

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Nutrition et Sciences des Aliments



THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Filière: Sciences des aliments et Nutrition humaine.

Spécialité: Nutrition humaine

Par

ALI HAIMOUD SAFIA

Thème :

Etude phytochimique et rôles biologiques des variétés de *Phoenix dactylifera* (datte) de l'Algérie

Soutenue le 11/05/2017, devant le jury composé de :

DILMI BOURAS A.	Professeur	Université H.B.B. Chlef	Président
ALLEM R.	Professeur	Université H.B.B. Chlef	Directeur
BENALI M.	Professeur	Université Sidi-Bel-Abbes	Examineur
CHADLI R.	Professeur	Université Mostaganem	Examineur
KOICHE M.	MCA	Université H.B.B. Chlef	Examineur
SETTI B.	MCA	Université H.B.B. Chlef	Examineur

Résumé

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des composés bioactifs tels que les composés phénoliques. Les dattes (*Phoenix dactylifera* L.) possèdent des vertus thérapeutiques qui nécessitent des études plus approfondies sur leurs composants et leurs activités biologiques. C'est dans ce contexte que nous avons mené une étude qui avait comme objectifs: la détermination de la composition phytochimique par HPLC; l'étude de l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique et la détermination de la diversité génétique de dix cultivars de datte (*Phoenix dactylifera* L.) par la technique moléculaire PCR-RAPD.

Les teneurs les plus élevées en phénols totaux (6.53 ± 0.18 mg EAG/100g MS), flavonoïdes (4.23 ± 0.29 mg EC/100g MS) et flavonols (1.43 ± 0.15 mg ER/100 g MS) ont été trouvées dans l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached. L'analyse qualitative par HPLC a révélé la présence de plus de dix composés phénoliques. L'extrait de la variété Ali Ourached a montré une activité antioxydante la plus importante par les quatre méthodes (test de DPPH, le blanchissement de β -carotène, la capacité antioxydante totale et la méthode de FRAP). Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré des diamètres des zones d'inhibition atteignant 20.73 ± 1.10 mm. L'administration orale des extraits méthanoliques à une dose de 250 mg/kg PC a montré une activité contre l'inflammation induite par l'injection de la carragénine, ainsi qu'une capacité de diminuer les crampes abdominales provoquées par l'acide acétique. L'étude du polymorphisme moléculaire des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. par la technique RAPD, nous a permis de détecter un niveau de polymorphisme élevé. La présente étude a montré que les extraits de dattes contiennent des composants qui peuvent être utilisés dans la prévention de plusieurs pathologies et exploités dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés: *Phoenix dactylifera* L., Extraits méthanoliques, HPLC, Activité antioxydante, Antibactérienne, Anti-inflammatoire, Antispasmodique, Polymorphisme, PCR-RAPD.

Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive compounds such as phenolic compounds. The dates (*Phoenix dactylifera* L.) have therapeutic properties that require further study of their components and their biological activities. Therefore, the objectives of this study were to determine the phytochemical composition by HPLC, to test the antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic activities and to analyze the genetic diversity among the then different cultivars of date palm using RAPD-PCR.

The highest levels of total phenols (6.53 ± 0.18 mg GAE / 100g DW), flavonoids (4.23 ± 0.29 mg CEQ/ 100g DW) and flavonols (1.43 ± 0.15 mg REQ / 100g DW) were found in the methanol extract of Ali Ourached variety. HPLC revealed the presence of more than ten phenolic compounds. The extract of Ali Ourached showed the most important antioxidant activity by four methods (DPPH test, bleaching of β -carotene, total antioxidant capacity and the method of FRAP). The results of antibacterial activity showed diameters of inhibition zones achieved to 20.73 ± 1.10 mm. The oral administration of the methanol extracts at dose of 250 mg/kg B.W has shown activity against inflammation induced by injection of carrageenan, and ability to reduce abdominal cramps induced by acetic acid. The study of molecular polymorphism cultivars *Phoenix dactylifera* L. by RAPD technique allowed us to detect a high level of polymorphism. The present study showed that date extracts contain components that can be used in the prevention of several diseases and used in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L., Methanol extracts, HPLC, Antioxidant activity, Antibacterial, Anti-inflammatory, Antispasmodic, Polymorphism, RAPD-PCR.

المخلص

تحتوي النباتات الطبية على عدد كبير من المركبات النشطة بيولوجيا مثل المركبات الفينولية. للتمور (*Phoenix dactylifera* L.) خصائص علاجية تتطلب مزيدا من الدراسات المعمقة لمكوناتها ونشاطها البيولوجي. وفي هذا السياق قمنا بدراسة كان الهدف منها : تحديد المحتوى الفيتوكيميائي باستخدام HPLC ، إختبار النشاط المضاد للبكتيريا ، المضاد للأكسدة ، المضاد للإلتهابات والمضاد للتشنج و تحديد التنوع الجيني لعشر أصناف من التمور (*Phoenix dactylifera* L.) باستخدام تقنية PCR-RAPD.

تم العثور على أعلى محتوى من الفينولات الإجمالية (0.18 ± 6.53 ملغ معادلة حمض الغاليك / 100 غ من الوزن الجاف)، الفلافونيدات (0.29 ± 4.23 ملغ معادلة الكاتشين / 100 غ من الوزن الجاف) و الفلافونولات (0.15 ± 1.43 ملغ معادلة الغيتين / 100 غ من الوزن الجاف) مع المستخلص الميثانولي للصنف Ali Ourached . كشف التحليل النوعي عن طريق HPLC وجود أكثر من عشر مركبات فينولية . فيما يخص النشاط المضاد للأكسدة، أظهر المستخلص الميثانولي للصنف Ali Ourached نشاطا عاليا من خلال الطرق الأربع (إختبار DPPH، تبييض β كاروتين، القدرة المضادة للأكسدة الإجمالية وطريقة FRAP). أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أقطار مناطق تثبيط تصل إلى 1.10 ± 20.73 ملم. أظهرت المستخلصات الميثانولية لأصناف التمور المدروسة بتركيز 250 ملغ / كلغ من الوزن الجسمي نشاطا ضد الإلتهاب الناجم عن حقن الكاراجينين وكذلك نشاطا كبيرا للحد من التشنج الناجم عن حمض الخل . كما أظهرت الدراسة تنوع جيني كبير للأصناف العشر من التمور المدروسة. بينت هذه الدراسة أن مستخلصات التمور تحتوي على مكونات يمكن استخدامها في الوقاية من العديد من الأمراض وكذلك إمكانية إستخدامها في الصناعات الغذائية والدوائية.

الكلمات المفتاحية : *Phoenix dactylifera* L. ، المستخلصات الميثانولية ، HPLC، النشاط المضاد للأكسدة، المضاد للبكتيريا، المضاد للإلتهاب، المضاد للتشنج، التنوع الجيني، RAPD-PCR.

Tables des matières

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION..... 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le palmier dattier et la datte 4

1. Palmier dattier 4

2. Systématique de la plante 5

3. Dattes 5

3.1. Morphologie..... 5

3.2. Classification des dattes..... 6

3.3. Production mondiale des dattes 6

3.4. Variétés des dattes en Algérie 7

3.5. Stades de maturité des dattes..... 8

3.6. Composition chimique des dattes 9

Chapitre II: Molécules bioactives et vertus thérapeutiques des dattes..... 11

1. Composés phénoliques..... 11

1.1. Diversité des composés phénoliques 11

2. Molécules bioactives des dattes..... 12

2.1. Acides phénoliques 13

2.2. Caroténoïdes..... 14

2.3. Flavonoïdes..... 15

2.4. Stérols..... 17

2.5. Procyanidines..... 18

3. Effets thérapeutiques des dattes..... 19

3.1. Effet antioxydant 19

3.2. Effet antimicrobien..... 20

3.2.1. Effet antifongique	21
3.2.2. Effet antibactérien.....	21
3.3. Activité anti-inflammatoire.....	22
3.4. Autres activités biologiques.....	22

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES.....	24
1. MATERIEL.....	24
1.1. Matériel biologique.....	24
1.1.1. Matériel végétal	24
1.1.2. Bactéries pathogènes.....	27
1.1.3. Animaux et conditions d'hébergement	27
2. Méthodes.....	28
2.1. Préparation des extraits méthanoliques.....	28
2.2. Etude phytochimique des extraits.....	29
2.2.1. Analyses quantitatives.....	29
2.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	29
2.2.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	30
2.2.1.3. Dosage des flavonols totaux.....	31
2.2.2. Analyses qualitatives par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	31
2.3. Activités biologiques des extraits méthanoliques des dattes	33
2.3.1. Activités biologiques (<i>in vitro</i>)	33
2.3.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	33
2.3.1.1.1. Test de DPPH	33
2.3.1.1.2. Test du blanchissement du β -carotène.....	35
2.3.1.1.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate	36
2.3.1.1.4. Réduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	37
2.3.1.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	38
2.3.1.2.1. Repiquage et revivification des bactéries pathogènes.....	38
2.3.1.2.2. Préparation des suspensions	38
2.3.1.2.3. Effet antibactérien des extraits.....	38
2.3.1.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	39

2.3.1.2.5. Test de sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme.....	40
2.3.2. Activités biologiques (<i>in vivo</i>)	41
2.3.2.1. Etude de la toxicité aiguë	41
2.3.2.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire.....	41
2.3.2.3. Etude de l'activité antispasmodique	43
2.4. Analyse statistique.....	44
2.5. Phylogénie moléculaire des cultivars des dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.) par les marqueurs RAPD.....	45
2.5.1. Extraction d'ADN.....	45
2.5.2. Amplification de l'ADN.....	45
2.5.3. Electrophorèse sur gel d'agarose.....	48
2.5.4. Analyse des données RAPD.....	48
II. RESULTATS ET DISCUSSION.....	49
1. Rendement des extraits méthanoliques des dattes	49
2. Etude phytochimique des extraits méthanoliques des dattes	51
2.1. Analyses quantitatives.....	51
2.1.1. Dosage des polyphénols	51
2.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	54
2.1.3. Dosage des flavonols	56
2.2. Analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	58
3. Activités biologiques des extraits méthanoliques des dattes.....	64
3.1. Activités biologiques (<i>in vitro</i>).....	64
3.1.1. Activité antioxydante.....	64
3.1.1.1. Test de DPPH	64
3.1.1.2. Test du blanchissement du β -carotène.....	66
3.1.1.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate.....	68
3.1.1.4. Réduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	70
3.1.2. Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante.....	72
3.1.3. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des dattes	75

3.2. Activités biologiques (<i>in vivo</i>).....	84
3.2. 1.Toxicité générale aiguë.....	84
3.2. 2.Activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des dattes	84
3.2. 3.Activité antispasmodique des extraits méthanoliques des dattes.....	90
4. Diversité génétique des cultivars de <i>Phoenix dactylifera</i> L. par marqueur RAPD.....	93
4.1. Analyse des profils électrophorétiques.....	93
4.1.1. Analyse des profils électrophorétiques par rapport aux amorces.....	93
4.1.2. Analyse des profils électrophorétiques par rapport aux cultivars.....	94
4.2. Analyse des clusters.....	102
CONCLUSION.....	106

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

PUBLICATION

ANNEXES

REMERCIEMENTS

Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le créateur du tout, pour me donner la vie et la force pour accomplir ce travail.

Je suis en effet reconnaissante à ma directrice de thèse, **Pr. ALLEM R.** de l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef pour ses immenses contributions, critiques constructives, patience, compréhension, conseils, et appui au cours de réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier le Professeur **DILMI BOURAS A.** responsable de notre formation doctorale de l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef d'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi au membre du jury le professeur **BENALI M.** de l'Université de Sidi-Bel-Abbes qui donnera à mon travail une valeur ajoutée à travers ses recommandations si importantes dont je serai reconnaissante.

A Monsieur le Professeur **CHADLI R.** de l'Université de Mostaganem pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, pour avoir accepté d'en être examinateur et surtout pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail.

Je remercie vivement Docteur **KOICHE M.** de l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef d'avoir accepté de juger ce travail, pour son soutien et ses conseils précieux.

Je suis également très honorée de la présence, dans ce jury le Docteur **SETTI B.** maître de conférences à l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef.

Je remercie le Professeur **MAHMOUDI H.** de l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef, pour son aide et les nombreux services qu'il m'a rendus durant la réalisation de ma thèse.

J'adresse mes remerciements aux nombreuses personnes côtoyées dans les différentes équipes des laboratoires où j'ai réalisé les travaux de recherche de ma thèse. J'ai apprécié l'accueil et le soutien. Je voudrai ici exprimer ma gratitude à toutes et à tous. Je remercie les membres de l'équipe « ANTIBIOTICAL –SAIDAL-MEDEA » et surtout M^{elle} **NEGAB I.** pour son aide durant la réalisation des activités *in vivo*.

Je voudrais remercier **Mr CHOHRA M.** pour sa contribution et son aide concernant la réalisation de l'HPLC au niveau du laboratoire de la de Toxicologie (Alger, Algérie).

Je remercie également Monsieur **MEROUANE A.** doctorant à l'Université Hassiba BEN BOUALI de Chlef qui a participé par ses conseils si pertinents pour la rédaction de l'article.

Je n'oublie pas de remercier vivement nos collègues Mme **MOSTEFA DELLA N.** et **Mr NOUI A.** qui n'ont pas manqué à nous inculquer leurs connaissances, aides et conseils.

Enfin, je remercie ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail que je ne peux citer par omission.

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents qui ont été les premiers
à m'encourager pour aller si loin dans mes
études. Ils m'ont appris le goût du travail
et de l'ambition. Je vous dédie ce
travail car je sais que vous êtes fiers
de moi. Je vous remercie du fond du cœur.

Mon seul frère Hamza.

Mes chères sœurs Fatima Zohra, Leila et Karima.

Liste des abbreviations

AA	Acide arachidonique
AAR	Activité antioxydante relative
Abs	Absorbance
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ANOVA	Analysis of variance
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ATCC	American type culture collection
BHA	Butylhydroxyanisole
BHT	Butylhydroxytoluène
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
CDDP	Conserved DNA-Derived Polymorphism
CD68	Cluster of Differentiation 68
CMI	Concentration minimale inhibitrice
COX-1	Cyclooxygénase 1
COX-2	Cyclooxygénase 2
CRD	Centre de Recherche et de Développement
CRP	C-Réactive protéine
DL	Dose létale
dNTP	Désoxyribonucléide triphosphate
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DSS	Dextran sodium sulphate
EAG	Equivalents d'acide gallique
EC	Equivalent de catéchine
EDTA	Ethyle diamine tetra-acétate
EOPS	Exempts d'organismes pathogènes spécifiques
ER	Equivalent de rutine
ERO	Espèces réactives oxygénées
FAO	Food and Agriculture Organization
FRAP	Ferric-Reducing Antioxidant Power
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance

ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IL-1β	Interleukin 1 beta
ITAP	Intron Targeted Amplified Polymorphism
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
iPBS	Inter-Primer Binding Site
LPS	Lipopolysaccharide
LSD	Least significant difference
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MF	Matière fraîche
MH	Mueller Hinton
MS	Matière sèche
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NF-κB	Nuclear Factor-kappa B
NK	Naturel Killer
NO	Monoxyde d'azote
NOS	Oxyde nitrique synthase
p53	Protéine 53
pb	Paires de base
Pc	Poids corporel
PGE2α PGF2α	Prostaglandines
PCR	Polymerase Chain Reaction
R	Rendement d'extraction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
SCoT	Start Codon Targeted
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SSR	Simple Sequence Repeats
Taq	<i>Thermophilus aquaticus</i>
TAE	Tris Acétate EDTA
TBHQ	Tert-butylhydroquinone
TE	Tris EDTA
TNF- α	Tumor Necrosis Factor alpha

Tris-HCl	Trizma hydrochloride
TpTz	2,4,6-tripyridyl-s-triazine
U	Unité
UFC	Unité Formant Colonie
UV	Ultraviolet
V/V	Volume par volume

Liste des tableaux

Tableau I:	Production de dattes dans le monde en tonnes (2004-2007) (FAO. Stat, 2008).....	7
Tableau II :	Composition chimique des dattes (Baliga et <i>al.</i> , 2011).....	10
Tableau III:	Stations de récolte des cultivars de <i>Phoenix dactylifera</i> L. et les caractéristiques géographiques et bioclimatiques.....	26
Tableau IV:	Séquences des amorces décimères RAPD utilisées.....	46
Tableau V :	Composition du mélange réactionnel pour PCR/RAPD.....	47
Tableau VI:	Programme d'amplification PCR-RAPD (Al-Khalifah et Askari, 2003).....	47
Tableau VII:	Composés phénoliques détectés dans les extraits méthanoliques de <i>Phoenix dactylifera</i> L. analysés à 220, 280, 300 et 365nm par HPLC.....	60
Tableau VIII :	Coefficients de corrélation linéaire entre les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes et l'activité antioxydante des extraits de <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	73
Tableau IX:	Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanoliques de dattes (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).....	77
Tableau X:	Résultats de concentration minimale inhibitrice des extraits méthanoliques des cultivars de <i>Phoenix dactylifera</i> L. vis-à-vis les bactéries pathogènes.....	78
Tableau XI:	Analyse des profils RAPD en termes de nombre de bandes amplifiées, pourcentage de polymorphisme pour les différentes amorces utilisées avec l'ensemble des cultivars.....	94
Tableau XII:	Résumé des profils RAPD des 10 cultivars dattiers générés par l'ensemble des amorces employées.	95
Tableau XIII:	Matrice de similarité et la distance génétique entre les cultivars de <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	102
Tableau XIV:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-06....(Annexe III)	
Tableau XV:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-07...(Annexe III)	

Tableau XVI :	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-0.....(Annexe III)
Tableau XVII:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-09...(Annexe III)
Tableau XVIII:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-10...(Annexe III)
Tableau XIX:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-11...(Annexe III)
Tableau XX:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-13...(Annexe III)
Tableau XXI:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-14...(Annexe III)
Tableau XXII:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-15...(Annexe III)
Tableau XXIII:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-16...(Annexe III)
Tableau XXIV:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-17...(Annexe III)
Tableau XXV:	Fréquence des bandes par cultivar généré par l'amorce OPI-20...(Annexe III)

Liste des figures

Figure 01: Palmier dattier (Baliga et <i>al.</i> , 2011).....	4
Figure 02: Coupe longitudinale d'une datte (Mech-Degla) (Amellal-Chibane et <i>al.</i> , 2014).....	6
Figure 03: Fruit du palmier dattier (Baliga et <i>al.</i> , 2011).....	6
Figure 04: Différents stades de maturation de dattes (Baliga et <i>al.</i> , 2011; Tang et <i>al.</i> , 2013).....	9
Figure 05: Différentes classes des composés phénoliques (Macheix et <i>al.</i> , 2005)...	12
Figure 06: Structure des acides phénoliques présents dans les dattes (Vayalil, 2012).....	14
Figure 07: Structure des caroténoïdes identifiés dans les dattes (Vyawahare et <i>al.</i> , 2012).....	15
Figure 08: Structure des flavonoïdes présents dans les dattes (Vayalil, 2012).....	16
Figure 09: Structure des stérols présents dans les dattes (Baliga et <i>al.</i> , 2011).....	17
Figure 10: Structure des procyanidines présents dans les dattes (Baliga et <i>al.</i> , 2011).....	18
Figure 11: Différents cultivars du <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	25
Figure 12: Protocole de préparation des extraits méthanoliques des dattes (Biglari et <i>al.</i> , 2008).....	28
Figure 13: Différentes parties de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Sampietro et <i>al.</i> , 2009).....	32
Figure 14: Structure du DPPH et de sa forme réduite (Molyneux, 2004).....	34
Figure 15: Réaction de test FRAP (Prior et <i>al.</i> , 2005).....	37
Figure 16: Rendements des extraits méthanoliques des différents cultivars des dattes.....	50
Figure 17: Teneur en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques....	52
Figure 18: Teneur en flavonoïdes des différents extraits méthanoliques.....	55
Figure 19: Teneur en flavonols des différents extraits méthanoliques.....	57
Figure 20: Valeurs d'IC ₅₀ des extraits méthanoliques	65
Figure 21: Pourcentage de l'activité antioxydante relative des extraits méthanoliques.	68
Figure 22: Activité antioxydante totale des extraits méthanoliques.....	70
Figure 23: Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques.....	72

Figure 24: Pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation par les extraits méthanoliques des dattes.....	85
Figure 25: Pourcentage de réduction des spasmes par les différents extraits des dattes.....	91
Figure 26: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-06	96
Figure 27: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-07.....	96
Figure 28: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-08.....	97
Figure 29: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-09	97
Figure 30: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-10	98
Figure 31: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-11.....	98
Figure 32: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-13.....	99
Figure 33: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-14.....	99
Figure 34: Diagrammes électrophorétique RAPD des 10 échantillons générés par l'amorce OPI-15.....	100
Figure 35: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-16.....	100
Figure 36: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-17.....	101
Figure 37: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-20.....	101
Figure 38: Dendrogramme de similarité et de distance génétique entre les 10 échantillons régénéré par <i>CLUSTER ANALYSIS</i>	103
Figure 39: Courbe d'étalonnage d'acide gallique à 725nm.....(Annexe I)	
Figure 40: Courbe d'étalonnage de catéchine à 510nm..... (Annexe I)	
Figure 41: Courbe d'étalonnage de rutine à 440nm..... (Annexe I)	

- Figure 42:** Courbes [% inhibition=f (concentration)] pour le calcul des IC..... (Annexe I)
- Figure 43:** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique à 695 nm..... (Annexe I)
- Figure 44:** Courbe d'étalonnage de *sulfate de fer* à 593 nm.(Annexe I)
- Figure 45:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tantebouchte.....(Annexe I)
- Figure 46:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Hamraya.....(Annexe I)
- Figure 47:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Biraya.....(Annexe I)
- Figure 48:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Figheth..... (Annexe I)
- Figure 49:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Degla Baidha.....(Annexe I)
- Figure 50:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Deglet-Nour.....(Annexe I)
- Figure 51:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached.....(Annexe I)
- Figure 52:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tamajort..... (Annexe I)
- Figure 53:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Ghars.....(Annexe I)
- Figure 54:** Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tansine.....(Annexe I)
- Figure 55:** Effet des extraits méthanoliques sur *Salmonella typhimurium* ATCC14028.....(Annexe I)
- Figure 56:** Effet des extraits méthanoliques sur *Bacillus spizizenii* ATCC6633...(Annexe I)
- Figure 57:** Effet des extraits méthanoliques sur *Staphylococcus aureus* ATCC638P.....(Annexe I)
- Figure 58:** Effet des extraits méthanoliques sur *Escherichia coli* ATCC8739.....(Annexe I)
- Figure 59:** Effet des extraits méthanoliques sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.....(Annexe I)
- Figure 60:** Effet des extraits méthanoliques sur *Listeria monocytogenes* ATCC15313.....(Annexe I)

- Figure 61:** Administration orale des extraits méthanoliques des dattes.....(Annexe II)
- Figure 62:** Injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche.....(Annexe II)
- Figure 63:** Souris sacrifiées avec pattes postérieures coupées..... (Annexe II)

Introduction

Introduction

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines et des lipides). Les effets nuisibles du stress oxydant sur la santé sont devenus un problème majeur. Pour cette raison, l'intérêt d'utilisation des antioxydants d'origine naturelle a considérablement augmenté (Kimura *et al.*, 2005).

Le traitement actuel de l'inflammation fait appel aux anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Ces molécules bien qu'étant efficaces présentent le plus souvent des effets indésirables qui peuvent gêner leur utilisation au long terme tels que les maladies gastro-intestinales, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et la toxicité hépatique et urinaire (Batlouni, 2010).

L'utilisation abusive des antibiotiques peut être la cause majeure de la destruction de la flore intestinale normale et la prolifération des germes pathogènes résistants aux antibiotiques (Cushnie et Lamb, 2011). La résistance aux antibiotiques est devenue de plus en plus un problème majeur et urgent dans le monde, ce qui a orienté les recherches vers les ressources phyto-génétiques pour trouver des solutions. C'est une voie très prometteuse et très efficace pour lutter contre les bactériens pathogènes (Sudano Roccaro *et al.*, 2004).

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'ils s'en sert pour se nourrir et se soigner (Fellah *et al.*, 2006). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en voie développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS, 2003).

Dans diverses plantes médicinales, différentes molécules bioactives, telles que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les caroténoïdes et les stérols ont été identifiées (Mansouri *et al.*, 2005).

Les molécules antioxydantes naturelles, contrairement aux synthétiques, semblent être très privilégiées par les utilisateurs dans l'industrie alimentaire afin d'empêcher la détérioration oxydante des denrées par les radicaux libres. En effet, l'emploi d'antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et le tert-

butylhydroquinone (TBHQ), sont suspectés d'avoir des effets secondaires cancérigènes (Ames, 1983).

Le palmier dattier constitue à la fois le symbole et la charpente de l'écosystème oasien. La datte est le fruit du palmier dattier, produit dans les régions sahariennes et considéré comme un aliment de grande importance pour la population habitant ces régions. L'Algérie a un patrimoine riche et diversifié en palmiers dattiers, plus de 13 millions de palmiers et 940 cultivars sont recensés avec une production totale de dattes évaluée à 440 000 tonnes (Hannachi et *al.*, 1998).

Divers travaux ont été menés pour déterminer la composition chimique de la datte en sucres, protéines, lipides, fibres, vitamines et minéraux. Toutefois, les études sur les effets biologiques de ses composants phénoliques restent peu nombreuses et ne concernent que quelques variétés dans leur majorité (Sawaya et *al.*, 1982; Mohamed et *al.*, 2014). Ces composés acquièrent un intérêt croissant qui prend de l'ampleur vu leurs propriétés biologiques importantes.

Le présent travail s'insère dans le cadre du programme destiné à la valorisation de la flore algérienne, par la recherche de nouveaux composés ou principes actifs.

Cette thèse est subdivisée en deux grandes parties (bibliographique et expérimentale); la synthèse bibliographique comporte un rappel sur les dattes, leur composition, culture, maturité et l'intérêt thérapeutique des biomolécules que contiennent celles-ci.

Dans la partie expérimentale, nous avons fixé plusieurs objectifs, à savoir:

- L'étude phytochimique basée principalement sur la préparation des extraits méthanoliques de chaque variété;
- La quantification des composés phénoliques, flavonoïdes et flavonols présents dans les différents extraits méthanoliques;
- La détermination de la composition chimique des extraits méthanoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC);
- L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques en utilisant quatre méthodes différentes;

- L'étude de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des bactéries pathogènes;
- La détermination *in vivo* de la toxicité aiguë, l'activité anti-inflammatoire et anti-spasmodique des extraits;
- Détermination de la phylogénie moléculaire des cultivars de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) par les empreintes génétiques (technique moléculaire PCR-RAPD).

Revue Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur le palmier dattier et la datte

1. Palmier dattier

Le palmier dattier: *Phoenix dactylifera* L., provient du mot "*Phoenix*" qui signifie dattier chez les phéniciens, et "*dactylifera*" dérive du terme grec "*dactulos*" signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit. C'est une plante dioïque, monocotylédone et arborescente s'adaptant aux régions les plus arides du monde (Fig.01) (Benchelah et Maka, 2006).

C'est une plante originaire du Golf arabe cultivée dans les régions chaudes et humides, mais elle peut exister aussi à l'état spontané dans d'autres régions à caractères climatiques différents. Actuellement, cet arbre se développe au Moyen-Orient, Afrique du Nord, régions d'Amérique centrale et du Sud, Sud de l'Europe, l'Inde et le Pakistan (Benchelah et Maka, 2006; Lim, 2012).



Figure 01: Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) (Baliga et al., 2011).

2. Systématique de la plante

Le palmier dattier appartient à la famille d'Arecaceae (Palmaceae) qui comprend 200 genres (Dowson, 1982). Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, la plus connue est l'espèce *Phoenix dactylifera* L. Selon Mallhi et al. (2014), la classification du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-contre:

- Règne: Plantae
- Sous-règne: Tracheobionta
- Division: Magnoliophyta
- Classe: Liliopsida
- Sous-classe: Arecidae
- Ordre: Arecales
- Famille: Arecaceae
- Genre: *Phoenix*
- Espèce: *Phoenix dactylifera* L.

3. Dattes

3.1. Morphologie

La datte, fruit du palmier dattier, est caractérisée par la couleur variable, du jaune doré au rouge sombre presque noir. Son aspect, sa forme, sa consistance, sa taille et sa composition chimique sont aussi variables (Al-Yahyai et Al-Kharusi, 2012), dépendant des différences variétales, climat, sol et conditions de croissance. Selon Baliga et al. (2011), la datte est une baie oblongue d'environ 10 à 20 g, constituée d'une partie dure non comestible appelée «graine ou noyau» et d'une partie comestible appelée «pulpe ou chair» (Fig. 02, Fig. 03). Cette dernière est constituée de :

- Un péricarpe cellulosique fin dénommé la peau;
- Un mésocarpe généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucres;
- Un endocarpe de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau.



Figure 02: Coupe longitudinale d'une datte (Mech-Degla) (Amellal-Chibane et al., 2014).

(1. Fruit entier, 2. Péricarpe, 3. Graine (Noyau), 4. Endocarpe, 5. Mésocarpe)



Figure 03: Fruit du palmier dattier (Baliga et al., 2011).

3.2. Classification des dattes

D'après la consistance, les dattes sont réparties en trois catégories (Benchelah et Maka, 2006):

Dattes molles: elles ont une chair très aqueuse et elles nécessitent un traitement visant à la réduction de la teneur en eau pour être bien conservées, exemple: Ghars.

Dattes demi-molles: dont la teneur en eau est moins importante que la catégorie précédente, exemple: Deglet-Nour.

Dattes sèches de consistance dure: dont la pulpe est naturellement sèche, exemple: Degla Baidha.

3.3. Production mondiale des dattes

Les principaux pays producteurs de dattes sont: l'Égypte, l'Iraq, l'Iran, l'Arabie-Saoudite, l'Emirats Arabes Unis, le Pakistan, l'Algérie et le Soudan. Au Maghreb, l'Algérie arrive en tête. La production mondiale de dattes en 2007 est de 6422325 tonnes (Tableau I).

Tableau I: Production de dattes dans le monde en tonnes (2004-2007) (FAO. Stat, 2008).

Pays	2004	2005	2006	2007
Algérie	442600	516293	491188	468000
Arabie Saoudite	941293	970488	970000	970000
Bahreïn	14000	15000	15000	15500
Égypte	1166182	1170000	1175000	1130000
Espagne	4273	4360	5000	5250
Iraq	875000	404000	300000	290000
Jordanie	4068	3115	3965	4000
Kuwait	16000	15800	14200	14500
Maroc	2014	2756	2988	3000
Oman	231000	247331	258738	260000
Pakistan	622404	496576	506623	510000
Qatar	18222	19844	20000	21000
Soudan	336000	328200	330000	330000
Tunisie	122000	125000	125000	120000
Yémen	28576	29990	50090	50000

3.4. Variétés des dattes en Algérie

Dans le Sahara Algérien, le palmier dattier constitue le pivot de l'agriculture et la principale source de vie de la population avec une production annuelle moyenne de 60 kg/arbre et qui peut atteindre, dans certains cas, les 100 kg/arbre. Cet arbre précieux des oasis ne cesse pas de produire pendant cinquante à quatre-vingt ans, et parfois cette période s'étale jusqu'à cent ans (Benchelah et Maka, 2006).

En termes de diversité des dattes, l'Algérie renferme une richesse importante avec plus de 940 cultivars (Hannachi et *al.*, 1998), chaque région a sa datte de prédilection, plus ou moins oblongue, plus ou moins colorée, du jaune translucide au rouge sombre, et chaque variété a sa propre appellation (Benchelah et Maka, 2008). Les principales variétés cultivées sont:

Deglet-Nour: variétés commerciales par excellence du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A la maturité, le fruit se caractérise par une couleur brune ambrée

avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse. Dans certaines régions d'Algérie, la Deglet-Nour est presque exclusivement cultivée (Benchelah et Maka, 2008).

Variétés communes: ce sont de moindre importance économique par rapport à la variété Deglet-Nour. Les variétés les plus répandues sont: Ghars, Degla Beidha et Mech-Degla (Amellal-Chibane et *al.*, 2014).

3.5. Stades de maturité des dattes

Le fruit du palmier dattier passe par différents stades d'évolution qui durent environ sept mois. Au cours de la croissance de la datte, plusieurs changements internes et externes sont observés (Fig.04) (Ahmed et *al.*, 1995; Al-Shahib et Marshall, 2002; Al-Shahib et Marshall, 2003; Fadel et *al.*, 2006). Les différents stades ont été internationalement acceptés et sont définis comme suit:

Hababouk: ce stade commence juste après la fécondation et dure cinq semaines et se termine par la chute des deux carpelles non fécondés. A ce stade, le fruit se caractérise par une croissance lente (Eltayeb et *al.*, 1999; Mortazavi et *al.*, 2010).

Kimri: le développement de la datte pendant ce stade est très long et dure neuf à quatorze semaines (Morton, 1987). Il se caractérise par la couleur verte, goût amer, une augmentation rapide du poids et de la taille du fruit et une augmentation des sucres totaux (glucose et fructose) et de la matière sèche (Hui, 2006).

Khalal: Ce stade dure six semaines, au cours duquel, la couleur du fruit passe du vert au jaune clair, puis vire au jaune ou au rouge selon les variétés. Le fruit est physiologiquement mature, dur et atteint le poids et la taille maximale. Ce stade se caractérise par une augmentation rapide de la concentration des sucres, de l'acidité et la diminution de la teneur en eau (50-80% d'humidité) (Ahmed et *al.*, 1995; Fadel et *al.*, 2006).

Routab: au cours de ce stade, la datte retient la couleur jaune ou rouge du stade khalal. Il se caractérise par l'augmentation de la teneur en monosaccharides qui donnent un goût sucré au fruit. Ce stade dure de deux à quatre semaines (Ahmed et *al.*, 1995; Fadel et *al.*, 2006).

Tamar: c'est la dernière étape de maturation et le fruit apparait déshydraté. Le fruit n'est plus astringent à ce stade (Ahmed et *al.*, 1995).



Figure 04: Différents stades de maturation des dattes (Baliga et *al.*, 2011; Tang et *al.*, 2013).

3.6. Composition chimique des dattes

La datte est un aliment composé d'une mixture de macro et micro-éléments avec des teneurs variables (Tableau II) (Sawaya et *al.*, 1982).

Eau: La teneur en eau est un paramètre fondamental a des raisons capitales: pour la détermination et la conduite rationnelle des opérations de récolte, de stockage ou de conservation. La teneur en eau est en fonction des variétés de dattes, du stade de maturation et du climat. Elle varie entre 7.2 et 50.4% du poids de la chair (Shamim et *al.*, 2013; Al-Harrasi et *al.*, 2014).

Sucres: La pulpe (pâte) des dattes est riche en sucres (70%) facilement assimilables (le glucose principalement, saccharose et le fructose) (Mabood et *al.*, 2015). Il est apporté que 100g de la chair de dattes peut fournir 314 Kcal d'énergie (Al-Farsi et Lee, 2008; Iqbal et *al.*, 2011; Taain, 2013).

Fibre: La datte renferme les quatre types des fibres alimentaires: pectine, cellulose, hémicellulose et la lignine avec une teneur importante qui varie de 3.57 à 10.9g/100g (Elleuch et *al.*, 2008; Masmoudi et *al.*, 2009; Ali et *al.*, 2009; Ahmed et *al.*, 2013; Ammar et *al.*, 2014). Ces fibres alimentaires peuvent exercer des effets thérapeutiques à l'instar du pouvoir anticancéreux et hypocholestérolémiant (Jaccot et Campillo, 2003).

Protéines: Elle contient moins de protéines, représentant 1.1 à 2.6 % du poids sec (Parvin et *al.*, 2015). La datte est caractérisée par la présence des acides aminés suivants: alanine, arginine, acide aspartique, cystéine, serine, méthionine, proline et l'histidine (Bacha et *al.*, 1987; Al-Farsi et Lee, 2008; Sulieman et *al.*, 2012; Assirey, 2015).

Lipides: En général, la datte ne constitue pas une source importante de lipides, leur teneur est en fonction de la variété et du stade de maturation. Leur teneur est comprise entre 0.1 et 1.4 % (Baliga et *al.*, 2011).

Vitamines: Le fruit de dattes est riche en vitamines comme la rétinol, la riboflavine, la thiamine, la niacine, la pyridoxine, l'acide folique et l'acide ascorbique, qui sont essentiels pour le corps (Saafi et *al.*, 2008; Al-Farsi et Lee, 2008; El-Sohaimy, 2010; Abdu, 2011; Agboola et Adejumo, 2013).

Minéraux: La chair des dattes est riche aussi en fer, calcium, manganèse, potassium, phosphore, sodium, magnésium et en sélénium (Ismail et *al.*, 2006; Sahari et *al.*, 2007; Mrabet et *al.*, 2008; Habib et brahim, 2009; Al Juhaimi et *al.*, 2014).

Tableau II: Composition chimique des dattes (Baliga et *al.*, 2011).

Constituants	Teneurs	Constituants	Teneurs
Eau (g/100g)	7.2-50.4	<u>Vitamines (µg/100g)</u>	
Lipides (g/100g)	0.1-1.4	A (Rétinol)	3.0-44.7
Protéines (g/100g)	1.1- 2.6	B1 (Thiamine)	3.0-44.7
<u>Sucre (g/100g)</u>	52.6-88.6	B2 (Riboflavine)	60-160
Glucose	17.6- 41.4	B3 (Niacine)	1274-1610
Fructose	13.6-36.8	B6 (pyridoxine)	165-249
Sucrose	0.5 -33.9	B9 (Acide folique)	39-65
<u>Fibres (g/100g)</u>	3.57-10.9	C (Acide ascorbique)	400-16000
Insolubles	3.03-7.4	<u>Minéraux (mg/100g)</u>	
Solubles	0.4-1.3.	Magnésium(Mg)	31.0-150
<u>Acides aminés (mg/100g)</u>		Sodium (Na)	1.00-261
Alanine	30 -133	Calcium (Ca)	5.00- 206
Arginine	34-148	Phosphore (P)	35.0 -74
Acide aspartique	59-309	Potassium (K)	345.0-1287
Cystéine	13-67	Fer (Fe)	0.10-1.5
Méthionine	4-62	Manganèse (Mn)	0.01-0.4
Histidine	0.1-46	Sélénium(Se)	0.24-0.4

Chapitre II: Molécules bioactives et vertus thérapeutiques des dattes

1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006; Laouini, 2014).

1.1. Diversité des composés phénoliques

Les polyphénols naturels peuvent varier de molécules simples telles que les acides phénoliques à gros composés hautement polymérisés comme les tanins. Les formes conjuguées de polyphénols sont les plus courantes, où divers sucres, acides organiques et lipides (graisses) sont liés à la structure phénolique (Bouchet et *al.*, 1998). Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, ...etc.) (Fig.05) (Macheix et *al.*, 2005).

Actuellement, les composés phénoliques sont connus par des remarquables activités pharmaco-biologiques entre autres des effets hypocholestérolémiantes (Cheurfa et Allem, 2015, Bouazza et *al.*, 2015), antiviraux, antimicrobiens (Rao et *al.*, 2012), anticancéreux, anti-inflammatoires (Jung et *al.*, 2005), anti-thrombotiques et hépato-protecteurs (Akamatsu et *al.*, 2004). Ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels (Naskar et *al.*, 2010).

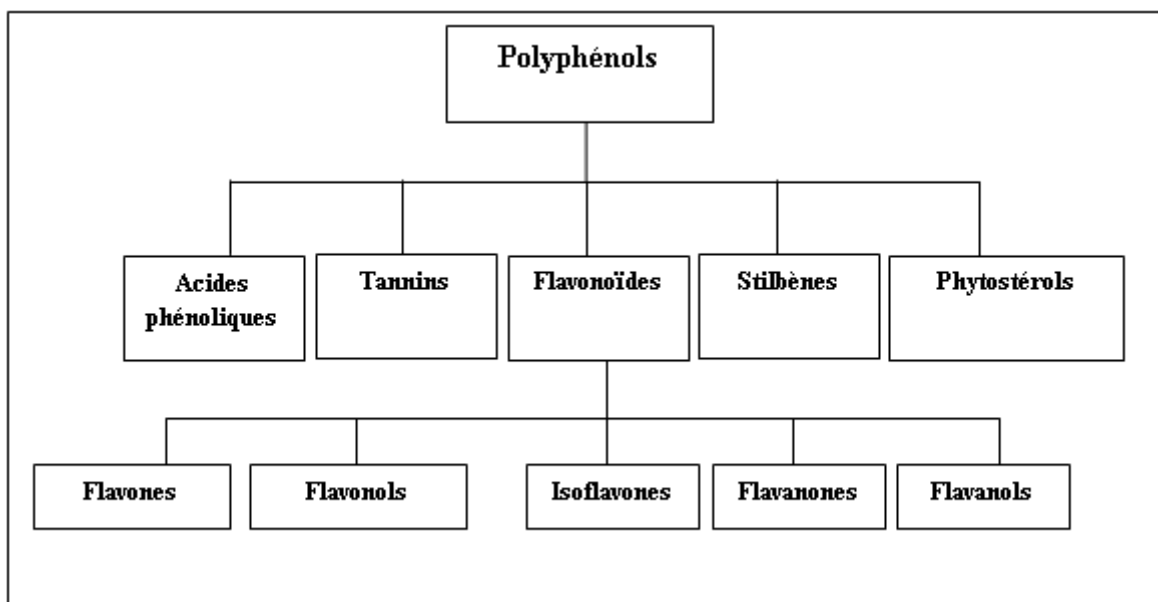


Figure 05: Différentes classes des composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005).

2. Molécules bioactives des dattes

La pulpe des dattes est riche en substances phytochimiques comme les acides phénoliques, les stérols, les caroténoïdes, les anthocyanines, tanins, les procyanidines et les flavonoïdes (Fayadh et Al-Showiman, 1990; Al-Farsi et *al.*, 2005b; Abdul et Allaith, 2008; Sakr et *al.*, 2010; Taleb et *al.*, 2016b).

Al-Farsi et *al.* (2007) ont signalé que le rapport et les concentrations de ces constituants sont liés à plusieurs facteurs, comme: la variété, les conditions de croissance, la saison de maturité, l'origine géographique, la fertilité du sol, les conditions de stockage et le temps d'exposition au soleil.

Les dattes constituent une source alimentaire riche en composés phénoliques reconnus par leur pouvoir antioxydant puissant et impliqué dans des rôles nutritionnels et préventifs des maladies liées au stress oxydant (Biglari et *al.*, 2009). Ces antioxydants naturels sont visés par la communauté scientifique et industrielle comme une solution alternative aux antioxydants de synthèse qui sont suspectés d'avoir des effets carcinogènes (Ishurd et Kennedy, 2005).

2.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent l'une des principales classes des métabolites secondaires présents dans les plantes. Ils sont largement répandus dans les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide hydroxybenzoïque ou de l'acide hydroxycinnamique. Ils contiennent un cycle benzène hydroxylé (Heim et *al.*, 2002).

Les dattes sont riches en acides phénoliques, on trouve l'acide vanillique, acide gallique, acide syringique, acide férulique, acide protocatéchique, acide p-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide p-coumarique et l'acide o-coumarique (Fig.06) (Mansouri et *al.*, 2005; Al-Farsi et *al.*, 2005a; Benmeddour et *al.*, 2013).

Des études ont démontré que les acides phénoliques sont des agents protecteurs contre le développement des lésions cancéreuses et les maladies cardio-vasculaires (Al-Farsi et *al.*, 2005a; Borochoy-Neori et *al.*, 2015).

