100 ml eau distillée Carbonate de Sodium 0,1 % (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

- K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>

2g dans 100 ml eau distillée

10g dans 100 ml eau distillée

- d'acide trichloracétique

10g dans 100 ml eau distillé

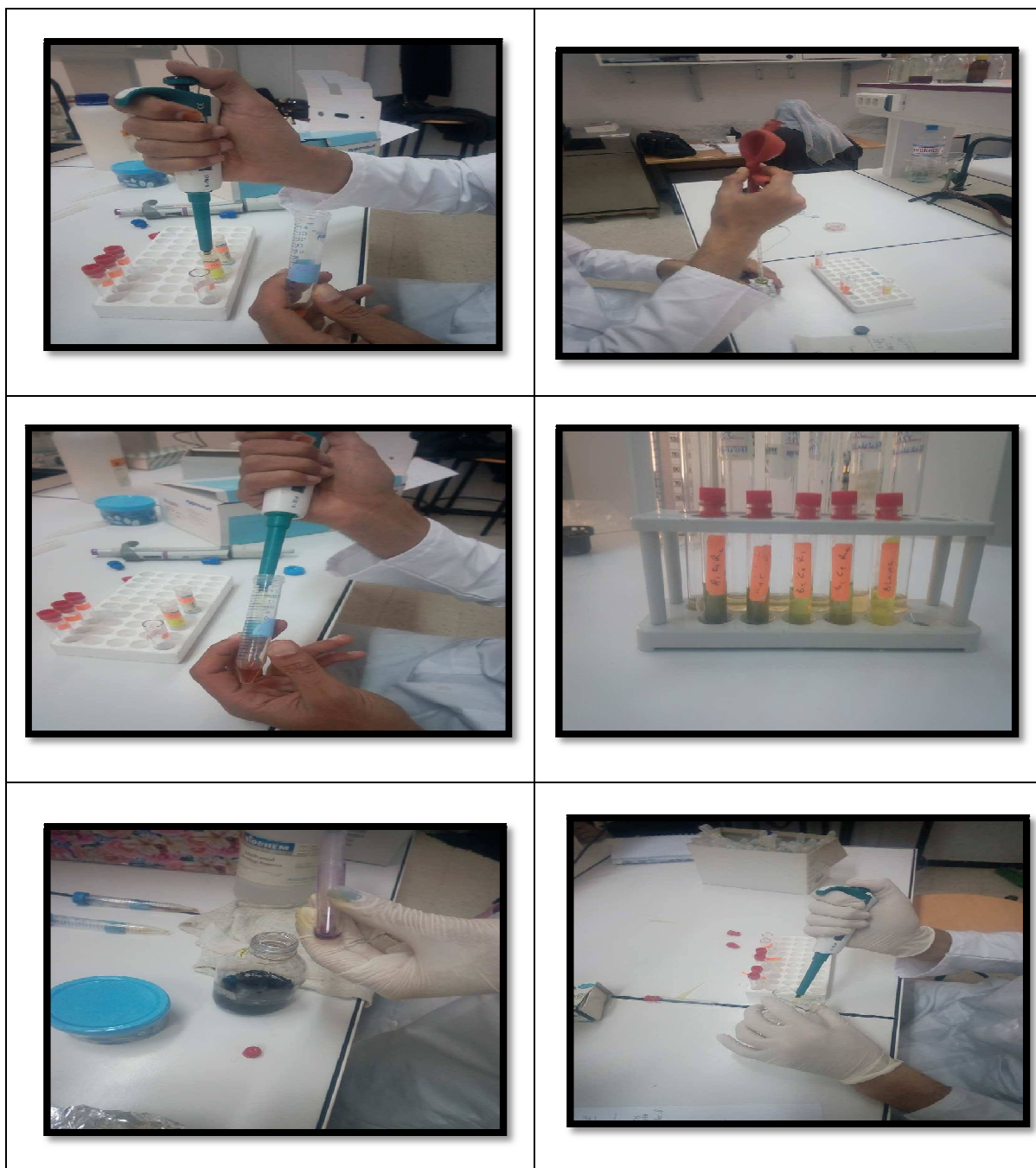
- $\text{FeCl}_3$

1g dans 100 ml eau distillé

Annex 2 : etude in vivo et in vitro



Figure 3: Méthode Prélèvement de sang et organe



**Figure 4: Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait de *Phonex dactylifera .L* variété de (TOLGA)**



**Figure 5: étape a suivre pour évaluer l'activité immunomodulatrice de l'extrait de *Phonex dactylifera .L* variété de (TOLGA)**

## Annexe 3 : analyses statistiques

**tableau 1:** analyse statistique (ANOVA à 1 facteur ) de 1L'indice phagocytaire (K)

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Significatio n
Inter- groupes	,003	3	,001	5,150	,011
Intra- groupes	,003	16	,000		
Total	,006	19			