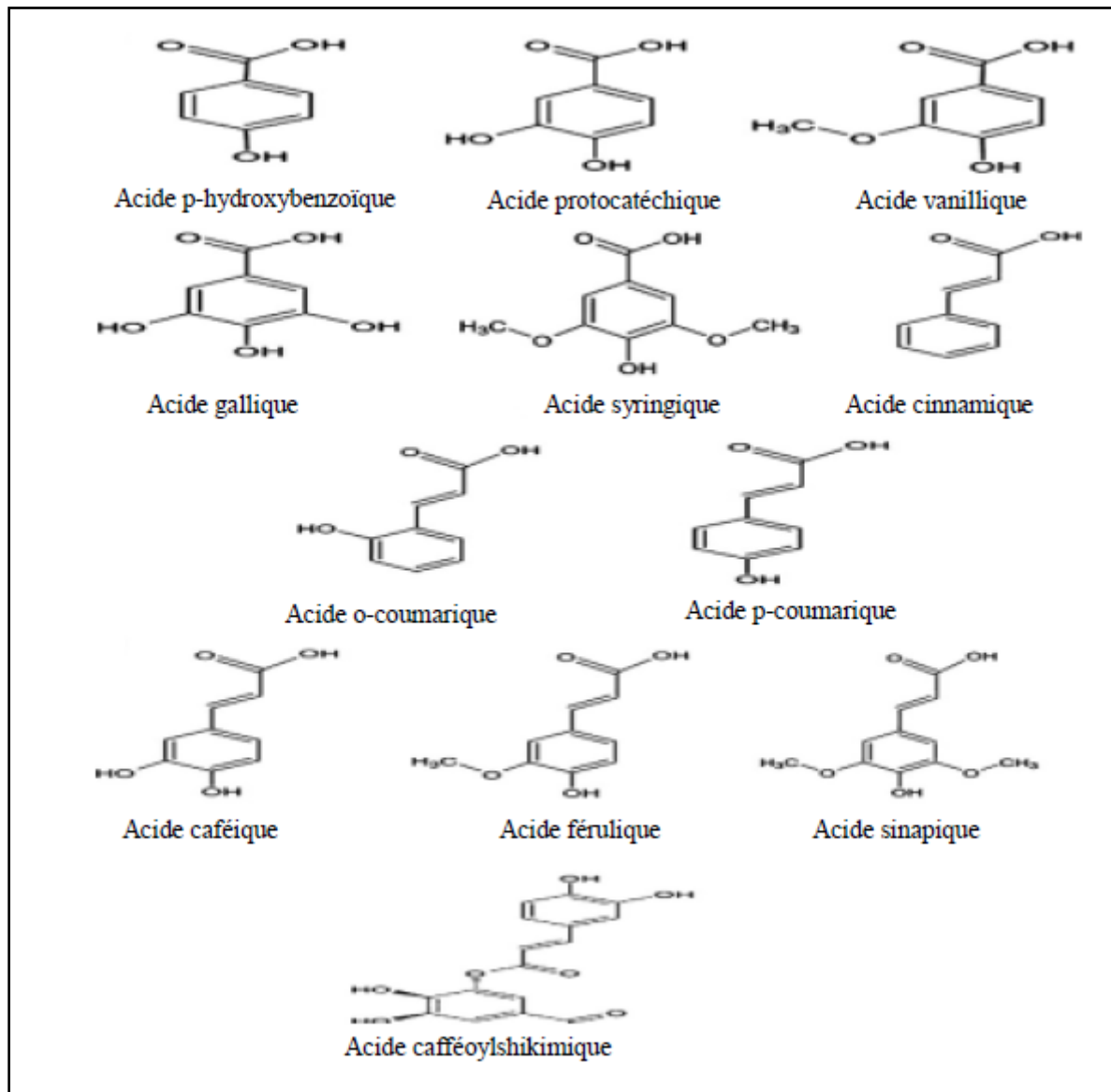


Figure 06: Structure des acides phénoliques présents dans les dattes (Vayalil, 2012).

2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent une importante famille de pigments de nature terpénoïdes. Ce sont les pigments qui confèrent aux dattes la couleur caractéristique. Le groupe des caroténoïdes comprend des molécules tétraterpéniques formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques (Derbel et Ghedira, 2005).

Boudries et *al.* (2007) ont démontré que le fruit de dattes contient les caroténoïdes suivants: lutéine et le β -carotène (Fig.07).

Le β -carotène présente une fonction provitaminique. Il subit une conversion enzymatique en vitamine A essentiellement dans l'intestin et le foie. D'après les études *in vivo*, le β -carotène est un immunostimulant. Il favorise la différenciation et la prolifération des lymphocytes, augmente le nombre et la toxicité des cellules «naturel killer (NK)» et induit la synthèse des TNF- α «tumor necrosis factor(α)» par les macrophages (Faure et *al.*, 1999).

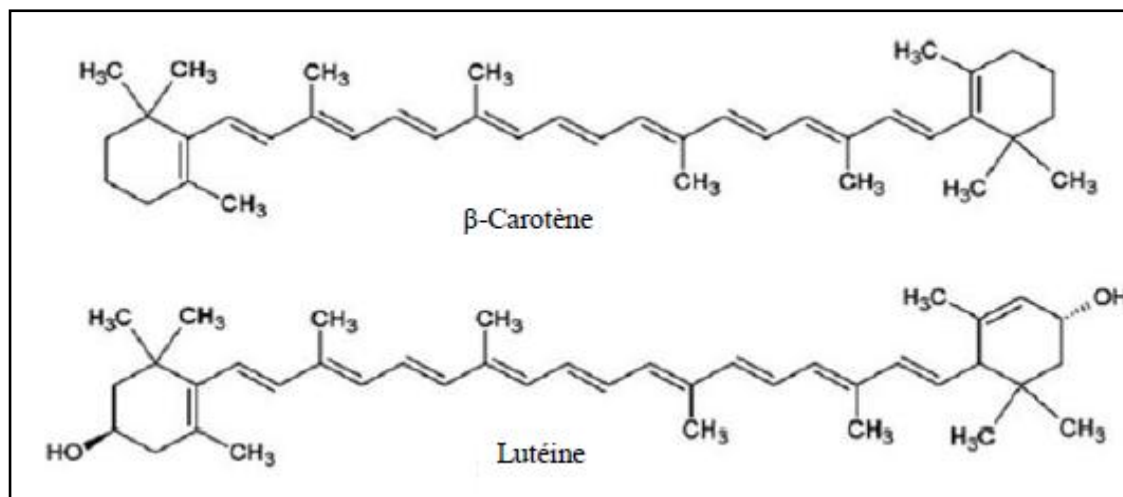


Figure 07: Structure des caroténoïdes identifiés dans les dattes (Vyawahare et *al.*, 2012).

2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes forment un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Les flavonoïdes sont identifiés dans presque toutes les parties des plantes: les feuilles, les racines, les tiges, les graines et l'écorce (Lee et *al.*, 2003).

Benmeddour et *al.* (2013) ont identifié plus de trente flavonoïdes présents dans les dattes, représentés principalement par le lutéoline, quercétine et l'apigénine (Fig.08).

Mansouri et *al.* (2005) ont mentionné que les teneurs en flavonoïdes des dattes de la région de Ghardaïa sont très faibles. Néanmoins, ils ont réussi à identifier certains d'entre eux ; il s'agit de flavones glycosides, flavonones glycosides et de flavonols glycosides.

Les flavonoïdes possèdent divers avantages pour la santé, ils comprennent des activités antioxydante et antiradicalaire, réduction du risque de certaines maladies cardiovasculaires et certains types de cancers (Beil *et al.*, 1995; Youdim *et al.*, 2002). Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C₃-OH) fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (OH) (Rice-Evans et Miller, 1996a,b; Nijveldt *et al.*, 2001).

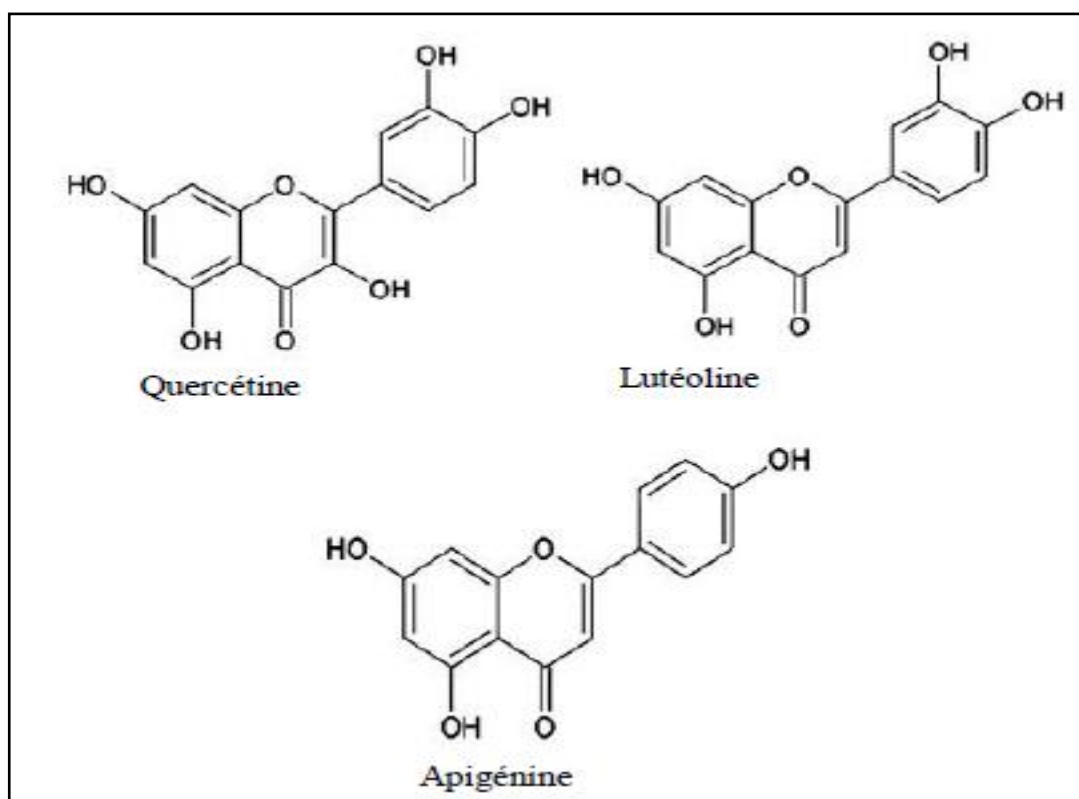


Figure 08: Structure des flavonoïdes présents dans les dattes (Vayalil, 2012).

2.4. Stérols

Les stérols des plantes sont des composés naturels, appelés aussi phytostérols, sont des alcools stéroïdes, membres de la famille des terpènes. Les phytostérols sont constitués d'un assemblage tétracyclique cyclopentaphénanthrénique comprenant un groupement hydroxyle en position 3 du premier cycle et une chaîne latérale. Les phytostérols ont une structure chimique similaire au cholestérol (Zhou *et al.*, 2004; Liolios *et al.*, 2009).

Kikuchi et Miki (1978) ont montré que les dattes contiennent les stérols suivants: campestérol, stigmastérol, β -sitostérol et l'isofucostérol (Fig. 09).

Les phytostérols exercent de façon dose dépendante un effet hypocholestérolémiant modéré et entrent en compétition avec l'absorption du cholestérol ce qui entraîne indirectement une diminution de l'ordre de 10% du cholestérol LDL (Lecerf, 2006).

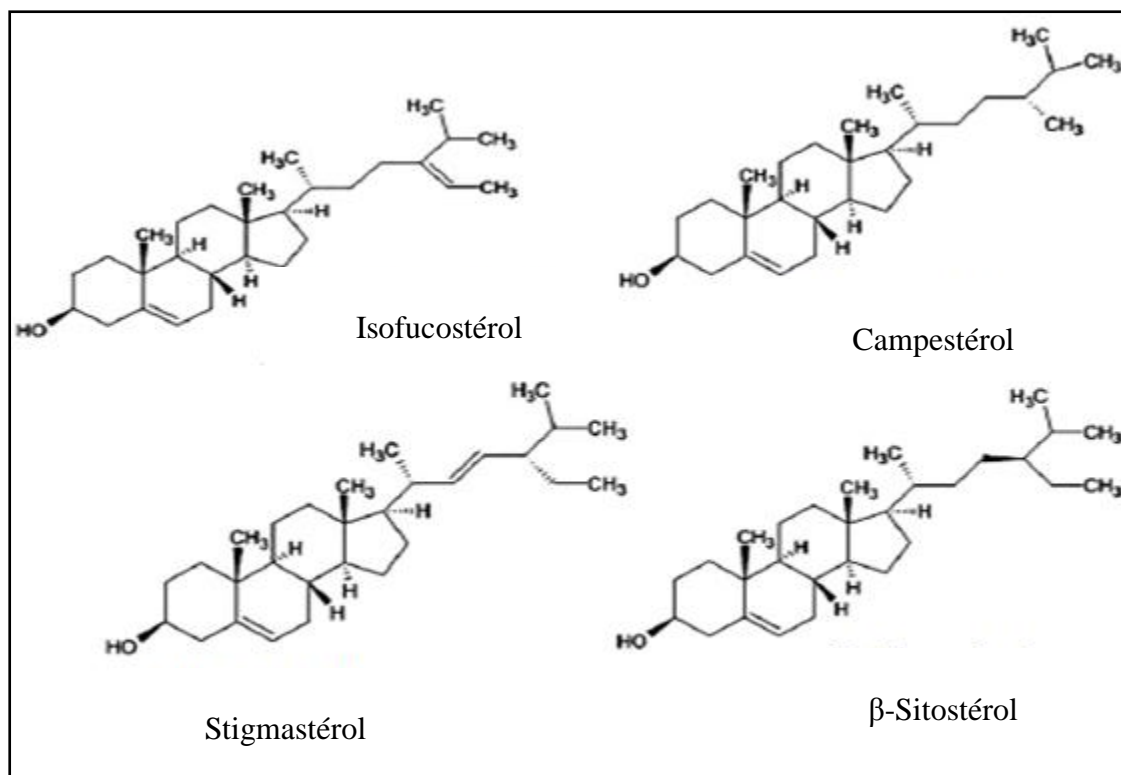


Figure 09: Structure des stérols présents dans les dattes (Baliga et *al.*, 2011).

2.5. Procyanidines

Les procyanidines sont des tanins condensés et les principaux précurseurs des pigments présents dans les fruits, légumes, graines, fleurs et les écorces. Ce sont des polymères de poids moléculaire trop élevé (Hammouda et *al.*, 2014).

Les tannins sont des polyphénols de structure complexe, avec une activité antioxydante très puissante. Ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au

cours de la peroxydation. Plusieurs auteurs ont signalé la présence des procyanidines dans les dattes (Fig. 10) (Baliga et *al.*, 2011; Hammouda et *al.*, 2015; Hafez El-Far et *al.*, 2016).

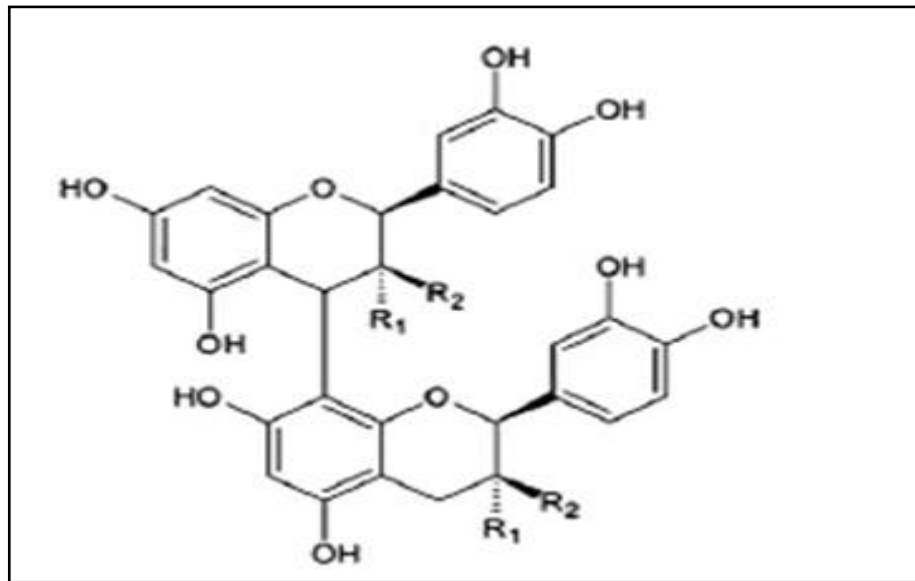


Figure 10: Structure des procyanidines présents dans les dattes (Baliga et *al.*, 2011).

(Catéchine: $R_1=H$, $R_2=OH$, Epicatéchine: $R_1=OH$, $R_2=H$).

3. Effets thérapeutiques des dattes

Il existe une corrélation inverse entre la consommation des denrées d'origine végétale et l'incidence des cancers et des pathologies chroniques. Ces vertus sont attribuées, entre autres, à des nutriments d'origine végétale ou phytonutriments (Derbel et Ghedira, 2005).

Depuis l'antiquité, la datte et son noyau ont été utilisés dans la médecine traditionnelle, dans les régions sahariennes, plus précisément dans les oasis, où le palmier dattier fut cultivé. La datte représente un fruit providentiel (Rahmani et *al.*, 2014).

Outre la valeur énergétique élevée des dattes et leur richesse en sucres réducteurs facilement assimilables, profil minéral et vitaminique important, ce fruit est doté de nombreux effets bénéfiques pour la santé résultant de la mixture de métabolites secondaires qu'il renferme (Benchelah et Maka, 2008).

Les recherches effectuées sur le palmier dattier ont fait l'objet de certaines publications sur le plan phytochimique (Messaoudi et *al.*, 2013), pharmacologique (Michael et *al.*, 2013; Bouhlali et *al.*, 2015; Abdennabi et *al.*, 2016; Albakhit et *al.*, 2016) et nutritionnel (Sameera et *al.*, 2015; Ghazal et *al.*, 2016).

3.1. Effet antioxydant

Le stress oxydatif, parfois appelé stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Boyd et *al.*, 2003).

Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non paires dans ses orbitales (Favier, 2003). Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines et l'oxydation des glucides composant les acides nucléiques. De façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne (Sohal et *al.*, 2002).

Un antioxydant est défini comme toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd et *al.*, 2003). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Favier, 2003). Les antioxydants sont

en fait des agents de prévention. Ils bloquent l'initiation, en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Au cours de ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour la recherche d'antioxydants naturels (Gaceb-Terrak et Rahmania, 2010; Awatef et *al.*, 2011, Saafi et *al.*, 2011).

Les antioxydants présents dans les plantes peuvent contribuer au ralentissement des processus du stress oxydatif. L'effet bénéfique des antioxydants concerne les maladies cardiovasculaires, les troubles cérébraux et certaines maladies dégénératives telles que le cancer (Kromhout, 2001).

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies. Les polyphénols ont été décrits comme étant des antioxydants (Baydar et Baydar, 2013), des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoire, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux (Middleton et *al.*, 2000; Falleh et *al.*, 2013; Baydar et Baydar, 2013).

Des expériences *in vivo* réalisées par Yeh et *al.* (2005) ont montré que l'administration orale du p-coumarique présent dans le fruit de dattes augmente l'expression des gènes des enzymes antioxydantes dans le tissu cardiaque chez le rat. Ce pouvoir antioxydant est attribué aux anthocyanines, flavonoïdes et les procyanidines présents dans les dattes.

Des études ont démontré que les extraits aqueux de dattes réduisent le stress oxydant et diminuent la peroxydation lipidique et protéique chez les rats (Vayalil, 2002; Al-Farsi et *al.*, 2005b; Liolios et *al.*, 2009; Chaira et *al.*, 2009).

3.2. Effet antimicrobien

L'activité antimicrobienne des extraits du fruit des dattes peut être mesurée *in vitro*, par l'utilisation des techniques microbiologiques. Les études ont montré que l'activité antimicrobienne varie considérablement selon les cultivars des dattes, mais aussi selon le micro-organisme testé (Dhaouadi et *al.*, 2011).

3.2.1. Effet antifongique

L'augmentation de la résistance fongique vis-à-vis des médicaments classiques, les frais de traitement et le fait que les antifongiques les plus disponibles n'ont que l'activité fongistatique (Tadesse et *al.*, 2008; Bokhari et Perveen, 2012).

Belmir et *al.* (2016) ont trouvé que l'extrait aqueux des dattes a une activité antifongique significative vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 1023 par rapport à l'amphotéricine B seul. En effet, Shraideh et *al.* (1998) ont étudié l'effet de l'extrait de la variété Berhi sur la croissance et l'ultrastructure de *Candida albicans* par microscope électronique à balayage. L'étude a indiqué que l'extrait agit directement sur l'intégralité de la paroi cellulaire, provoquant l'agrégation des contenus cytoplasmiques et conduit à la lyse de la levure. Bokhari et Perveen (2012) ont attribué ce pouvoir antifongique à la synergie entre les différents constituants chimiques présents dans le fruit.

3.2.2. Effet antibactérien

L'utilisation abusive des antibiotiques peut être la cause majeure de la destruction de la flore intestinale normale et la prolifération des germes pathogènes résistants aux antibiotiques. La résistance aux antibiotiques est devenue de plus en plus un problème majeur et urgent dans le monde (Archibalt et *al.*, 1997; Rocha et *al.*, 2011).

Bokhari et Perveen (2012) ont démontré que l'extrait des dattes inhibe la croissance de *Streptococcus pyogenes* et neutralise leur effet hémolytique par l'inhibition de la sécrétion de l'enzyme «Streptolysine O».

Ayachi et *al.* (2009) ont démontré que les extraits méthanoliques et butanoliques de trois variétés de datte (Deglet-Nour, Ghars et Mech-Degla) possèdent un effet antibactérien contre *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*.

L'action inhibitrice des polyphénols sur la croissance bactérienne est rapportée dans plusieurs études récentes démontrant que ces molécules sont douées d'un pouvoir antibactérien important sur les différentes souches bactériennes à gram positif et négatif. Les études exploitées par Daglia (2012) concluent que cet effet est dû principalement à une

altération des fractions lipidiques de la membrane plasmique des micro-organismes, puis une perturbation de la perméabilité de la membrane et la perte des organites intracellulaires.

3.3. Activité anti-inflammatoire

Des tests *in vivo* ont montré que les extraits méthanoliques et aqueux de *Phoenix dactylifera* L. peuvent réduire de façon appréciable l'inflammation induite par la carragénine de 67.8 et 61.3% respectivement. Les résultats obtenus à l'issue des tests anti-inflammatoires montrent que la richesse des extraits de dattes en polyphénols justifie ce potentiel thérapeutique (Doha et El-Okbi, 2004).

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes que contiennent les dattes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires et des capacités à moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gonzalez-Gallego *et al.*, 2007; García-Lafuente *et al.*, 2009).

3.4. Autres activités biologiques

Des recherches scientifiques sont menées sur les extraits des dattes, montrant certains autres effets thérapeutiques. Dans ce contexte nous pouvons citer les travaux d'Alsaif *et al.* (2007); Panahi et Asadi (2009); Rock *et al.* (2009) qui affirment l'effet hypocholestérolémique des extraits des dattes.

Ishurd et Kennedy (2005) ont prouvé pour la première fois que les préparations à base de polysaccharides de dattes présentent une activité anti-tumorale puissante corrélée à la présence du (1 → 3) - β -D-glucane.

L'étude *in vivo* de Reddy et Vardhaman (2013) a dévoilé que l'extrait aqueux et butanolique des dattes ont un effet significatif contre la formation de lithiase urinaire chez les rats. Des études récentes ont démontré que l'administration orale des extraits aqueux de *Phoenix dactylifera* L. présente un effet néphroprotecteur en diminuant significativement les teneurs plasmatiques en créatine, urée et en acide urique chez les rats (Al-Qarawi *et al.*, 2008; El Arem *et al.*, 2014).

D'autres travaux récents ont montré que l'extrait méthanolique et éthanolique des fruits de palmier dattier diminuent les endommagements issus de stress oxydatif et exercent une activité hépato-protectrice (Naskar et *al.*, 2010; Al-Shoaibi et *al.*, 2012; Atta et *al.*, 2015; Yasin et *al.*, 2015; Ahmed, 2016).

Les travaux d'Al-Qarawi et ses collaborateurs (2003, 2004, 2005); Souli et *al.* (2014) indiquent que les différents extraits de dattes possèdent des activités améliorant l'ulcération gastrique induite par l'éthanol chez les rats, et diminuant les concentrations de la gastrine plasmatique, les histamines et la mucine dans la muqueuse intestinale. Selon Agbon et *al.* (2013), l'extrait aqueux de fruit de *Phoenix dactylifera* L. a montré une activité significative anti-diarrhéique chez les rats présentant une diarrhée induite par l'huile de ricin.

Les dattes permettent aussi de lutter contre l'anémie et les déminéralisations. Les dattes pilées dans l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations et traitent aussi les troubles intestinaux comme les diarrhées (Benchelah et Maka, 2008).

Il est démontré que la supplémentation en aliments riches en polyphénols de fruits de *Phoenix dactylifera* L. a un effet neuroprotecteur chez les animaux adultes utilisés comme modèles (Asadi-Shekaari et *al.*, 2008; Majid et *al.*, 2008; Panahi et *al.*, 2008). Les lésions du cerveau provoquées de manière artificielle et examinées au niveau histologique et biochimique montrent que les animaux ayant reçu les extraits des dattes présentent une perte de tissu cérébral significativement réduite et une diminution significativement de la mort des neurones, d'autant plus que la dose administrée est élevée (Vyawahare et *al.*, 2009; Pujari et *al.*, 2011; Wan Ismail et Mohd Radzi, 2013; Rohini et *al.*, 2014).

Partie

Expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale *in vitro* a été réalisée au niveau des Laboratoires du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Hassiba Ben Bouali Chlef (Algérie).

L'activité antibactérienne a été réalisée au niveau du Laboratoire de contrôle de qualité, service de microbiologie (A4 Santé Industrie, Chlef, Algérie) et Laboratoires du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Hassiba Ben Bouali Chlef (Algérie).

Les études *in vivo* (toxicité aiguë, activité anti-inflammatoire et anti-spasmodique) ont été réalisées au niveau du Laboratoire de Toxicologie et Pharmacologie du groupe ANTIBIOTICAL-SAIDAL (Médéa, Algérie).

L'analyse des extraits par HPLC a été effectuée au laboratoire de Toxicologie (Alger, Algérie).

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal ayant servi à cette étude est constitué de dix variétés de datte (*Phoenix dactylifera* L.) récoltées à partir de palmeraies situées dans la région d'El-Oued (Sud-Est d'Algérie) en printemps 2012 (Tableau III).

Le choix de ces cultivars est basé sur une enquête ethnobotanique auprès de 100 personnes de population ayant une connaissance du patrimoine phoenicicol de cette région et basé aussi sur la représentativité des principaux types de dattes: datte sèche, demi-molle et molle. Les dix variétés récoltées sont: Ghars, Degla Baidha, Tantebouchte, Deglet-Nour, Ali Ourached, Biraya, Hamraya, Figheth, Tansine et Tamajort (Fig.11). Leur identification botanique a été réalisée par Dr. Mehdi Selmane (Maitre de conférences A au département de Biologie, Université Echahid Hamma Lakhdar, El-Oued, Algérie). La méthode d'échantillonnage de chaque cultivar consiste à subdiviser la palmeraie en différentes

parcelles, dans chaque parcelle, la récolte est réalisée sur dix palmiers homogènes. Les fruits sont prélevés au hasard à différentes orientations et hauteurs. Les dix variétés sont récoltées à pleine maturité et conservées à 4°C (Chibane, 1998).

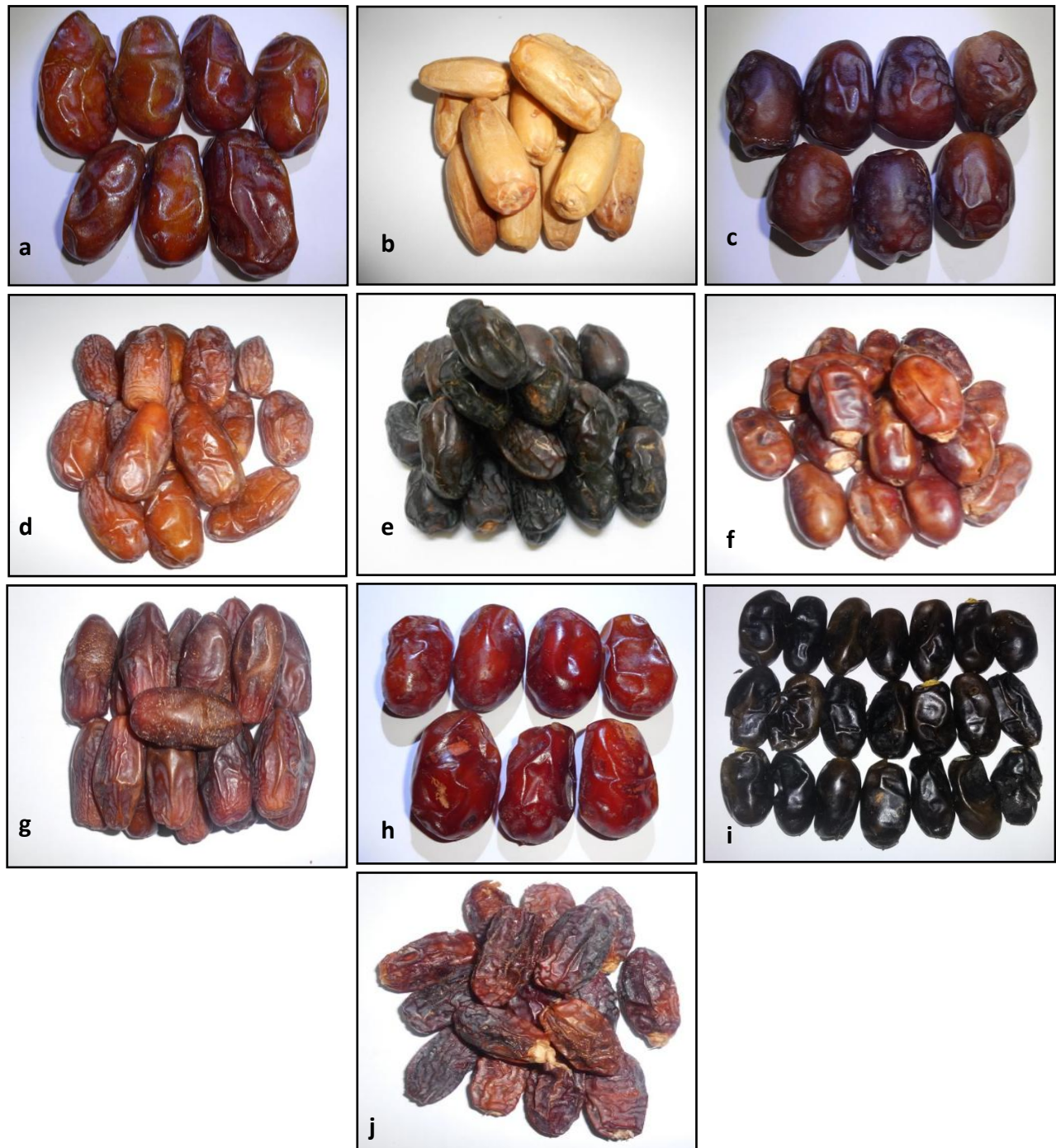


Figure 11: Différents cultivars du *Phoenix dactylifera* L.

a: Ghars, b: Degla Baidha, c: Tantebouchte, d: Deglet-Nour, e: Ali Ourached, f: Biraya, g: Hamraya,
h: Figheth, i: Tansine, j: Tamajort.

Tableau III: Stations de récolte des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. et les caractéristiques géographiques et bioclimatiques.

	Stations de récolte	Période de récolte	Consistance	Couleur	Longitude (EST)	Latitude (NORD)	Altitude (m)	Etage bioclimatique
Tantebouchte	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Molle	Noir jaune	6°49'43,11	33°34'30,09	58	Aride
Biraya	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Demi-molle	Marron	6°49'36,83	33°35'15,56	58	Aide
Degla Baidha	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Sèche	Jaune clair	6°49'36,83	33°35'15,56	58	Aride
Deglet-Nour	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Demi-molle	Marron	6°49'36,83	33°35'15,56	58	Aride
Ali Ourached	Nord de Ghamra	Octobre-Novembre	Demi-molle	Noir	6°47'27,73	33°33'39,99	58	Aride
Ghars	Ouest de Djadida	Septembre	Molle	Marron vers noir	6°49'35,97	33°34'16,35	58	Aride
Tansine	Est de Ghamra	Octobre-Novembre	Molle	Noir	6°49'40,21	33°33'39,48	58	Aride
Hamraya	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Demi-molle	Rouge	6°49'43,11	33°34'30,09	58	Aride
Tamajort	Nord de Ghamra	Octobre-Novembre	Demi-molle	Marron	6°47'27,73	33°33'39,99	58	Aride
Figheth	Ouest de Djadida	Octobre-Novembre	Molle	Marron	6°49'36,83	33°35'15,56	58	Aride

1.1.1. Bactéries pathogènes

Pour les tests d'activité antibactérienne, une gamme de 6 bactéries pathogènes responsables des infections gastro-intestinales a été choisie.

Une souche de collection internationale ATCC (American type culture collection): *Listeria monocytogenes* ATCC15313 a été fournie par le laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (Alger, Algérie).

Des souches de collection internationale ATCC (American type culture collection): *Bacillus spizizenii* ATCC6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Escherichia coli* ATCC8739, *Salmonella typhimurium* ATCC14028 et *Staphylococcus aureus* ATCC 638P ont été fournies par l'Institut Pasteur (France).

1.1.2. Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des souris mâles et femelles, *Swiss Albinos* (NMRI) de 25 à 30 g de poids corporel (PC). Ils proviennent du Centre de Recherche et de Développement (CRD) Saidal- Alger. Tous les animaux sont de statut sanitaire EOPS (Exempts d'organismes pathogènes spécifiques).

Dès leur réception, les souris sont placées aléatoirement en lots de 5 souris dans des cages de polypropylène pour une période d'acclimatation (2 jours) avant les différentes expériences. Pendant cette période, les animaux sont maintenus dans une animalerie à température constante ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), un taux d'humidité ($50 \pm 10\%$) et ils sont soumis à un cycle de lumière/ obscurité de 12/12h et le bruit ne dépasse pas 65 décibels. Ils ont accès libre à l'eau et à la nourriture standard (croquettes provenant de la société de production des aliments d'animaux, Bouzareah, Alger).

2. METHODES

2.1. Préparation des extraits méthanoliques

La préparation des extraits méthanoliques des variétés de dattes est réalisée selon la méthode de Biglari *et al.* (2008).

Les fruits de dattes sont dénoyautés et coupés en petits morceaux. 100g de pulpe chaque cultivar a été ajouté à 300ml de méthanol (80%), cette préparation a été mise sous agitation magnétique pendant 5 heures puis filtrée sur papier filtre. Le filtrat est centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 minutes. Le surnageant a été soumis à une évaporation sous vide *via* un rotavapeur à 40°C (Rota Vapor, Büchi 461, Germany). Les extraits concentrés sont conservés à 4°C dans des bouteilles en verre foncé jusqu'à l'utilisation (Fig. 12).

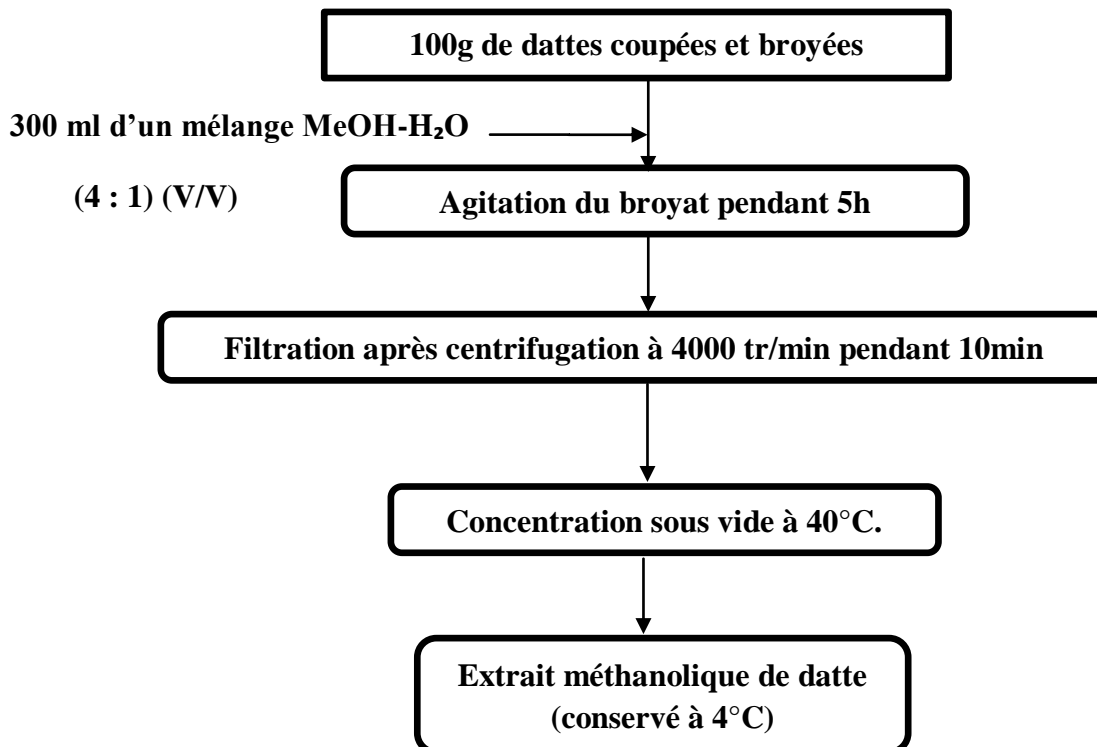


Figure 12: Protocole de préparation des extraits méthanoliques des dattes (Biglari *et al.*, 2008).

- **Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction (R) a été déterminé par la formule suivante:

$$R (\%) = \frac{\text{Masse du résidu extrait}}{\text{Masse initiale de la pulpe}} \times 100$$

Le poids du résidu extrait est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant par évaporation rotative) et le poids du ballon vide.

2.2. Etude phytochimique des extraits

2.2.1. Analyses quantitatives

2.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des cultivars des dattes ont été déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu (Al-Farsi et *al.*, 2005a).

- **Principe**

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (WO_4^{2-}) et d'acide phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) qui sont réduits en milieu alcalin lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques et possède une absorption maximale à 725 nm (Waterhouse, 2002).

- **Mode opératoire**

200 μ l de chaque extrait préparé dans le méthanol est ajouté à 1.5 ml de réactif de Folin (dilué dix fois dans l'eau distillée). Les solutions sont mélangées et incubées à l'obscurité pendant 5 minutes. 1.5 ml de bicarbonate de sodium (60g/l) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 90 minutes d'incubation à la température ambiante, l'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV- visible à 725 nm contre le blanc sans extrait.

La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations de solution d'acide gallique préparée dans le méthanol. Les expériences sont répétées 3 fois.

- **Expression des résultats**

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon de l'acide gallique (5-200 µg/ml) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par 100 gramme du poids de la matière sèche (mg EAG / 100g MS).

2.2.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par Biglari *et al.* (2008).

- **Principe**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Zhou *et al.*, 2005).

- **Mode opératoire**

4 ml d'eau distillée et 1 ml de chaque extrait sont ajoutés à 0.3 ml de nitrite de sodium (NaNO₂) (5%) et 0.3 ml de chlorure d'aluminium (AlCl₃) (2% dans le méthanol). Après une incubation pendant 5 minutes à la température ambiante, 2 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) (1M) est ajouté. Le mélange est dilué jusqu'à 10 ml avec l'eau distillée. L'absorbance du mélange obtenu est directement mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 510 nm contre le blanc.

La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations de solution de catéchine préparée dans le méthanol.

- **Expression des résultats**

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, réalisée par un standard étalon (la catéchine) à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de catéchine par 100 gramme du poids de matière sèche (mg EC / 100g MS).

2.2.1.3. Dosage des flavonols totaux

L'estimation de la teneur en flavonols totaux contenus dans les extraits de dattes est réalisée par la méthode Jimoh et *al.* (2010).

- **Mode opératoire**

500 µl de chaque extrait méthanolique est ajouté à 500 µl de chlorure d'aluminium (AlCl₃) (2%) et 500 µl d'acétate de sodium (CH₃COONa) (5%). L'absorbance est déterminée à 440 nm après une incubation pendant 2.5 heures à la température ambiante.

La courbe d'étalonnage est obtenue dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant une gamme de concentrations de solution de rutine préparée dans le méthanol.

- **Expression des résultats**

La teneur en flavonols totaux des extraits est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, réalisée par un standard étalon "la rutine" à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de rutine par 100 gramme du poids de matière sèche (mg ER / 100g MS).

2.2.2. Analyses qualitatives par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Parmi les différentes méthodes chromatographiques existantes, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC-C18) (Fig. 13) a été utilisée pour analyser les différents extraits méthanoliques des dattes (Mansouri et *al.*, 2005; Besbes et *al.*, 2009).

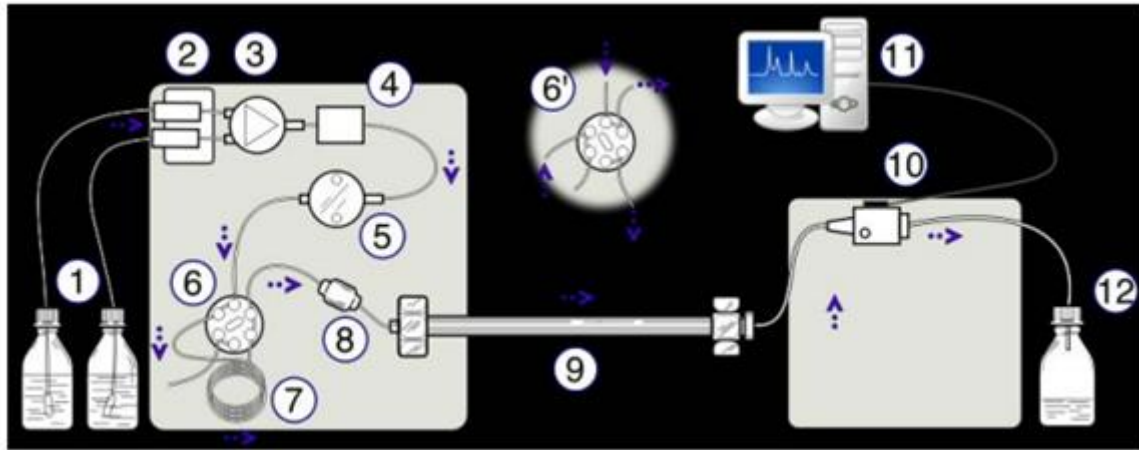


Figure 13: Différentes parties de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Sampietro et *al.*, 2009).

1. Réservoir des solvants, 2. Dégazeur, 3. Valve de gradient d'éluant, 4. Doseur de phase mobile (ou éluant), 5. Pompe à haute pression, 6. Vanne d'injection en position "inject", 6'. Vanne d'injection en position "load", 7. Boucle d'injection de l'échantillon, 8. Précolonne (éventuelle), 9. Colonne analytique, 10. Détecteur, 11. Acquisition du signal, 12. Décharge déchets.

• Principe

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire (Braithwaite et Smith, 1999).

• Mode opératoire

L'analyse des composés phénoliques dans les différents extraits étudiés a été réalisée en utilisant la chromatographie liquide à haute performance de marque WATERS (HPLC) couplée à un détecteur multi-longueur d'onde UV visible. L'analyse s'effectue selon les conditions opératoires:

- La colonne en acier de longueur de 25x0.46 cm,
- Phase stationnaire C18.
- Solvant d'éluant: méthanol/acétonitrile (30/70 V/V).
- Longueur d'onde: 220, 280, 300 et 365nm.

- Boucle d'injection: 20 μ l.
- Détecteur UV-Visible.

Les pics ont été identifiés par les temps de rétention de congruents par rapport aux standards.

2.3. Activités biologiques des extraits méthanoliques des dattes

2.3.1. Activités biologiques (*in vitro*)

Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. par quatre méthodes (test de DPPH, test du blanchissement du β -carotène, FRAP et la méthode de phosphomolybdate) et l'activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries pathogènes par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide.

2.3.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante

2.3.1.1.1. Test de DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits méthanoliques a été évaluée par la mesure de piégeage du radical DPPH, selon le protocole décrit par Blois (1958).

- **Principe**

Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH (diphényl-picryl-hydrazyl) de couleur violette en un diphényl-picryl-hydrazine de couleur jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Fig.14) (Sanchez-Moreno, 2002).

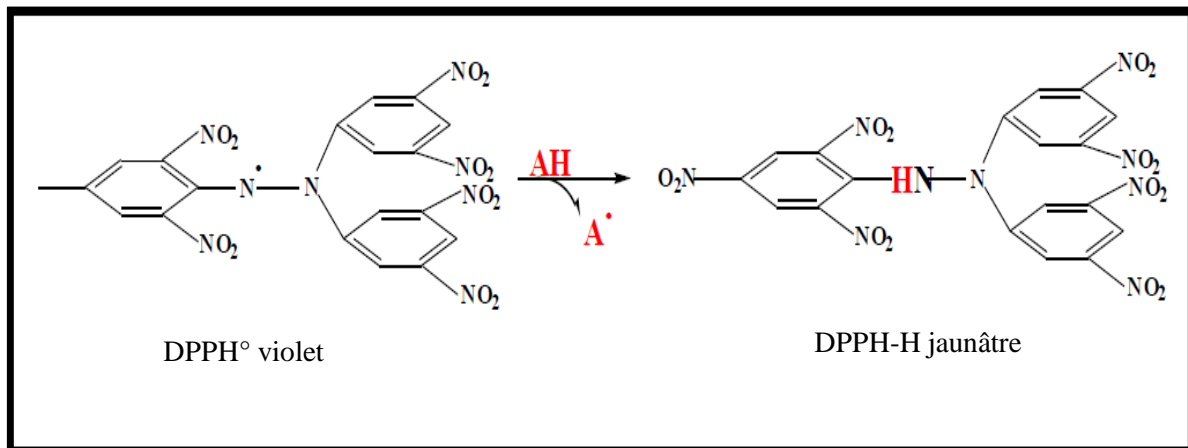


Figure 14: Structure du DPPH et de sa forme réduite (Molyneux, 2004).

- **Mode opératoire**

60 μl des de diverses concentrations de chaque extrait à différentes concentrations (20, 50, 100, 200, 300 et 400 $\mu\text{g/ml}$) ou du standard (BHT) sont ajoutés à 1500 μl de la solution de DPPH ($6 \times 10^{-5}\text{M}$) fraîchement préparée. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 minutes à 25°C. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible contre un contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH.

- **Expression des résultats**

- **Calcul des pourcentages d'inhibition**

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre DPPH est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon l'équation suivante (Fu et *al.*, 2011):

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = \frac{[\text{Abs1} - \text{Abs2}]}{\text{Abs1}} \times 100$$

Où:

Abs 1: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

Abs 2 : absorbance en présence d'extrait ou du standard (BHT).

- **Calcul des IC₅₀**

Les IC₅₀ (la concentration des extraits nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH) sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés; pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Annexe I) (Brand-Williams *et al.*, 1995).

2.3.1.1.2. Test du blanchissement du β-carotène

Le test du β-carotène est réalisé en suivant la méthode décrite par Dapkevicius *et al.* (1998).

- **Principe**

Dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β-carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique qui attaquent simultanément le β-carotène et ayant comme résultat le blanchissement du β-carotène et la disparition de sa couleur orange (Zargar *et al.*, 2011).

- **Mode opératoire**

0.2 mg du β-carotène est dissout dans 0.5 ml de chloroforme. La solution obtenue est introduite dans un ballon contenant 25 µl d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme sous vide, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène est ajouté avec agitation vigoureuse pendant 30 minutes. 4 ml de l'émulsion résultante, sont transférés dans des tubes contenant 200 µl de chaque extrait méthanolique dont la concentration est de 200 µg/ml. Ce système d'émulsion à été incubé pendant 120 minutes à 50°C. Le même procédé est suivi avec l'antioxydant synthétique (BHT) utilisé comme contrôle positif et aussi avec un tube blanc contenant du méthanol à la place des extraits. Après l'incubation, l'absorbance est lue à 470 nm pour les extraits, quant au BHT, elle est mesurée immédiatement.

- **Expression des résultats**

L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) après 120 minutes est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{AAR}\% = [\text{Abs}_{120\text{min}} (\text{Extrait}) / \text{Abs}_{120\text{min}} (\text{BHT})] \times 100$$

Où:

AAR: Activité antioxydante relative.

Abs_{120min}: Absorbance des extraits méthanoliques et BHT après 120 min.

2.3.1.1.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

La capacité antioxydante totale des différents extraits a été évaluée par la méthode de formation du complexe phosphomolybdate selon la méthode de Prieto et *al.* (1999).

- **Principe**

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à pH acide (Sahu et Laloo, 2011).

- **Mode opératoire**

0.3 ml de chaque extrait est mélangé avec 3 ml d'une solution contenant 28 mM de phosphate de sodium (NaH₂PO₄), 0.6 M d'acide sulfurique (H₂SO₄) et 4 mM de molybdate d'ammonium (NH₄)₂MoO₄. Le même procédé est répété pour le tube blanc contenant du méthanol à la place des extraits. Les tubes sont incubés au bain marie à 95°C pendant 90 minutes. Après le refroidissement des tubes à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- visible.

- **Expression des résultats**

La courbe d'étalonnage est effectuée par les différentes concentrations de l'acide ascorbique (Annexe I). L'activité antioxydante est exprimée en nombre d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (μmol d'acide ascorbique /g d'extrait).

2.3.1.1.4. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Le pouvoir réducteur a été déterminé par la méthode de FRAP décrite par Benzie et Strain (1996).

- **Principe**

Cette méthode est développée pour mesurer le potentiel des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe en fer ferreux (Fe^{+2}). En effet, le Fe^{+3} participe à la formation du radical hydroxyle (Fig.15). L'augmentation de l'absorbance indique l'élévation du pouvoir réducteur des extraits testés (Benzie et Strain, 1996).

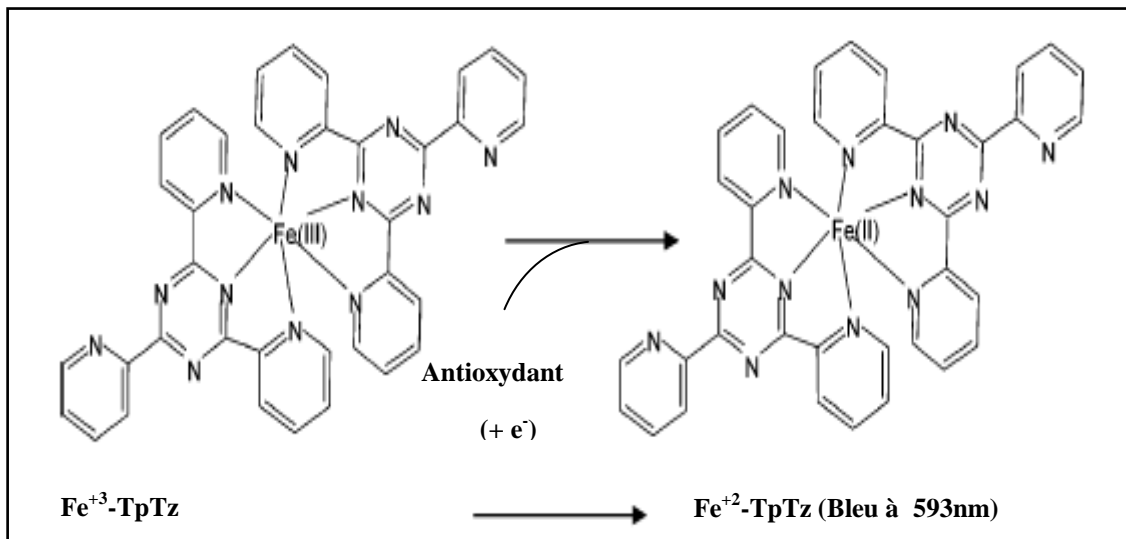


Figure 15: Réaction de test FRAP (Prior et *al.*, 2005).

- **Mode opératoire**

Le réactif de FRAP est préparé en mélangeant le tampon d'acétate (0.3M, pH 3.4) avec 10 mM de la solution du TpTz (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), 40 mM de la solution HCl et 20 mM de la solution de trichlorure de fer (FeCl_3) en proportion de 10 :1 :1 (v :v :v)

respectivement. 20 µl de chaque extrait méthanolique est ajouté à 1.5 ml du réactif de FRAP et incubé pendant 20 minutes à 37°C. L'absorbance est mesurée à 593 nm.

- **Expression des résultats**

Le pouvoir réducteur des extraits est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage des solutions de sulfate de fer (FeSO₄) (Annexe I) et les résultats sont exprimés en µmol de fer ferreux par cent grammes de matière sèche (µmol Fe (II) / 100 g MS).

2.3.1.2. Etude de l'activité antibactérienne

2.3.1.2.1. Repiquage et revivification des bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes utilisées sont sous forme congelée en culture pure. Elles sont réactivées et maintenues par un repiquage avec 1ml d'inocula dans 10 ml de bouillon nutritif, et incubées à 37 °C pendant 72 heures. A partir du milieu préalablement enrichi, on prend une goutte à l'aide d'une anse à platine et par l'utilisation de la méthode des stries, on l'ensemence sur le milieu sélectif gélosé coulé sur boîte de pétri de chaque bactérie pathogène puis on incube à 37° C pendant 24 à 48 heures (Guiraud, 2003).

2.3.1.2.2. Préparation des suspensions bactériennes

La préparation de la suspension bactérienne se fait par le transfert de quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à l'aide d'une pipette pasteur dans une solution d'eau physiologique stérile à 0.9% pour avoir un inoculum de 10⁶UFC /ml (Zarai et al., 2011).

2.3.1.2.3. Effet antibactérien des extraits

Des boîtes de pétri contenant le milieu Mueller Hinton (MH) agar sont ensemencées en nappe par l'inoculum bactérien. Après un séchage de 30 mn à 37°C, des disques en papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 50 µl de chaque extrait méthanolique à 10 mg/ml et soigneusement déposés à la surface de la gélose préalablement ensemencée par la suspension de chaque bactérie pathogène. Les boîtes sont incubées par la suite pendant 24 h à 37°C. Chaque test est répété trois fois. Après incubation, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est exprimé millimètre (Perveen et al., 2012).

- **Test témoin**

Le test témoin a pour but de confirmer que l'inhibition de la croissance bactérienne est due uniquement à la substance étudiée (extraits méthanoliques). Il consiste à déposer à la surface de la gélose MH des disques en papier Whatman imbibés par le méthanol (solvant utilisé pour faire l'extraction) (témoin négatif).

2.3.1.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

- **Principe**

On ensemence des bouillons MH avec une souche bactérienne contenant une concentration décroissante de chaque extrait méthanolique des dattes. Après 24 heures d'incubation, on détermine la CMI comme étant la quantité la plus faible d'extrait produisant une inhibition de la croissance bactérienne qui s'exprime par l'absence de trouble (Perveen et *al.*, 2012).

- **Technique**

La technique de dilution du bouillon MH est utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits méthanoliques des cultivars dattiers. Le test est ajusté et effectué tel que décrit par Saleh et Otaibi (2013).

Des concentrations croissantes de chaque extrait (10-15-20-25-30-35-40-45-50 mg/ml) sont préparées en utilisant le méthanol. 5 ml de bouillon MH et 50 µl de la suspension de chaque bactérie pathogène sont introduits dans dix tubes à essai. 1ml de chaque concentration des extraits est ajouté à ces tubes. Les tubes ont été incubés à 37 ° C pendant 48h.

Deux tubes, l'un contenant le bouillon MH et l'inoculum bactérien comme un test positif, et l'autre contenant seulement le bouillon MH comme un test négatif; ont été utilisés pour comparer leurs turbidités avec celles des dix tubes de la CMI.

Après incubation, les tubes sont soigneusement examinés, un trouble s'est développé dans certains tubes. La CMI correspond au premier tube dans lequel il n'y a pas de croissance visible, exprimée en mg/ml (Derbel et *al.*, 2013).

2.3.1.2.5. Test de sensibilité aux antibiotiques: Antibiogramme

Afin de comparer l'effet antibactérien des extraits méthanoliques des dattes à celui des antibiotiques, la méthode d'antibiogramme est utilisée. Elle consiste à déposer des disques imprégnés par les antibiotiques (10 µg /ml) à tester à la surface du milieu Mueller Hinton agar, préalablement ensemencée uniformément avec la culture des souches pathogènes (Yakhlef et *al.*, 2011; Basli et *al.*, 2012).

La sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques est déterminée selon le même protocole qu'avec les disques de papier imprégnés d'extraits. Les antibiotiques utilisés sont les suivants: Streptomycine, Cefazoline et Cefixime.

2.3.2. Activités biologiques (*in vivo*)

2.3.2.1. Etude de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë des extraits testés de *Phoenix dactylifera* L. a été réalisée selon le protocole de Doha et Al-Okbi (2004).

- **Principe**

Elle consiste à déterminer la dose létale (DL₅₀). En effet, la DL₅₀ correspond à la dose d'une substance pouvant causer la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises. Cette dose permet d'identifier les symptômes de l'intoxication et de comparer les substances entre elles quant à leur potentiel toxique.

- **Mode opératoire**

La toxicité aiguë des extraits des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. a été évaluée chez des souris *Swiss albinos* préalablement mises à jeun pendant 16 heures. Les animaux ont été randomisés par lot de cinq souris mâles et femelles. Des doses croissantes de chaque extrait méthanolique (100, 300 et 1000 mg/kg de poids corporel) ont été préparées dans l'eau distillée et administrées aux souris par voie orale (10ml/kg PC). Le lot témoin a reçu un même volume et de la même manière de l'eau distillée. Après l'administration, les animaux ont été observés sur une période de 24 heures, afin d'étudier leur comportement général en comparaison avec celui du lot témoin (mort, agitation, respiration, asthénie).

2.3.2.2. Etude de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée selon la méthode de Winter et *al.* (1962).

- **Principe**

Le principe consiste à vérifier l'action inhibitrice des extraits méthanoliques des dattes sur l'inflammation aiguë provoquée par l'injection 0.1 ml de carragénine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche des souris (Ait El Cadi et *al.*, 2012; Amezouar et *al.*, 2013).

- **Mode opératoire**

Les souris ont été réparties en 12 lots de 5 animaux chacun et mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation. Les lots sont subdivisés en trois groupes comme suit:

Groupe 01: chaque extrait méthanolique de *Phoenix dactylifera* L. a été administré oralement à une dose de 250 mg/ kg du poids corporel (groupe traité);

Groupe 02: les souris constituant le groupe de référence ont été gavées avec l'indométacine à une dose de 10 mg/kg du poids corporel (groupe de référence);

Groupe 03 : le lot témoin a été gavé avec de l'eau distillée (groupe de contrôle).

30 minutes après gavage, 0.1 ml de carragénine à 1% dans une solution saline isotonique (NaCl 0.9%) a été injecté sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche des souris.

Après 5 heures, les souris ont été sacrifiées et les pattes postérieures ont été coupées à hauteur de l'articulation puis pesées à l'aide d'une balance analytique (Annexe II).

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition de l'inflammation} = \frac{\% \text{ AUG du groupe de contrôle} - \% \text{ AUG du du groupe traité}}{\% \text{ AUG du groupe de contrôle}} \times 100$$

% AUG est le pourcentage d'augmentation du volume de la patte de la souris, il est calculé par l'équation suivante:

$$\text{Le AUG \%} = \frac{\text{moyenne des poids des pattes gauches} - \text{moyenne des poids des pattes droites}}{\text{moyenne des poids des pattes droites}} \times 100$$

2.3.2.3. Etude de l'activité antispasmodique

L'activité antispasmodique a été évaluée selon la méthode de Collier et *al.* (1968).

- **Principe**

Une réaction douloureuse est provoquée chez les souris par injection intra-péritonéale d'acide acétique à raison de 0.1/10g de poids corporel. La douleur se manifeste par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale (spasmes) qui peut être réduite par un produit antispasmodique (Rouibi et *al.*, 2012).

- **Mode opératoire**

Les souris ont été réparties en 12 lots de 5 animaux chacun et mises à jeun pendant 16 heures avant l'expérimentation. Les lots sont subdivisés en trois groupes comme suit:

Groupe 01: les lots testés reçoivent oralement les extraits méthanoliques à une dose de 250 mg/ kg du poids corporel de l'animal (groupe traité);

Groupe 02: les souris constituant le groupe de référence reçoivent l'ibuprofène diluée dans l'eau physiologique à 0.9% à une dose de 200 mg/kg du poids corporel de l'animal (groupe de référence);

Groupe 03: le lot témoin a été gavé avec de l'eau distillée (groupe de contrôle).

Après 30 minutes, toutes les souris reçoivent 0.2 ml de la solution d'acide acétique à 1 % par voie intra-péritonéale. Après 5 minutes, le nombre de contorsions abdominales par souris a été compté pendant 15 minutes.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage de réduction des spasmes (pourcentage de protection), est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ de protection} = \frac{\text{moyenne des spasmes du lot témoin} - \text{moyenne des spasmes du lot traité}}{\text{moyenne des spasmes du lot témoin}} \times 100$$

2.4. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triple et les résultats sont ont été exprimés en moyenne \pm l'écart-type. L'analyse statistique a été exécutée en utilisant le logiciel Past version 2.15. La détermination des taux de signification est effectuée par ANOVA suivie du test de LSD de Fisher pour les comparaisons multiples. Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

2.5. Phylogénie moléculaire des cultivars de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) par les marqueurs RAPD

2.5.1. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN est faite selon la technique classique décrite par Doyle et Doyle (1987), en utilisant le mélange Phénol/Chloroforme.

L'ADN a été extrait directement à partir de 0.2 g de feuilles broyées de chaque cultivar de datte, puis mises dans des tubes de 1.5 ml. A ce broyat, s'ajoute un tampon d'extraction composé de 1.4M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl puis une agitation vigoureuse du mélange pendant 2 min à l'aide d'un vortex.

Après ajout de 33 µl de SDS et agitation, le mélange est incubé à une température de 55°C pendant 30 minutes. Après refroidissement, le mélange est soumis à une étape de déprotéinisation en procédant à un lavage avec 200 µl du mélange phénol/chloroforme/alcool isoamylique (100µl/96µl/4µl) respectivement suivant la fraction (25:24:1), suivi d'un autre lavage avec 200 µl de mélange chloroforme/alcool isoamylique (192µl/8µl) respectivement suivant la fraction (24:1). Ces lavages permettent de neutraliser et éliminer toutes traces de phénol naturellement présent dans les feuilles par le chloroforme.

L'ensemble après agitation est centrifugé à 12500 tr/min pendant 10 min pour séparer la phase organique et la phase aqueuse contenant l'ADN. La solution est maintenue à - 20°C durant toute la nuit, et centrifugée pendant 5 minutes à 12 500 tr/min pour précipiter l'acide nucléique. Le culot est lavé avec éthanol 75 %, avec éthanol 95 % et séché à température ambiante. Une fois séchée, la solution d'ADN est diluée dans 50 µl du tampon TE et gardée à 4 °C.

2.5.2. Amplification de l'ADN

Les différents extraits d'ADN utilisés pour l'amplification sont dilués en 1/10ème. La réaction a été faite dans un volume total de 25 µl du mélange.

Après avoir testé les différentes concentrations de MgCl₂, dNTP, amorces, ADN et *Taq* polymérase, nous avons choisi le protocole présenté dans le tableau VI. En tout, 15

amorces décimères arbitraires RAPD d'*Operon Technologies Inc.* ont été choisies et utilisées pour l'analyse du polymorphisme entre les différents cultivars de datte (Tableau IV).

Tableau IV: Séquences des amorces décimères RAPD utilisées.

Amorces décimères	Séquences (5'-3')
OPI-06	AAGGCGGCAG
OPI-07	CAGCGACAAG
OPI-08	TTTGCCCGGT
OPI-09	TGGAGAGCAG
OPI-10	ACAACGCGAG
OPI-11	ACATGCCGTG
OPI-12	AGAGGGCACA
OPI-13	CTGGGGCTGA
OPI-14	TGACGGCGGT
OPI-15	TCATCCGAGG
OPI-16	TCTCCGCCCT
OPI-17	GGTGGTGATG
OPI-18	TGCCCAGCCT
OPI-19	AATGCGGGAG
OPI-20	AAAGTGCGGG

L'ensemble de la manipulation RAPD-PCR s'effectue sous la hotte à flux laminaire. La réaction d'amplification a été effectuée dans un volume réactionnel de 25 μ l. Le Mix est tout d'abord réalisé en introduisant dans l'ordre et en agitant : 55 μ l de tampon (*loading day* 5x), 27,5 μ l de MgCl₂, 2,2 μ l de dNTP, 25.5 μ l d'amorces et 2,2 μ l de *Taq* polymérase est ajoutée à la dernière minute. Finalement, 132 μ l d'eau est introduite et le Mix est mélangé doucement (Tableau V).

Tableau V: Composition du mélange réactionnel pour PCR/RAPD.

Protocole de Belkadi et <i>al.</i> (2003)		Protocole adapté	
Eléments du mélange	Volume de prise (µl)	Eléments du mélange	Volume de prise (µl)
Tampon PCR (10X)	2.5	Tampon PCR (5X)	05
MgCl ₂ (25mM)	2.5	MgCl ₂ (25mM)	2.5
dNTP (20mM)	01	dNTP (10mM)	0.2 pour chaque dNTP
Amorces (10µM)	0.5	Amorces (100µM)	2.5
Taq polymérase (5U/µl)	0.8	Taq polymérase (5U/µl)	0.2
ADN (15ng/µl)	01	ADN (15ng/µl)	2
Eau distillée (PCR Water)	16.7	Eau distillée (PCR Water)	12

Le Mix est ensuite reparti de façon homogène dans les tubes à Eppendorfs. En dernier lieu, 2 µl de l'ADN est ajouté. Dans chaque tube, le mélange final (Mix + ADN) est recouvert par une goutte de paraffine liquide afin de limiter l'évaporation.

Le cycle de PCR choisi correspond au cycle classique (Al-Khalifah et Askari, 2003). Il est à noter que les 45 cycles et l'étape d'élongation de 2mn permettent d'amplifier efficacement les produits les plus longs (Tableau VI). Les amplifications d'ADN ont été effectuées en utilisant un cycleur thermique (Research PTC 100).

Tableau VI: Programme d'amplification PCR-RAPD (Al-Khalifah et Askari, 2003).

	Etapes	Température (°C)	Durée	Nombre de répétition (Cycle)
01	Dénaturation initiale	94	03 mn	01
02	Dénaturation	94	30s	45
	Hybridation	36	01 mn	
	Elongation	72	02 mn	
03	Extension finale	72	10 mn	01

2.5.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits amplifiés sont séparés par électrophorèse horizontale en gel d'agarose (1,5 %) dans du tampon TAE (1X). La taille des produits amplifiés a été déterminée par comparaison avec un marqueur de taille (200 pb *DNA ladder*). Après une migration à 135V, les gels sont plongés dans un bain de bromure d'éthidium (0,1%) qui se fixe sur les acides nucléiques, pendant 10 à 15 min. Les gels sont ensuite visualisés sous UV (Al-Khalifah et Askari, 2003).

2.5.4. Analyse des données RAPD

Seules les bandes polymorphes ont été retenues pour l'analyse des données à l'aide du logiciel PAST par la méthode *CLUSTER ANALYSIS* et l'indice de similarité de Jaccard. Les bandes monomorphes ne présentent aucune différence entre les cultivars et ne donnent aucune information sur le polymorphisme.

II. Résultats et discussion

1. Rendements des extraits méthanoliques des dattes

Les rendements des différents extraits des cultivars de dattes sont définis comme étant les rapports de la quantité de substances végétales extraites sur la quantité de matière végétale utilisée, ils sont exprimés en pourcentage (%).

D'après ces résultats, le rendement de l'extrait de la variété Tansine (36.10 ± 0.12 %) est significativement ($P < 0.05$) supérieur à ceux de Hamraya (27.28 ± 0.23 %), Ghars (27.63 ± 0.87 %), Degla Baidha (28.33 ± 0.77 %), Tantebouchte (28.70 ± 0.35 %) et Biraya (29.70 ± 3.25 %) (Fig. 16).

La comparaison de ces résultats avec ceux rapportés par la littérature montre que les différences varient d'une étude à une autre. En effet, Silabdi (2010) a trouvé un rendement de 37 % pour l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached, ce qui concorde avec nos résultats. Par contre, la même étude a montré que l'extraction par l'eau a donné un rendement avoisinant de 4 %, ce qui demeure inférieur aux rendements obtenus dans notre travail.

Le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques. Le méthanol aqueux à 70% est deux fois plus efficace que le méthanol pur, pour l'extraction des composés phénoliques (Telli et *al.*, 2010). En plus, un rapport de 70% de méthanol au minimum est nécessaire pour inactiver les polyphénols-oxydases, des enzymes intervenant dans l'oxydation des polyphénols, ce qui conduit au phénomène de brunissement (Chirinos et *al.*, 2007).

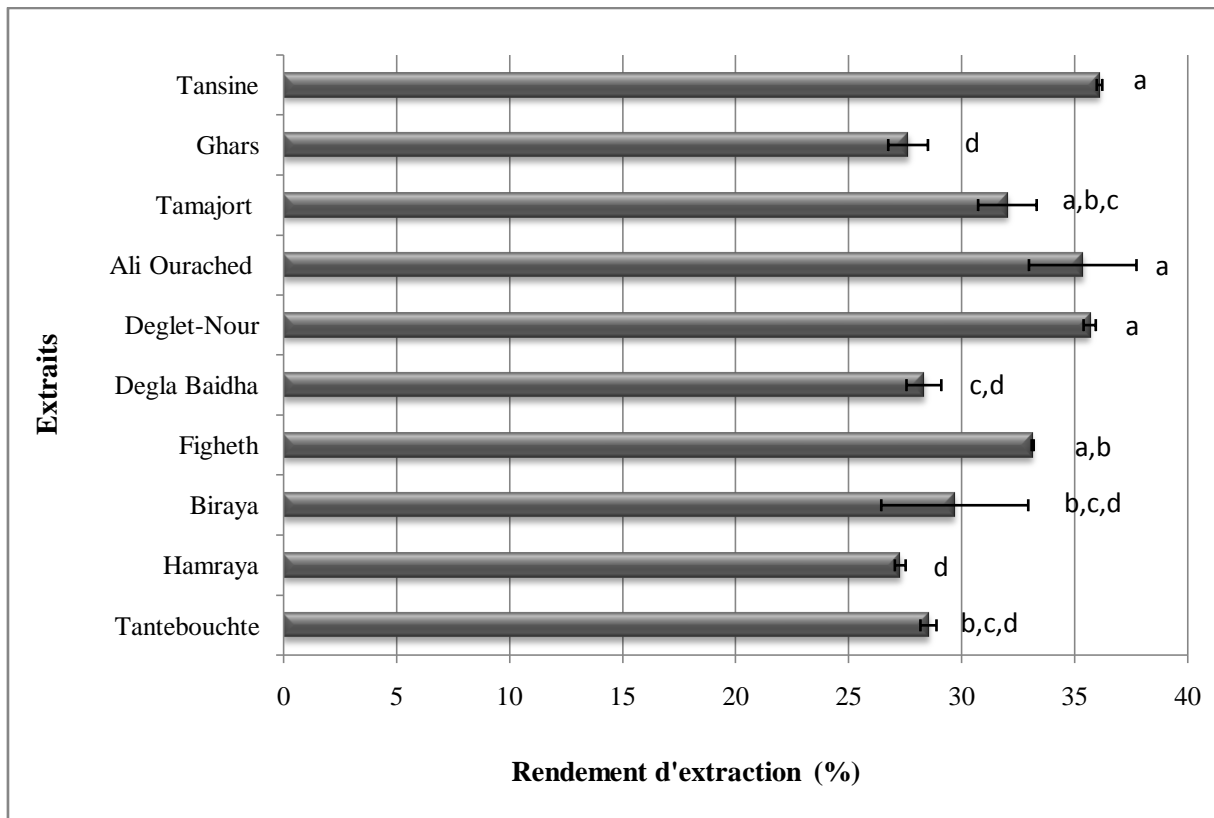


Figure 16: Rendements des extraits méthanoliques des différents cultivars des dattes.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

D'une manière générale, le rendement n'est pas relatif et varie en fonction de plusieurs paramètres: le matériel végétal étudié (taille des particules), les caractéristiques physico-chimiques des solvants utilisés et notamment de leur polarité. Il dépend aussi aux conditions et la durée de stockage, période de récolte et à la méthode et les conditions dans lesquels l'extraction a été effectuée (Benmeddour et *al.*, 2013).

2. Etude phytochimique des extraits méthanoliques des dattes

2.1. Analyses quantitatives

Afin de caractériser les extraits méthanoliques des différents cultivars de dattes, un dosage des composés phénoliques totaux, flavonoïdes et flavonols a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées.

Les résultats obtenus au cours de la détermination de la teneur en polyphénols, flavonoïdes et flavonols dans les extraits méthanoliques des dattes (*Phoenix dactylifera* L.) ont montré des teneurs variées en ces métabolites secondaires.

2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage $y=0.053+0.002x$ ($r^2=0.997$) (Annexe I) et exprimées en milligramme d'équivalence d'acide gallique utilisé comme standard par cent grammes de la matière sèche végétale (mg EAG/100g MS).

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached (6.53 ± 0.18 EAG/100g MS) est significativement ($P<0.05$) supérieure aux teneurs des autres cultivars: Ghars (5.47 ± 0.17 mg EAG/100g MS), Deglet-Nour (4.72 ± 0.41 mg EAG/100g MS), Degla Baidha (4.51 ± 0.26 mg EAG/100g MS), Tansine (3.70 ± 0.56 mg EAG/100g MS) et Tantebouchte (3.50 ± 0.23 mg EAG/100g MS). Les faibles teneurs en composés phénoliques totaux sont retrouvées dans l'extrait de la variété Biraya (2.06 ± 0.06 mg EAG/100g MS) (Fig. 17).

Il a été démontré à travers plusieurs travaux antérieurs sur diverses plantes que les combinaisons du méthanol avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques glycosylés et permettent d'épuiser le matériel végétal et la quasi-totalité de ses constituants (Al-Farsi et al., 2005a; Chirinos et al., 2007; Kim et al., 2007; Spigno et al., 2007; Tabart et al., 2007).

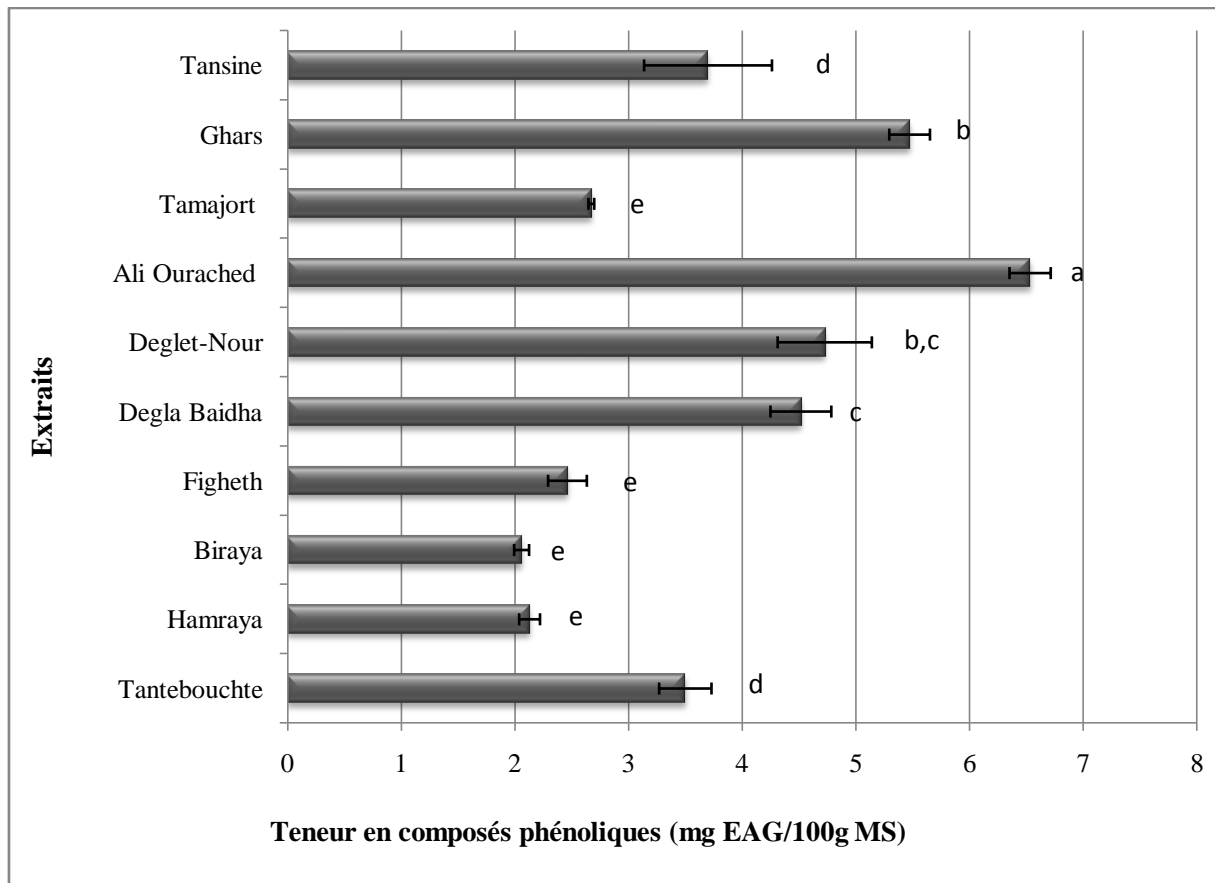


Figure 17: Teneur en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mohammedi et Atik, 2011).

La comparaison des teneurs en polyphénols totaux avec celles rapportées par la bibliographie, montre qu'elles sont très proches. En effet, une étude réalisée par Biglari et *al.* (2008) a montré que la teneur en polyphénols totaux des dattes d'Iran varie de 2.89 à 6.64 mg EAG/100g MS, à l'exception de la variété de Kharak, dont la teneur en polyphénols totaux est de 141.35 mg EAG/100g MS.

En outre, l'étude de Hamad et *al.* (2015) réalisée sur les extraits de douze cultivars de *Phoenix dactylifera* L. d'Arabie Saoudite a montré que la teneur en phénols totaux varie de 10.4 à 22.1 mg EAG/100g MS.

Wu et *al.* (2004) ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux varie entre 572 à 661 mg EAG/100 mg dans les dattes consommées aux Etats Unis (USA).

Kchaou et *al.* (2014) ont testé les extraits des variétés de dattes de la Tunisie, ils ont trouvé que la teneur en polyphénols totaux varie entre 240.38 à 505.49 mg EAG/100 g MS.

L'étude faite par Al-Farsi et *al.* (2007) a montré que la teneur en phénols totaux des extraits aqueux de trois variétés de dattes (Mabseeli, Um-sellah et Shahal) d'Omanie est de 172 à 246 mg EAG/100 g MS.

Khali et Selselet-Attou (2007) ont déterminé par la méthode spectrophotométrique le contenu en polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques de la variété Deglet-Nour de la région de Biskra (Algérie). La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait MeOH de ce cultivar est de 510 mg EAG/100 g MS. Zineb et *al.* (2012) ont trouvé que les dattes de la région d'Ouargla (Algérie) sont riches en polyphénols totaux, elles en contiennent 41.8 à 84.73 mg EAG/100 g MS.

L'étude réalisée par Rania et *al.* (2014) sur le contenu en polyphénols totaux des extraits méthanoliques de sept cultivars de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) du Soudan, a démontré que ces extraits en contiennent de 35.82 à 199.34 mg EAG/100 g MS.

Mohamed Lemine et ses collaborateurs (2014) ont testé les extraits méthanoliques de six variétés de dattes de la Mauritanie, ils ont trouvé que la teneur en composés phénoliques totaux est de 558.9 à 728.5 EAG/100 g MS.

Des études ont indiqué que les dattes sont riches en acides phénoliques: acide vanillique, acide gallique, acide syringique, acide férulique, acide protocatéchique, acide p-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide paracoumarique et l'acide o-coumarique (Mansouri et *al.*, 2005; Al-Farsi et *al.*, 2005a; Benmaddour et *al.*, 2013). Ouafi et Bounaga (2010) considéraient les composés phénoliques comme des marqueurs biochimiques utilisés pour caractériser les cultivars de *Phoenix dactylifera* L.

Toutefois, les résultats du dosage des composés phénoliques n'indiquent pas les valeurs exactes des teneurs en polyphénols. La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. En effet, le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tout les groupes hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres réducteurs (glucose, fructose) et de protéines (tyrosine, tryptophane) (Gomez-Caravaca et al., 2006).

La différence de la teneur en composés phénoliques des dattes est due à plusieurs facteurs, comme: la variété, les conditions de croissance, la saison de maturité, l'origine géographique, la fertilité du sol, les conditions de stockage, le temps d'exposition au soleil et le choix du solvant (Al-Farsi et al., 2007; Besbes et al., 2009; Kchaou et al., 2013; Shahdadi et al., 2015; Mrabet et al., 2016; Amieur et Hambaba, 2016).

2.1.2. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. ont été estimées par la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3). La concentration des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des variétés de dattes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à partir de l'équation linéaire $y=0.034x$ ($r^2=0.988$) (Annexe I). Les teneurs sont exprimées en milligramme d'équivalence de catéchine utilisée comme standard par cent gramme de la matière sèche végétale (mg EC/100g MS).

Les taux en flavonoïdes des extraits méthanoliques des variétés de *Phoenix dactylifera* L. varient de 1.06 ± 0.12 à 4.23 ± 0.29 mg EC/100g MS. La variété Ali Ourached montre la teneur la plus élevée (4.23 ± 0.29 mg EC/100g MS), suivie par la variété Ghars (4.13 ± 0.17 mg EC/100g MS), Deglet-Nour (3.48 ± 0.50 mg EC/100g MS), Degla Baidha (3.21 ± 0.19 mg EC/100g MS) et Tantebouchte (2.55 ± 0.12 mg EC/100g MS), tandis que la variété Biraya enregistre la plus faible teneur en flavonoïdes (1.06 ± 0.12 mg EC/100g MS)(Fig. 18).

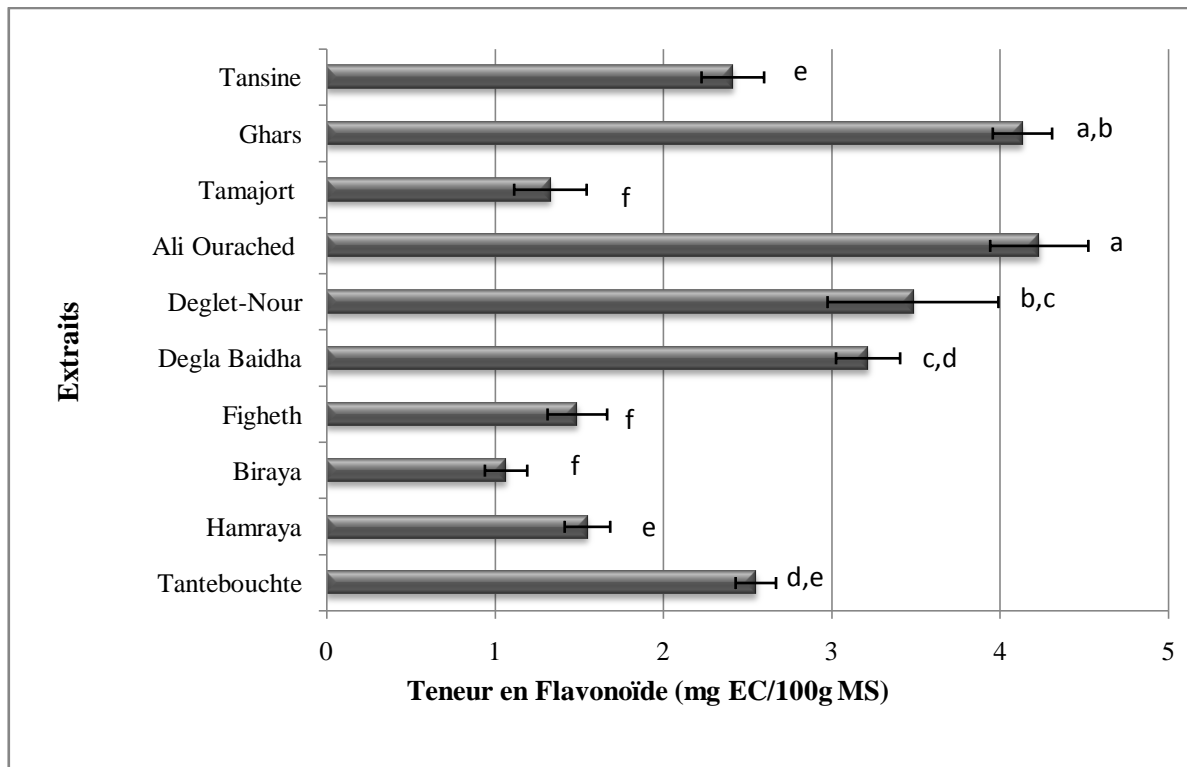


Figure 18: Teneur en flavonoïdes des différents extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Un résultat similaire a été trouvé par Biglari et *al.* (2008), avec les cultivars d'Iran, dont la teneur en flavonoïdes est de 1.62 à 4.71 mg EC / 100g MS, à l'exception de la variété Kharak, dont la teneur en flavonoïdes est de 81.79 mg EC / 100g MS.

Naskar et *al.* (2010) ont déterminé par la méthode spectrophotométrique le contenu en flavonoïdes dans l'extrait hydro-méthanolique du fruit indien de *Phoenix dactylifera* L. En effet, la teneur en flavonoïdes enregistrée est de 4.79 μ g EC/g MS.

Benmeddour et *al.* (2013) ont rapporté que la teneur en flavonoïdes des extraits hydro-acétoniques des variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) cultivées en Algérie (Biskra) varie de 15.22 à 299.74 mg EC / 100g MS.

Mohamed Lemine et ses collaborateurs (2014) ont testé les extraits méthanoliques de six variétés de dattes de la Mauritanie, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes est de 39.5 ± 1.5 à 112.5 ± 0.83 mg EC / 100g MS.

De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes montrent une très forte capacité à bloquer la prolifération des cellules humaines issues de cancers du sein, de prostate, du colon, du poumon et de peau ainsi qu'une prévention contre les maladies cardiovasculaires (Le Marchand, 2002).

D'après la bibliographie, les études conduites sur la composition des dattes en flavonoïdes évoquent toutes la présence de ces métabolites. En effet, ces études ont mentionné la présence de lutéoline, quercétine, apigénine, isoquercétine, flavones glycosides, flavonones glycosides et de flavonols glycosides (Mansouri et *al.*, 2005; Benmeddour et *al.*, 2013; Farag et *al.*, 2016).

2.1.3. Dosage des Flavonols

La concentration des flavonols dans les extraits méthanoliques des variétés de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à partir de l'équation linéaire $y=0.0443x$ ($r^2=0.979$) (Annexe I). Les teneurs sont exprimées en milligramme d'équivalence de rutine utilisée comme standard par cent gramme de la matière sèche végétale (mg ER/100g MS).

La teneur en flavonols des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. varie de 0.41 ± 0.23 à 1.43 ± 0.15 mg ER/100g MS. Les extraits des variétés Ali Ourached, Ghars et Deglet-Nour ont présenté significativement ($P<0.05$) les teneurs en flavonols les plus élevées, les valeurs respectives sont de 1.43 ± 0.15 , 1.41 ± 0.09 et 1.16 ± 0.20 mg ER/100g MS. Tandis que, les extraits des cultivars Tamajort (0.41 ± 0.23 mg ER/100g MS), Figheth (0.43 ± 0.32 mg ER/100g MS), Biraya (0.44 ± 0.10 mg ER/100g MS), Hamraya (0.47 ± 0.05 mg ER/100g MS) et Tansine (0.71 ± 0.09 mg ER/100g MS) ont des teneurs en flavonols significativement inférieures ($P<0.05$) à celles retrouvées pour les autres extraits (Fig.19).

L'étude de Benmeddour et *al.* (2013) réalisée sur dix cultivars de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) de la station de Tolga (Biskra, Algérie) a montré que les teneurs en flavonols des extraits hydro-acétoniques varient de 6.73 à 36.64 mg RE/100 g MS.

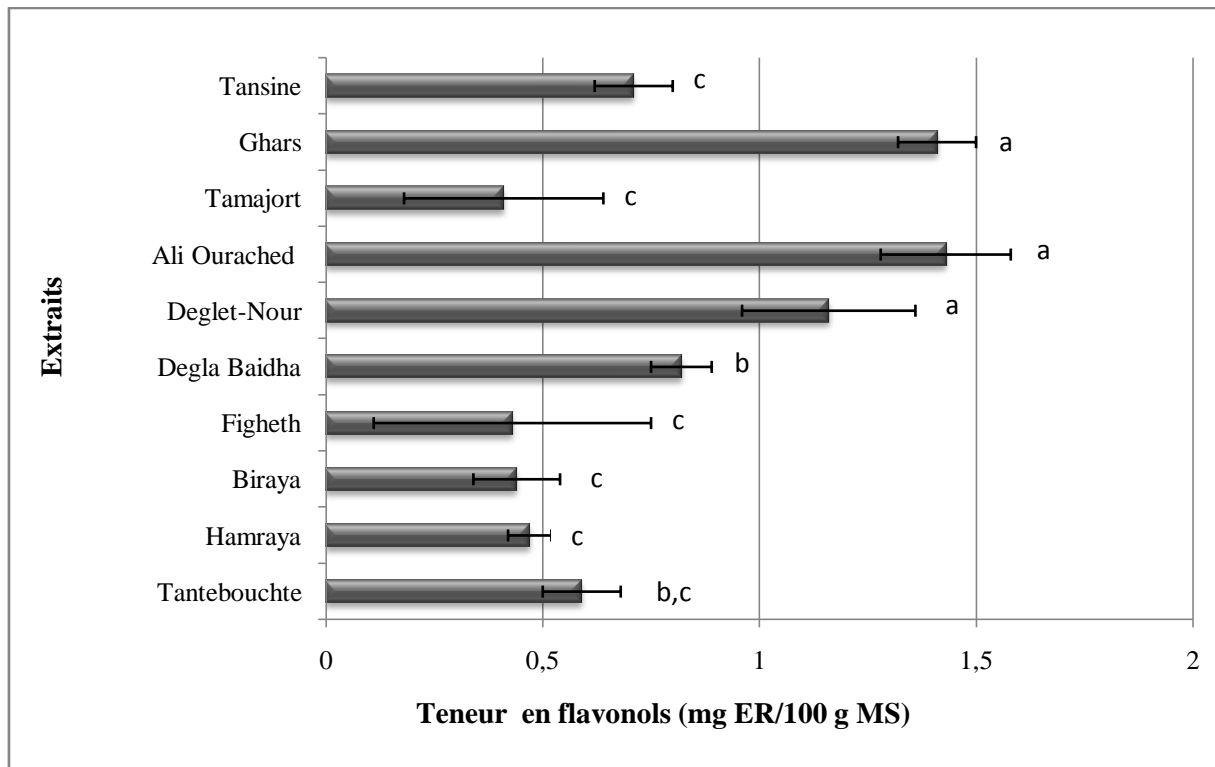


Figure 19: Teneur en flavonols des différents extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Toutefois, il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduit la fiabilité d'une comparaison entre les études. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en flavonoïdes et flavonols. En effet, des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante ont une forte influence sur le contenu en flavonoïdes et flavonols (Shui et Leong, 2006; Benmeddour et *al.*, 2013).

Saleh et *al.* (2011) ont rapporté que certaines réactions peuvent avoir lieu lors du stockage des fruits, comme la dépolymérisation, la dégradation des monomères, la précipitation et la polymérisation, ce qui affecte leur contenu phénolique.

2.2. Analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La détection des composés phénoliques des extraits méthanoliques des dattes a été déterminée par HPLC et ils ont été séparés et détectés à 220, 280, 300 et 365nm. Vingt-trois composés phénoliques purs: rutine, naringine, quercétine, lutéoline, isorhamnétine, acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique, acide trimethoxy-3,4,5-benzoïque, acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique, l'acide férulique, acide gallique, acide m-anisique, acide o-anisique, acide syringique, acide trans cinnamique, acide trans dimethoxy cinnamique, acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique, apigénine, caféine, vanilline, acide tannique, naringenin-7-o-glucoside, hespéridine et l'acide caféique ont été utilisés dans l'analyse comme standards, en comparant les temps de rétention des composés phénoliques standards avec les pics des chromatogrammes des différents extraits analysés (Annexe I).