**Tableau 2 :** variable dépendante K par Test de Tukey

(I) INDEX	(J) INDEX	Différence de moyennes (I- J)	Erreur standard	Significatio n	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
1,00	2,00	-,00102	,00876	,999	-,0261	,0240
	3,00	-,00768	,00876	,817	-,0327	,0174
	4,00	-,03018*	,00876	,016	-,0552	-,0051
2,00	1,00	,00102	,00876	,999	-,0240	,0261
	3,00	-,00666	,00876	,871	-,0317	,0184
	4,00	-,02916*	,00876	,020	-,0542	-,0041
3,00	1,00	,00768	,00876	,817	-,0174	,0327
	2,00	,00666	,00876	,871	-,0184	,0317
	4,00	-,02250	,00876	,087	-,0476	,0026
4,00	1,00	,03018*	,00876	,016	,0051	,0552
	2,00	,02916*	,00876	,020	,0041	,0542
	3,00	,02250	,00876	,087	-,0026	,0476

\*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

**Tableau 3 :** analyse statistique de L'indice phagocytaire  $\alpha$  corrigée

ANOVA à 1 facteur					
ALPHA					
	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	26,113	3	8,704	14,782	,000
Intra-groupes	9,421	16	,589		
Total	35,534	19			

**Tableau 4 :** Variable dépendante: ALPHA par Test de Tukey

(I) INDEX	(J) INDEX	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
1,00	2,00	-,36528	,48532	,874	-1,7538	1,0232
	3,00	-,91536	,48532	,272	-2,3039	,4732
	4,00	-2,95615*	,48532	,000	-4,3447	-1,5676
2,00	1,00	,36528	,48532	,874	-1,0232	1,7538
	3,00	-,55008	,48532	,675	-1,9386	,8384
	4,00	-2,59087*	,48532	,000	-3,9794	-1,2024
3,00	1,00	,91536	,48532	,272	-,4732	2,3039
	2,00	,55008	,48532	,675	-,8384	1,9386
	4,00	-2,04079*	,48532	,003	-3,4293	-,6523
4,00	1,00	2,95615*	,48532	,000	1,5676	4,3447
	2,00	2,59087*	,48532	,000	1,2024	3,9794
	3,00	2,04079*	,48532	,003	,6523	3,4293

\*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.



**Tableau 5 :** analyse statistique (ANOVA à 1 facteur )de taux de clairance du carbone ½

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Significatio n
Inter-groupes	2555,708	3	851,903	6,704	,004
Intra-groupes	2033,310	16	127,082		
Total	4589,018	19			

**Tableau 6 :** Variable dépendante: DEMIVIE par Test de Tukey

(I) INDEX	(J) INDEX	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Significatio n	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
1,00	2,00	6,39904	7,12971	,806	-13,9992	26,7973
	3,00	18,07428	7,12971	,092	-2,3240	38,4725
	4,00	29,54818*	7,12971	,004	9,1499	49,9464
2,00	1,00	-6,39904	7,12971	,806	-26,7973	13,9992
	3,00	11,67524	7,12971	,387	-8,7230	32,0735
	4,00	23,14914*	7,12971	,023	2,7509	43,5474
3,00	1,00	-18,07428	7,12971	,092	-38,4725	2,3240
	2,00	-11,67524	7,12971	,387	-32,0735	8,7230
	4,00	11,47390	7,12971	,401	-8,9243	31,8721
4,00	1,00	-29,54818*	7,12971	,004	-49,9464	-9,1499
	2,00	-23,14914*	7,12971	,023	-43,5474	-2,7509
	3,00	-11,47390	7,12971	,401	-31,8721	8,9243

\*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.

**Tableau 7 :** analyse statistique (**ANOVA à 1 facteur**) de Valeurs de glutathion réduites GSH

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	37,749	3	12,583	73,556	,000
Intra-groupes	2,737	16	,171		
Total	40,486	19			

**Tableau 8 :** Variable dépendante: GSH par Test de Tukey

(I) index	(J) index	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
					Borne inférieure	Borne supérieure
	2,00	1,01200*	,26158	,007	,2636	1,7604
1,00	3,00	-2,71000*	,26158	,000	-3,4584	-1,9616
	4,00	-,13000	,26158	,959	-,8784	,6184
	1,00	-1,01200*	,26158	,007	-1,7604	-,2636
2,00	3,00	-3,72200*	,26158	,000	-4,4704	-2,9736
	4,00	-1,14200*	,26158	,002	-1,8904	-,3936
	1,00	2,71000*	,26158	,000	1,9616	3,4584
3,00	2,00	3,72200*	,26158	,000	2,9736	4,4704
	4,00	2,58000*	,26158	,000	1,8316	3,3284
	1,00	,13000	,26158	,959	-,6184	,8784
4,00	2,00	1,14200*	,26158	,002	,3936	1,8904
	3,00	-2,58000*	,26158	,000	-3,3284	-1,8316

\*. La différence moyenne est significative au niveau 0.05.



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

### Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : MAOUCHE SALAH Eddine  
Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée  
N° de carte d'étudiant : 2014/401566  
Année universitaire : 2016 / 2017  
Domaine : Sciences de la nature et de la vie (SN.V)  
Filière : Sciences Biologique  
Spécialité : Qualité des produits et sécurité Alimentaire  
Intitulé du mémoire : Contribution à l'étude biologique  
des dattes "Phoenix dactylifera L"  
Variété de TOLBA

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets

#### Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 08/06/2017

Signature de l'étudiant(e) :