A la longueur d'onde 220 nm, en comparant les temps de rétention des composés phénoliques standards avec les pics des chromatogrammes de différents extraits analysés, l'acide trimethoxy-3,4,5-benzoïque et l'acide m-anisique ont été détectés uniquement dans les extraits méthanoliques des cultivars de Tansine, Hamraya, Degla Baidha et Figheth à des temps de rétention de 10.885 et 11.724 min respectivement.

A la longueur d'onde 280 nm, l'acide gallique, acide tannique, caféine, naringenin-7-o-glucoside, acide trans cinnamique, acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique et l'hespéridine ont été détectés dans les extraits méthanoliques des cultivars de Tamajort, Figheth, Hamraya, Tansine, Degla Baidha et Tantebouchte à des temps de rétention de 3.260, 3.356, 6.447, 10.321, 13.889, 14.823 et 15.070 min respectivement. De même, l'analyse des composés phénoliques par HPLC a montré la présence de l'acide caféique, acide férulique, acide o-anisique, naringine et l'acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique dans les extraits de Biraya, Deglet-Nour, Ali Ourached et Ghars (Tableau VII).

Les analyses chromatographiques à la longueur d'onde 300 nm ont permis d'identifier l'hespéridine, aspegénine et la lutéoline dans les extraits méthanoliques des cultivars de Biraya, Deglet-Nour, Ali Ourached et Ghars à des temps de

rétenion de 15.100, 14.419 et 12.843 min respectivement. En revanche, la vanilline a été détectée dans tous les extraits de dattes. L'acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique, acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique et l'acide trans dimethoxy cinnamique ont été détectés dans les extraits de Tamajort, Figheth, Hamraya, Tansine, Degla Baidha et Tantebouchte à des temps de rétenion de 9.725, 12,864 et 14.941 min respectivement.

L'analyse qualitative par HPLC à la longueur d'onde 365 nm a révélé la présence de la rutine et la quercétine dans tous les extraits étudiés à des temps de rétenion de 8.754 et 12.800 min respectivement.

Tableau VII: Composés phénoliques détectés dans les extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. analysés à 220, 280, 300 et 365nm par HPLC.

	220nm		280 nm		300 nm		365 nm	
	Composés phénoliques détectés	TR (min)	Composés phénoliques détectés	TR (min)	Composés phénoliques détectés	TR (min)	Composés phénoliques détectés	TR (min)
Tantebouchte	ND		-Acide gallique - Acide tannique -Caféine -Naringenin-7-o-glucoside -Acide trans cinnamique -Acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique -Hespéridine	3.260 3.356 6.447 10.32 13.89 14.82 15.07	- Acide caféique - Vanilline -Acide férulique -Acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique -Acide trans dimethoxy cinnamique	7.062 8.503 9.335 9.790 12.860 14.946	-Rutine - Acide o-anisique - Lutéoline - Quercétine - Aspegénine -Isorhamnétine	8.764 9.723 12.776 12.796 14.726 15.032
Biraya	ND		- Acide caféique -Acide férulique - Acide o-anisique - Naringine - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	7.235 9.294 9.653 10.341 12.913	- Vanilline - Lutéoline - Aspegénine -Hespéridine	8.759 12.843 14.740 15.100	-Rutine - Quercétine	8.754 12.800
Degla Baidha	-Acide trimethoxy-3,4,5-benzoïque -Acide m-anisique	10.885 11.724	- Acide gallique - Acide tannique -Caféine -Naringenin-7-o-glucoside -Acide trans cinnamique -Acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique -Hespéridine	3.168 3.270 6.354 10.341 13.745 14.640 14.926	- Acide caféique - Vanilline -Acide férulique -Acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique -Acide trans dimethoxy cinnamique	7.095 8.758 9.264 9.725 12.864 14.941	-Rutine - Acide o-anisique - Lutéoline - Quercétine - Aspegénine -Isorhamnétine	8.760 9.727 12.656 12.801 14.497 15.059

Deglet-Nour	ND		- Acide caféique -Acide férulique - Acide o-anisique - Naringine - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	7.236 9.360 9.827 10.333 12.913	- Vanilline - Lutéoline - Aspegénine -Hespéridine	8.773 12.843 14.419 15.100	-Rutine - Quercétine	8.773 12.821
	ND		- Acide caféique -Acide férulique - Acide o-anisique - Naringine - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	7.137 9.300 9.738 10.456 12.913	- Vanilline - Lutéoline - Aspegénine -Hespéridine	8.673 12.843 14.419 15.100	-Rutine - Quercétine	8.754 12.800
Ghars	ND		- Acide caféique -Acide férulique - Acide o-anisique - Naringine - Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	7.177 9.345 9.821 10.341 12.913	- Vanilline - Lutéoline - Aspegénine -Hespéridine	8.784 12.843 14.419 15.100	-Rutine - Quercétine	8.778 12.800
Tansine	-Acide trimethoxy-3,4,5- benzoïque -Acide m- anisique	10.835 11.288	-Acide gallique -Acide tannique -Caféine -Naringénine-7-o- glucoside -Acide trans cinnamique -Acide 2,5 diméthyl hydroxy cinnamique -Hespéridine	3.26 3.27 6.405 10.38 13.82 14.82 15.07	-Acide caféique -Vanilline -Acide férulique -Acide 3-hydroxy 4- methoxy cinnamique -Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique -Acide trans dimethoxy cinnamique	7.062 8.604 9.266 9.677 12.81 14.88	-Rutine - Acide o-anisique -Lutéoline -Quercétine -Aspegénine -Isorhamnétine	8.664 9.668 12.776 12.810 14.497 15.059

Hamraya	-Acide trimethoxy-3,4,5-benzoïque	10.721	- Acide gallique	3.260	- Acide caféïque	7.062	-Rutine	8.664
			- Acide tannique	3.270	- Vanilline	8.604	-Acide o-anisique	9.668
	-Acide m-anisique	12.437	-Caféine	6.405	-Acide férulique	9.266	-Lutéoline	12.776
			-Naringenin-7-o-glucoside	10.387	-Acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique	9.677	-Quercétine	12.810
			-Acide trans cinnamique	13.821	- Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	12.816	-Aspegenine	14.497
		-Acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique	14.823	-Acide trans dimethoxy cinnamique	14.882	-Isorhamnétine	15.059	
		-Hespéridine	15.070					
Figheth	-Acide trimethoxy-3,4,5-benzoïque	11.174	- Acide gallique	3.193	-Acide caféïque	7.080	-Rutine	8.779
			- Acide tannique	3.270	-Vanilline	8.771	-Acide o-anisique	9.740
	-Acide m-anisique	11.936	-Caféine	6.354	-Acide férulique	9.356	-Lutéoline	12.344
			-Naringenin-7-o-glucoside	10.338	-Acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique	9.669	-Quercétine	12.830
			-Acide trans cinnamique	13.915	- Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	12.902	-Aspegenine	14.756
		-Acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique	14.823	-Acide trans dimethoxy cinnamique	14.950	-Isorhamnétine	15.059	
		-Hespéridine	15.070					
Tamajort		ND	-Acide gallique	3.182	-Acide caféïque	7.076	-Rutine	8.651
			-Acide tannique	3.399	-Vanilline	8.568	-Acide o-anisique	9.732
			-Caféine	6.358	-Acide férulique	9.356	-Lutéoline	12.675
			-Naringenin-7-o-glucoside	10.345	-Acide 3-hydroxy 4-methoxy cinnamique	9.816	-Quercétine	12.814
			-Acide trans cinnamique	13.905	-Acide 3,4,5 trimethoxy trans cinnamique	12.898	-Aspegenine	14.403
		-Acide 2,5 dimethyl hydroxy cinnamique	14.834	-Acide trans dimethoxy cinnamique	14.935	-Isorhamnétine	14.745	
		-Hespéridine	15.158					

ND : non détecté, TR : temps de rétention.

De nombreuses études se sont intéressées à l'identification des composés polyphénoliques dans les extraits de *Phoenix dactylifera* L. par analyse HPLC. En effet, l'étude de Saleh et *al.* (2011) a montré que les teneurs en rutine, acide caféique et en catéchine des extraits méthanoliques des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. cultivés en Arabie Saoudite, sont de 8.10 ± 0.20 , 7.40 ± 1.61 et 7.50 ± 0.70 mg/kg respectivement.

Boudries et *al.* (2007) ont noté que les analyses chromatographiques des variétés algériennes de *Phoenix dactylifera* L. ont révélé la dominance des pigments de caroténoïdes représentés par la lutéine et le β - carotène, avec des teneurs allant de 0.03 à 0.77mg/100g MF.

Dhaouadi et *al.* (2011) ont quantifié les composés phénoliques dans l'extrait aqueux de la variété Deglet-Nour cultivée en Tunisie, les quantités de l'acide coumarique, acide gallique, acide vanillique, acide cinnamique, acide 3,4-dicaffeoylquinique, acide 5-O-caffeoyl shikimique, acide caffeoyl sinapyl quinique et de l'acide caféique enregistrées sont de 23.03, 6.79, 2.55, 35.79, 13.86, 17.70, 285 et 9.81 mg/100 g MF respectivement. De même, le profil phénolique des extraits hydro-acétoniques de trois cultivars tunisiens de dattes a été établi par Kachou et *al.* (2016) où l'acide gallique, acide vanillique, acide caféique, acide syringique, acide coumarique, acide férulique, acide sinapique et la rutine ont été identifiés.

L'analyse des composés phénoliques de quatre variétés de datte d'Omanie par HPLC a révélé la présence de l'acide gallique, acide coumarique, acide caféique, acide vanillique et l'acide syringique dont les teneurs sont de 19.14, 1.67, 1.75, 0.27 et 0.37 mg/100 g MF respectivement (Al Harthi et *al.*, 2015).

La séparation chromatographique des extraits aqueux et éthanoliques des cultivars de dattes égyptiennes a révélé la présence de l'acide gallique (7.51 et 5.28 $\mu\text{g/g}$), acide tannique (2.85 et 1.79 $\mu\text{g/g}$) et l'acide férulique (0.15 et 0.22 $\mu\text{g/g}$) respectivement. En revanche, l'étude a signalé l'absence de l'acide cinnamique (El Sohaimy et *al.*, 2015).

Les différences entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être attribuées à l'origine géographique des fruits (Al Harthi et *al.*, 2015). Le solvant

d'extraction pourrait aussi être à l'origine des variations dans les composés phénoliques des extraits de *Phoenix dactylifera* L. (Kchaou et al., 2013; Shahdadi et al., 2015; Mrabet et al., 2016; Amiour et Hambaba, 2016).

3. Activités biologiques des extraits méthanoliques des dattes

3.1. Activités biologiques (*in vitro*)

3.1.1. Activité antioxydante

Jusqu'à présent, il n'y a pas une méthode simple et universelle par laquelle l'activité antioxydante est évaluée qualitativement et quantitativement (Prior et al., 2005). Pour cette raison, nous avons combiné quatre techniques complémentaires.

3.1.1.1. Test de DPPH

Le radical DPPH°, est l'un des substrats les plus utilisés pour une évaluation directe, rapide et fiable de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité et la simplicité de l'analyse. L'activité antioxydante se détermine par une analyse spectrophotométrique à 517 nm en suivant la réduction du DPPH° qui se traduit par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti-radicalaires des extraits végétaux (Prieto et al., 1999). La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir des IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH°. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande (Mansouri et al., 2005).

Le BHT utilisé comme standard dans ce travail a montré une activité anti-radicalaire puissante avec une IC₅₀ de l'ordre de 185±1.44 µg/ml. Cette activité est aussi significativement ($P<0.05$) supérieure aux valeurs retrouvées avec tous les cultivars de *Phoenix dactylifera* L.

Parmi les dix extraits testés, l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached représente l'extrait le plus actif avec une IC₅₀ de l'ordre de 206±2.64 µg/ml et elle

est significativement ($P < 0.05$) supérieure aux valeurs retrouvées avec les autres cultivars de *Phoenix dactylifera* L. Par contre, les IC_{50} de l'extrait méthanolique de la variété Figheth ($398.34 \pm 1.02 \mu\text{g/ml}$) et Tamajort ($397.44 \pm 1.14 \mu\text{g/ml}$) sont significativement ($P < 0.05$) inférieures à celles trouvées pour les autres extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. testés (Fig.20).

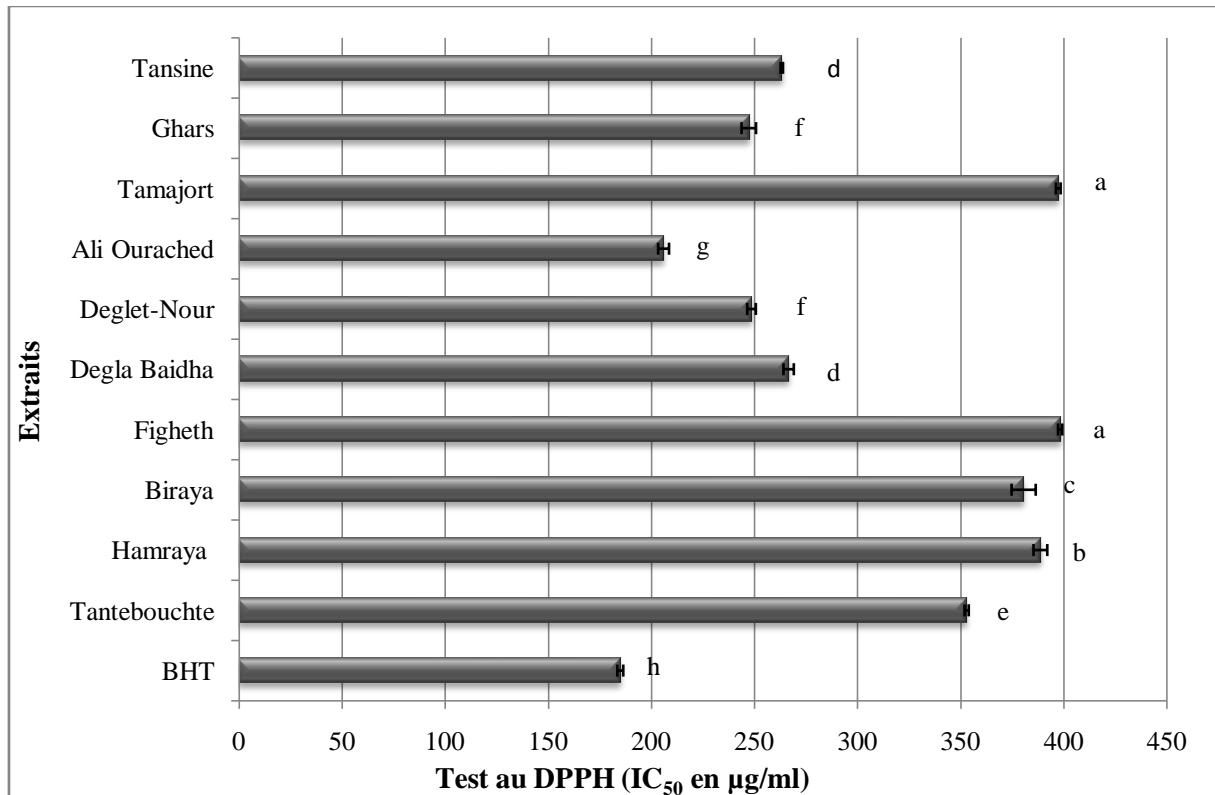


Figure 20: Valeurs d' IC_{50} des extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés par la littérature montre que les différences varient d'une étude à une autre. En effet, Saleh et *al.* (2011) ont testé l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de trois variétés de *Phoenix dactylifera* L. (Khalas, Sukkari et Ajwa) d'Almadina Almonawara (Arabie Saoudite), l' IC_{50} trouvée est de 9.10, 4.10 et 3.80 mg/ml respectivement.

Ahmed et *al.* (2009) ont montré que les doses de 2.5 et 50 $\mu\text{g/ml}$ de l'extrait aqueux du fruit de *Phoenix dactylifera* L. d'Iraq provoquent une inhibition du radical DPPH° de 21.7 et 81.3 %, respectivement. Ces valeurs comparées aux nôtres paraissent plus efficaces.

De même, Samad et *al.* (2016) ont évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et acétonique du fruit de *Phoenix dactylifera* L. d'Iran (Mariami) par plusieurs méthodes, avec la méthode de DPPH, l'IC₅₀ trouvée est de 1188.95 ± 2.79 et 130.77 ± 2.62 µg/ml respectivement. En revanche, Naskar et *al.* (2010) a trouvé que l'IC₅₀ de l'extrait hydro-méthanolique d'un cultivar de datte iranienne est de 160 µg/ml.

Les résultats du piégeage du radical libre DPPH° suggèrent que les composés qui se trouvent dans les extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. sont capables de piéger les radicaux libres par l'intermédiaire de mécanismes de donation d'électrons ou d'hydrogène (Calliste et *al.*, 2001; Rice-Evans et *al.*, 2006a) et d'empêcher l'initiation des réactions en chaîne des radicaux libres délétères induites dans les membranes cellulaires (Rahmani et *al.*, 2014). Le pouvoir réducteur d'un composé sert d'indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Deepa et *al.*, 2009; Kanatt et *al.*, 2010; Zheng et *al.*, 2011).

Ceci montre également la capacité des fruits de dattes à piéger les différents radicaux libres dans les différents systèmes. Ils peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le traitement des dommages pathologiques liés aux radicaux libres (Mallhi et *al.*, 2014).

3.1.1.2. Test du blanchissement du β-carotène

La décomposition des acides gras est l'une des principales causes de la détérioration de la nourriture. L'inhibition de l'oxydation des acides gras par l'utilisation des conservateurs naturels, est une question importante dans l'industrie alimentaire. L'aptitude des extraits à inhiber la peroxydation des lipides a été évaluée par la technique de décoloration de β-carotène, cette dernière est habituellement employée pour estimer l'activité antioxydante des substances dans les émulsions, accompagnée de l'oxydation (Kartal et *al.*, 2007).

Le principe de ce test repose sur l'oxydation de l'acide linoléique qui, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes diallyliques, génère des radicaux peroxydes, ces radicaux libres vont, par la suite oxyder, le β-carotène hautement insaturé de couleur rouge entraînant ainsi la disparition de cette couleur. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait

neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (Zargar et al., 2011).

D'après nos résultats, le standard testé (BHT) inhibe significativement ($P < 0.05$) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène à une concentration de 200 $\mu\text{g/ml}$ par rapport aux extraits méthanoliques de dattes, avec un pourcentage d'inhibition de 93.25 ± 0.29 % (Fig. 21).

Le pourcentage de l'activité antioxydante relative des extraits de *Phoenix dactylifera* L. varie de 35.01 ± 1.64 à 76.85 ± 0.66 %. Avec une concentration de 200 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached a montré un pourcentage de l'activité antioxydante (76.85 ± 0.66 %) significativement ($P < 0.05$) supérieur à ceux trouvés avec les autres extraits testés, suivi par la variété Deglet-Nour (62.33 ± 0.62 %).

Tandis que le pourcentage de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la variété Figheth est significativement ($P < 0.05$) inférieur à ceux trouvés avec les autres extraits testés, la valeur enregistrée est de 35.01 ± 1.64 %. Notons que les taux d'inhibition de blanchissement du β -carotène obtenus avec l'extrait méthanolique de la variété Tansine et Degla Baidha ne sont pas significativement ($P > 0.05$) différents, les valeurs trouvées sont de 57.68 ± 0.71 et 58.55 ± 0.49 % respectivement.

Doha et El-Okbi (2005) ont testé l'activité antioxydante des extraits des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. cultivés en Égypte, ils ont trouvé avec la méthode de blanchissement de β -carotène des valeurs de l'activité antioxydante oscillant de 9.28 à 75.96%.

Selon Liyana-Pathirana et Shahidi (2006), un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et un antioxydant primaire. Takahama (1983) a montré que les flavonoïdes ont la capacité de terminer la réaction en chaîne de la peroxydation des lipides par le piégeage du radical peroxyde.

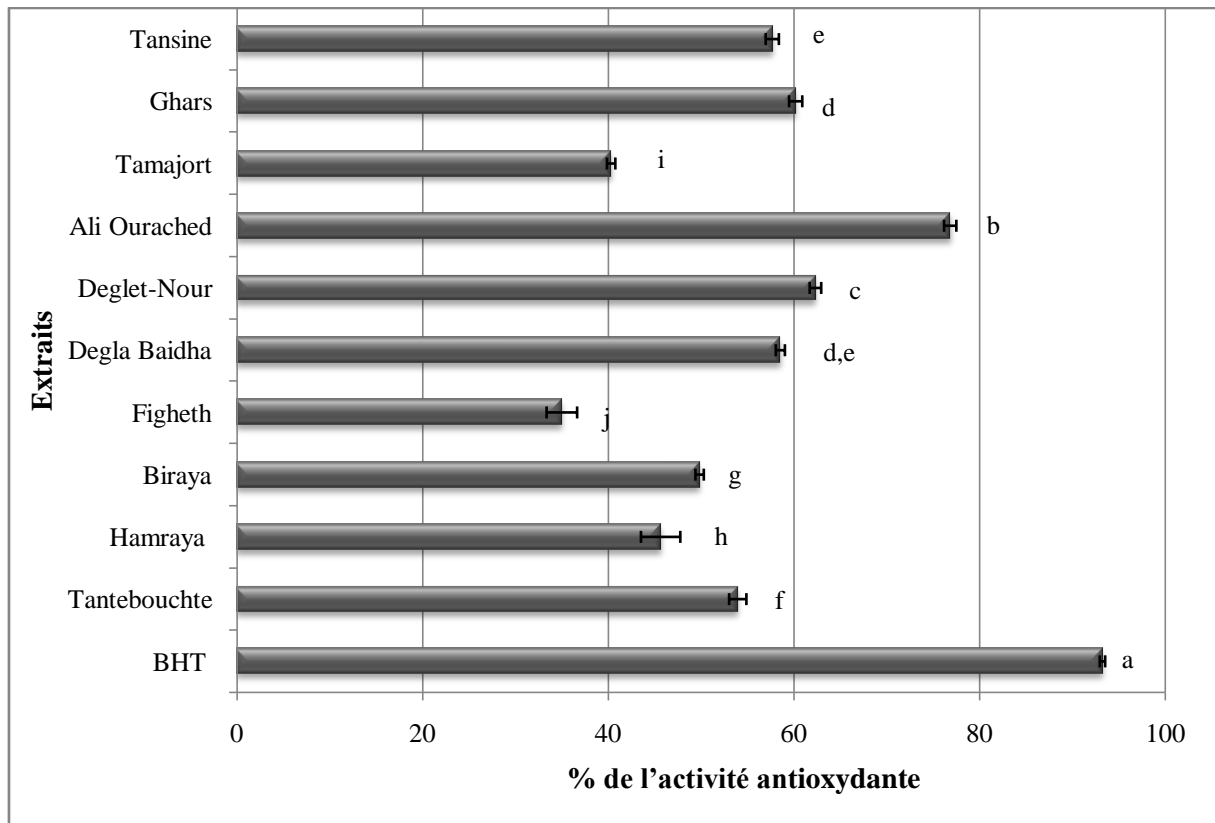


Figure 21: Pourcentage de l'activité antioxydante relative des extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreira *et al.*, 2006).

3.1.1.3. Activité antioxydante totale par la méthode de phosphomolybdate

La capacité antioxydante totale a été mesurée par un spectrophotomètre en utilisant la méthode de phosphomolybdate qui est basée sur la réduction de Mo(VI) en Mo(V) en présence des antioxydants et la formation d'un complexe phosphate/Mo(V) d'une couleur verte. La capacité anti-oxydante totale des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. est exprimée en nombre d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (μmol d'acide ascorbique /g d'extrait).

L'activité antioxydante totale des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. varie de 24.65 ± 2.43 à 90.25 ± 0.79 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait. L'extrait méthanolique des variétés Ali Ourached et Deglet-Nour ont la

capacité antioxydante la plus élevée ($P < 0.05$) avec des valeurs de 90.25 ± 0.79 et 86.76 ± 0.63 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait respectivement, suivi par les extraits méthanoliques des variétés Ghars (74.23 ± 0.65 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait), Degla Baidha (67.05 ± 0.39 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait), Tansine (65.24 ± 0.46 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait), Tantebouchte (55.02 ± 0.62 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait), Biraya (42.83 ± 0.77 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait), Hamraya (35.32 ± 1.34 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait) et Figheth (29.56 ± 1.67 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait) (Fig. 22).

Par contre, la capacité antioxydante de la variété Tamajort (24.65 ± 2.43 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait) est significativement ($P < 0.05$) inférieure à celles retrouvées avec les autres cultivars.

L'attribution exacte de la capacité antioxydante à un composé, ou un petit groupe de composants dans un extrait de plante est une tâche difficile, puisque l'activité efficace dépend de plusieurs facteurs, tels que la concentration, les formes isomériques et l'interaction synergique avec d'autres composants (Essawi et Srour, 2000, Almela et al., 2006).

Abbès et al. (2013) ont trouvé que les valeurs de la capacité antioxydante totale de deux cultivars de dattes cultivés en Tunisie (Deglet-Nour et Allig) sont de 116.11 ± 0.98 et 118.05 ± 1.25 μmol d'acide ascorbique /g d'extrait respectivement. Ces résultats concordent avec les nôtres.

Kchaou et al. (2013) ont évalué l'activité antioxydante totale des extraits aqueux, méthanoliques, acétoniques et éthanoliques de six cultivars dattiers cultivés en Tunisie, ils ont trouvé une capacité antioxydante totale de 39.94 ± 3.24 , 44.50 ± 5.89 , 85.29 ± 0.90 et 109.67 ± 2.04 mg d'acide ascorbique /g d'extrait respectivement, ces valeurs sont supérieures par rapport à nos résultats.

De même, Zehra et al. (2015) ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait acétonique du fruit de *Phoenix dactylifera* L. cultivé en Omanie, ils ont trouvé une capacité totale de 0.14 ± 0.0743 μg d'acide ascorbique /10g d'extrait.

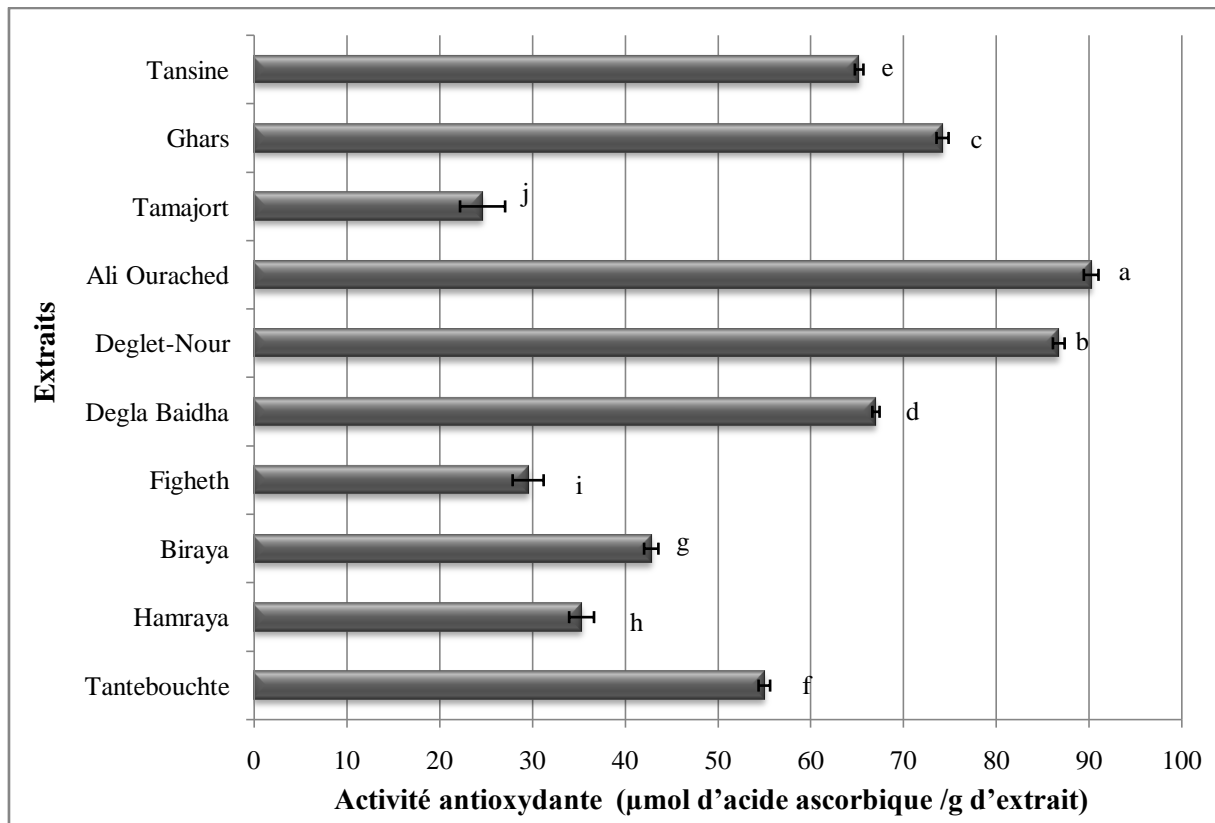


Figure 22: Activité antioxydante totale des extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Les extraits obtenus en utilisant des solvants de haute polarité étaient considérablement plus efficaces que ceux obtenus en utilisant des solvants de basse polarité. La polarité des solvants change la capacité de dissoudre un groupe choisi de composés antioxydants, ce qui influe l'évaluation de l'activité antioxydante (Hayouni et *al.*, 2007; Turkmen et *al.*, 2007).

3.1.1.4. Réduction du Fer: FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits, par la méthode de réduction de fer (FRAP), basée sur l'aptitude des antioxydants présents dans les différents extraits à réduire le TpTz-Fe(III) à TpTz-Fe (II) (Li et *al.*, 2008; Singh et *al.*, 2012).

Les résultats sont exprimés en μmol de fer ferreux par cent gramme de matière sèche (μmol Fe (II) / 100 g MS). Le potentiel antioxydant des extraits de *Phoenix dactylifera* L. varie de 10.56 ± 1.73 à 56.04 ± 1.09 μmol Fe (II) / 100 g MS.

Le potentiel antioxydant le plus élevé ($P < 0.05$) a été constaté avec l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached ($56.04 \pm 1.09 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$), suivi par l'extrait méthanolique de la variété Deglet-Nour ($33.95 \pm 1.2 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$). L'extrait méthanolique de la variété Tamajort a exercé un potentiel antioxydant ($10.56 \pm 1.73 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$) significativement ($P < 0.05$) inférieur par rapport à ceux des extraits étudiés (Fig. 23).

Les résultats obtenus avec la méthode de FRAP des extraits méthanoliques de la variété Biraya ($21.64 \pm 1.09 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$) et Tansine ($18.95 \pm 0.78 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$) montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($P > 0.05$) entre le potentiel antioxydant de ces deux extraits. De même, les valeurs de l'activité antioxydante des variétés Ghars ($28.33 \pm 0.66 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$) et Degla Baidha ($28.02 \pm 0.91 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$) ne sont pas significativement ($P > 0.05$) différentes.

La classification des différents extraits méthanoliques selon leur activité antioxydante par la méthode de FRAP par ordre croissant est la suivante: Tamajort < Figheth < Tansine < Hamraya < Biraya < Tantebouchte < Degla Baidha < Ghars < Deglet-Nour < Ali Ourached.

Les résultats de ce travail sont en parfait accord avec ceux trouvés par Biglari et al. (2008) qui constatent que les valeurs de potentiel antioxydant par la méthode de FRAP des extraits méthanoliques des cultivars de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) d'Iran varient de 11.65 ± 0.88 à $29.34 \pm 2.03 \mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$.

De nombreuses études conduites avec d'autres cultivars de *Phoenix dactylifera* L. confirment leur pouvoir antioxydant. C'est le cas de l'étude réalisée par Khanavi et al. (2009), sur dix cultivars de dattes iraniennes (Khenizi, Sayer, Lasht, Kabkab, Maktoub, Gentar, Shahabi, Majoul, Khazui et Zahedi) par la méthode de FRAP, ils ont trouvé une activité antioxydante variant de 575.77 à 3279.48 $\mu\text{mol Fe (II)} / 100 \text{ g MS}$. Ces valeurs comparées aux nôtres paraissent plus efficaces.

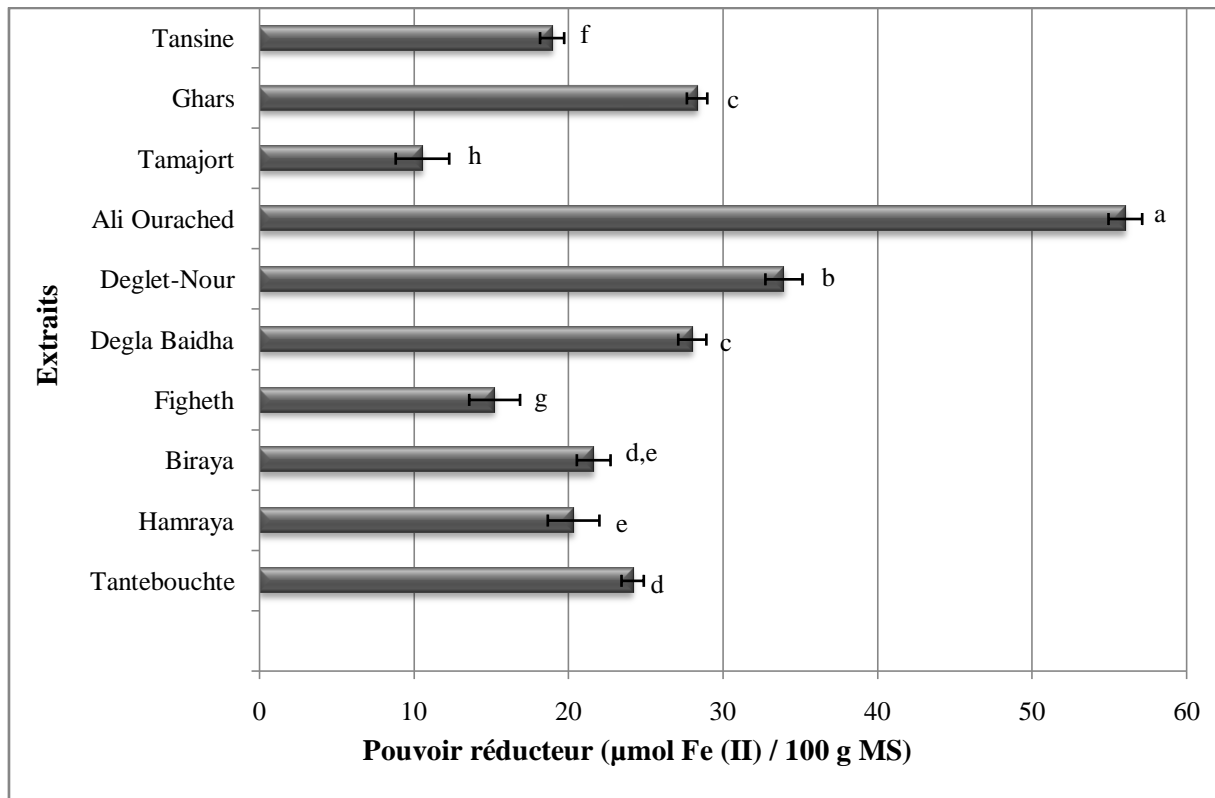


Figure 23: Pouvoir réducteur des extraits méthanoliques.

Les barres avec des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($P < 0.05$).

Des valeurs de potentiel antioxydant inférieures aux nôtres ont été trouvées par Kchaou et *al.* (2014) avec les extraits acétoniques des cultivars de dattes de Tunisie (Deglet-Nour, Allig et Bejo et), les valeurs sont de 1.96, 3.24 et 4.98 $\mu\text{mol Fe (II) / 100g MS}$ respectivement.

Dhaouadi et *al.* (2011) ont testé la pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de la variété Deglet-Nour cultivée en Tunisie par la méthode de FRAP, la valeur est de $382.87 \pm 23.2 \mu\text{g/100 g MF}$.

3.1.2. Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante

Nous avons déterminé le coefficient de corrélation linéaire, dit Bravais (ou de Pearson; r) (da Silva et *al.*, 2011) entre les différentes méthodes de l'activité antioxydante et la teneur en phénols totaux des extraits testés (Tableau VIII). La capacité antioxydante des extraits semble être influencée par les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Les résultats obtenus montrent une corrélation négative entre les IC_{50} (méthode de DPPH) des extraits et la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation (r) de -0.923 et -0.911 respectivement

L'analyse statistique montre la présence d'une corrélation positive entre l'activité antioxydante par la méthode de FRAP et la teneur de ces extraits en polyphénols totaux et en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation (r) de 0.833 et 0.771 respectivement.

Une corrélation positive a été trouvée entre l'activité antioxydante par la méthode de β -carotène et la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes avec un coefficient de corrélation (r) de 0.879 et 0.847 respectivement.

En combinant les résultats de cette étude, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une corrélation positive entre l'activité antioxydante totale et la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes des extraits méthanoliques des fruits de *Phoenix dactylifera* L. avec un coefficient de corrélation (r) de 0.893 et 0.902 respectivement.

Tableau VIII: Coefficients de corrélation linéaire entre les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes et l'activité antioxydante des extraits de *Phoenix dactylifera* L.

	Polyphénols		Activité antioxydante		
	Composés phénoliques	Flavonoïdes	DPPH	FRAP	β -carotène
Flavonoïdes	0.940				
DPPH (IC_{50})	-0.923	-0.911			
FRAP	0.833	0.771	-0.768		
β-carotène	0.879	0.847	-0.918	0.890	
Molybdate	0.893	0.902	-0.961	0.824	0.942

Plusieurs études ont démontré la corrélation significative entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux de *Phoenix dactylifera* L. (Allaith,

2008; Hemmateenejad et *al.*, 2015; Seyed et *al.*, 2015; Ali et *al.*, 2016; Djouab et *al.*, 2016). L'action des composés en tant que composants antioxydants s'explique par un mécanisme de transfert électronique (Prior et *al.*, 2005; Klimczak et *al.*, 2007; Jayaprakasha et *al.*, 2008; Stagos et *al.*, 2012).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées aux propriétés antioxydantes. En effet, ces phytonutriments agissent de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant: par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition et par inhibition de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme la cyclooxygénase et la lipooxygénase (Bartosikova et *al.*, 2003; Rice-Evans et *al.*, 2006a,b).

Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH₂ situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (Heim et *al.*, 2002; Přemysl et *al.*, 2011).

Selon Cho (2006), l'héspéridine isolée à partir des agrumes inhibe la peroxydation lipidique et protège les cellules corticales des rats contre les lésions neuronales oxydatives induites par la xanthine. De même, Ouali et *al.* (2007) ont évalué l'effet de l'héspéridine sur le système antioxydant des embryons au cours d'un diabète gestationnel expérimental. En effet, l'héspéridine diminue la glycémie et restaure l'activité des enzymes en réduisant l'intensité du stress oxydatif.

Monica et *al.* (2010) ont démontré que la naringine possède la propriété inhibitrice envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de réduire les dommages de l'ADN induits par les radicaux libres.

Tai et *al.* (2011) ont démontré que la vanilline a enregistré une activité antioxydante plus importante que l'acide ascorbique et le trolox. De même, l'administration orale de la vanilline chez les souris réduit significativement le stress oxydatif.

Lacopin et *al.* (2008) ont démontré que les activités biologiques de la rutine, lutéoline et la quercétine sont attribuées aux propriétés antioxydantes. En effet, ces molécules réagissent avec la plupart des espèces réactives oxygénées.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'isorhamnétine et la rutine a démontré un potentiel antioxydant plus important que l'acide ascorbique et le BHT. Ces molécules pourraient être utilisées comme additif naturel pour alterner les substances synthétiques (Pengfei et *al.*, 2009 ; Afify et *al.*, 2011).

3.1.3. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques des dattes

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques des cultivars dattiers sur la gamme des bactéries pathogènes sont représentés dans le tableau IX. Les extraits exercent un effet inhibiteur variant en fonction des bactéries et selon l'extrait testé.

D'après les moyennes des zones d'inhibition, l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached a une forte activité contre la plupart des bactéries pathogènes testées. Cette activité peut être due à leurs teneurs importantes en composés phénoliques et en flavonoïdes qui sont connus pour leur effet antibactérien.

Les grandes zones d'inhibition ont été constatées chez *Salmonella typhimurium* ATCC14028 avec les extraits méthanoliques de la variété Degla Baidha et Ali Ourached, les diamètres des zones d'inhibition sont de 18.63 ± 1.26 et 20.73 ± 1.10 mm respectivement, suivi par *Staphylococcus aureus* ATCC638P et *Listeria monocytogenes* ATCC15313 qui sont sensibles aux extraits méthanoliques des cultivars de Degla Baidha et Ali Ourached avec des diamètres des zones d'inhibition de 17.50 ± 1.50 et 17.33 ± 0.29 mm respectivement. L'extrait de Tantebouchte a pu inhiber la bactérie *Bacillus spizizenii* ATCC6633, le diamètre est de 16.73 ± 0.44 mm (Tableau IX).

Les extraits méthanoliques de Biraya, Ghars et Tansine ont montré une activité antibactérienne modérée avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 09.00 ± 0.00 jusqu'à 16.03 ± 0.26 mm.

Bacillus spizizenii ATCC6633 s'est avéré la bactérie la plus sensible à l'effet de la plupart des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L., contrairement à *Pseudomonas aeruginosa* qui était la plus résistante.

Les extraits méthanoliques des cultivars de Figheth, Hamraya et Tamajort ont exercé un effet inhibiteur faible contre les bactéries pathogènes testées, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 00.00 ± 0.00 à 12.50 ± 01.00 mm.

Les extraits méthanoliques des cultivars Deglet-Nour, Hamraya et Tamajort se sont révélés inactifs contre les bactéries pathogènes *Staphylococcus aureus* ATCC638P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Escherichia coli* ATCC8739 respectivement.

D'après les résultats obtenus, les bactéries réagissent différemment avec les antibiotiques testés. En effet, les antibiotiques ont pu exercer un effet inhibiteur sur les bactéries testées avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 19.16 ± 0.76 jusqu'à 36.50 ± 0.00 mm, la grande zone d'inhibition a été constatée avec la Cefixime contre *Listeria monocytogenes* ATCC15313, soit 36.5 ± 0.00 mm. Certaines bactéries sont résistantes vis-à-vis des antibiotiques testés, c'est le cas de *Staphylococcus aureus* ATCC 638P.

En comparant les moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. à celles des antibiotiques, nous avons constaté que les antibiotiques ont présenté un effet antibactérien plus important que les extraits testés.

Pour la CMI, les extraits méthanoliques des cultivars de Deglet-Nour, Degla Baidha et Ali Ourached se sont montrés très efficaces vis-à-vis des bactéries pathogènes testées à une même concentration de 45 mg/ml (Tableau X).

En outre, la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des micro-organismes ciblés sont des facteurs pouvant largement influencer l'activité antibactérienne (Cowan, 1999).

Tableau IX: Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanoliques de dattes (*Phoenix dactylifera* L.)

	Diamètres des zones d'inhibition (mm)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC638P	<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC6633	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028
<u>Extraits</u>						
Tantebouchte	08.00±00	16.73±01.44	15.33±0.57	00.00±0.00	8.16±0.76	13.36±0.77
Biraya	00.00±00	15.33±01.04	14.12±1.70	11.66±0.57	13.33±0.54	11.3±0.81
Degla Baidha	17.50±1.50	16.80±1.70	15.5±1.80	12.86±1.40	13.8±1.33	18.63±1.26
Deglet-Nour	00.00±00	15.50±1.50	16.33±1.15	13.00±00	12.00±0.6	09.00±0.0
Ali Ourached	14.66± 0.57	16.73±1.10	17.33±0.29	14.33±0.50	14.66±1.15	20.73±1.10
Ghars	09.00±0.00	16.03±01.26	10.33±0.17	11.00±01.00	13.40±0.90	15.03±1.45
Tansine	10.00±0.00	15.26±00.94	14.86±1.02	12.33±0.57	12.33±0.57	14.5±0.98
Figheth	09.30±0.50	12.50±01.00	10.50±0.60	08±00.50	10.30±0.0	08.5±00
Hamraya	08.40±00	10.40±00.60	10.00±1.00	00.00±0.00	08.40±0.70	10.5±0.60
Tamajort	10.50±0.50	09.00±00.50	00.00±0.00	00.00±0.00	00.00±0.00	10.2±0.35
<u>Antibiotiques</u>						
Streptomycine	19.16±0.76	22.8±1.31	29.5±1.5	25.1±2.59	28.83±1.04	23.53±1.28
Cefazoline	25.40±0.00	31.5±0.00	27.40±0.00	34.20±0.00	25.60±0.00	28.80±0.00
Cefixime	30.5±0.00	27.00±0.00	36.50±0.00	26.50±0.00	30.00±0.60	29.67±0.90

Tableau X: Résultats de concentration minimale inhibitrice des extraits méthanoliques des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. vis-à-vis les bactéries pathogènes.

Concentrations des extraits (mg/ml)		Les extraits méthanoliques des cultivars Ali Ourached, Deglet-Nour et Degla Baidha										
		Témoin (-)	Témoin (+)	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Bactéries testées	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC638P	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC6633	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

(-) : Absence de croissance

(+) : Présence de croissance

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Dhaouadi et *al.* (2011) qui ont testé les extraits hydro-acétoniques de trois cultivars tunisiens de *Phoenix dactylifera* L. contre *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC106510, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Salmonella* sp., ils ont enregistré des diamètres des zones d'inhibition oscillant de 15.2 ± 0.4 à 20.0 ± 1.0 mm.

Abuharfeil et *al.* (1999) ont démontré que l'extrait dattier inhibe la croissance de *Streptococcus pyogenes* et neutralise leur effet hémolytique par l'inhibition de la sécrétion de l'enzyme « Streptolysine O ».

Ayachi et *al.* (2009) ont démontré que les extraits méthanoliques de trois variétés des dattes algériennes (Deglet-Nour, Ghars et Mech-Degla) possèdent un effet antibactérien modéré contre *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition de 8.5 et 9.5 mm respectivement.

Al-daihan et Shafi Bhat (2012) ont testé les extraits aqueux, méthanoliques et acétoniques du fruit de *Phoenix dactylifera* L. sur *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* en utilisant la méthode de diffusion sur disque, ils ont trouvé que les extraits aqueux ont exercé l'effet le plus faible, par contre les meilleurs diamètres des zones d'inhibition ont été enregistrés avec l'extrait acétonique sur *Staphylococcus aureus*. En revanche, une activité modérée a été trouvée par Zehra et *al.* (2015) avec l'extrait acétonique du fruit de *Phoenix dactylifera* L. cultivé en Omanie, contre *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas* spp., ils ont trouvé des diamètres des zones d'inhibition de 00, 10 et 15 mm respectivement.

Des diamètres des zones inhibition de 15, 13, 14 et 14 mm ont été trouvés avec 160 µg/ml des extraits éthanoliques des feuilles de *Phoenix dactylifera* L. cultivé en Nigeria contre *Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* et *Yersinia enterocolitica* respectivement. Les auteurs ont enregistré une CMI de 25 µg/ml (Garba et *al.*, 2013).

El Sohaimy et *al.* (2015) ont trouvé que les extraits aqueux et éthanoliques des cultivars égyptiens de *Phoenix dactylifera* L. ont manifesté une excellente activité

antibactérienne contre *Escherichia coli* ATCC143, *Salmonella enterica* ATCC 13076 et *Bacillus subtilis* ATC6633 avec des diamètres des zones d'inhibition de 20 ± 0.57 et 16 ± 0.57 , 20 ± 0.54 et 14 ± 0.52 , 18 ± 0.32 et 15 ± 0.23 mm respectivement, par contre un potentiel antibactérien modéré a été trouvé contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, avec des diamètres des zones d'inhibition de 8 ± 0.48 et 5 ± 0.52 , 5 ± 0.36 et 2 ± 0.57 mm respectivement. Les auteurs ont trouvé une corrélation linéaire entre cette activité et la teneur en composés phénoliques des extraits.

Le même résultat a été noté par Sharma et al. (2016) avec *Micrococcus leuteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella abony* et *Raoultella planticola* avec les extraits méthanoliques des feuilles de *Phoenix dactylifera* L. avec des diamètres de zones d'inhibition allant jusqu'à 21 mm à une dose de 5 mg/ml.

Kchaou et al. (2016) ont évalué l'activité antibactérienne des extraits hydro-acétoniques de trois variétés de dattes tunisiennes (Allig, Bejo et Deglet-Nour) contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella Typhi*, les meilleurs diamètres enregistrés sont de 19 ± 1.4 , 19 ± 1.7 , 18 ± 1 , 25 ± 0.8 , 15 ± 0.9 et 17 ± 0.9 mm respectivement.

Al-seeni (2012) a testé l'activité antibactérienne des extraits aqueux des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. cultivés à Djedda (Arabie Saoudite) contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeuroginosa*, *Shigella* sp., *Klebsiella* sp., *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, ils ont trouvé des diamètres des zones d'inhibition de 10 ± 2.1 , 11 ± 3.0 , 10 ± 2.2 , 12 ± 6.1 , 13 ± 3.6 et 11 ± 2.4 mm respectivement.

Les bactéries Gram positif sont sensibles vis-à-vis des différents extraits de *Phoenix dactylifera* L. Le même résultat a été noté par Samad et al. (2016) pour *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Serratia marcescens* avec les extraits méthanoliques des cultivars de dattes de Mabroom, Safawi et de Ajwa (Malaisie).

Des résultats similaires ont été trouvés par Bouhlali et al. (2016) avec les extraits méthanoliques de six cultivars de palmier dattier du Maroc (Bouskri, Bousrdon, Bousthammi, Boufgous, Jihl et Majhoul) contre *Bacillus subtilis* ATCC

6633, *Bacillus cereus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Salmonella abony* NCTC 6017, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 7.66 ± 0.44 jusqu'à 14.66 ± 0.44 mm.

Par ailleurs, Harrak et al. (2005) ont réussi à identifier 47 composés volatils aromatiques de huit variétés de dattes marocaines dont 23 n'ont pas été identifiés auparavant. Le limonène, l'exanal et le géraniol figurent parmi ces composés identifiés et qui peuvent être toxiques pour les bactéries (Kim et al., 2005; Espina et al., 2013).

La pulpe des dattes renferme les lipides qui sont des composés apolaires représentant qu'une très faible teneur en acide gras (acide oléique, acide palmitique et l'acide linoléique) (Ogungbenle, 2011; Assirey, 2015). Certains auteurs ont attribué l'effet antibactérien aux acides gras, ils ont soupçonné le rôle acidifiant de ces derniers comme étant préjudiciable à certains micro-organismes (Bourgeois et al., 1996; Desbois et Smith, 2010; Parsons et al., 2012).

Des études faites sur des sirops de trois variétés de dattes appelées communément «Robb» ont montré des teneurs élevées en fructose et en glucose (Besbes et al., 2009). Shah et al. (2012) ont rapporté que le fructose peut inhiber la croissance de certaines bactéries pathogènes.

L'action inhibitrice des polyphénols sur la croissance bactérienne est rapportée dans plusieurs études récentes démontrant que ces molécules sont douées d'un pouvoir antibactérien important sur les différentes souches bactériennes à gram positif et négatif (Denyer, 1995; Rodriguez Vaquero et al., 2007). Les études exploitées par Domenico et al. (2005) ont mené à conclure que cet effet est dû principalement à une altération des fractions lipidiques de la membrane plasmique des micro-organismes, qui en résulte une perturbation de la perméabilité de la membrane et la perte des organites intracellulaires.

Les composés phénoliques agissent en perturbant les mécanismes enzymatiques impliqués dans la production d'énergie à la fois pour les bactéries et les levures. Ils peuvent également détruire les germes en modifiant leurs composés structuraux (Shan, 2007).

L'activité antimicrobienne des extraits des plantes est due à la présence des différents agents chimiques, la variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de dattes (Cowan, 1999).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de plusieurs composés (Essawi et Srour, 2000).

En outre, il a été montré que le mécanisme de toxicité des flavonoïdes vis-à-vis des micro-organismes se fait soit par privation des ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines de la paroi cellulaire (les adhésines) ou encore les enzymes (Cushnie et Lamb, 2005).

Les flavonoïdes sont connus pour leur pouvoir antioxydant puissant. En effet, ils pourraient avoir potentiellement un effet dans la chélation du fer ce qui empêche la pénétration intracellulaire du cofacteur Ca^{2+} dans la cellule bactérienne, et provoque l'inhibition de leur activité (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Cowan (1999) supposait que les flavonoïdes dépourvus des groupements hydroxyles libres ont plus d'activité antimicrobienne par rapport à ceux qui en sont pourvus, ce qui conduit à une augmentation de leur affinité chimique aux lipides membranaires.

Mirzoeva et *al.* (1997) ont montré que les flavonoïdes, et la quercétine provoquent une augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne interne et une perturbation du potentiel membranaire. Les auteurs suggèrent que l'anneau des flavonoïdes peut jouer un rôle dans l'intercalation ou une liaison hydrogène avec les empilements des bases d'acide nucléique et que ceci peut expliquer une action inhibitrice sur la synthèse de l'ADN et de l'ARNm.

Des études récentes ont montré que les flavonoïdes inhibent la libération de facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs des sortases (enzymes trouvées dans la membrane cytoplasmique des

bactéries Gram positif catalysant l'ensemble des protéines de surface, par exemple adhésines et internalines) (Cushnie et Lamb, 2011).

Cushnie et Lamb (2011) ont démontré que le traitement des bactéries pathogènes avec la rutine a démontré une diminution de la liaison au fibrinogène, l'un des ligands d'accueil à la quelle les bactéries se fixent lors de l'infection.

Certains tanins sont des inhibiteurs de certaines bactéries comme *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* et les bactéries causant les diarrhées. Le mécanisme d'inhibition serait peut-être la combinaison avec les enzymes microbiennes et la chélation de certains métaux comme le fer (Scalbert, 1991; Akiyama et al., 2001).

3.2. Activités biologiques (*in vivo*)

3.2.1. Toxicité générale aiguë des extraits méthanoliques des dattes

L'administration orale des différentes doses des extraits de dattes n'a pas changé le comportement des animaux, il n'y avait pas eu de mort au cours des 24 heures d'observation. La DL_{50} des extraits méthanoliques des dattes est supérieure à 1000 mg/kg de poids corporel.

Des résultats similaires ont été obtenus par Atta et *al.* (2015) qui ont démontré que l'administration orale de 5000mg/kg de poids corporel n'exerce aucun effet toxique sur les souris.

3.2.2. Activité anti-inflammatoire des extraits méthanoliques des dattes

L'œdème induit par l'injection de carragénine est un modèle largement utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des substances. L'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoires (Reanmongkol et *al.*, 2009).

Les extraits méthanoliques des dattes ont été testés chez les souris à la dose de 250 mg/kg du poids corporel, les extraits sont administrés par voie orale. Les résultats des pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation sont représentés dans la figure 24.

Dans le lot de référence, l'indométacine à la dose 10 mg/kg du poids corporel a donné une inhibition de l'œdème supérieure à celles retrouvées avec les cultivars avec un pourcentage d'inhibition (moyenne) de 72.34 ± 2.09 %.

En outre, l'indométacine montre une inhibition de l'inflammation hautement significative ($P < 0.01$) par rapport à celle de l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached ($67.56 \pm 0.96\%$) administré avec une dose de 250 mg/kg du poids corporel.

En revanche, le pourcentage d'inhibition (moyenne) de l'inflammation de l'indométacine (72.34 ± 2.09 %) est très hautement significatif ($P < 0.001$) par rapport à ceux des extraits méthanoliques des variétés Tamajort ($25.40 \pm 1.73\%$), Figheth

(30.10±1.64%), Hamraya (34.09 ±2.34%), Biraya (35.64 ±1.48 %), Tantebouchte (43.12±0.86%), Tansine (47.52±1.83%), Degla Baidha (54.85±2.47 %), Ghars (60.43±6.33%) et Deglet-Nour (63.67±1.08 %) (Fig.24).

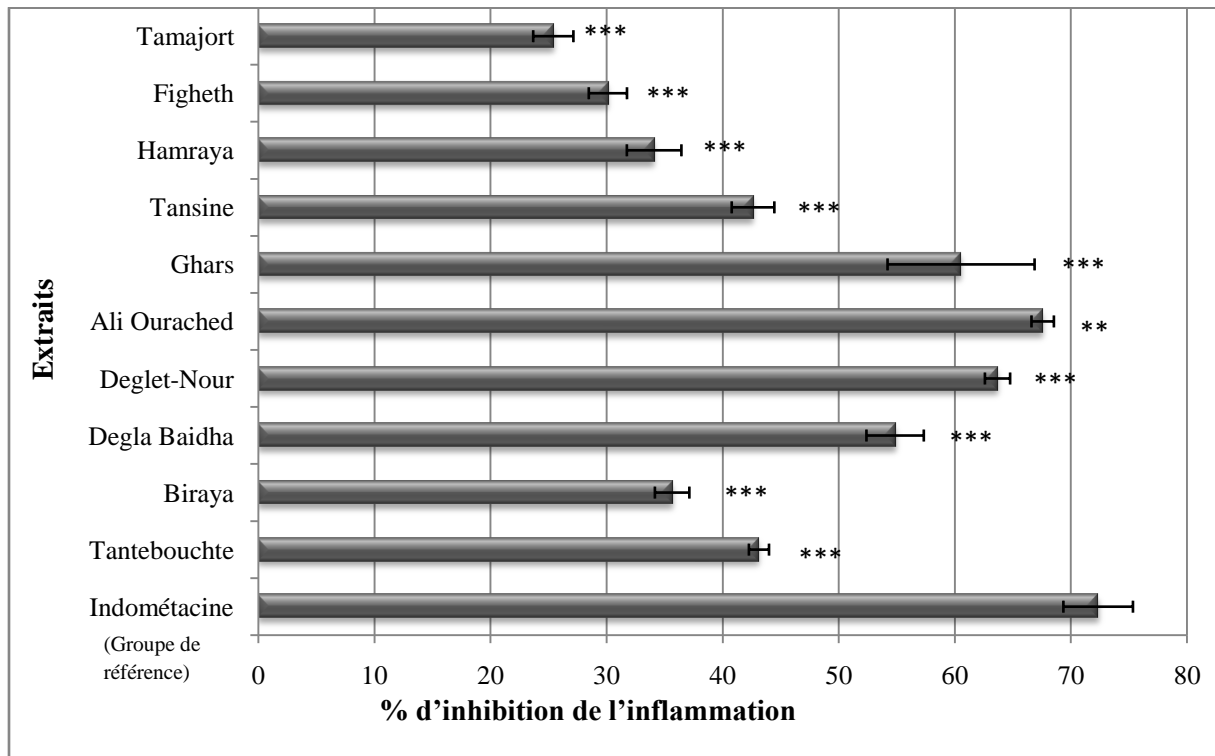


Figure 24: Pourcentages d'inhibition (moyenne) de l'inflammation par les différents extraits des dattes.

** : $P < 0,01$.

*** : $P < 0,001$.

La classification des différents extraits méthanoliques selon leur activité anti-inflammatoire par ordre croissant est la suivante: Tamajort < Figheth < Hamraya < Biraya < Tantebouchte < Tansine < Degla Baidha < Ghars < Deglet-Nour < Ali Ourached.

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Néanmoins, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique (Bengmark, 2004).

Le développement de l'œdème après injection du carragénine a été décrit par Posadas et *al.* (2004) comme événement biphasé. La phase initiale est observée autour d'une heure et attribuée au dégagement de l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les leucotriènes et les prostanoïdes (Crunkhorn et Meacock, 1971; Salvemini et *al.*, 1996). Ces facteurs provoquent des modifications vasculaires qui conduisent à l'exsudation plasmatique. Durant la phase tardive de ce processus inflammatoire (4-12h), ces facteurs chimioattractants induisent le recrutement des neutrophiles par chimiotactisme envers le site inflammatoire, où ils libèrent leur arsenal cytotoxique et d'autres médiateurs inflammatoires (Dawson et *al.*, 1991; Cuzzocrea et *al.*, 2000a,b).

Les espèces réactives oxygénées (ERO) interviennent dans la physiopathologie des maladies à composante inflammatoire (cancer, diabète, athérosclérose, arthrites, maladies infectieuses). Les ERO induisent la libération des cytokines (TNF- α , IL-1 β et IL-6) et l'activation des enzymes pro-inflammatoires (cyclo-oxygénases, lipoxygénase et la monoxyde d'azote synthase) intervenant dans le processus inflammatoire (Gupta et *al.*, 2005).

Les différents extraits méthanoliques testés ont montré une activité antioxydante remarquable, ce qui leur donne la capacité de réduire les radicaux libres par l'inhibition de la NADPH oxydase lors de l'inflammation. Ainsi, cette activité antioxydante exercée par les extraits étudiés produirait un effet thérapeutique supplémentaire qui renforce son activité anti-inflammatoire. Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation (Gonzalez-Gallego et *al.*, 2010) et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (Santangelo et *al.*, 2007).

La lipoxygénase catalyse la biosynthèse des leucotriènes qui sont des médiateurs pro-inflammatoires et allergiques. Les ERO oxydent les lipides insaturés de la membrane cellulaire conduisant à la formation des peroxydes lipidiques qui sont cytotoxiques et impliqués dans le processus inflammatoire. L'injection de la carragénine provoque l'activation de la lipoxygénase et la formation des peroxydes lipidiques (Tanas et *al.*, 2010).

Les études menées chez l'homme sain ont montré que le suivi d'un régime riche en fruits et légumes était inversement corrélé aux marqueurs de l'inflammation (CRP, IL-6) dans le plasma (Salas-Salvado et *al.*, 2008), que la consommation d'anthocyanes était associée à la diminution du taux de cytokines (IL-8 et IL-13) circulantes (Karlsen et *al.*, 2007) ou encore que l'augmentation du pouvoir antioxydant du plasma dû à une consommation de jus de fruits concentrés était associée à une diminution des cassures de brin d'ADN (Nantz et *al.*, 2006).

Doha et Al-Okbi (2004), ont trouvé que l'extrait aqueux et méthanolique du fruit du palmier dattier cultivé en Égypte exercent une activité anti-œdémateuse avec des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 61.3 et 67.8% respectivement, à une dose de 500mg/kg du poids corporel.

Des études récentes ont démontré que les extraits méthanoliques et aqueux du fruit de *Phoenix dactylifera* L. inhibent la peroxydation lipidique et suppriment l'activité enzymatique de la cyclooxygénase 1 (COX-1) et 2 (COX-2) qui jouent un rôle crucial dans l'inflammation (Zhang et *al.*, 2013; Taleb et *al.*, 2016b). En revanche, Shabani et *al.* (2013) ont rapporté que l'extrait de *Phoenix dactylifera* L. diminue l'hyperalgie thermique et peut empêcher la douleur résultant de la neuropathie diabétique.

Mukherjee et *al.* (2014) ont incubé les extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L. avec des cultures de RAW 264.7 en présence d'un agent mitogène (LPS). L'étude a montré une réduction significative de la libération du monoxyde d'azote (NO) comparé aux cultures témoins. Le monoxyde d'azote (NO) est impliqué dans de nombreux processus pathologiques (Valko et *al.*, 2007).

Les extraits aqueux des fruits de *Phoenix dactylifera* L. administrés aux rats avec les doses de 300 et 500mg/kg du poids corporel, provoquent une inhibition de l'inflammation avec des pourcentages d'inhibition (moyenne) de 38 et 61.5 % respectivement (Maryam et *al.*, 2015).

Après l'administration orale de l'extrait aqueux du fruit de *Phoenix dactylifera* L. cultivé à Ghardaïa (cultivars d'Azarza), à la dose de 50 mg/kg du poids corporel, une diminution significative du volume de l'œdème de 2.682 ± 0.36

mm a été enregistrée après 5 heures de l'injection de la formaline qui provoque une inflammation (Kehili et *al.*, 2016).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont permis de montrer que les polyphénols pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA): phospholipase, cyclooxygénase et lipoxygénase. Ils agissent également sur la production de NO en modulant l'activité de NOS (oxyde nitrique synthase). Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit ainsi la production d'AA, de NO, de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation (Kim et *al.*, 2004; Guo et *al.*, 2009).

Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par l'inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (González-Gallego et *al.*, 2007; García-Lafuente et *al.*, 2009). Kim et *al.* (2004) ont montré que les flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine.

Des études menées *in vitro* ont également montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'apigénine inhibaient la production de cytokines telles que IL-4, IL-5 et IL-13, que la quercétine inhibait la production de TNF- α par des macrophages stimulés au lipopolysaccharide (Gonzalez-Gallego et *al.*, 2010).

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. En effet, ils bloquent l'action des cyclooxygénases et la lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée préférentiellement (Pelzer et *al.*, 1998; Delporte et *al.*, 2005).

De plus, il est maintenant connu que les polyphénols exercent leur activité anti-inflammatoire en agissant *in vitro* et *in vivo* sur l'activation du facteur de transcription NF- κ B (Santangelo et *al.*, 2007).

Les résultats obtenus de notre étude viennent confirmer effectivement l'effet antioxydant et anti-inflammatoire des polyphénols des dattes (*Phoenix dactylifera* L.), aliment largement consommé en Algérie.

Des études récentes ont démontré que le fruit de datte contient des molécules bioactives (acide caféique, acide férulique, acide gallique, acide sinapique et l'acide coumarique) douées d'un potentiel ant-inflammatoire important. En effet, ces molécules modulent l'expression des cytokines et NF- κ B (Rahmani et *al.*, 2014; Zhang et *al.*, 2015 ; Taleb et *al.*, 2016b).

Des études *in vivo* et *in vitro* ont montré que l'isorhamnétine inhibe la production des ERO induisant l'expression enzymatique de la cyclooxygénase 2 (COX-2) qui joue un rôle crucial dans l'inflammation (Jin et *al.*, 2013; Seo et *al.*, 2014).

Des études indiquent que la naringine démontre une efficacité contre les colites d'origine inflammatoire induites par DSS chez les souris. En effet, la naringine réduit significativement les niveaux de malondialdéhyde tissulaire (indicateur de peroxydation lipidique) (Amaro et *al.*, 2010).

L'administration orale de la caféine (10 mg/kg/jour) chez les rats protège la fonction pulmonaire de l'inflammation induite par LPS. En effet, la caféine réduit significativement le taux des marqueurs pro-inflammatoires (IL-1 β et CD68) par rapport au groupe témoin (Köroğlu et *al.*, 2014).

Jain et Singh Parmar (2011) ont démontré que l'hespéridine administrée aux rats provoque une inhibition plus importante de l'inflammation que l'indométacine.

L'acide gallique induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. En effet, le traitement par les doses de 0,1 et 1 μ mol d'acide gallique a induit une augmentation de l'activité de caspase-3 et a régulé la production de Bcl-2 et de p53, qui empêchent la cellule de se transformer en cellule cancéreuse. L'expression ARNm des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6), des chimiokines et de la cyclo-oxygénase-2 a été supprimée par l'acide gallique de façon dose-dépendante (Yoon et *al.*, 2013).

Funakoshi-Tago et *al.* (2011) ont démontré que la lutéoline module le fonctionnement du système immunitaire par l'inhibition de l'activation transcriptionnelle de NF- κ B, responsable du déclenchement de la transcription des gènes anti-apoptotiques dans le noyau.

3.2.3. Activité antispasmodique des extraits méthanoliques des dattes

La méthode de contorsions abdominales induite par l'acide acétique a été utilisée pour mettre en évidence l'analgésie des extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L.

Dans le lot de référence, l'ibuprofène à la dose de 200 mg/kg du poids corporel a donné un pourcentage de réduction des spasmes (83.52 ± 3.78 %) plus important que les extraits testés à l'exception de celui de Tantebouchte.

Les pourcentages de réduction des spasmes de l'extrait méthanolique de la variété Tantebouchte et l'ibuprofène ne sont pas significativement différents ($P > 0.05$).

En revanche, le pourcentage de réduction des spasmes de l'ibuprofène (83.52 ± 3.78 %) est très hautement significatif ($P < 0.001$) par rapport à ceux des extraits des variétés de Tamajort (60.3 ± 4.74 %), Figheth (62.7 ± 4.12 %), Tansine (63.5 ± 5.55 %), Hamraya (64.47 ± 4.42), Biraya (68.92 ± 5.4), Degla Baidha (67.7 ± 4.07 %), Ali Ourached (69.3 ± 6.27 %), Ghars (70.13 ± 6.1 %) et Deglet-Nour (71.87 ± 3.47) administrées avec une dose de 250 mg/kg du poids corporel (Fig.25).

La douleur provoquée par l'injection de l'acide acétique est due à la libération de médiateurs pro-inflammatoires tel que la sérotonine, histamine, bradykinine, et les prostaglandines (PGE 2α et PGF 2α) (Zhang et al., 2013). Ces médiateurs chimiques conduisent à la dilatation des artérioles et des veinules, stimulent les neurones nociceptifs périphériques et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Vanderlinde et al., 2009; Reanmongkol et al., 2009; Ouédraogo et al., 2012) et provoquent une contraction et une séparation des cellules endothéliales (Choi et al., 2006).

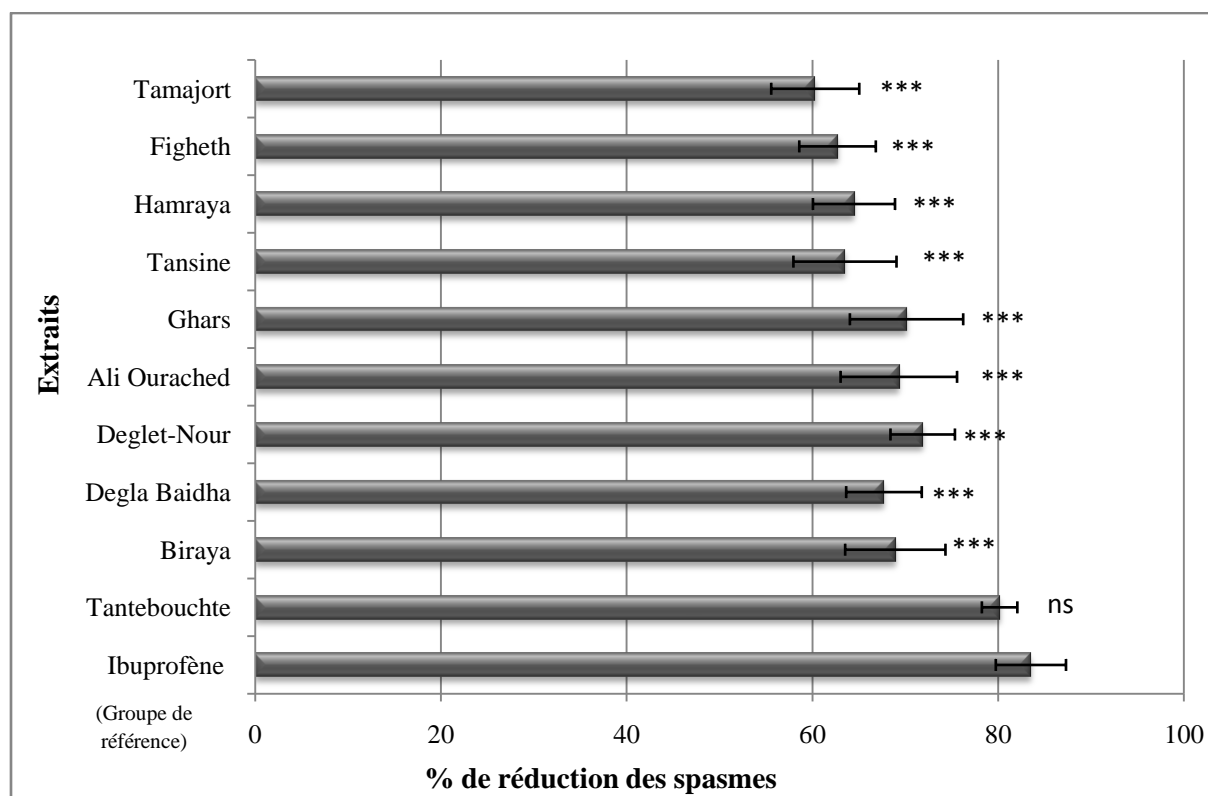


Figure 25: Pourcentage de réduction des spasmes par les différents extraits des dattes.

*** : $P < 0,001$.

ns: non significative.

La présence de tanins, anthocyanines et les flavonoïdes dans le fruit de *Phoenix dactylifera* L. contribuent à cet effet analgésique, par l'inhibition de la production de ces médiateurs pro-inflammatoires dans des cellules de mastocytes humaines sensibilisées avec des anticorps Ig E (Manthey, 2000; Middleton et *al.*, 2000; Kim et *al.*, 2005).

Des études ont démontré que les tanins présents dans les fruits inhibent la voie MAPK, ainsi que l'expression et la fixation du NF- κ B, d'où l'inhibition de l'expression des gènes pro-inflammatoires (Glaser et *al.*, 1995; Narendra Sharath Chandra et *al.*, 2007).

La présence des anthocyanines permet d'expliquer la diminution de la perméabilité vasculaire. En effet, les anthocyanines réduisent la fragilité et la perméabilité capillaire deux fois plus que la rutine, dans l'intensité et la durée.

Aussi, les anthocyanines empêchent la libération et la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires (Wang et *al.*, 1999).

La lutéoline est un flavonoïde largement répandu dans le règne végétal. Des études sur des cellules humaines du colon ont montré que la lutéoline supprimait efficacement la production de la TNF- α et IL-8, principaux inducteurs de l'expression des molécules adhésives sur la paroi vasculaire (Cho et *al.*, 2000). Elle inhibait également la libération d'histamine, de leucotriènes et de prostaglandines dans des cellules de mastocytes humaines (Manthey, 2000; Middleton et *al.*, 2000; Kim et *al.*, 2005). Plusieurs études ont montré que la quercétine bloque l'adhésion des leucocytes à la paroi endothéliale des veines ombilicales par l'inhibition de l'expression des ICAM-1 (Cho et *al.*, 2001).

En revanche, l'étude *in vitro* de Ren et Chung (2007), en utilisant différentes lignées cellulaires, a démontré que l'acide linoléique présent dans le fruit de *Phoenix dactylifera* L. est capable d'inhiber l'expression des gènes de la COX-2 et TNF- α induite par LPS.

Des études récentes ont démontré une corrélation significative entre les activités biologiques des extraits des plantes et les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes en particulier (Zhang et *al.*, 2013; Rahmani et *al.*, 2014; Kehili et *al.*, 2016) D'après les résultats obtenus, les différents extraits testés ont montré des activités biologiques différentes. En effet, nous pouvons suggérer que les extraits méthanoliques des cultivars de dattes (Ali Ourached, Deglet Nour, Ghars et Degla Baidha) ont des activités biologiques importantes *in vitro* (antioxydante et anti-bactérienne) et *in vivo* (anti-inflammatoire et antispasmodique) qui sont dues à leurs teneurs élevées en polyphénols et en flavonoïdes.

4. Diversité génétique des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. par marqueurs RAPD

L'objectif visé dans cette étude est de procéder à l'analyse de diversité génétique des cultivars de *Phoenix dactylifera* L. en utilisant des marqueurs moléculaires RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).

4. 1. Analyse des profils électrophorétiques

4. 1. 1. Analyse des profils électrophorétiques par rapport aux amorces

Au total, 15 amorces décimères arbitraires RAPD ont été testées pour vérifier la variabilité génétique entre les 10 cultivars de *Phoenix dactylifera* L. dénommés (C01, C02, C03, C04, C05, C06, C07, C08, C09 et C10).

Sur les 15 amorces employées, seules 12 ont généré des profils génomiques clairs et exploitables (Fig. 34, 35, 36, 37, 38 et 39). Le nombre de bandes amplifiées varie selon l'amorce employée. Le nombre maximal de bandes amplifiées (14) a été obtenu avec les amorces OPI-10 et OPI-17, suivi par l'OPI-06 avec 11 bandes, l'OPI-11 et OPI-16 avec 10 bandes, les amorces OPI-08 et OPI-20 ont généré 9 bandes, chacune et enfin l'OPI-15 avec seulement 2 bandes. La taille de tous les fragments amplifiés (bandes) se situe entre 10 et 1500 pb (Tableau XI).

Toutes les amorces ont généré des bandes polymorphes. En effet, sur les 96 bandes générées, 92 sont polymorphes. Tandis que, les amorces OPI-06, OPI-07, OPI-13 et OPI-20 ont donné des bandes monomorphes.

Tableau XI: Analyse des profils RAPD en termes de nombre de bandes amplifiées, pourcentage de polymorphisme pour les différentes amorces utilisées avec l'ensemble des cultivars.

	NBT	TB	NBP	P (%)	NBM	M (%)
OPI-06	11	10-810	10	90,9	1	9,09
OPI-07	4	60-360	3	75	1	25
OPI-08	9	260-1500	9	100	0	0
OPI-09	3	180-220	3	100	0	0
OPI-10	14	10-900	14	100	0	0
OPI-11	10	190-1050	10	100	0	0
OPI-13	4	180-400	3	75	1	25
OPI-14	6	190-800	6	100	0	0
OPI-15	2	200-850	2	100	0	0
OPI-16	10	70-1200	10	100	0	0
OPI-17	14	120-1300	14	100	0	0
OPI-20	9	250-920	8	88,88	1	11,12

Figheth: C01, Ghars: C02, Tantebouchte: C03, Ali Ourached: C04, Degla Baidha: C05, Tamajort: C06, Tansine: C07, Deglet-Nour: C08, Biraya: C09, Hamraya: C10.

NBT: Nombre total des bandes; NBP: Nombre de bandes polymorphes; NBM : Nombre de bandes monomorphes; TB: Intervalle de taille des bandes (pb); P (%): pourcentage de polymorphisme (%); M (%): Pourcentage de monomorphisme (%).

Le polymorphisme généré par les amorces utilisées peut être le résultat des modifications soit dans la séquence du site de liaison des amorces ou des changements qui modifient la taille empêchant ainsi la réussite de l'amplification d'un ADN cible (ex. insertion, délétion, inversion) (Modgil et *al.*, 2005).

4. 1. 2. Analyse des profils électrophorétiques par rapport aux cultivars

L'analyse du polymorphisme par les marqueurs RAPD montre qu'il existe une variabilité (un polymorphisme) entre les différents cultivars. Le taux de polymorphisme le plus élevé a été enregistré avec le cultivar de Degla Baidha (92.31 %).

De même, c'est avec la variété Degla Baidha que nous avons enregistré le maximum de bandes (52) (total des bandes générées par l'ensemble des amorces) dont 48 sont polymorphes suivi par la variété Deglet-Nour avec un total de 46 bandes dont 42 sont polymorphes (Tableau XII).

Tableau XII: Résumé des profils RAPD des 10 cultivars dattiers générés par l'ensemble des amorces employées.

Description	C 01	C 02	C 03	C 04	C 05	C 06	C 07	C 08	C 09	C 10
Nombre total de bandes	30	37	39	38	52	23	39	46	35	35
Nombre de bandes monomorphes	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Nombre de bandes polymorphes	26	33	35	34	48	19	35	42	31	31
Pourcentage de polymorphisme	86.0 7	89.1 9	89. 75	89. 47	92. 31	82. 61	89. 75	91. 31	88. 57	88.1 8
Nombre des amorces utilisées	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Intervalle de taille des bandes obtenues	10- 850	40- 850	40- 920	40- 880	40- 150	40- 920	10- 850	10- 850	40- 130	40- 120
					0				0	0

Figheth: C01, Ghars: C02, Tantebouchte: C03, Ali Ourached: C04, Degla Baidha: C05, Tamajort: C06, Tansine: C07, Deglet-Nour: C08, Biraya: C09, Hamraya: C10.

Nous avons noté aussi que les tailles des différentes bandes générées varient entre 10 pb et 1500 pb pour l'ensemble des cultivars testés. Cependant, il y a lieu de rappeler que certaines bandes étaient spécifiques à certains cultivars. C'est le cas de la variété Degla Baidha qui a généré trois bandes spécifiques de 1000 et 1050 pb avec OPI-08 et OPI-11 respectivement (Fig. 28 et 31), Biraya (1300 pb) avec l'OPI-17 (Fig. 36) et Hamraya (1200 pb) avec l'OPI-16 (Fig. 35).

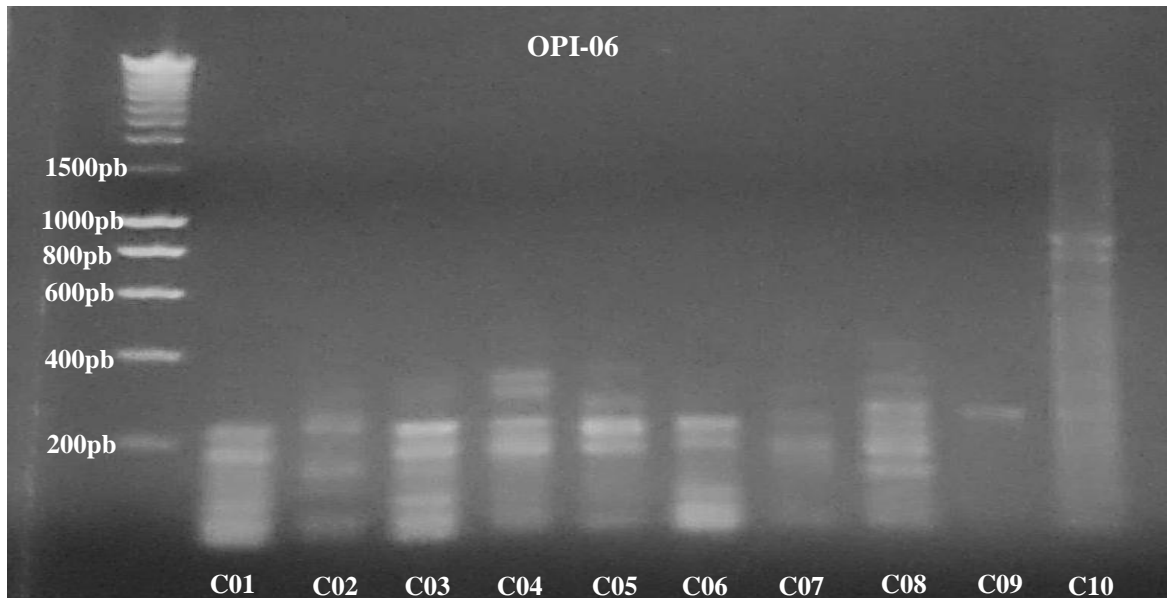


Figure 26: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-06.
pb: paire de bases.

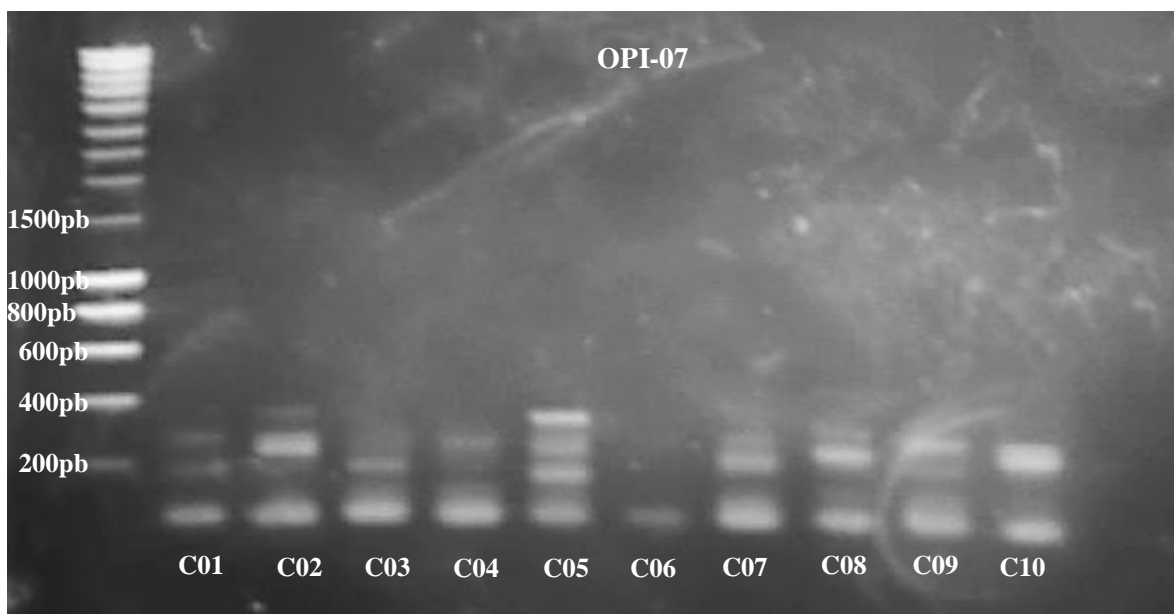


Figure 27: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-07.
pb: paire de bases.

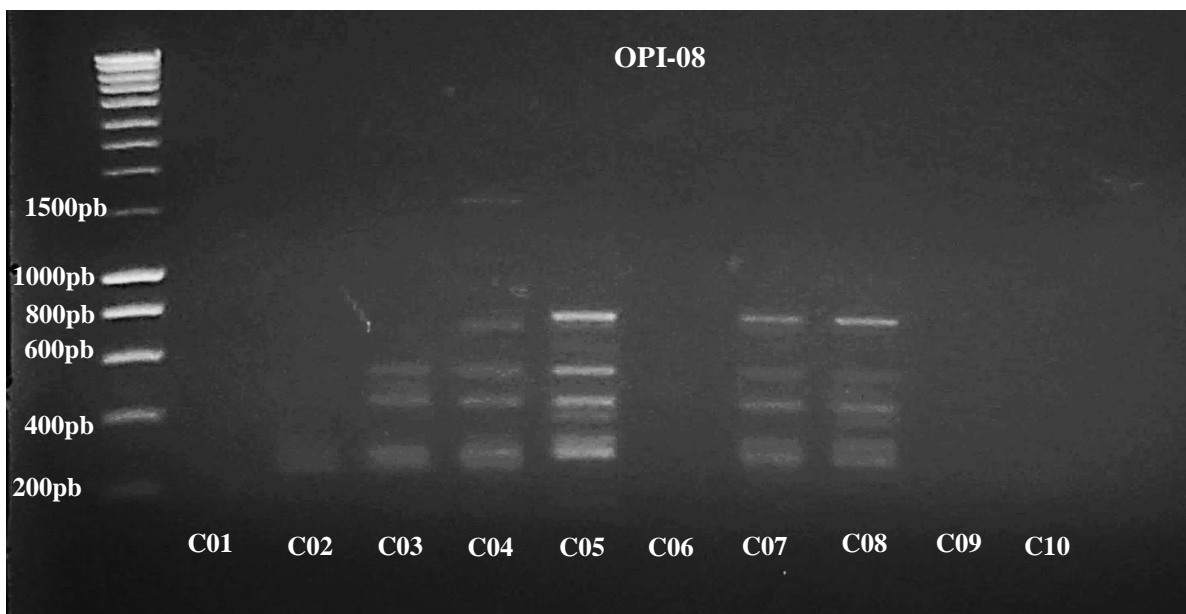


Figure 28: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-08.
pb: paire de bases.

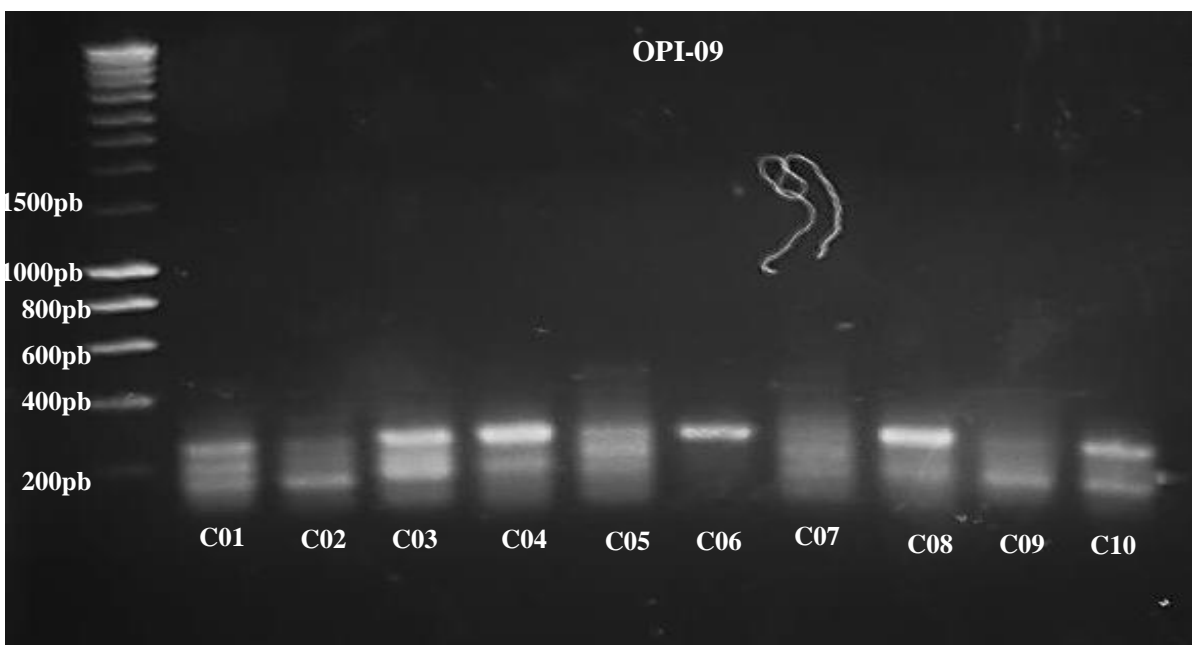


Figure 29: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l'amorce OPI-09;
pb: paire de bases.

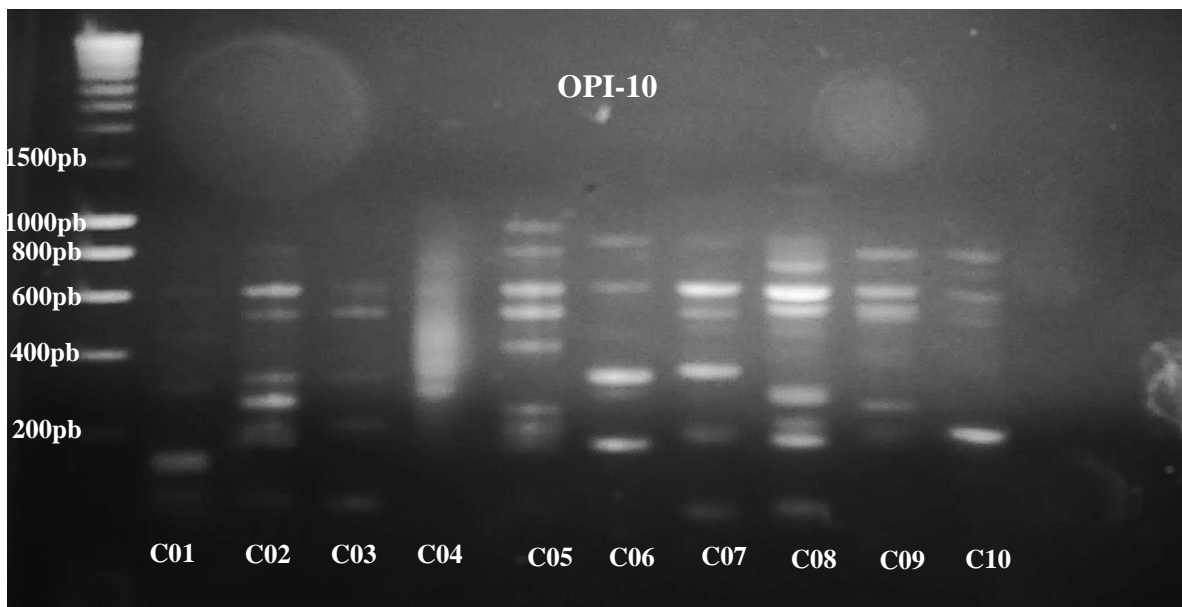


Figure 30: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-10.
pb : paire de bases.

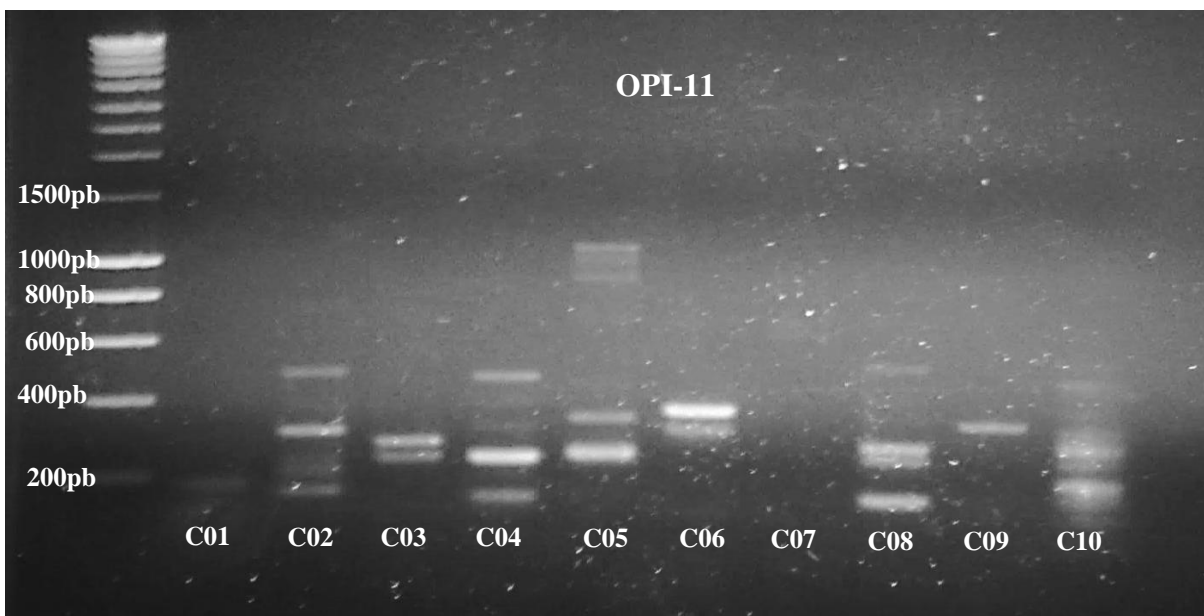


Figure 31: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-11.
pb : paire de bases.

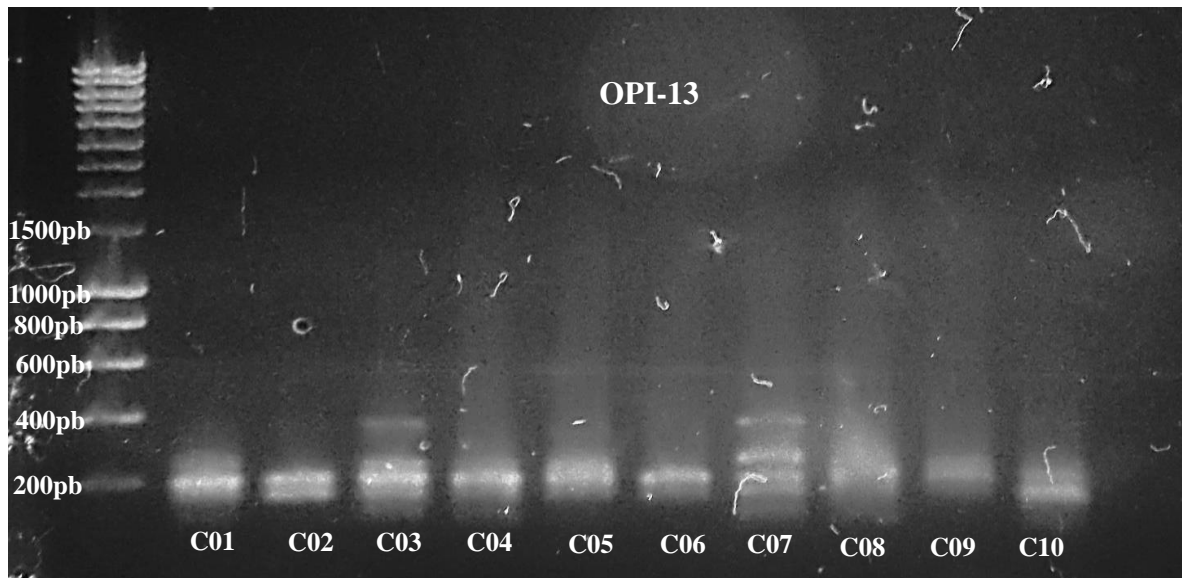


Figure 32: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-13.
pb: paire de bases.

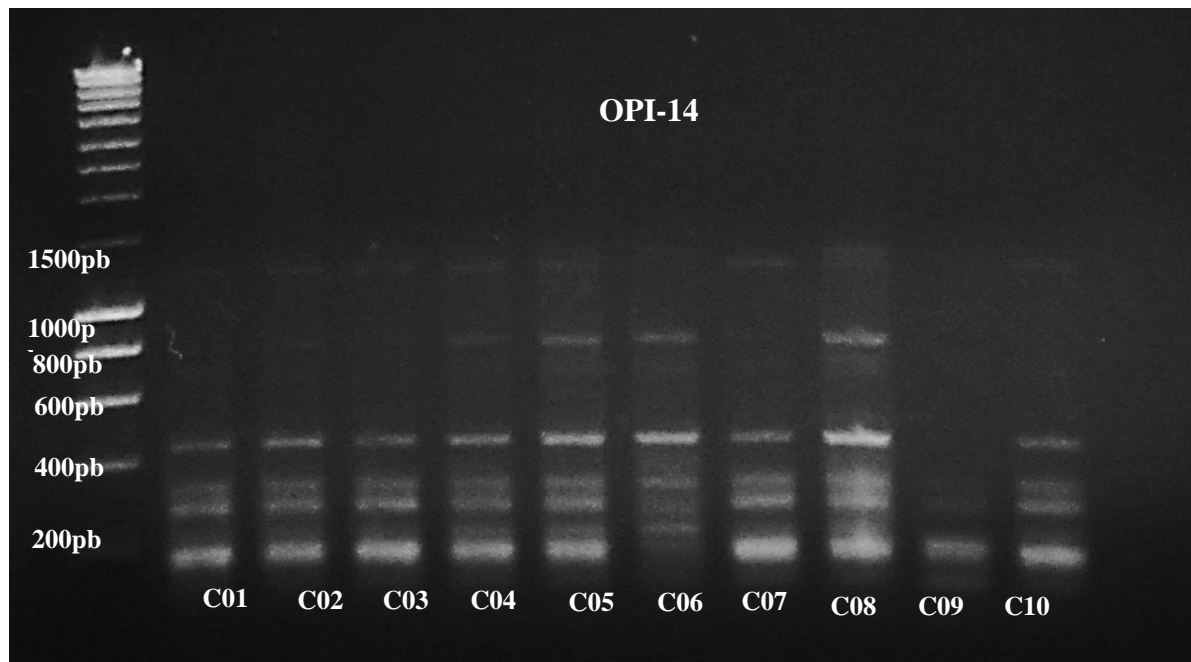


Figure 33: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-14.
pb : paire de bases.

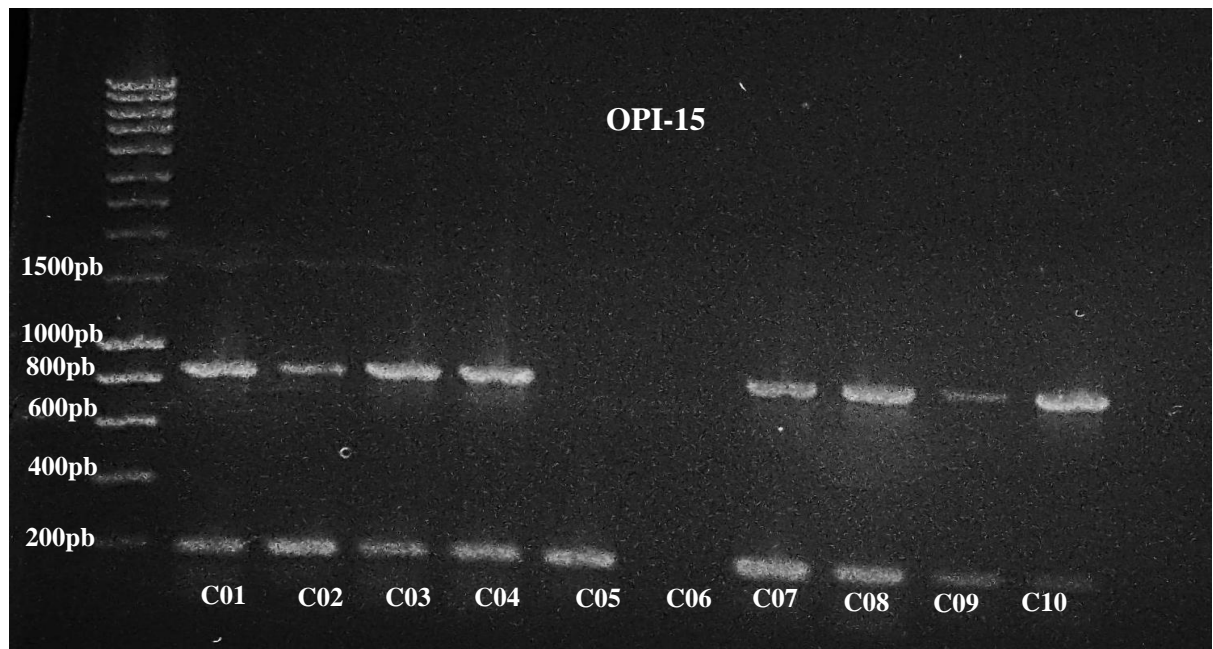


Figure 34: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-15.
pb : paire de bases.

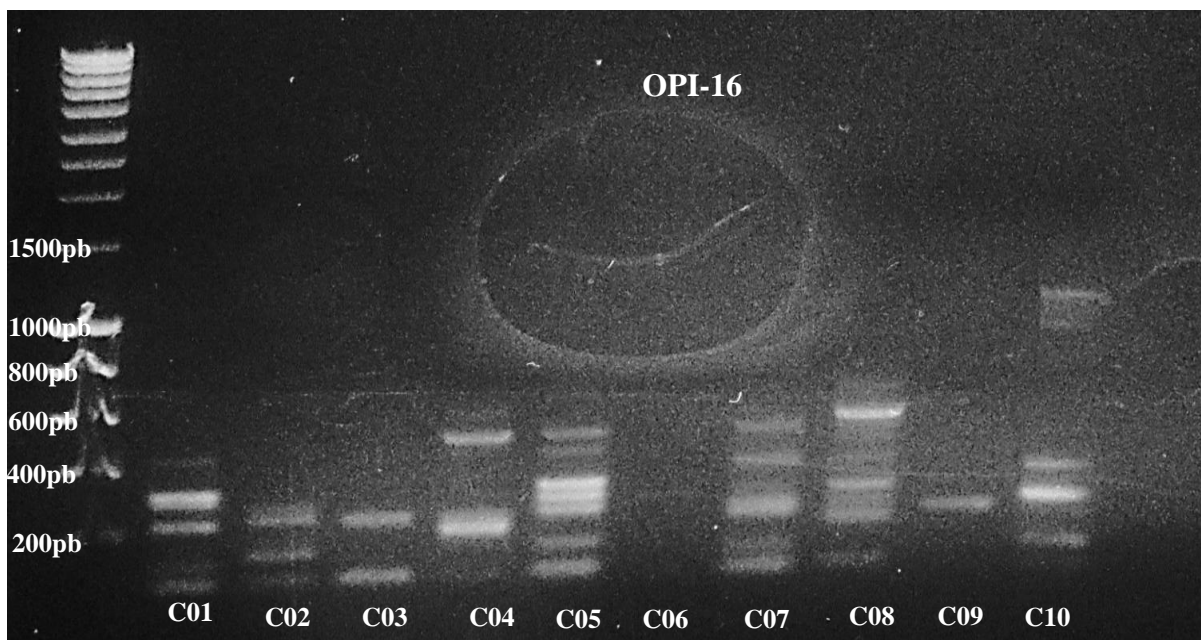


Figure 35: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-16.
pb: paire de bases.

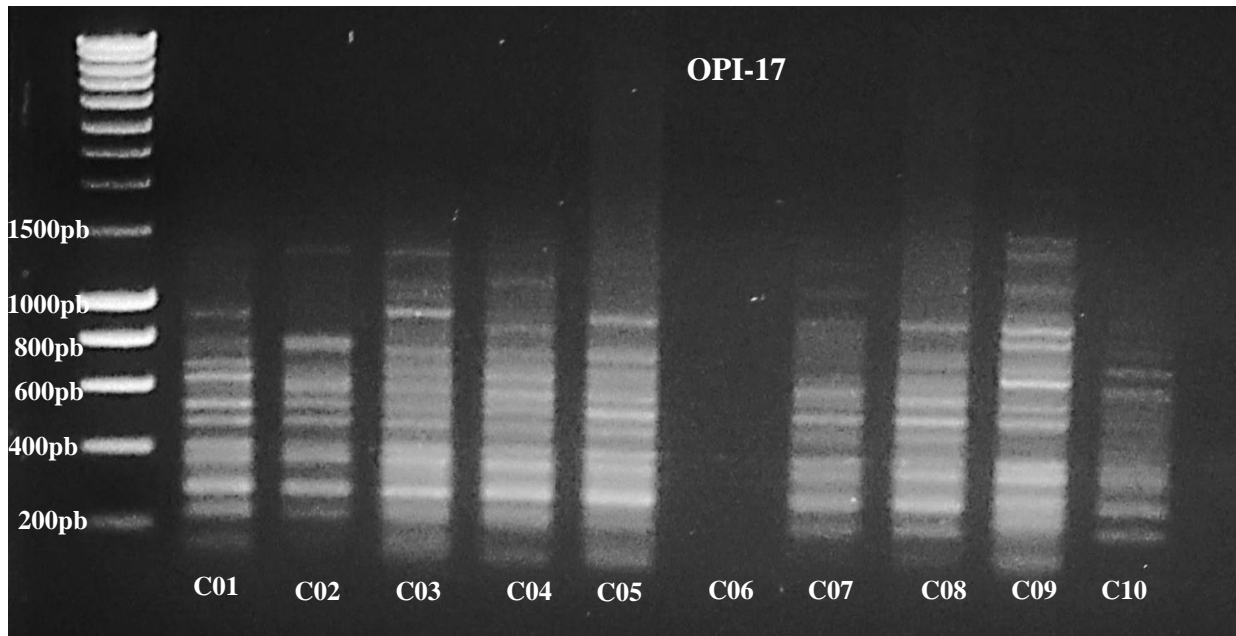


Figure 36: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-17.
pb: paire de bases.

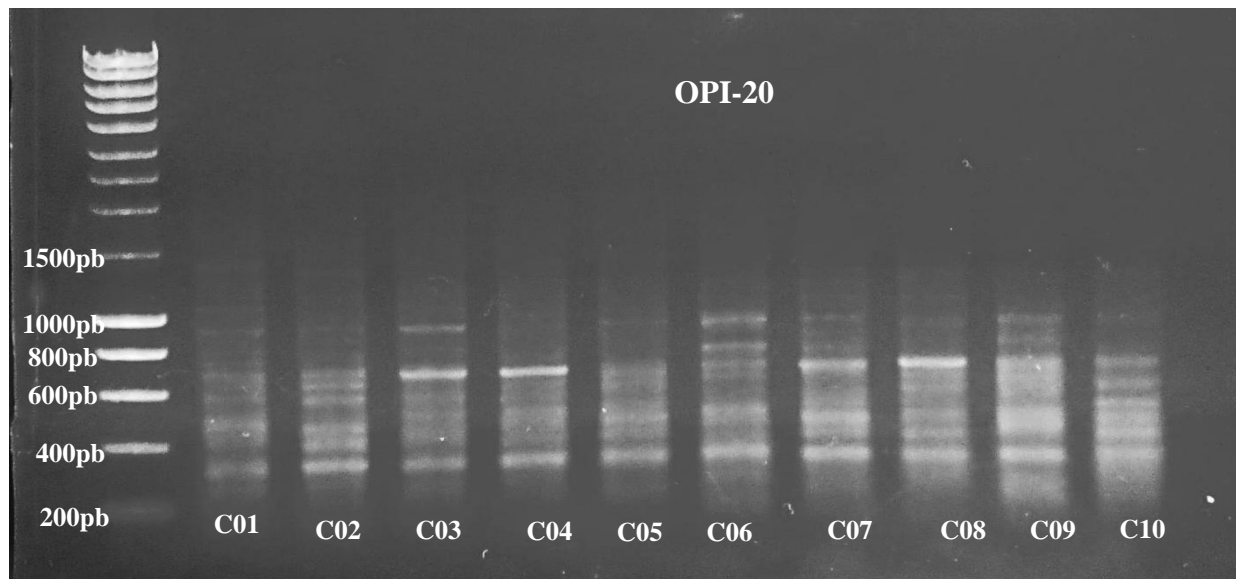


Figure 37: Diagramme électrophorétique RAPD des 10 cultivars généré par l’amorce OPI-20.
pb: paire de bases.

4. 2. Analyse des clusters

L'empreinte génétique est largement utilisée pour détecter la variation génétique. Sur la base des données RAPD, un dendrogramme, réalisé pour les 10 échantillons à l'aide du logiciel PAST (méthode *CLUSTER ANALYSIS*), a permis de visualiser la position relative de chaque cultivar. Une matrice de similarité entre les cultivars a été calculée en utilisant le coefficient de similarité de JACCARD pour obtenir un coefficient de corrélation de similitude entre chaque paire des cultivars utilisés.

La similitude la plus proche est celle observée entre C03 (Tantebouchte) et C01 (Figheth) avec une similarité de 61%. C'est le C09 (Biraya) et le C06 (Tamajort) qui semblent être les plus éloignés puisqu'ils présentent un taux de similarité de l'ordre 17 % (donc un taux de variabilité de 83 %) (Tableau XIII).

Tableau XIII: Matrice de similarité et de distance génétique entre les cultivars de *Phoenix dactylifera* L.

	C01	C02	C03	C04	C05	C06	C07	C08	C09	C10
C01	1	0,33	0,61	0,39	0,30	0,33	0,32	0,40	0,27	0,40
C02		1	0,46	0,42	0,33	0,29	0,46	0,50	0,35	0,36
C03			1	0,51	0,37	0,35	0,51	0,55	0,29	0,34
C04				1	0,34	0,24	0,44	0,48	0,19	0,34
C05					1	0,27	0,49	0,43	0,28	0,32
C06						1	0,24	0,25	0,17	0,25
C07							1	0,48	0,33	0,28
C08								1	0,33	0,42
C09									1	0,34
C10										1

Figheth: C01, Ghars: C02, Tantebouchte: C03, Ali Ourached: C04, Degla Baidha: C05, Tamajort: C06, Tansine: C07, Deglet-Nour: C08, Biraya: C09, Hamraya: C10.

La classification hiérarchique des marqueurs moléculaires RAPD a permis de distinguer deux grands groupes avec un indice de similarité supérieure à 24 %. Chaque Cluster regroupe des cultivars génétiquement proches. Le premier Cluster (CL01) comprend seulement le cultivar C06 (Tamajort). Alors que le deuxième Cluster est représenté par les autres cultivars. Les cultivars génétiquement proches sont les suivants: C03 (Tantebouchte) et C01 (Figheth) avec une similarité de 60%, C08 (Deglet-Nour) et C02 (Ghars) avec 49% de similitude et les cultivars C05 (Degla Baidha) et C07 (Tansine) avec 48% de similitude (Fig. 38).

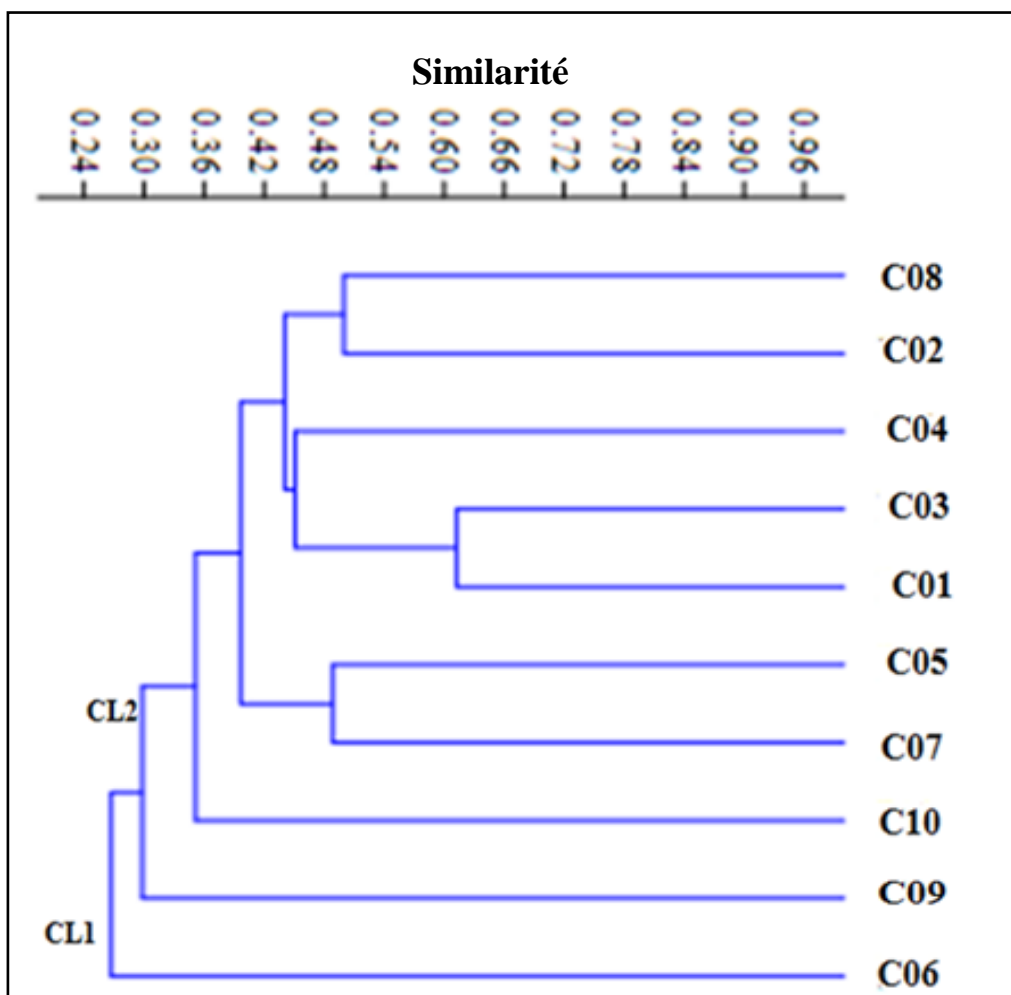


Figure 38: Dendrogramme de similarité et de distance génétique entre les 10 cultivars régénéré par *CLUSTER ANALYSIS*

Figheth: C01, Ghars: C02, Tantebouchte: C03, Ali Ourached: C04, Degla Baidha: C05, Tamajort: C06, Tansine :C07, Deglet-Nour: C08, Biraya: C09, Hamraya: C10, CL: *CLUSTER*.

Un grand polymorphisme moléculaire est observé chez des variétés de palmier dattier cultivées en Tunisie par l'utilisation de quatre amorces RAPD et six amorces AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Cependant, les marqueurs AFLP sont suggérés comme meilleur outil pour la quantification de la variabilité génétique de *Phoenix dactylifera* L. (Rhouma et al., 2009). Zehdi et al. (2012) ont étudié le polymorphisme moléculaire de 91 cultivars de *Phoenix dactylifera* L. de Tunisie. Un total de 136 allèles et 311 génotypes ont été détectés sur la base de 14 amorces ISSR.

Selon Al-Khalifah et Askari (2004), l'analyse RAPD de treize cultivars de datte d'Arabie Saoudite (Ajwa, Barney, Bareem, Nabtet Saif, Nabtet Sultan, Om-Hammam, Om-Kobar, Rabeeha, Shehel, Shishi, Sugai, Sukkary Asfar et Sukkary Hamra) a révélé une différence significative avec une moyenne de similarité de 50%.

L'étude de la variabilité génétique de quatorze cultivars de palmier dattier provenant d'Égypte par l'utilisation de vingt sept amorces RAPD et dix amorces ISSR a révélé une moyenne de polymorphisme de 25.2 et 28.6% respectivement (Hussein et al., 2005). Ég

Cependant, l'amplification de l'ADN génomique de 8 cultivars de *Phoenix dactylifera* L. d'Inde en utilisant 13 amorces RAPD et deux ISSR a détecté un pourcentage de polymorphisme de 39,77 et 23,07% respectivement. Les marqueurs RAPD étaient plus efficaces que ISSR en matière de détection polymorphes (Srivastav et al., 2013).

L'étude menée par Ameer et al. (2014) sur 25 cultivars de *Phoenix dactylifera* L. du Pakistan par l'utilisation de six amorces RAPD a montré un pourcentage du polymorphisme élevé et reproductible de 79.4% ce qui suggère la fiabilité de cette technique pour analyser la diversité génétique des cultivars du palmier dattier.

L'analyse de la diversité génétique par Munshi et Gamal (2010) de trois cultivars de palmier dattier d'Arabie Saoudite basée sur l'utilisation de cinq amorces RAPD et microsatellites (SSR) a montré une moyenne de similarité de 55%.

Adawy et Atia (2014) ont utilisé des marqueurs moléculaires différents (14 AFLP, 48 SCoT, 14 SSR, 21 CDDP, 18 ITAP et 100 RAPD) pour évaluer la diversité et les relations génétiques entre les différents cultivars provenant de l'Égypte. L'amplification a montré un nombre total de bande de 591, 484, 83, 192, 204 et 1084 avec un pourcentage de polymorphisme de 37.4, 41.3, 59, 31.7, 34 et 24.9% respectivement. L'étude a confirmé la variabilité de chaque marqueur dans la détection du polymorphisme.

L'étude d'Alansari et *al.* (2014) a permis de mettre en évidence une importante variabilité génétique entre quatorze cultivars irakiens de *Phoenix dactylifera* L. par l'utilisation de dix amorces RAPD avec une similarité de 7.5 à 16.9%.

Al-Najm et *al.* (2016) ont utilisé soixante-dix amorces iPBS (Inter-Primer Binding Site) pour évaluer les variations moléculaires et la diversité génétique dans les cultivars de *Phoenix dactylifera* L. cultivés en Australie et en Iraq. L'étude a montré un nombre total de bande de 111 variant de 180 à 3500 pb.

La diversité génétique indique un bon potentiel pour améliorer encore les caractères agronomiques et commerciaux du palmier dattier et pour leur permettre de s'adapter à des nouveaux environnements et aux changements climatiques (El-Shibli et Korpelainen, 2009; Al-Faifi et *al.*, 2016).

Selon Chung (1995), les espèces ayant une large distribution géographique ont un niveau de diversité génétique plus élevé que les espèces ayant une distribution étroite ou endémique.

L'existence de ce polymorphisme peut être un facteur très fort expliquant les variations dans les propriétés biologiques et la composition chimique des extraits des différents cultivars testés.

Conclusion

Conclusion

Dans les dernières décennies, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle, pour le traitement des diverses maladies. Les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale, ont toujours été une source importante de molécules thérapeutiques qui pourraient également exercer des activités biologiques (antimutagène, anticancéreuse, antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire).

Dans ce travail, nous avons déterminé la composition phytochimique (le dosage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes, les flavonols et la détermination de la composition par HPLC). Nous avons étudié l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antispasmodique et déterminé la diversité génétique de dix cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les empreintes génétiques (technique moléculaire PCR-RAPD).

Les rendements les plus élevés ont été enregistrés avec les extraits méthanoliques de la variété Tansine (36.10 ± 0.12 %), puis de l'extrait méthanolique de la variété Deglet-Nour (35.67 ± 0.27 %).

Le dosage des phénols totaux, flavonoïdes et flavonols montre une différence dans les teneurs d'une variété à une autre. Les teneurs les plus élevées ont été trouvées dans l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached, soit 6.53 ± 0.18 mg EAG/100g MS, 4.23 ± 0.29 mg EC/100 g MS et 1.43 ± 0.15 mg ER/100g MS respectivement.

L'analyse par HPLC des différents extraits méthanoliques de *Phoenix dactylifera* L a permis la détection des molécules dotées d'effets biologiques importants telles que l'acide gallique, acide tannique, caféine, hespéridine, acide caféique, acide férulique, naringine, vanilline, rutine, lutéoline, quercétine, aspegenine et l'isorhamnétine.

L'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached a enregistré des activités antioxydantes les plus élevées avec les quatre méthodes de DPPH (206 mg/ml), le blanchissement de β -carotène (76.85%), la capacité antioxydante totale ($90.25 \pm 43 \mu\text{mol}$ d'acide ascorbique /g d'extrait) et la méthode de FRAP ($56.04 \mu\text{mol Fe (II) / 100 g MS}$).

La quercétine, hespéridine et la rutine sont reconnues pour leurs nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes. Ils sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées.

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) a montré des diamètres de zones d'inhibition atteignant 20.73 ± 1.10 mm. Cette activité pourrait être expliquée par la présence des composés phénoliques comme l'acide gallique et l'acide caféique qui sont connus pour leurs potentiels antibactériens.

Les extraits testés pour leur activité anti-inflammatoire *in vivo* ont montré un effet dans la réduction de l'inflammation provoquée par la carragénine. Ces résultats confirment que le fruit de dattes peut contribuer à la réduction de l'inflammation. Les résultats indiquent que le fruit de *Phoenix dactylifera* L. a un effet analgésique efficace comparable à celui de l'ibuprofène (lot contrôle positif). Ces activités peuvent être dues à la présence de l'acide gallique, hespéridine, naringine et l'isorhamnétine.

L'analyse du polymorphisme par les marqueurs RAPD montre qu'il existe une variabilité génétique dans les différents cultivars. Le taux de polymorphisme le plus élevé a été enregistré avec le cultivar de Degla Baidha (92.31 %). L'existence de polymorphisme peut être un facteur très fort expliquant les variations dans les propriétés biologiques et la composition chimique des extraits des différents cultivars testés.

Sachant que notre pays préserve une biodiversité et un patrimoine immense et riche en palmier dattier. Chaque variété se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires. Ces derniers ont des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches approfondies. Donc nous proposons les perspectives suivantes:

- Séparer et caractériser les composés bioactifs et étudier leurs mécanismes d'action séparément.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires *in vivo* de l'activité antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire des composés polyphénoliques en général et des flavonoïdes en particulier.

- Exploiter ces résultats au niveau de l'industrie agro-alimentaire pour l'utilisation de ces composés bioactifs comme additifs alimentaires naturels (conservateurs, antioxydants).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abbès F, Kchaou W, Belcker C, Ongena M, Lognay G, Attia H et Besbes S. (2013).** Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Industrial Crops and products*, **44**: 634–642.
- Abdennabi R, Bardaa S, Mehdi M, Rateb ME, Raab A, Alenezi FN, Sahnoun Z, Gharsallah N et Belbahri L. (2016).** *Phoenix dactylifera* L. sap enhances wound healing in Wistar rats: Phytochemical and histological assessment. *International Journal of Biological Macromolecules*, **88**:443–450.
- Abdu SB. (2011).** Protective role of Ajwa date against the hepatotoxicity induced by Ochratoxin A. *The Egyptian Journal of Natural Toxins*, **8**(1, 2): 1–15.
- Abdulla M et Gamal O. (2010).** Investigation on molecular phylogeny of some date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by protein, RAPD and ISSR markers in Saudi Arabia. *Australian Journal of Crop Science*, **4**(1):23–28.
- Abdul A et Allaith A. (2008).** Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**(6):1033–1040.
- Abuharfeil NM, Saeb El S, Yousef M et Abdul-Karim JS. (1999).** Effect of date fruits, *Phoenix dactylifera* L., on the hemolytic activity of Streptolysin O. *Pharmaceutical Biology*, **37**(5): 335–339.
- Acourene S et Tama M. (1997).** Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de datte de la région des Zibans. *Recherche agronomique*, Ed. INRAA, 1, 59–66.
- Adawy SS et Atia M. (2014).** A multidisciplinary molecular marker approaches to assess the genetic diversity in Egyptian date palm. *International Journal of Bio-Technology*, **4**(6): 1–12.
- Afify A, Shalaby E et El Beltage H. (2011).** Antioxydant activity of aqueous extracts of different caffeine products. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, **39**(2) :117–123.
- Afroz R, Tanvir EM, Asiful Islam MD, Alam F, Gan SH et Ibrahim Khalil MD. (2014).** Potential antioxidant and antibacterial properties of a popular jujube fruit: apple kul (*Zizyphus mauritiana*). *Journal of Food Biochemistry*, **38**(6): 592–601.
- Agbon AN, Kwaneshie HO et Hamman WO. (2013).** Antidiarrheal Activity of Aqueous Fruit Extract of *Phoenix dactylifera* (DATE PALM) in Wistar Rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, **4**(3):121–127.

- Agboola OS et Adejumo AL. (2013).** Nutritional Composition of the Fruit of the Nigerian Wild Date Palm, *Phoenix dactylifera*. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, **8** (2): 196–200.
- Ahmed S. (2016).** Anti hyperlipidemic and hepatoprotective effects of native date fruit variety Aseel *Phoenix dactylifera*. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, **29**(6):1945–1950.
- Ahmed AI, Ahmed AW et Robinson RK. (1995).** Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Food Chemistry*, **54**(3): 305–309.
- Ahmed J, Almusallam A et Al-Hooti SN. (2013).** Isolation and characterization of insoluble date (*Phoenix dactylifera* L.) fibers. *LWT - Food Science and Technology*, **50**(2): 414–419.
- Ahmed SH, Rocha JB et Maria RS. (2009).** Antioxidant Properties of Water Extracts for the Iraqi Plants *Phoenix Dactylifera*, *Loranthus Europeas*, *Zingiber Officinalis* and *Citrus Aurantifolia*. *Modern Applied Science*, **3**(3):161–166.
- Ait El Cadi M, Makram S, Ansar M, Khabbal Y, Alaoui K, Faouzi MA, Cherrah Y et Taoufik J. (2012).** Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **70** (2): 113—116.
- Akamatsu S, Watanabe A, Tamesada M, Nakamura R, Hayashi S, Kodama D, Kawase M et Yagi K. (2004).** Hepatoprotective effect of extracts from *Lentinus edodes* mycelia on dimethylnitrosamine-induced liver injury. *Biological & pharmaceutical bulletin*, **27**(12):1957–1960.
- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T et Iwatsuki K. (2001).** Antibacterial action of several tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **48**(4): 487–491.
- Al Harthi SS, Mavazhe A, Al Mahroqi H et Khan SA. (2015).** Quantification of phenolic compounds, evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of four date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties of Oman. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, **10**(3): 346–352.
- Al Juhaimi F, Ghafoor K et Özcan MM. (2014).** Physicochemical properties and mineral contents of seven different date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties growing from Saudi Arabia. *Environmental monitoring and assessment*, **186**(4): 2165–2170.
- Alansari MS, Al-kazaz A et Khierallah HS. (2014).** Assessment of Genetic Distance Among Some Iraqi Date Palm Cultivares (*Phoenix Dactylifera* L.) Using Randomly Amplified Polymorphic DNA. *Iraqi Journal of Science*, **55**(4B): 1833–1843.

- Albakhit S, Khademvatan S, Doudi M et Foroutan-Rad M. (2016).** Antileishmanial Activity of Date (*Phoenix dactylifera* L.) Fruit and Pit Extracts *In Vitro*. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, **21**(4):98–102.
- Al-daihan S et Shafi Bhat R. (2012).** Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of *Phoenix dactylifera*. *African Journal of Biotechnology*, **11**(42):10021–10025.
- Al-Faifi SA, Migdadi HM, Algamdi SS, Khan MA, Ammar MH, Al-Obeed RS, Al-Thamra MI, EL-Harty EH et Jakse J. (2016).** Development, characterization and use of genomic SSR markers for assessment of genetic diversity in some Saudi date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. *Electronic Journal of Biotechnology*, **21**:18–25.
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Al-Abid M, Al-Shoaily K, Al-Amry M et Al-Rawahy F. (2007).** Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food chemistry*, **114**(3):943–949.
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M et Shahidi F. (2005a).** Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(19):7592–7599.
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M et Shahidi F. (2005b).** Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(19):7586–7591.
- Al-Farsi MA et Lee CY. (2008).** Nutritional and functional properties of dates: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **48**(10):877–887.
- Al-Harrasi A, Rehman NU, Hussain J, Khan AL, Al-Rawahi A, Gilani SA, Al-Broumi M et Ali L. (2014).** Nutritional assessment and antioxidant analysis of 22 date palm (*Phoenix dactylifera*) varieties growing in Sultanate of Oman. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **7**(1): S591–S598.
- Al-Hooti S, Sidhu J et Qabazard H. (1997).** Physicochemical characteristics of five date fruit cultivars grown in the United Arab Emirates. *Plant Foods for Human Nutrition*, **50**(2): 101–113.
- Ali A, Al-Kindi YS et Al-Said F. (2009).** Chemical composition and glycemic index of three varieties of Omani dates. *Food sciences and nutrition*, **60**(4):51–62.
- Ali DM, Momen A et Khalid M. (2016).** Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits from Taif Governorate, Saudi Arabia.

- Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(3): 1708–1721.
- Ali Mohamed AY et Khamis AS. (2004).** Mineral ion content of the seeds of six cultivars of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21): 6522–6525.
- Al-Khalifah NS et Askari E. (2003).** Molecular phylogeny of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars from Saudi Arabia by DNA fingerprinting. *Theoretical and applied genetics*, 107(7): 1266–1270.
- Allaith AA. (2008).** Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(6):1033–1040.
- Allane T et Benamara S. (2010).** Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8(3): 171–175.
- Almela L, Sanchez-Munoz B, Fernandez-Lopez JA, Roca MJ et Rabe VB. (2006).** Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics. *Journal of Chromatography A*, 1120(1-2): 221–229.
- Al-Najada AR et Mohamed SA. (2014).** Changes of antioxidant capacity and oxidoreductases of Saudi date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) during storage. *Scientia Horticulturae*, 170: 275–280.
- Al-Najm A, Luo S, Ahmad N et Trethowan R. (2016).** Molecular variability and genetic relationships of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars based on inter-primer binding site (iPBS) markers. *Australian Journal of Crop Science*, 10(5):732–740.
- Al-Qarawi AA, Abdel-Rahman H, Ali BH, Mousa HM et El-Mougy SA. (2005).** The ameliorative effect of dates (*Phoenix dactylifera* L.) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(3): 313–317.
- Al-Qarawi AA, Abdel-Rahman H, Mousa HM, Ali BH et El-Mougy SA. (2008).** Nephroprotective Action of *Phoenix dactylifera* in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Pharmaceutical Biology*, 46(4):227–230.
- Al-Qarawi AA, Ali BH, Al-Mougy SA et Mousa HM. (2003).** Gastrointestinal transit in mice treated with various extracts of date (*Phoenix dactylifera* L.). *Food and Chemical Toxicology*, 41(1): 37–39.
- Al-Qarawi AA, Mousa HM, Ali BE, Abdel-Rahman H et El-Mougy SA. (2004).** Protective effect of extracts from dates (*Phoenix dactylifera* L.) on carbon

- tetrachloride–induced hepatotoxicity in rats. *International Journal for Applied Research in Veterinary*, 2(3):176–180.
- Alsaif MA, Khan LK, Alhamdan AH, Alorf SM, Harfi SH, Al-Othman M et Arif Z. (2007).** Effect of Dates and Gahwa (Arabian Coffee) Supplementation on Lipids in Hypercholesterolemic Hamsters. *International Journal of Pharmacology*, 3(2): 123–129.
- Al-seeni M. (2012).** Minerals Content and Antimicrobial Efficacy of date Extracts against Some Pathogenic Bacteria. *Life Science Journal*, 9(2): 504–508.
- Al-Shahib W et Marshall RJ. (2002).** Dietary fibre content of dates from 13 varieties of date palm *Phoenix dactylifera* L. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(6): 719–721.
- Al-Shahib W et Marshall RJ. (2003).** The fruit of the date palm: Its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Science and Nutrition*, 54(4): 247–259.
- Al-Shoaibi Z, Al-Mamary MA, AL-Habori MA, Al-Zubairi AS et Abdelwahab SI. (2012).** *In vivo* antioxidative and hepatoprotective effects of palm date fruits (*Phoenix dactylifera*). *International Journal of Pharmacology*, 8(3): 185–191.
- Al-Turki S, Shahba M et Stushnoff C. (2010).** Diversity of antioxidant properties and phenolic content of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits as affected by cultivar and location. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(1): 253–260.
- Al-Yahyai R et Al-Kharusi L. (2012).** Physical and chemical quality characteristics of freeze-stored dates. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(1): 97–100.
- Amaro M I, Rocha J, Vila-Real H, Eduardo-Figueira M, Mota-Filipe H et Sepodes B. (2010).** Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesised naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*, 42 (8) :1010–1017.
- Ameer AM, Ghulam S, Saifullah K et Adel A. (2014).** Molecular characterization of some Pakistani date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by RAPD markers. *Pakistan Journal of Botany*, 46(2): 619–625.
- Amellal-Chibane H, Noui Y, Djouab A et Benamara S. (2014).** Some physicochemical and morphological characterizations of three varieties of Algerian common date. *Internatinal Schomarly and scientific Research & Innovation*, 8(10):134–140.
- Ames BN. (1983).** Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. *Science, New Series*, 221(4617): 1256–1263.

- Amezouar F, Badri W, Hsaine M, Bourhim N et Fougrach H. (2013).** Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. *Pathologie Biologie*, **61**(6):254–258.
- Amiour SD et Hambaba L. (2016).** Effect of pH, temperature and some chemicals on polyphenoloxidase and peroxidase activities in harvested Deglet Nour and Ghars dates. *Postharvest Biology and Technology*, **111**: 77–82.
- Amira EA, Behija SE, Beligh M, Lamia L, Manel I, Mohamed H et Lotfi A. (2012).** Effects of the ripening stage on phenolic profile, phytochemical composition and antioxidant activity of date palm fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, **60**(44): 10896–10902.
- Ammar M, Khiari R, Berrima B, Belgacem MN et Elaloui E. (2014).** Isolation and characterization of lignin from *Stipa tenacissima* L. and *Phoenix dactylifera*. *Cellulose Chemistry and Technology*, **48**(3-4): 255–263.
- Archibalt L, Phillips L, Monnet D, Mc Gowan JE, Tenover F et Gaynes R. (1997).** Antimicrobial Resistance in Isolates from Inpatients and Outpatients in the United States: Increasing Importance of the Intensive Care Unit. *Clinical Infectious Diseases*, **24**:211–215.
- Asadi-Shekaari M, Panahi M, Dabiri SH, Zahed SK et Pour TP. (2008).** Neuroprotective effects of aqueous date fruit extract on focal cerebral ischemia in rats. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, **24**(5): 661–665.
- Assirey EA. (2015).** Nutritional composition of fruit of 10 date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars grown in Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science*, **9**(1): 75–79.
- Atta AH, Abo-EL-Sooud K, Saied Ahmed S, Ibrahim S et Zaher S. (2015).** Synergistic Hepatoprotective Effect of Grape Juice with Date Palm Fruit Methanolic Extracts. *Wulfenia*, **22**(12): 282 – 297.
- Awatef A, Susan A et Sasha A. (2011).** Biosafety of Ajwa date against biotoxicty of Ochratoxin (A) on proximal renal tubules rat. *Kidney Research Journal*, **1**(1): 1–12.
- Ayachi A, Alloui N, Bennoune O, Yakhlef G, Daas Amiour S, Bouzid W, Djemai Zoughlache S, Boudjellal K et Abdessemed H. (2009).** Antibacterial activity of some fruits; berries and medicinal herb extracts against poultry strains of *Salmonella*. *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environment Science*, **6**(1): 12–15.

- Bacha MA, Nasr TA et Shaheen MA. (1987).** Changes in Physical and Chemical Characteristics of the Fruits of Four Date Palm Cultivars. *Proc. Saudi Biol. Soc*, **10**: 285–295.
- Baliga MS, Baliga BR, Kandathil SM, Bhat HP et Vayalil PK. (2011).** A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*, **44**:1812–1822.
- Bartosikova L, Necas, Suchy et Kubinova (2003).** Antioxydative effects of morine in ischemia, reperfusion of kidney in the laboratory. *Drug and Chemical Toxicology*, **72**:87–94.
- Basli A, Chibane M, Madani K et Oukil N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, **10**:2–9.
- Batlouni M. (2010).** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cardiovascular, cerebrovascular and renal effects. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, **94**(4): 522–563.
- Baydar NG et Baydar H. (2013).** Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*, **41**:375–380.
- Beil W, Birkholz C et Sewing KF. (1995).** Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneimittelforschung*, **45**(6): 697–700.
- Belkadi B, Assali N et Benhabibet O. (2003).** Variation of specific morphological traits and ploidy level of five *Aegilops* L. species in Morocco. *Acta Botanica Malacitana*, **28**:47–58.
- Belmir S, Boucherit K, Boucherit-Otmani Z et Belhachemi MH. (2016).** Effect of aqueous extract of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) on therapeutic index of amphotericin B. *Phytothérapie*, **14**(2): 97-101.
- Benchelah AC et Maka M. (2006).** Les dattes, de la préhistoire à nos jours. *Phytothérapie*, **1**: 43–47.
- Benchelah AC et Maka M. (2008).** Les dattes: intérêt en nutrition. *Phytothérapie*, **6**: 117–121.
- Bengmark S. (2004).** Acute and "chronic" phase reaction—a mother of disease. *Clinical nutrition*, **23**(6):1256–1266.

- Benmeddour Z, Mehinagic E, Lemeurlay D et Louaileche H. (2013).** Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars: A comparative study. *Journal of Functional Food*, **5**: 346–354.
- Benzie IF et Strain JJ. (1996).** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**(1): 70–76.
- Berset C et Cervelier ME. (1996).** Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments*, **16**: 219–245.
- Besbes S, Drira L, Blecker C, Deroanne C et Attia H. (2009).** Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Food Chemistry*, **112**(2): 406–411.
- Biglari F, Abbas FM, Alkarkhi FMA et Easa A. (2008).** Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*, **107**(4): 1636–1641.
- Biglari F, Abbas FM, Alkarkhi FMA et Easa A. (2009).** Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera*): Effect of long-term cold storage. *Food Chemistry*, **112**(4): 998–1001.
- Blois M. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**:1199–1200.
- Boizot N et Charpentier J. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA* , pp. 79–82.
- Bokhari NA et Perveen K. (2012).** *In vitro* inhibition potential of *Phoenix dactylifera* L. extracts on the growth of pathogenic fungi. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(6):1083–1088.
- Borochoy-Neori H, Judeinstein S, Greenberg A, Volkova N, Rosenblat M et Aviram M. (2015).** Antioxidant and antiatherogenic properties of phenolic acid and flavonol fractions of fruits of 'Amari' and 'Hallawi' date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, **1**;63(12):3189-3195.
- Bouazza A, Bitam A, Amiali M, Bounihi A, Yargui L et Koceir EA. (2015).** Effect of fruit vinegars on liver damage and oxidative stress in high-fat-fed rats. *Pharmaceutical Biology*, **53**(4):1–6.
- Bouchet N, Barrier L et Fauconneau B. (1998).** Radical scavenging activity and antioxidant property of tannins from *Guiera senegalensis* (Combretaceae). *Phytotherapy research*, **12**(3):159–162.

- Boudries H, Kefalas P et Hornero-Méndez D. (2007).** Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. *Food Chemistry*, **101**(4): 1372–1377.
- Bouhlali E, Alem C et Zegzouti Y. (2015).** Antioxidant and anti-hemolytic activities of phenolic constituents of Six moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) syrups. *BioTechnology: An Indian Journal*, **12**(1):45–52.
- Bouhlali E, Bammou M, M Sellam K, Benlyas M, Alem C et Filali-Zegzouti Y. (2016).** Evaluation of antioxidant, antihemolytic and antibacterial potential of six Moroccan date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. *Journal of King Saud University – Science*, **28**: 136–142.
- Bourgeois CM, Mescle JF et Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire. Tome I : Aspect microbiologie de la sécurité et de la qualité des aliments. 2^e édition. Technique et Documentation. Paris, 650 p.
- Boyd B, Ford C, Koepke C, Horn E, McAnalley S et McAnalley B. (2003).** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *glyoScience et Nutrition*, **4**(6) :7.
- Braithwaite A et Smith FJ. (1999).** Chromatographic Methods. 5^{ème} Ed Kluwer Academic Publisher. London, 548 p.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME et Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, **28**(1): 25–30.
- Calliste CA, Trouillas P, Allais DP, Simon A et Duroux JL. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, **49**(7):3321–3327.
- Chaira N, Smaali MI, Martinez-Tomé M, Mrabet A, Murcia, MA et Ferchichi A. (2009).** Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water– methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **60**(7): 316–329.
- Cheurfa M et Allem R. (2015).** Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts *in vivo*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **25**(2): 142–144.
- Chibane H. (2008).** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes: formulation d'un yaourt Naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat. Université de M'hamed Bougara-Boumerdes. 41p.

- Chirinos R, Rogez H, Campos D, Pedreschi R et Larondelle Y. (2007).** Optimisation of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, **55**(2): 217–225.
- Cho KJ, Yun CH, Yoon DY, Cho YS, Rimbach G, Packer L et Chung AS. (2000).** Effect of bioflavonoids extracts from the bark of *Pinus maritime* on proinflammatory cytokine interleukin-1 production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7. *Toxicology and applied pharmacology*, **168**(1): 64–71.
- Cho KJ, Yun CH, Packer L et Chung AS. (2001).** Inhibition mechanisms of bioflavonoids extracted from the bark of *Pinus maritime* on the expression of proinflammatory cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **928**:141–156.
- Cho J. (2006).** Antioxidant and neuroprotective effects of hesperidin and its aglycone hesperetin. *Archives of Pharmacal Research*, **29**(8):699–706.
- Choi JH, Jung B H, Kang OH, Choi H J, Park P S, Cho S H, Kim YC, Sohn DH, Park H, Lee JH et Kwon D Y. (2006).** The anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of ethylacetate fraction of *Cynanchi paniculati Radix*. *Biological & pharmaceutical bulletin*, **29**(5): 971–975.
- Chung MG. (1995).** Low Levels of Genetic Diversity within Populations of *Hosta clausa* (Liliaceae). *Plant Species Biology*, **9**(3):177–182.
- Collier HOJ, Dinneen LC et Johnson C. (1968).** The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology*, **32** (2):295–310
- Cowan MM. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, **12**(4): 564–582.
- Crunkhorn P et Meacock SC. (1971).** Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenan. *British Journal of Pharmacology*, **42**(3): 392–402.
- Cushnie TP et Lamb AJ. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **26**(5): 343–356.
- Cushnie TPT et Lamb AJ. (2011).** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, **38**(2): 99–107.
- Cuzzocrea S, Mazzon E, Calabro G, Dugo L, De Sabro A, Van De Loo FA et Caputi AP. (2000a).** Inducible nitric oxide synthase-knockout mice exhibit resistance to pleurisy and lung injury caused by carrageenan. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **162**(5): 1859–1866.

- Cuzzocrea S, Santagati S, Sautebin L, Mazzon E, Calabro G, Serraino I, Caputi AP et Maggi A. (2000b).** 17β -Estradiol anti-inflammatory activity in carrageenan-induced pleurisy. *Endocrinology*, **141**(4): 1455–1463.
- da Silva LC, da Silva CA Jr, de Souza RM, José Macedo A, da Silva MV et Santos Correia MT. (2011).** Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. *Food and chemical toxicology*, **49**(9):2222–2228.
- Daglia M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, **23**(2):174–181.
- Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA et Linssen J. (1998).** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **77**(1): 140–146.
- Dawson J, Sedgwick AD, Edwards JC et Lees P. (1991).** A comparative study of the cellular, exudative and histological responses to carrageenan, dextran and zymosan in the mouse. *International journal of tissue reactions*, **13**(4): 171–185.
- Deepa VS, Kumar PS, Latha S, Selvamani P et Srinivasan S. (2009).** Antioxidant studies on the ethanolic extract of *Commiphora* spp. *African Journal of Biotechnology*, **8**(8):1630–1636.
- Delporte C, Backhouse N et Erazo S. (2005).** Analgesic-antiinflammatory properties of *Proustia pyrifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, **99**(1):119–24.
- Denyer SP. (1995).** Mechanisms of action of antibacterial biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **36**(3) 227–245.
- Derbel S et Ghedira K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, **3**(1): 28–34.
- Derbel S, Bouaziz M, Dhouib A, Sayadi S et Chaieb M. (2013).** Chemical composition and biological potential of seed oil and leaf extracts of *Henophyton deserti* Coss. & Durieu. *Comptes Rendus Chimie*, **13**(4): 473–480.
- Desbois AP et Smith VJ. (2010).** Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, **85**(6): 1629–1642.
- Dhaouadi K, Raboudi F, Estevan C, Barrajon E, Vilanova E, Hamdaoui M, Fattouch S. (2011).** Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, **12**;59 (1):402–406.

- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutasouma D et Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**(4): 654–660.
- Djouab A, Benamara S, Gougam H, Amellal H et Hidous K. (2016).** Physical and antioxidant properties of two Algerian date fruit species (*Phoenix dactylifera* L. and *Phoenix canariensis* L.). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **28**(9): 601–608.
- Doha M et El-Okbi S. (2005).** *In-vitro* evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Phoenix dactylifera* L. fruit as functional foods. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, **101**(7): 305–308.
- Doha MA et Al-Okbi SY. (2004).** *In vivo* evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of different extracts of date fruits in adjuvant arthritis. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **13**(4): 397–402.
- Domenico T, Francesco C, Maria GS, Vincenza V, Mariateresa CD, Antonella S, Gabriela M et Giuseppe B. (2005).** Mechanisms of antibacterial action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **49**(6): 2474-2478.
- Dowson VHW. (1982).** Date production and protection with special reference to North Africa and the Near East. *FAO Technical Bulletin, Food and Agriculture Organization of the United Nations*, **35**: 294.
- Doyle JJ et Doyle JL. (1987).** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, **19**:11–15.
- Elleuch M, Besbes S, Roiseux O, Blecker C, Deroanne C , Drira NE et Attia H. (2008).** Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food Chemistry*, **111**(3): 676–682.
- El Arem A, Thouri A, Zekri M, Saafi EB, Ghrairi F, Zakhama A et Achour L. (2014).** Nephroprotective effect of date fruit extract against dichloroacetic acid exposure in adult rats. *Food and chemical toxicology*, **65**:177–184.
- El Sohaimy SA, Abdelwahab AE, Brennan CS et Aboul-enein AM. (2015).** Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial activities of Egyptian Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **9**(1):141–148.
- El-Shibli S et Korelainen H. (2008).** Microsatellite markers reveal high genetic diversity in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) germplasm from Sudan. *Genetica*, **134**(2):251–260.

- El-Shibli S et Korelainen H. (2009).** Biodiversity of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Sudan: chemical, morphological and DNA polymorphism of selected cultivars. *Plant Genetic Resources*, **7**(2): 194–203.
- El-Sohaimy SA. (2010).** Biochemical and Nutritional Characterizations of Date Palm Fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Applied Sciences Research*, **6**(8): 1060-1067.
- Eltayeb EA, Al-Hasni AS et Farooq SA. (1999).** Changes in soluble sugar content during the development of fruits in some varieties of Omani date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **2**(1): 255–258.
- Espina L, Gelaw TK, de Lamo-Castellví S, Pagán R et García-Gonzalo D. (2013).** Mechanism of Bacterial Inactivation by (+)-Limonene and Its Potential Use in Food Preservation Combined Processes. *PLoS ONE*, **8**(2):1–10.
- Essawi T et Srouf M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **70**(3): 343–349.
- Fadel MA, Kurmestegy L, Rashed M et Rashed Z. (2006).** Fruit color properties of different cultivars of dates (*Phoenix dactylifera*, L.). *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*, **8** (Manuscript FP 05 005).
- Falleh H, Trabelsi N, Bonenfant-Magné M, Le Floch G, Abdelly C, Magné C et Ksouri R. (2013).** Polyphenol content and biological activities of *Mesembryanthemum edule* organs after fractionation. *Industrial Crops and Products*, **42**: 145–152.
- FAO. Stat. (2008).** *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <http://faostat.fao.org>
- Farag MA, Handoussa H, Fekry MI et Wessjohann LA. (2016).** Metabolite profiling in 18 Saudi date palm fruit cultivars and their antioxidant potential via UPLC-qTOF-MS and multivariate data analyses. *Food and function*, **7**(2):1077–1086.
- Faure H, Fayol V et Galabert C. (1999).** Les caroténoïdes : métabolisme et physiologie. *Annales de Biologie Clinique*, **57**:169–183.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimentale dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108–115.
- Fayadh JM et Al-Showiman SS. (1990).** Chemical composition of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, **12**: 84–103.
- Fellah S, Romdhane et Abderraba M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.Soc.Alger.Chim*, **16**(2):193–202.

- Ferreira A, Proenc C, Serralheiro MLM et Araujo MEM. (2006).** The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*, **108**(1): 31–37.
- Fu H, Xie B, Ma S, Zhu X, Fan G et Pan S. (2011).** Evaluation of antioxidant activities of principal carotenoids available in water spinach (*Ipomoea aquatica*). *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**(2): 288–297.
- Funakoshi-Tago M, Nakamura K, Tago K, Mashino T et Kasahara T. (2011).** Anti-inflammatory activity of structurally related flavonoids, Apigenin, Luteolin and Fisetin. *International Immunopharmacology*, **11**(9) : 1150–1159.
- Gaceb-Terrak R et Rahmania F. (2010).** Analyse des lipides et autres composés volatils de Deglet Nour, cultivar de palmier dattier Phoenix dactylifera L., par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Acta Botanica Gallica*, **157**(1): 127–133.
- Garba L, Yusha’u M et Yerima A. (2013).** Antibacterial Activity of Ethanol Extract of *Phoenix dactylifera* Leaves against some Gram Negative Bacterial Isolates. *Greener Journal of Biological Sciences*, **3**(6): 238–243.
- García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA et Martínez JA. (2009).** Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation research*, **58**(9): 537–552.
- Ghazal G, Akasha A et Abobaker A. (2016).** Development of novel confectionary bars by utilizing date “Tagyat variety”. *Food and Nutrition Sciences*, **7**(7): 533–543.
- Glaser KB, Sung MI, Hartman Da, Lock YW Bauer J, Walter T et Carlson RP. (1995).** Cellular and topical *in vivo* inflammatory murine models in the evaluation of inhibitors of phospholipase A2. *Skin pharmacology*, **8**(6): 300–308.
- Gomez-Caravaca AM, Gomez-Romeo M, Arraez-Roman D, Segura-Carretero A et Fernandez-Gutierrez A. (2006).** Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**(4): 1220–1234.
- Gonzalez-Gallego J, Garcia-Mediavilla MV, Sanchez-Campos S et Tunon MJ. (2010).** Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *The British journal of nutrition*, **104**(Suppl 3): 15–27.
- Gonzalez-Gallego J, Sánchez-Campos S et Tuñón MJ. (2007).** Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición hospitalaria*, **22**(3): 287–293.
- Guiraud JP. (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD. Paris, 159, 652p.

- Guo W, Kong E et Meydani M. (2009).** Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutrition and cancer*, **61**(6): 807–810.
- Gupta M, Mazumder UK, Sambath Kumar R, Gomathi P, Rajeshwar Y, Kakoti BB et Tamil Selven V. (2005).** Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, **98**(3): 267–273.
- Habib HM et Ibrahim WH. (2009).** Nutritional quality of 18 date fruit varieties. *International journal of food sciences and nutrition*, **62**(5):544-551.
- Haddadi H. (2005).** Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits. Mémoire de Magister. Université de Béjaïa, 76 p.
- Hafez El-Far A, Shaheen HM, Abd El-Daim M et Mousa SA. (2016).** Date Palm (*Phoenix dactylifera*): Protection and Remedy Food. *Current Trends in Nutraceuticals*, **1**(9): 1-9.
- Hamad I, Abdelgawad H, Al Jaouni S, Zinta G, Asard H, Hassan S, Hegab M, Hagagy N et Selim S. (2015).** Metabolic Analysis of Various Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivars from Saudi Arabia to Assess Their Nutritional Quality. *Molecules*, **27**; **20**(8):13620–13641.
- Hammouda H, Alvarado C, Bouchet B, Kalthoum-Chérif J, Trabelsi-Ayadi M et Guyot S. (2014).** Tissue and cellular localization of tannins in Tunisian dates (*Phoenix dactylifera* L.) by light and transmission electron microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62**(28): 6650–6654.
- Hammouda H, Cherif JK, Ayadi MT, Baron A et Guyot S. (2013).** Detailed Polyphenol and Tannin Composition and Its Variability in Tunisian Dates (*Phoenix dactylifera* L.) at Different Maturity Stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**(13): 3252–3263.
- Hammouda H, Trabelsi-Ayadia M, Kalthoum Chérif J. (2015).** Polyphenols variability in Ghars Mettig Tunisian dates (*Phoenix dactylifera* L.) from two maturity stages. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, **13**: 50-60.
- Hannachi S, Khitri D, Benkhalifa A et Brac de Perrière RA. (1998).** Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Sélection et impression. Anep Rouiba Algérie, 225 p.
- Harrak H, Reynes M, Lebrun M, Hamouda A et Bra P. (2005).** Identification et comparaison des composés volatiles des fruits de huit variétés de dattes marocaines. *Fruit*, **60**(4): 267–278.

- Hasan NS, Amom ZH, Nor AI, Mokhtarrudin N, Mohd Esa N et Azlan A. (2010).** Nutritional Composition and *in vitro* Evaluation of the Antioxidant Properties of Various Dates Extracts (*Phoenix dactylifera* L.) from Libya. *Asian Journal of Clinical Nutrition*, **2**(4): 208–214.
- Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M et Hamdi M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L fruit extracts. *Food Chemistry*, **46**(3): 920–928.
- Heim KE, Tagliaferro AR et Bobilya DJ. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**(10):572–584.
- Hemmateenejad B, Karimi S, Javidnia K, Parish M et Khademi R. (2015).** Classification and assessment of antioxidant activity and phenolic content of different varieties of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Journal of the Iranian Chemical Society*, **12**(11):1935–1943.
- Hong YJ, Tomas-Barberan FA, Kader AA et Mitchell AE. (2006).** The Flavonoid Glycosides and Procyanidin Composition of Deglet Noor Dates (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**(6): 2405–2411.
- Hui YH. (2006).** Fruit and Fruit Processing. Blackwell Publishing: Ames, Iowa, 391–411.
- Hussein E, Adawy S, Ismail S et El-Itriby H. (2005).** Molecular characterization of some Egyptian date palm germplasm using RAPD and ISSR markers. *Agricultural Genetic Engineering Research*, **8**(1): 83–98.
- Iqbal M, Munir M et Niamatullah M. (2011).** Physio-chemical characteristics of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars at various maturity stages under environmental conditions of Dera Ismail Khan. *Journal of Agricultural Research*, **49**(2): 249–260.
- Ishurd O et Kennedy JF. (2005).** The anti-cancer activity of polysaccharide prepared from Libyan dates (*Phoenix dactylifera* L.). *Carbohydrate Polymers*, **59**(4): 531–535.
- Ismail B, Haffar I, Baalbaki R, Mechref Y et Henry J. (2006).** Physicochemical characteristics and total quality of five date varieties grown in the United Arab Emirates. *International Journal of Food Science and Technology*, **41**(8): 919–926.
- Jaccot B et Campillo B. (2003).** Nutrition humaine. Ed. Masson. Paris, 311p.
- Jain M et Singh Parmar H. (2011).** Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potentiel of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation. *Inflammation Research*, **60**(5) : 483–491.

- Jayaprakasha GK, Girenavar B et Patil BS. (2008).** Radical scavenging activity of red grapefruits and sour orange fruit extracts in different *in vitro* model systems. *Bioresource Technology*, **99**(10): 4484–4494.
- Jayaprakasha GK, Singh RP et Sakariah KK. (2001).** Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chemistry*, **73**(3): 285–290.
- Jimoh FO, Adedapo AA et Afolayan AJ. (2010).** Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and chemical toxicology*, **48**(3): 964–971.
- Jin JY, Choi EY, Park HR, Choi JI, Choi IS et Kim SJ. (2013).** Isorhamnetin inhibits *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of interleukin-6 in murine macrophages via anti-inflammatory heme oxygenase-1 induction and inhibition of nuclear factor- κ B and signal transducer and activator of transcription 1 activation. *Jouran periodontal reseach*, **48**(6):687–695.
- Jung HJ, Nam JH, Choi J, Lee KT et Park H. (2005).** Anti-inflammatory effects of chiisanoside and chiisanogenin obtained from the leaves of *Acanthopanax chiisanensis* in the carrageenan- and Freund's complete adjuvant-induced rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **97**(2): 359–367.
- Kanatt SR, Chander R et Sharma A. (2010).** Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science & Technology*, **45**(2):216–222.
- Karlsen A, Retterstol L, Laake P, Paur I, Bøhn SK, Sandvik L et Blomhoff R. (2007).** Anthocyanins inhibit nuclear factor kappa B activation in monocytes and reduce plasma concentrations of proinflammatory mediators in healthy adults. *The Journal of nutrition*, **137**(8): 1951–1954.
- Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M et Sokmen A. (2007).** Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, **100**(2): 584–589.
- Kchaou W, Abbès F, Ben Mansour R, Blecker C, Attia H et Besbes S. (2016).** Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Chemistry*, **194**:1048–1055.
- Kchaou W, Abbès F, Attia H et Besbes S. (2014).** *In vitro* antioxidant activities of three selected dates from Tunisia (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Chemistry*, **8**:1–8.

- Kchaou W, Abbès F, Blecker C, Attia, H et Besbes S. (2013).** Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*, **45**: 262–269.
- Kehili HE, Zerizera S, Beladjilab KA et Kaboucheb Z. (2016).** Anti-inflammatory effect of Algerian date fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food and Agricultural Immunology*, **27** (6):820–829.
- Khali M et Selselet-Attou G. (2007).** Effect of heat treatment on polyphenol oxidase and peroxidase activities in Algerian stored dates. *African Journal of Biotechnology*, **6**(6): 790–794.
- Khanavi M, Saghari Z, Mohammadirad A, Khademi R, Hadjiakhoondi A et Abdollahi M. (2009).** Comparison of antioxidant activity and total phenols of some date varieties. *Daru*, **17**(2): 104–108.
- Kikuchi N et Miki T. (1978).** The separation of date (*Phoenix dactylifera*) sterols by liquid chromatography. *Mikrochimica Acta*, **69**(1):89–96.
- Kim HP, Son KH, Chang HW et Kang SS. (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacological sciences*, **96**(3): 229-245.
- Kim JM, CHANG SM, Kim IH, Kim YE, Hwang JH, Kim KS et Kim WS. (2007).** Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves, *Biochemical Engineering Journal*, **37**(3): 271–278.
- Kim JA, Kim DK, Kang OH, Choi YA, Park HJ, Choi SC, Kim TH, Yun KJ, Nah YH et Lee YM.(2005).** Inhibitory effect of luteolin on TNF-alpha-induced IL-8 production in human colon epithelial cell. *International immunopharmacology*, **5**(1):209–217.
- Kim JM, Chang SM, Kim IH, Kim YE, Hwang JH, Kim KS et Kim WS. (2007).** Design of optimal solvent for extraction of bio-active ingredients from mulberry leaves. *Biochemical Engineering Journal*, **37**(3): 271–278.
- Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston JF et We CI. (2005).** Antibacterial Activity of Carvacrol, Citral, and Geraniol against *Salmonella typhimurium* in Culture Medium and on Fish Cubes. *Journal of Food Science*, **60**(6): 1364–1368.
- Kimura H, Sawada T, Oshima S, Kozawa K, Ishioka T et Kato M. (2005).** Toxicity and role of reactive oxygen species. *Inflammation and allergy*, **4**(4):489–495.
- Klimczak I, Malecka M, Szlachta M et Gliszczynska A. (2007).** Effect of storage on the content of polyphenols, Vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Compostion and Analysis*, **20**(3,4): 313–322.

- Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20**(4): 165–177.
- Köroğlu OA, MacFarlane PM, Balan KV, Zenebe WJ, Jafri A, Martin RJ et Kc P.(2014).** Anti-inflammatory effect of caffeine is associated with improved lung function after lipopolysaccharide-induced amnionitis. *Neonatology*, **106**(3):235–240.
- Kromhout D. (2001).** Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutrition*, **4**(2B): 441–457.
- Lacopini P, Baldi M, Storchi P et Sebastiani L. (2008).** Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, *in vitro* antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**(8) :589–598.
- Laouini S. (2014).** Scavenging Effect, Anti-Inflammatory and Diabetes Related Enzyme Inhibition Properties of Leaves Extract from Selected Varieties of *Phoenix dactylifera* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **6**(1): 66–73.
- Le Marchand L. (2002).** Cancer preventive effects of flavonoids--a review. *Biomedicine & pharmacotherapy*, **56**(6):296–301.
- Lecerf JM. (2006).** Les phytostérols adjuvants contre le cholestérol. *Phytothérapie*, **1**: 58–62.
- Lee K, Kim YJ, Lee HJ et Lee CY. (2003).** Cocoa has more Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, **3**, **51**(25): 7292–7295.
- Li HB, Chi-Chun W, Cheng KW et Chen F. (2008).** Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and technology*, **41**(3):385–390.
- Lim TK (2012).** Edible Medicinal and Non-Medicinal plants (Fruits). Springer. New York, 408p.
- Lindsey K, Jager AK, Raidoo DM et van Staden J. (1999).** Screening of plants used by South African traditional healers in the treatment of dysmenorrhoea for prostaglandin synthesis inhibitors and uterine relaxing activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**(1): 9–14.
- Liolios CC, Sotiroidis GT et Chinou I. (2009).** Fatty acids, sterols, phenols and antioxidant activity of *Phoenix theophrasti* fruits growing in Crete, Greece. *Plant Foods for Human Nutrition*, **64**(1): 52–61.

- Liyana-Pathirana CM et Shahid F. (2006).** Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**(3): 477–485.
- Mabood F, Al-Harrasi A, Boqué R, Jabeen F, Hussain J, Hafidh A, Hind K, Ahmed MAG, Manzoor A, Hussain H, Rehman NU, Iman SH, Said JJ et Hamood SA. (2015).** Determination of sucrose in date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) growing in the Sultanate of Oman by NIR spectroscopy and multivariate calibration. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **150**(5): 170–174.
- Macheix JJ, Fleuriet A et Jay Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. PPTUR.ISBN2 -88074. Lausanne, Suisse, 625-626p.
- Majid AS, Marzieh P, Shahriar D, Zahed SK et Pari KT. (2008).** Neuroprotective effects of aqueous date fruit extract on focal cerebral ischemia in rats. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, **24**(5): 661–665.
- Mallhi TH, Qadir MI, Ali M, Ahmad B, Khan YH et Rehman AU. (2014).** Ajwa Date (*Phoenix dactylifera*): An Emerging Plant in Pharmacological Research. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, **17**(3): 607–616.
- Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E et Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, **89**(3): 411–420.
- Manthey JM. (2000).** Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*, **7**(6,2): 28–34.
- Maryam UI, Simbak N, Umar A, Sani HI, Baig AA, Zin T et GKM S. (2015).** Anti-Inflammatory and Analgesic Activities of Aqueous Extract Date Palm (*Phoenix Dactylifera* L.) Fruit in Rats. *International Journal of Novel Research in Healthcare and Nursing*, **2**(3): 166-172.
- Masmoudi M, Besbes S, Blecker C et Attia H. (2009).** Extraction et caractérisation des pectines de dattes (*Phoenix dactylifera*. L). *MHA*, **21**(60): 3–11.
- Materska M et Perucka I. (2005).** Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **53**(5): 1750–1756.
- Matu EN et van Staden J. (2003).** Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, **87**(1): 35–41.

- Messaoudi R, Abbeddou S, Mansouri A, Calokerinos AC et Kefalas P. (2013).** Phenolic profile and antioxidant activity of date-pits of seven Algerian date palm fruit varieties. *International Journal of Food Properties*, **16**(5): 1037–1047.
- Michael HN, Salib JY et Eskander EF. (2013).** Bioactivity of diosmetin glycosides isolated from the epicarp of date fruits, *Phoenix dactylifera*, on the biochemical profile of alloxan diabetic male rats. *Phytotherapy research: PTR*, **27**(5): 699–704.
- Middleton EJ, Kandaswami C et Heoradies TC. (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological reviews*, **52**(4): 673–751.
- Mirzoeva OK, Grishanin RN et Calder PC. (1997).** Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological research*, **152**(3):239–246.
- Modgil M, Mahajan K et Chakrabarti SK. (2005).** Molecular analysis of genetic stability in micropropagated apple rootstock MM106. *Scientia horticulturæ*, **104**(2): 151–160.
- Mohamed AE. (2000).** Trace element levels in some kinds of dates. *Food Chemistry*, **70**(1): 9–12.
- Mohamed Lemine FM, Mohamed Ahmed MO, Maoulainine LBM, Bouna ZO, Samb A et Boukhary SAO. (2014).** Antioxidant activity of various Mauritanian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at two edible ripening stages. *Food Science & Nutrition*, **2**(6): 700–705.
- Mohamed RMA, Fageer ASM, Eltayeb MM et Ahmed AM. (2014).** Chemical composition, antioxidant capacity, and mineral extractability of Sudanese date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits. *Food Science & Nutrition*, **2**(5): 478– 489.
- Mohammed S, Shabana HR et Mawloud EA. (1983).** Evaluation and identification of Iraqi date cultivars. Fruits characteristics of fifty cultivars. *Date Palm Journal*, **2**(1): 27-55.
- Mohammed Z et Atik F. (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **2**(1): 609–615.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for the estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, **26**(2):211–219.
- Monica C, Maria DB, Ortega N, Manuel PM et Pilar M. (2010).** Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid

- naringenin and its glycoside naringin: a comparative study. *Journal of food and agriculture*, **90**(7):1238–1244.
- Mortazavi SM, Arzani K et Barzegar M. (2010).** Analysis of Sugars and Organic Acids Contents of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Barhee During Fruit Development. *Acta Horticulturae*, **882**:793–801.
- Morton JF. (1987).** Fruits of Warm Climates. Florida Flair Books. Miami, USA, 9p.
- Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J, Dominguez H, Núñez, MJ et Parajó JC. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, **72**(2):145–171.
- Mrabet A, Ferchichi A, Chaira N, Mohamed BS, Baaziz M et Penny TM. (2008).** Physico-Chemical Characteristics and Total Quality of Date Palm Varieties Grown in the Southern of Tunisia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11**(7): 1003–1008.
- Mrabet A, Jiménez-Araujo A, Fernández-Bolaños J, Rubio-Senent F, Lama-Muñoz A, Sindic M et Rodríguez-Gutiérrez G. (2016).** Antioxidant phenolic extracts obtained from secondary Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.) by hydrothermal treatments. *Food chemistry*, **1**;196:917–924.
- Mukherjee K, Paul P et Banerjee ER. (2014).** Anti Inflammatory Activities of Date Palm Extracts (*Phoenix sylvestris*). *Antioxidants*, **3**, **1**:1–21.
- Munshi A et Gamal O. (2010).** Investigation on molecular phylogeny of some date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by protein, RAPD and ISSR markers in Saudi Arabia. *Australian Journal of Crop Science*, **4**(1):23–28.
- Nantz MP, Rowe CA Nieves C et Percival SS. (2006).** Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *The Journal of Nutrition*, **136**(10): 2606–2610.
- Narendra Sharath Chandra JN, Ponnappa KC, Sadashiva CT, Priya BS, Nanda BL, Gowda TV, Vishwanath BS et Rangappa KS. (2007).** Chemistry and structural evaluation of different phospholipase A2 inhibitors in arachidonic acid pathway mediated inflammation and snake venom toxicity. *Current topics in medicinal chemistry*, **7**(8): 787–800.
- Naskar S, Islam A, Mazumder UK, Saha P, Haldar PK et Gupta M. (2010).** *In Vitro* and *In Vivo* antioxidant potential of hydromethanolic extract of *Phoenix dactylifera* fruits. *Journal of Scientific Research*, **2**(1): 144–157.

- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K et van Leeuwen PA. (2001).** Flavonoids: areview of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, **74**(4):418–425.
- Ogungbenle HN. (2011).** Chemical and Fatty Acid Compositions of Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera* L) Flour. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, **46**(2): 255–258.
- Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2003).** Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Genève, Suisse, 96.
- Ouafi S et Bounaga N. (2010).** Phenolic compounds as markers for Algerian cultivars of the date palm *Phoenix dactylifera* L. *ISHS Acta Horticulturae* **882**: 321–327.
- Ouali K, Trea F, Toumi L, Bairi A, Maurel M et Guellati M. (2007).** L'héspéridine, un antioxydant flavonoïde qui diminue le stress oxydatif et prévient les malformations fœtales au cours du diabète gestationnel expérimental. *Phytothérapie*, **5**(4) : 204–209.
- Ouédraogo N, Lompo M, Sawadogo R, Tibiriet A, Hay AE, Koudou J, Dijoux MG et Guissou IP. (2012).** Etude des activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique des décoctés aqueux des feuilles et des racines de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *Phytothérapie*, **10**: 286–292.
- Oueslati S, Trabelsi N, Boulaaba M, Legault J, Abdelly C et Ksouri R. (2012).** Evaluation of antioxidant activities of the edible and medicinal *Suaeda* species and related phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, **36**(1): 513–518.
- Panahi A et Asadi M. (2009).** Cholesterol lowering and protective effects of date fruit extracts: An *in-vivo* study. *Toxicology Letters*, 189S: S57–S273(F25).
- Panahi M, Asadi-Shekaari M, Kalantari PTP et Safavi A. (2008).** Aqueous extract of date fruit protects CA1 neurons against oxidative injury: an ultrastructural study. *Current Topics in Nutraceutical Research*, **6**(3): 125–130.
- Parsons OB, Yao J, Frank MW, Jackson P et Rock CO. (2012).** Membrane Disruption by antimicrobial fatty acids releases low-molecular-weight proteins from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, **194**(19): 5294–5304.
- Parvin S, Easmin D, Sheikh A, Biswas M, Sharma S, Jahan GS, Islam MA, Roy N et Shovon MS. (2015).** Nutritional Analysis of Date Fruits (*Phoenix dactylifera* L.) in Perspective of Bangladesh. *American Journal of Life Sciences*, **3**(4): 274–278.

- Pelzer LE, Guardia T, Juarez AO et Guerreiro E. (1998).** Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. *Farmaco*, **53**(6): 421–424.
- Pengfei L, Tiansheng D, Xianglin H et Jianguo W. (2009).** Antioxidant Properties of Isolated Isorhamnetin from the Sea Buckthorn Marc. *Plant Foods for Human Nutrition*, **64**(2): 141–145.
- Perveen K, Bokhari NA et Dina Soliman AW. (2012).** Antibacterial activity of *Phoenix dactylifera* L. leaf and pit extracts against selected Gram negative and Gram positive pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(2): 296–300.
- Přemysl M, Kateřina M, Tomáš F, Libuše Z, Luděk J, Paolo Bo, Ilaria PS, Radomír H et Luciano S. (2011).** *In vitro* analysis of iron chelating activity of flavonoids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **105**(5): 693–701.
- Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L et Cirino G. (2004).** Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British Journal of Pharmacology*, **142**(2): 331–338.
- Prieto P, Pineda M et Aguilar M. (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, **269**(2,1):337–341.
- Prior RL, Wu X et Schaich K. (2005).** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(10):4290–4302.
- Pujari PR, Vyawahare NS et Kagathara VG. (2011).** Evaluation of antioxidant and neuroprotective effect of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against bilateral common carotid artery occlusion in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **49**(8): 627–633.
- Rahmani AH, Aly SM, Ali H, AY Babiker, Srikar S et Khan AA. (2014).** Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention of diseases via modulation of anti-inflammatory, anti-oxidant and anti-tumour activity. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, **7**(3):483–491.
- Rania MAM, Aisha SMF, Mohamed ME et Isam AMA. (2014).** Chemical composition, antioxidant capacity, and mineral extractability of Sudanese date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits. *Food Science & Nutrition*, **2**(5):478–489.
- Rao BG, Rao PU, Rao ES, Rao TM et Praneeth VS. (2012).** Evaluation of *in-vitro* antibacterial activity and anti-inflammatory activity for different extracts of *Rauvolfia*

- tetraphylla* L. root bark. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10):818–821.
- Rao KNV, Sunitha Ch, Banjii D, Sandhya S et Saikumar P.(2011).** Pharmacognostic Studies on *Rumex vesicarius*. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1 (1):102–115.
- Reanmongkol W, Noppapan T et Subhadhirasakul S. (2009).** Antinociceptive, antipyretic, and anti-inflammatory activities of *Putranjiva roxburghii* Wall. leaf extract in experimental animals. *Journal of natural medicines*, 63(3):290–296.
- Reddy CS et Vardhaman P. (2013).** Evaluation of *Phoenix dactylifera* fruits for Antiurolithiatic activity. *Hygeia journal for drugs and medicines*, 5(1):135–140.
- Ren J et Chung SH. (2007).** Anti-inflammatory effect of alpha-linolenic acid and its mode of action through the inhibition of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression via NF-kappaB and mitogen-activated protein kinase pathways. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(13):5073–5080.
- Rhouma S, Ould Mohamed Salem A, Zehdi-Azouzi S, Chatti K, Rhouma A, Marrakchi M et Trifi M. (2009).** Comparative analysis of genetic diversity in Tunisian date-palm (*Phoenix dactylifera* L.) as Revealed by RAPDs and AFLPs. *Acta horticulturae*, 814(814):125–130.
- Rice-Evans CA , Miller NJ et Paganga G. (1996a).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7):933–956.
- Rice-Evans CA et Miller NJ. (1996b).** Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society transactions*, 24(3):790–795.
- Rocha DP, Pinto GF, Ruggiero R, Oliveira CA, Guerra W, Fontes APS, Tavares TT, Marzano IM et Pereira-Maia EC. (2011).** Coordenacao de metais a antibioticos como uma estrategia de combate a resistencia bacteriana. *Quimica Nova*, 34:111–118.
- Rock W, Rosenblat M, Borochoy-Neori H, Volkova N, Judeinstein S, Elias M et Aviram M. (2009).** Effects of date (*Phoenix dactylifera* L., Medjool or Hallawi Variety) consumption by healthy subjects on serum glucose and lipid levels and on serum oxidative status: a pilot study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17):8010–8017.
- Rodriguez Vaquero MJ, Alberto MR et Manca de Nadra MC. (2007).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18(2):93–101.

- Rohini RP, Neeraj SV et Prasad AT. (2014).** Neuroprotective and antioxidant role of *Phoenix dactylifera* in permanent bilateral common carotid occlusion in rats. *Journal of Acute Disease*, **3**(2):104–114.
- Rouibi A, Chabane D, Saidi F et Azine K. (2012).** Étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. et de l'ibuprofène chez les souris. *Afrique SCIENCE*, **08**(2):131–137.
- Saafi EB, EL Arem A, Issaoui M, Hammami M et Achour L. (2009).** Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties grown in Tunisia. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**(11): 2314–2319
- Saafi EB, Louedi M, Elfeki A, Zakhama A, Najjar MF, Hammami M et Achour L. (2011).** Protective effect of date palm fruit extract (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate induced-oxidative stress in rat liver. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **63**(5): 433–441.
- Saafi EB, Trigui M, Thabet R, Hammami M et Achour L. (2008).** Common date palm in Tunisia: chemical composition of pulp and pits. *International Journal of Food Science and Technology*, **43**(11): 2033–2037.
- Sahari MA, Barzegar M et Radfar R. (2007).** Effect of varieties on the composition of dates (*Phoenix dactylifera* L.) Note. *Food Science and Technology International*, **13**(4): 269–275.
- Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Ogutcu H, Sengul M, Adiguzel A, Oztürk S et Kotan R. (2003).** Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, **87**(1): 61–65.
- Sahu AN et Laloo D. (2011).** Antioxydant activities of three Indian commercially available Nagakesar: An *in vitro* study. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **3**(1): 277–283.
- Sakr MM, Abu Zeid IM, Hassan AE, Baz AGI et Hassan WM. (2010).** Identification of some Date Palm (*Phoenix dactylifera*) Cultivars by Fruit Characters. *Indian Journal of Science and Technology*, **3**(3): 338–343.
- Salas-Salvado J, Fernandez-Ballart J, Ros E, Martínez-González MA, Fitó M, Estruch R, Corella D, Fiol M, Gómez-Gracia E, Arós F, Flores G, Lapetra J, Lamuela-Raventós R, Ruiz-Gutiérrez V, Bulló M, Basora J et Covas MI. (2008).** Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Archives of internal medicine*, **168**(22): 2449–2458.

- Saleh EA, Tawfik MS et Abu-Tarboush HM. (2011).** Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Various Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits from Saudi Arabia. *Food and Nutrition Sciences*, **2**(10): 1134–1141.
- Saleh FA et Otaibi MM. (2013).** Antibacterial Activity of Date Palm (*Phoenix Dactylifera* L.) Fruit at Different Ripening Stages. *Journal of Food Processing & Technology*, **4**(12): 1–6.
- Salvemini D, Wang ZQ, Wyatt PS, Bourdon DM, Marino MH, Manning PT et Currie MG. (1996).** Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *British Journal of Pharmacology*, **118**(4): 829–838.
- Samad M, Hashim S, Simarani K et Yaacob J. (2016).** Antibacterial Properties and Effects of Fruit Chilling and Extract Storage on Antioxidant Activity, Total Phenolic and Anthocyanin Content of Four Date Palm (*Phoenix dactylifera*) Cultivars. *Molecules*, **21**(4): 419.
- Sameera S, Ken N et Said A. (2015).** The Emerging Australian Date Palm Industry: Date Fruit Nutritional and Bioactive Compounds and Valuable Processing By-Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **14**(6): 813–823.
- Sampietro DA, Catalan CAN et Vattuone MA. (2009).** Isolation, identification and characterization of Allelochemicals/ Natural products, Enfield, New Hampshire 03748 United States of America, 136 p.
- Sanchez-Moreno C. (2002).** Method used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*, **8**(3): 121–137.
- Sanogo R, Maiga A et Diallo D. (2006).** Activites analgesique et anti-inflammatoire des extraits de *Maytenus senegalensis*, *Stereospermum kuntrianum* et *Tricrilia emetica* utilisées dans le traitement traditionnel des dysménorrhées au Mali. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, **14**:123–136.
- Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Di Benedetto R, Filesi C et Masella R. (2007).** Polyphenols, intracellular signalling and inflammation. *Annali dell'Istituto superiore di sanità*, **43**(4): 394-405.
- Sawaya WN, Khatchadourian HA, Khalil JKM et Al-Shalhat A. (1982).** Growth and compositional changes during the various developmental stages of some Saudi Arabian date cultivars. *Journal of Food Science*, **47**(5): 1489–1492.
- Scalbert A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, **30**(12): 3875–3883.

- Seo K, Yang JH, Kim SC, Ku SK, Ki SH et Shin SM.(2014).** The antioxidant effects of isorhamnetin contribute to inhibit COX-2 expression in response to inflammation: a potential role of HO-1. *Inflammation*, **37**(3):712–722.
- Seyed HM, Fatemeh A et Nourollah M. (2015).** Some Quality Attributes and Biochemical Properties of Nine Iranian Date (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivars at Different Stages of Fruit Development. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, **2** (2):161–171.
- Shabani M, Zangiabadi N et Asadi-Shekaari M. (2013).** Evidence for Positive Effects of Date Extract That Attenuates Thermal Hyperalgesia in a Diabetic Rat Model of Neuropathic Pain. *Neuroscience & Medicine*, **4**(1): 16–22.
- Shah V, Shah S, Shah H, Rispoli FJ, McDonnell KT, Workeneh S, Karakoti A, Kumar A et Seal S. (2012).** Antibacterial activity of polymer coated cerium oxide nanoparticles. *PloS one*, **7**(10): 1–13.
- Shahdadi F, Mirzaei HO et Daraei Garmakhany A. (2015).** Study of phenolic compound and antioxidant activity of date fruit as a function of ripening stages and drying process. *Journal of food science and technology*, **52**(3):1814–1819.
- Shamim F, Ali MA, Asghar M, Din A, Babu I et Yasmin Z. (2013).** Controlled ripening of date palm fruit and impact on quality during post harvest storage. *Extensive Journal of Applied Sciences*, **1**(2): 53–57.
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD et Corke H. (2007).** The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*. **117** (1): 112–119.
- Sharma DC, Shukla R, Ali J, Sharma S, Bajpai P et Pathak N. (2016).** Phytochemical evaluation, antioxidant assay, antibacterial activity and determination of cell viability (J774 and THP1 α lpha cell lines) of *P. sylvestris* leaf crude and methanol purified fractions. *EXCLI Journal*, **15**: 85–94.
- Shraideh ZA, Abu-Elteen KH et Sallal AK. (1998).** Ultrastructural effects of date extract on *Candida albicans*. *Mycopathologia*, **142**(3): 119–123.
- Shui G et Leong LP. (2006).** Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, **97**(2): 277–284.
- Silabdi S. (2010).** Extraction, purification et caractérisation d'antioxydants naturels en vue d'une valorisation nutritionnelle. Mémoire de Magister. Université de Blida. 133p.
- Singh V, Guizani N, Essa MM, Hakkim, FL et Rahman MS. (2012).** Comparative analysis of total phenolics, flavonoid content and antioxidant profile of different date varieties

- (*Phoenix dactylifera* L.) from Sultanate of Oman. *International Food Research Journal*, **19**(3): 1063–1070.
- Sohal RS, Mockett RJ et Orr WC. (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free radical biology & medicine*, **1**; **33**(5):575-586.
- Solowey E, Lichtenstein M, Sallon S, Paavilainen H, Solowey E et Lorberboum-Galski H. (2014).** Evaluating Medicinal Plants for Anticancer Activity. *The Scientific World Journal*, **1-12**. doi: 10.1155/2014/721402.
- Souli A, Sebai H, Rtibi K et El-Benna J. (2014).** Effects of Dates Pulp Extract and Palm Sap (*Phoenix dactylifera* L.) on Gastrointestinal Transit Activity in Healthy Rats. *Journal of medicinal food*, **17**(7): 782–286.
- Spigno G, Tramelli L et De Faveri DM. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, **81**(1): 200–208.
- Srivastav VS, Kapadia CV, Mahatma M K, Jha SK, Jha S et Ahmad T. (2013).** Genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in the Kutch region of India using RAPD and ISSR markers. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **25**(11): 907–915.
- Stagos D, Portesis N, Spanou C, Mossialos D, Aligiannis N, Chaita E, Panagoulis C, Reri E, Skaltsounis L, Tsatsakis AM et Kouretas D. (2012).** Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, **50**(11) 4115–4124.
- Sudano Roccaro A, Rita Blanco A, Giuliano F, Rusciano D et Enea V. (2004).** Epigallocatechin-Gallate enhances the activity of Tetracycline in Staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **48**(6): 1968–1973.
- Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, Oppenheim JJ et O’Grady NP. (1999).** New insights into the biology of the acute phase response. *Journal of Clinical Immunology*, **19**(4): 203–214.
- Sulieman AE, Abd Elhafise IA et AbdelrahimAM. (2012).** Comparative Study on Five Sudanese Date (*Phoenix dactylifera* L.) Fruit Cultivars. *Food and Nutrition Sciences*, **3**:1245–1251.

- Szabo MR, Idtoiu C, Chambre D et Lupea AX. (2007).** Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemistry and Materials Science*, **61**(3): 214–216.
- Taain DA. (2013).** Study on physico-chemical and physiological characteristics of date palm fruits (*Phoenix dactylifera* L.) Cv. Um-aldehin. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, **50**(1): 1–5.
- Tabart J, Kevers C, Sipel A, Pincemail J, Defraigne JO et Dommes J. (2007).** Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and stability during storage. *Journal of Food Chemistry*, **105**(3): 1268–1275.
- Tadesse M, Gulliksen B, Strøm MB, Styrvold OB et Haug T. (2008).** Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. *Journal of Invertebrate Pathology*, **99**(3):286–293.
- Tai A, Sawano T, Yazama F et Ito H. (2010).** Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays. *International journal of biochemistry and biophysics*, **1810** (2):170–177.
- Taleb H, Maddocks SE, Morris RK et Kanekanian AD. (2016a).** The Antibacterial Activity of Date Syrup Polyphenols against *S. aureus* and *E. coli*. *Frontiers in microbiology*, **26**; 7:198. doi: 10.3389/fmicb.2016.00198.
- Takahama U (1983).** Redox reactions between kaempferol and illuminated chloroplasts. *Plant physiology*, **71**(3): 598–601.
- Taleb H, Morris RK, Withycombe CE, Maddocks SE et Kanekanian AD.(2016b).** Date syrup-derived polyphenols attenuate angiogenic responses and exhibits anti-inflammatory activity mediated by vascular endothelial growth factor and cyclooxygenase-2 expression in endothelial cells. *Nutrition research*, **36**(7):636–647.
- Tanas S, Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Aygun H, Aslan A et Suleyman H. (2010).** Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. *Journal of natural medicines*, **64**(1): 42–49.
- Tang ZX, Shi LE et Aleid SM. (2013).** Date fruit: chemical composition, nutritional and medicinal values, products. *Journal of the Science of Food and agriculture*, **93**(10):2351–2361.
- Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammed M et El-Elimat T. (2007).** Antioxydant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, **104**(4): 1372–1378.

- Telli A, Mahboub N, Boudjeh S, Siboukeur OEK et Moulti-Mati F. (2010).** Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété Ghars. *Annales des Sciences et Technologie*, **2(2)**: 107–114.
- Turkmen N, Velioglu YS, Sari F et Polat G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, **13 ;12(3)**: 484–496.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M et Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **39(1)**:44–84.
- Vanderlinde FA, Landim HF, Costa EA, Galdino PM, Maciel MA, Anjos GC, Malvar DC, Côrtes WS et Rocha FF. (2009).** Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **45(3)**: 437–442.
- Vayalil PK. (2012).** Date Fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): An Emerging Medicinal Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **52(3)**: 249–271.
- Vyawahare N, Pujari R, Rajendran R, Khsirsagar A, Ingawale D et Patil M. (2009).** Neurobehavioral Effects of *Phoenix dactylifera* in Mice. *Journal of Young Pharmacists*, **1(3)**: 225–232.
- Vyawahare N, Pujari R, Khsirsagar A, Ingawale D, Patil M et Kagathara V. (2012).** *Phoenix dactylifera*: An update of its indigenous uses, phytochemistry and pharmacology. *The Internet Journal of Pharmacology*, **7(1)**: Online.
- Wan Ismail WI et Mohd Radzi MNF. (2013).** Evaluation on the Benefits of Date Palm (*Phoenix dactylifera*) to the Brain. *Alternative & Integrative Medicine*, **2(4)**: 1–3.
- Wang H, Nair MG, Strasburg GM, Chang YC, Booren AM, Gray JI et DeWitt DL. (1999).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of natural products*, **62(2)**: 294–296.
- Waterhouse AL. (2002).** Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, **11.1.1-11.1.8**.
- Winter CA, Risley GA et Nuss GW. (1962).** Carrageenan- induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **111**: 544– 547.

- Wu X, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S et Prior R. (2004).** Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**(12): 4026–4037.
- Yakhlef G, Laroui S, Hambaba L, Aberkane MC et Ayachi A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, **9**: 209–218.
- Yasin BR, El-Fawal HA et Mousa SA. (2015).** Date (*Phoenix dactylifera*) Polyphenolics and Other Bioactive Compounds: A Traditional Islamic Remedy's Potential in Prevention of Cell Damage, Cancer Therapeutics and Beyond. *International journal of molecular sciences*, **17**;16(12):30075-30090.
- Yeh CC, Hou MF, Tsai SM, Lin SK, Hsiao JK, Huang JC, Wang LH, Wu SH, Hou LA, Ma H et Tsai LY. (2005).** Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta*, **361**(1,2):104– 111.
- Youdim KA, McDonald J, Kalt W et Joseph JA. (2002).** Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *The Journal of nutritional biochemistry*, **13**(5): 282–288.
- Yoon C, Chung S, Lee S, Park Y, Lee S et Park M. (2013).** L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. *Revue du Rhumatisme*, **80**(3): 271–278.
- Yu L, Haley Perret J, Harris M, Wilson J et Qian M. (2002).** Free radical scavenging properties of wheat extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(6):1619–1624.
- Yuan YV, Bone DE et Carrington MF. (2005).** Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chemistry*, **91**(3): 485–494.
- Zarai Z, Kadri A, Ben Chobba I, Ben Mansour R, Bekir A, Mejdoub H et Gharsallah N. (2011).** The *in vitro* evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in Health and Disease*, **16**1:1–10.
- Zargar M, Azizah AH, Roheeyati1 AM, Fatimah AB, Jahanshiri F et Pak-Dek MS. (2011).** Bioactive compounds and antioxidant activity of different extracts from *Vitex negundo* leaf. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(12): 2525–2532.

- Zehdi S, Cherif E, Rhouma S, Santoni S, Hannachi AS et Pintaud JC. (2012).** Molecular polymorphism and genetic relationships in date palm (*Phoenix dactylifera* L.): The utility of nuclear microsatellite markers. *Scientia Horticulturae*, **148**: 255–263.
- Zehra S, Saeed A et Fatima S. (2015).** Antioxidant and antibacterial studies of *Phoenix dactylifera* and its varieties. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, **3**:81–88.
- Zhang CR, Aldosari SA, Vidyasagar P et Nair MG. (2013).** Antioxidant and Anti-inflammatory Assays Confirm Bioactive Compounds in Ajwa Date Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**(24): 5834–5840.
- Zhang CX, Dai ZR et Cai QX. (2011).** Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Sipunculus nudus* L. Extract. *Journal of ethnopharmacology*, **137**(3):1177–1182.
- Zheng X, Long W, Guo Y et Ma E. (2011).** Effects of cadmium exposure on lipid peroxidation and the antioxidant system in fourth-instar larvae of *Propilocerus akamusi* (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions. *Journal of economic entomology*, **104**(3): 827–832.
- Zhou W, kanagasabai J, Liu P, Jayasimha A, Sinha P, Veeramachanemi M, Miller B et Nes WD. (2004).** Mechanism-based enzyme inactivators of phytosterol biosynthesis, *Molecules*, **9**(4): 185–203.
- Zhou X, Peng J, Fan G et Wu Y . (2005).** Isolation and purification of flavonoid glycosides from *Trollius ledebouri* using high-speed counter-current chromatography by stepwise increasing the flow-rate of the mobile phase. *Journal of chromatography. A*, **28;1092**(2):216–221.
- Zineb G, Boukouada M, Djeridane A, Saidi M et Yousfi M. (2012).** Screening of antioxidant activity and phenolic compounds of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, **5**(2): 119–126.

Publication

ANTIOXIDANT AND ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF WIDELY CONSUMED DATE PALM (*PHOENIX DACTYLIFERA* L.) FRUIT VARIETIES IN ALGERIAN OASES

SAFIA ALI HAIMOUD^{1,3}, RACHIDA ALLEM¹ and ABDELAZIZ MEROUANE²

¹Department of Biology, Laboratory of Natural Local Bio-Resources, Faculty of Sciences, University of Hassiba Benbouali, Chlef 02000, Algeria

²Institute of Agricultural Sciences, University of Hassiba Benbouali, Ouled Fares, Chlef 02010, Algeria

³Corresponding author.
TEL: +21-35-4058-3806;
FAX: +21-32-744-3319;
EMAIL: safia.nutrition@gmail.com

Received for Publication July 11, 2015
Accepted for Publication October 30, 2015

doi:10.1111/jfbc.12227

ABSTRACT

The purpose of this study was to estimate the antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic extracts of date palm fruits grown in Algeria. Four *in vitro* methods were employed to evaluate the antioxidant activity (AA), namely β -carotene-linoleic acid system, phosphomolybdenum method, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity and Ferric-Reducing Antioxidant Power assay. The anti-inflammatory activity was carried out using carrageenan-induced edema model. The extracts were found to be a rich source of polyphenols, flavonoids and flavonols. The methanolic extract of Ali Ourached cultivar showed the highest AA for the four methods cited previously (76.85%, 90.25 μ mol of ascorbic acid/g of extract, 206 μ g/mL and 56.04 μ mol Fe (II) / 100 g DW, respectively). Anti-inflammatory findings revealed noticeable reduction of paw volume ranging from 35.64 to 67.56% as a response to oral administration of 250 mg/kg dose of methanolic extracts. This study constitutes an endeavor for understanding the bioactive phytochemical variability in date palm fruit cultivars and corresponding antioxidant and anti-inflammatory activities.

PRACTICAL APPLICATIONS

In this study, the biological potentials of methanolic extracts of date palm fruits (*Phoenix dactylifera* L.) were evaluated. The date cultivars could potentially be considered as a functional food and could be useful as a good source of natural antioxidant compounds with possible applications to reduce oxidative stress and treatment of chronic inflammatory pathologies. The results suggest that date palm fruits contain potent antioxidant and anti-inflammatory properties that can find application in food science, food technology and nutrition.

INTRODUCTION

The health benefits of fruits and vegetables in the human diet are well known and are supported strong scientific evidence. Fruits and vegetables have historically been considered rich sources of some essential dietary micronutrients, and more recently they have been recognized as important sources for a wide array of phytochemicals that individually, or in combination, may benefit health (Stavric 1994). Different beneficial compounds are found in all parts of plants such as leaves, fruits, seeds, roots and bark; several elements of this chemical mixture may possibly be found advanta-

geous with their biological activities such as antioxidant activity (AA) (Aliakbarlu *et al.* 2014).

An antioxidant can be defined as “any substance that, when present at low concentrations compared with those of an oxidizable substrate, significantly delays or prevents oxidation of that substrate.” Antioxidant compounds act by several mechanisms such as inhibition of generation and scavenging activity against reactive oxygen species (ROS) (Kim *et al.* 2012). ROS can react with and damage complex cellular molecules such as fats, proteins, or DNA, accompanied with appearance of numerous pathological disturbances, such as cancer, hypertension, cardiovascular disease,

autoimmune disease, diabetes, multiple sclerosis and arthritis (Burits and Bucar 2000).

The fruit of palm date, considered as an ideal food that provides a wide range of essential nutrients with many potential health benefits, served as a staple nutritious food and source of wealth for many years. This fruits are a rich source of carbohydrates, dietary fibers, certain essential vitamins and minerals. Several studies have indicated that dates contain a wide variety of natural antioxidants such as phenolic acids, flavonoids and tannins (Mansouri *et al.* 2005; Biglari *et al.* 2008).

Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits are widely consumed in Algeria, but there are few reports in the literature of studies on its chemical composition and biological properties. Palm date fruits are still insufficiently studied in relation to their antioxidant and anti-inflammatory activity. Great efforts have scientifically invested to minimize insufficient knowledge about various phytochemicals of date palm fruits (DPF) that may provide enormous nutritional benefits. As a part of this effort, this report has been expended to show biological potentials of various Algerian DPF varieties.

There is no data reported about date cultivars of the El-Oued region (South-East of Algeria). Therefore, the aim of this present study was (a) to evaluate the total phenolic, flavonoid and flavonol amounts of methanolic extracts from seven cultivars of date palm (*P. dactylifera* L.) fruits and (b) to examine the AA and the anti-inflammatory activity. To our best knowledge, this is the first report showing the anti-inflammatory action of DPF using carrageenan-induced edema model in mice.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

Chemicals used in this work were analytical grade. The solvents (methanol and chloroform), sulfuric acid, sodium bicarbonate, sodium phosphate, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, hydrochlorid acid, carrageenan and butylated hydroxytoluene (BHT) were supplied from Sigma-Aldrich GmbH (Stemheim, Germany). Folin-Ciocalteu (FC) reagent, β -carotene, sodium hydroxide, gallic acid, ascorbic acid, catechin, linoleic acid, rutin, Tween 40 and 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) were obtained from Sigma Chemical Co (St. Louis, MO). Sodium nitrite, sodium acetate, ammonium molybdate and aluminum chloride were from Fluka Co. (Bushes, Switzerland).

Collection of Plant Materials

Seven different Algerian date palm fruit cultivars were collected from the El-Oued region (South-East of Algeria) at the final stage of fruit ripeness, at the beginning of the 2012

harvest season, locally named: Tantebouchte, Biraya, Degla Baidha, Deglet-Nour, Ali Ourached, Ghars and Tansine. Ten date palm trees were served to the harvest of each variety, from each of them 10 mature dates with homogeneous size and without damage were taken. The 100 dates were mixed and were brought to the laboratory in paper bags in refrigerator for the analysis.

Preparation of the Plant Extract

Preparation of methanolic extracts was made according to Biglari *et al.* (2008). A portion (100 g) of the edible parts of DPF was soaked in 300 mL of methanol 80% using an orbital shaker at laboratory conditions, for 5 h. The mixture was filtered and then centrifuged at 4000 \times g for 10 min. The supernatant was concentrated by rotary vacuum evaporator at 40C to afford the crude extract, which was kept in airtight bottles at 4C until used.

Phytochemical Composition

Measurement of Total Phenolic Content. The assay of total phenolic content (TPC) of methanolic extracts was carried out by the colorimetric method using FC reagent and gallic acid as standard (Al-Farsi *et al.* 2005). Briefly, 200 μ L of crude extract at 1 mg/mL were mixed with 1.5 mL of FC reagent (prediluted 10-fold with distilled water) and allowed to stand at room temperature for 5 min, and then 1.5 mL of sodium bicarbonate (60 g/L) was added to the mixture. The reaction mixture was incubated in dark at room temperature for 90 min and its absorbance was measured at 725 nm. The same procedure was repeated for all gallic acid concentrations solutions. All tests were carried out in triplicate.

The TPC was calculated from the standard curve and expressed as milligram gallic acid equivalent per 100 g dry weight (mg GAE/100 g DW).

Measurement of Total Flavonoid Content. The total flavonoid content (TFC) of methanolic extracts was determined by the colorimetric method using aluminum chloride reagent and catechin as standard according to the protocol described by Biglari *et al.* (2008). Four milliliters of distilled water and 1 mL of crude extract (1 mg/mL) were mixed with 0.3 mL of sodium nitrite (5%, w/v), and 0.3 mL of aluminum chloride (10%, w/v). After incubation period at room temperature for 5 min, 2 mL of sodium hydroxide (1 M) were added. The reaction mixture was diluted up to 10 mL with distilled water with agitation. Absorbance was measured at 510 nm. The same procedure was repeated for all catechin concentrations solutions. All tests were carried out in triplicate.

The total flavonoid amount was calculated from the standard curve and expressed as milligram catechin equivalent per 100 g dry weight (mg CEQ/100 g DW).

Measurement of Total Flavonol. The concentration of total flavonols (TF) of the extracts of date fruits was determined by the colorimetric method described by Jimoh *et al.* (2010). Briefly, 500 μ L of DPF extracts (1 mg/mL) was mixed with 500 μ L of aluminum chloride (2%, w/v) and 500 μ L of sodium acetate solutions (5%, w/v). The absorbance at 440 nm was determined after 2.5 h at room temperature. The same procedure was repeated for rutin concentrations solutions.

The TF compound was calculated from the standard curve and expressed as milligram rutin equivalent per 100 g dry weight (mg REQ/100 g DW).

In Vitro Antioxidant Studies

Antioxidant Activity Using β -Carotene-Linoleic Acid System. AA was performed according to the method described by Dapkevicius *et al.* (1998). The model test mixture was prepared by dissolving 0.2 mg of β -carotene in 0.5 mL of chloroform, 25 μ L of linoleic acid and 200 mg of Tween 40 were added. Chloroform was totally evaporated at 40C, followed immediately by adding 100 mL of distilled water saturated with oxygen during 30 min. Two hundred microliters of each extract, prepared at 200 μ g/mL were added to 4 mL of the previous mixture followed by incubation period (50C for 120 min), together with two controls, one containing the synthetic antioxidant, BHT at 200 μ g/mL as a positive control and the other with the same volume of methanol instead of the extract as negative control. The absorbance was measured at 470 nm. All tests were carried out in triplicate.

AA of the extracts and BHT was evaluated in terms of the blanching of β -carotene in following way:

$$AA (\%) = (A_{\text{ext}}/A_{\text{BHT}}) \times 100$$

where A_{ext} and A_{BHT} are the absorbance measured for the methanolic extracts and the BHT after incubation for 120 min, respectively.

Total Antioxidant Using Phosphomolybdenum Assay. The total antioxidant capacity of the methanolic extracts in the phosphomolybdenum method was expended following the protocol of Prieto *et al.* (1999). 0.3 mL from each sample extract were combined with 3 mL of reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate, and 4 mM ammonium molybdate). A typical blank solution, containing all reagents except the test extract, was prepared. All tubes were capped and incubated in a water bath at 95C

for 90 min and then cooled at room temperature. The absorbance was measured at 695 nm. The experiment was performed in triplicate. The standard curve was constructed using different concentrations of ascorbic acid (10–100 μ g/mL). The AA was expressed as the number of equivalents of ascorbic acid (μ mol of ascorbic acid/g of extract).

DPPH Radical Scavenging Activity. The ability of the methanolic extracts from *P. dactylifera* fruits to donate an electron and scavenge DPPH free radical was determined by the method of Blois (1958). Sixty microliters of different concentrations of methanolic extracts (20, 50, 100, 200, 300, 400 μ g/mL) were mixed with 1500 μ L of methanol solution of DPPH (6×10^{-5} M). After an incubation period of 30 min at room temperature, the absorbance of the samples was read at 517 nm. Methanol was used to zero to spectrophotometer and DPPH' solution was used as blank sample. The DPPH' solution was prepared fresh daily and stored in a dark bottle at 4C. The percentage inhibition (I %) of the DPPH radical was evaluated according to the formula:

$$I (\%) = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}/A_{\text{blank}}) \times 100$$

where A_{blank} is the absorbance of the control and A_{sample} is the absorbance of the test extract with DPPH solution. The same procedure was repeated for BHT concentrations solutions as positive control. All tests were realized in triplicate.

The AA of the extracts was expressed as IC₅₀, this value denotes the concentrations (in μ g/mL) of extracts required to scavenge 50% of DPPH radicals and was obtained by interpolation from linear regression analysis. Values are presented as means \pm SD of three parallel measurements.

Ferric-Reducing Antioxidant Power Assay. The Ferric-Reducing Antioxidant Power (FRAP) of the methanolic extracts was measured according the method described by Benzie and Strain (1996). The FRAP reagent was prepared from sodium acetate buffer (0.3 M, pH 3.6), 10 mM TPTZ solution in 40 mM HCl and 20 mM FeCl₃·6H₂O solution in proportion of 10:1:1 (v:v:v), respectively. The FRAP reagent was freshly prepared and was warmed to 37C. Twenty microliters of various methanolic extracts were added to 1.5 mL of FRAP reagent. The obtained blue solutions were kept at room temperature for 20 min at 37C, and then the absorbance was monitored at 593 nm. FeSO₄·7H₂O solution (100–2,000 μ mol/L) was used for calibration of standard curve. The results were expressed as μ mol Fe (II)/100 g dry weight (DW).

In Vivo Studies

Swiss albino mice (weighing between 25 and 30 g) of both sex were used in the present study. They were housed in polypropylene cages and were left for 2 days for

acclimatization to animal room maintained under controlled condition (a 12 h light, 12 h dark photoperiod at $24 \pm 2^\circ\text{C}$), and fed with standard laboratory pellets. Food and water were given ad libitum.

Ethics. All *in vivo* experimental procedures and the protocol employed were approved according to the guidelines established by the laboratory of toxicology and pharmacology (Antibiotic group – Medea, Algeria), following the recommendations of the European Pharmacopoeia 8.0 under reference number 215/2013.

Acute Toxicity. Acute lethal toxicity test of different extracts of DPF was carried out to Doha and Al-Okbi (2004). The animals were kept fasting for overnight providing only water, and the different extracts were given orally at the dose level of 100, 300 and 1000 mg/kg body weight. The animals were observed continuously for its behavioral for first 4 h and for mortality at the end of 24 h.

Anti-Inflammatory Activity. The anti-inflammatory property of methanolic extracts of DPF was tested through the experiment model of carrageenan-induced acute paw edema in mice according to Winter *et al.* (1962). The mice were fasted overnight but had free access to water. A dose of 250 mg/kg methanolic extracts was orally administered to the mice (Chandran *et al.* 2012). The mice were divided into three groups of five animals each as follows:

Group 1: Oral feeding of 3 mL/kg of distilled water (control group).

Group 2: Oral feeding of indomethacin (10 mg/kg) (reference group).

Group 3: Oral feeding of the different methanolic extracts of DPF (250 mg/kg) (tested group).

After 30 min, 0.1 mL of 1% (w/v) carrageenan solution in normal saline was injected in the planter region of the left paw and the right paw was served as reference. The paw volumes were measured plethsmographically after 5 h of carrageenan injection. The percentage increase in paw edema of the treated group was compared with that of the control. The percentage increase in paw edema was calculated using the following formula:

$$\text{Percentage inhibition (\%)} = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100$$

where

V_c , increase in paw volume in the control group.

V_t , mean increase in paw volume in animals treated with the methanolic extracts of DPF.

Statistical Analysis

All data were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Statistical analyses were performed by a analysis of variance

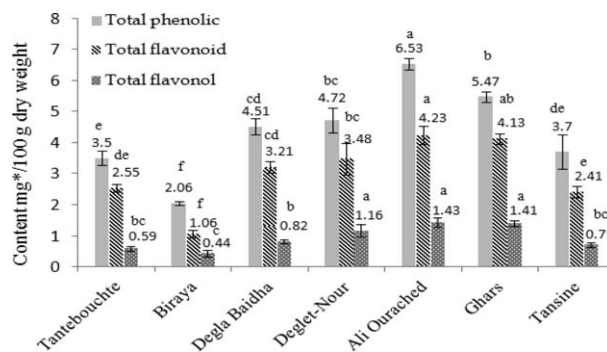


FIG. 1. TOTAL PHENOLIC, FLAVONOID AND FLAVONOL CONTENTS OF SEVEN ALGERIAN DATE PALM VARIETIES

Significantly different values are represented by different letters (a, b, c, d, e, f) ($P < 0.05$). *Contents are represented as mg Gallic acid equivalent for total phenolic, mg Catechin equivalent for flavonoid and mg Rutin equivalent for flavonol.

(ANOVA) using Past program, version 2.15. Differences at $P < 0.05$ were considered statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Phytochemical Composition

Total Phenolic Content. All results were expressed on a dry weight basis. The amounts of TPC, TFC and TF in methanolic extracts of DPF are shown in Fig. 1.

As summarized in Fig. 1, there were significant differences ($P < 0.05$) among the different cultivars of date. The TPC showed variation in different methanolic extracts of DPF and the range was from 2.06 ± 0.06 to 6.53 ± 0.18 mg GAE/100 g DW. Ali Ourached date had the highest TPC with 6.53 ± 0.18 mg GAE/100 g DW, followed by Ghars (5.47 ± 0.17 mg GAE/100 g DW), Deglet-Nour (4.72 ± 0.41 mg GAE/100 g DW), Degla Baidha (4.51 ± 0.26 mg GAE/100 g DW), Tansine and Tantebouchte (3.70 ± 0.56 and 3.50 ± 0.23 mg GAE/100 g DW, respectively), whereas Biraya date showed the lowest TPC with 2.06 ± 0.06 mg GAE/100 g DW.

According to Mansouri *et al.* (2005), the TPC of methanolic extracts of date fruits from Ghardaia region (Algeria) varied from 2.49 to 8.36 mg GAE/100 g DW of fresh fruit. Our findings are in accordance with these results. However, a recent study (Saafi *et al.* 2009) with four different cultivars were harvested from the Southern region of Tunisia reported that the TPC values ranged between 209.42 and 447.73 mg GAE/100 g DW of fresh fruit. These levels are much higher than this study.

In other hand, five free phenolic acids in Algerian date fruits from Biskra and Ghardaia regions have been identified, including gallic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, cinnamic

acid and caffeic acid (Mansouri *et al.* 2005); Benmeddour *et al.* 2013).

The phenolic amounts in palm date fruits might have affected by several factors such as variety, growing condition, maturity, season, geographic origin, fertilizer, soil type, cultural methods, process and stabilization conditions, climatic conditions, use of different analytical methods, storage condition and the choice of solvent (Besbes *et al.* 2009); El Arem *et al.* 2012).

Total Flavonoid Content. Results obtained by aluminum chloride colorimetric, involved in the quantification of TFC, are shown in Fig. 1.

As can be seen from Fig. 1, the methanolic extracts of date fruits differed in their TFC. The values of TFC varied from 1.06 ± 0.12 to 4.23 ± 0.29 mg CEQ/100g DW. Statistical analysis reveals that Ali Ourached and Ghars extracts have the maximum TFC amounts with 4.23 ± 0.29 mg CEQ/100 g DW and 4.13 ± 0.17 mg CEQ/100 g DW, respectively. The least TFC fraction was detected in Biraya variety (1.06 ± 0.12 mg CEQ/100 g DW).

These results were in agreement with previous results documented by Biglari *et al.* (2008) who reported that the TFC of Iranian date cultivars are ranged between 1.62 and 4.71 mg CEQ/100g DW, the only exception was Kharak date that showed the highest TFC than other cultivars (81.79 mg CEQ/100 g DW).

Habitually, DPF include three major compounds called isoquercetrin, rutin and quercetrin, whereas the minor compounds are quercetin and luteolin (Benmeddour *et al.* 2013), but qualitative and/or quantitative flavonoid content variations can be found in DPF depending on cultivars, growing seasons, other agricultural practices and also variation in assays' protocols (Yuan *et al.* 2005).

Phenolic compounds such as flavonoids are widely found in food products derived from plant sources and they possess diverse biological activities such as anti-inflammatory, anti-carcinogenic and anti-atherosclerotic activities. These activities might be related to their antioxidant action (Chung *et al.* 1998).

Total Flavonol. The mean values of TF compounds of the seven DPF are presented in Fig. 1. There are variations and significant differences ($P < 0.05$) in TF between some cultivars. The contents ranged from 0.44 ± 0.10 to 1.43 ± 0.15 mg REQ/100 g DW. The highest level of TF was observed in Ali Ourached, followed by Ghars, while the lowest concentration was found in Tantebouchte and Biraya. In this context Benmeddour *et al.* (2013) have reported that the TF contents of Algerian date cultivars from Biskra region ranged between 6.73 and 36.64 mg REQ/100 g DW. The observed variation may mainly be attributed to the cultivars and extraction condition.

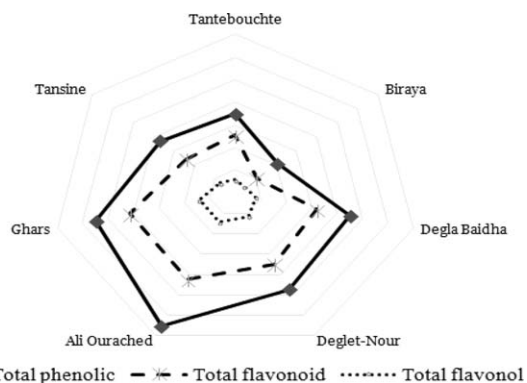


FIG. 2. RADAR SHOWING THE POSITIVE CORRELATION BETWEEN PHENOLIC, FLAVONOID AND FLAVONOL CONTENTS OF DATE PALM FRUIT VARIETIES

The quantitative characterization of phenolic, flavonoid and flavonol compounds reveals a positive correlation between their amounts in all seven varieties (Fig. 2, this proportionality affirms the importance of flavonoids in phenolic mixture of DPF).

Antioxidant Activity

The antioxidant capacities are influenced by many factors, which cannot be fully described with one single method. Therefore, it is necessary to perform more than one type of antioxidant capacity measurement to take into account the various mechanisms of antioxidant action. Several assays are used for the evaluation of antioxidant activities of fruits and vegetables, these methods were applied to quench and scavenge ROS, which comprise both free radicals ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , HO_2^{\cdot} and RO^{\cdot}) and non-radical forms (H_2O_2 and 1O_2) (Sánchez-Moreno 2002).

In this article, the methanolic extracts of DPF were subjected to a screening for the possible AA by four complementary and universally tests, namely β -carotene-linoleic acid system, phosphomolybdenum method, DPPH radical scavenging activity and FRAP assay to their simplicity, stability and accuracy.

β -Carotene-Linoleic Acid System. In this β -carotene bleaching model, β -carotene undergoes rapid discoloration in the absence of an antioxidant such as phenolics that can hinder the extent of β -carotene destruction by neutralizing the linoleate free radical and any other free radicals formed within the system (Dapkevicius *et al.* 1998). Table 1 depicts the inhibition of β -carotene bleaching effect of the methanolic extracts of date fruits at 200 μ g/mL in comparison with BHT as a positive control at the same concentration. For safety purposes, the US Food and Drug Administration limit the use of BHT to 0.02% of food lipid content (Shui and Leong 2006).

TABLE 1. ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF SEVEN ALGERIAN DATE PALM FRUIT VARIETIES

Variety name	Inhibition by β -carotene-linoleate model system	Total antioxidant activity (Phosphomolybdenum assay)	IC ₅₀ DPPH	FRAP
	(%)	μmol of ascorbic acid/g of extract	$\mu\text{g}/\text{mL}$	(μmol Fe (II)/100g DW)
Tantebouchte	53.96 \pm 0.93f	55.02 \pm 0.62f	353 \pm 1b	24.16 \pm 0.72d
Biraya	49.85 \pm 0.45g	42.83 \pm 0.77g	380.66 \pm 5.85a	21.64 \pm 1.09d
Degla Baidha	58.55 \pm 0.49de	67.05 \pm 0.39d	266.66 \pm 2.51c	28.02 \pm 0.91c
Deglet-Nour	62.33 \pm 0.62c	86.76 \pm 0.63b	248.66 \pm 2.08d	33.95 \pm 1.20b
Ali Ourached	76.85 \pm 0.66b	90.25 \pm 0.79a	206 \pm 2.64e	56.04 \pm 1.09a
Ghars	60.20 \pm 0.79d	74.23 \pm 0.65c	247.33 \pm 3.51d	28.33 \pm 0.66c
Tansine	57.68 \pm 0.71e	65.24 \pm 0.46e	263.33 \pm 0.57c	18.95 \pm 0.78e
BHT (positive control)	93.25 \pm 0.29a	–	185 \pm 1.44f	–

Note: a–g: Values (mean \pm standard deviation, $n=3$) in the same column sharing different letters are significantly different ($P < 0.05$).

BHT, butylated hydroxytoluene; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DW, dry weight; FRAP, ferric-reducing antioxidant power; IC₅₀, the concentration that caused 50% scavenging of DPPH.

It can be noticed that the methanolic extracts show appreciable antioxidant activities which varied from 49.85 \pm 0.45 to 76.85 \pm 0.66%. None date palm fruit extract exceeded the positive control (BHT) exhibiting (93.25 \pm 0.29%).

To our best knowledge, there is no published data regarding the antioxidant assay by β -carotene-linoleate model system of DPF. Our results reveal that the highest AA was depicted in Ali Ourached date (76.85 \pm 0.66%) and followed by Deglet-Nour date (62.33 \pm 0.62%), whereas Biraya date had the lowest AA (49.85 \pm 0.45%). This arrangement could be attributed to their significant difference in the contents of total phenolic amounts. These results suggest that DPF contain primary and power antioxidant compounds that can easily quench free radical and ROS in lipid system.

The total AA of DPF can be attributed to plethora of substrates present in the matrix under investigation such as phenolic acid, anthocyanins, tannins, carotenoids, flavonoids and flavonols (Al-Farsi *et al.* 2005); Benmeddour *et al.* 2013). El Arem *et al.* (2011) reported the identification of 80 aroma components in the extracts of DPF, including 20 esters, 19 terpenes, 13 aldehyde, 6 ketones, 12 hydrocarbons and 1 lactone which can also affect the AA. Moreover their individual action, these constituents can exhibit synergistic effects which can be established between them.

Phosphomolybdenum Method. The total AA of the methanolic extracts of DPF was measured using phosphomolybdenum method which was based on the reduction of Mo (VI) to Mo (V) by the antioxidant compounds and the formation of green phosphate/Mo (V) complex with a maximal absorption at 695 nm. The different methanolic extracts of date exhibited various degrees of antioxidant capacity.

As can be shown from Table 1, Biraya date showed the lowest level (42.83 \pm 0.77 μmol of ascorbic acid/g of extract), while Ali Ourached showed the highest value (90.25 \pm 0.79 μmol of ascorbic acid/g of extract) and followed by Deglet-

Nour, Ghars, Degla Baidha, Tansine and Tantebouchte. In addition, Ali Ourached was twofold higher as compared to Biraya date. This activity might be related to the presence of antioxidant secondary metabolites. These observations are in agreement with the results found by Abbès *et al.* (2013).

DPPH Free Radical-Scavenging Activity. The normal purple color of DPPH will turn into yellow when its singlet electron will be paired up, thus decreasing the intensity of the absorption at 517 nm (Aroz *et al.* 2014). A linear curve was plotted for each extract to determine the IC₅₀. IC₅₀ values of the methanolic extracts of DPF are listed in Table 1. There was a significant difference ($P < 0.05$) among the analyzed cultivars of date in relation to the general average, with values varying from 206 \pm 2.64 to 380 \pm 5.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

The results showed that the antiradical activity was cultivars-dependent. In agreement with the previous result assays, Ali Ourached had the strongest DPPH scavenging capacity, whereas the lowest DPPH radical quenching was observed in the Biraya variety. The AA in the methanolic extracts of DPF decreases in the order: Ali Ourached > Ghars > Deglet-Nour > Tansine > Degla Baidha > Tantebouchte > Biraya. The AA of the methanolic extract was lower than those observed in BHT (185 \pm 1.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

These results were in line with Benmeddour *et al.* (2013) who found that date fruits possessed powerful DPPH scavenging capacities.

It is reported that synthetic antioxidants have several side effects, such as risk of liver damage and carcinogenesis in laboratory animals (Ishurda and Kennedy 2005). Recent epidemiological evidence suggests that natural antioxidants have health-promoting properties that may reduce the risk associated with chronic diseases such as cardiovascular disease (Fuhrman *et al.* 1995), neurodegenerative diseases (Joseph *et al.* 1999) and certain cancers (Dragsted *et al.* 1993).

FRAP Assay. Concerning FRAP assay, Table 1 summarized the values of the AA of seven cultivars of DPF using the FRAP assay and showed significant differences ($P < 0.05$) between them.

For the FRAP assay, the different cultivars, in general, showed high antioxidant activities and had ability to reduce Fe^{+3} to Fe^{+2} . The FRAP values ranged from 18.95 ± 0.78 to $56.04 \pm 1.09 \mu\text{mol Fe (II)} / 100\text{g DW}$, and the difference was large, up to 03-fold. Ali Ourached was found to have the highest AA, followed by Deglet-Nour, Ghars, Degla Baidha, Tantebouchte and Biraya. Tansine possessed the lowest AA.

As a point of comparison, FRAP assay demonstrated that Algerian date varieties, analyzed in the present report, possess high AA than Iranian soft date varieties called Jiroft, Bam and Kabkab (13.32 , 16 and $11.65 \mu\text{mol Fe (II)}/100\text{g DW}$, respectively), whereas the Honey variety ($20 \mu\text{mol Fe (II)}/100\text{g DW}$) belongs to the interval of our findings (Biglari *et al.* 2008). However, Allaith (2008), for the FRAP assay, the AA of Bahrain dates at tamer stage ranged from 0.65 to $1.18 \text{ mmol Fe (II)}/100\text{g fresh or edible weight}$.

Various studies demonstrated a linear correlation between phenolic content in plant and their antioxidant capacities due to their free radical scavenging activity or metal chelating ability; some reports found a strength relationship between the both (Mianabadi *et al.* 2015), whereas others authors found no correlation (Saafi *et al.* 2009).

It is well known that, phenolic compounds are mainly responsible for AA of DPF (Biglari *et al.* 2008). The antioxidant potential of each of these components depends on the kind of test system employed to measure oxidant capacity, structure and substitution pattern of hydroxyl groups (Tepe *et al.* 2011).

In Vivo Studies

Acute Toxicity. The date palm fruit extracts did not change the normal behavior of mice treated and failed to cause any mortality even at the highest dose of 1000 mg/kg . Acute toxicity studies showed that the methanolic extracts obtained from seven date palm fruit varieties were found safe. These results were in agreement with previous findings by Doha and Al-Okbi (2004).

Anti-Inflammatory Activity

Carrageenan-Induced Acute Paw Edema in Mice. Inflammation plays an important role in various diseases with high prevalence populations such as rheumatoid, atherosclerosis and asthma (Mueller *et al.* 2010).

To the best of our knowledge, it is the first report to demonstrate the anti-inflammatory potency of methanolic extracts of DPF against carrageenan-induced edema model, in mice. The extracts have significant effect on inflammation

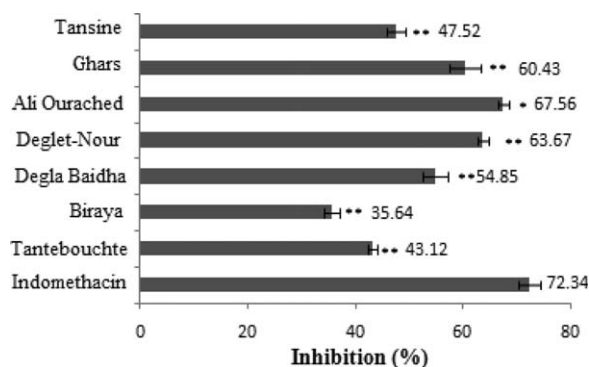


FIG. 3. THE PERCENTAGE INHIBITION OF CARRAGEENAN INDUCED ACUTE PAW EDEMA IN MICE AFTER 5 H

The data are representative of five experiments and are mean \pm SE. Indomethacin was used as a reference compound (10 mg/kg). Statistical differences from indomethacin-treated control as analyzed by Dunnett's test (* $P < 0.01$, ** $P < 0.001$).

and markedly reduced the swelling (Fig. 3). The inhibition percentages after 5 h were ranged from 35.64 to 67.56% . The sequence of the percentage of inhibition effect of the extracts at a dose of 250 mg/kg body weight is as follow: Ali Ourached (67.56%) > Deglet-Nour (63.67%) > Ghars (60.43%) > Degla Baidha (54.85%) > Tansine (47.52%) > Tantebouchte (43.12%) > Biraya (35.64%), which can be compared with standard indomethacin (72.34%) at 10 mg/kg body weight. These findings confirm that a diet rich in date fruits may contribute to the reduction of inflammation and be preventive against related diseases.

Ueno *et al.* (2000) found that the injection of carrageenan induced the liberation of inflammatory mediators such as histamine, serotonin, bradykinins and then further induced the biosynthesis of prostaglandin. Studies have shown that the date constituents proanthocyanidin (Subarnas and Wagner 2000), flavonoids and polyphenols (Gescher 2004) possess anti-inflammatory effects. These constituents work to heighten humoral and cellular mediated immune responses, by enhancing cytokine secretion, or by directly stimulating B or T lymphocytes (Puri *et al.* 2000).

CONCLUSIONS

Antioxidant and anti-inflammatory activities of seven Algerian DPF were screened in this study. Results showed appreciable levels of TPC, TFC and TF in all varieties and prove that locally date fruits can be considered as an important source of natural antioxidants and as nutraceutical food.

Ali Ourached, Ghars and Deglet-Nour possessed the strongest antioxidant and anti-inflammatory activities which could be contributed to their considerable content of antioxidant compounds. These findings confirm the importance of consumption of dates and signify that they are very

important source of natural bioactive molecules, which can prevent against diseases related to oxidative stress.

The discernible variability of bioactive phytochemical (phenolics, flavonoids and flavonols) amounts, antioxidant and anti-inflammatory activities denotes the distinction between genotypes of the seven date palm cultivars.

ACKNOWLEDGMENT

Authors are grateful to Mr. Mehdi Selmane (Department of Biology, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria) for his help during the collection of plant material.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- ABBÈS, F., KCHAOU, W., BELCKER, C., ONGENA, M., LOGNAY, G., ATTIA, H. and BESBES, S. 2013. Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Ind. Crop Prod.* *44*, 634–642.
- AFROZ, R., TANVIR, E. M., ASIFUL ISLAM, M., ALAM, F., GAN, S.H. and IBRAHM KHALIL, M. 2014. Potential antioxidant and antibacterial properties of a popular jujube fruit: apple kul (*Zizyphus mauritiana*). *J. Food Biochem.* *38*, 592–601.
- AL-FARSI, M., ALASALVAR, C., MORRIS, A., BARON, M. and SHAHIDI, F. 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *J. Agric. Food Chem.* *53*, 7592–7599.
- ALIAKBARLU, J., MOHAMMADI, S. and KHALILI, S. 2014. A study on antioxidant potency and antibacterial activity of water extracts of some spices widely consumed in Iranian diet. *J. Food Biochem.* *38*, 159–166.
- ALLAITH, A.A.A. 2008. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *Int. J. Food Sci. Technol.* *43*, 1033–1040.
- BENMEDDOUR, Z., MEHINAGIC, E., LE MEURLAY, D. and LOUAILECHE, H. 2013. Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars: A comparative study. *J. Funct. Food.* *5*, 346–354.
- BENZIE, I.F. and STRAIN, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* *239*, 70–76.
- BESBES, S., DRIRA, L., BLECKER, C., DEROANNE, C. and ATTIA, H. 2009. Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Food Chem.* *112*, 406–411.
- BIGLARI, F., ABBAS, F.M., ALKARKHI, F.M.A. and EASA, A. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.* *107*, 1636–1641.
- BLOIS, M. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* *181*, 1199–1200.
- BURITS, M. and BUCAR, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* *14*, 323–328.
- CHANDRAN, R., THANGARAJ, P., SHANMUGAM, S., THANKARAJAN, S. and KARUPPUSAMY, A. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory potential of *Monochoria vaginalis* (burm. f.) c. presl.: A wild edible plant. *J. Food Biochem.* *36*, 421–431.
- CHUNG, K., WONG, T., WEI, C., HUANG, Y. and LIN, Y. 1998. Tannins and human health: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* *6*, 421–464.
- DAPKEVICIUS, A., VENSKUTONIS, R., VAN BEEK, T.A. and LINSSEN, J. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agric.* *77*, 140–146.
- DOHA, M.A. and AL-OKBI, S.Y. 2004. *In vivo* evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of different extracts of date fruits in adjuvant arthritis. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* *13*, 397–402.
- DRAGSTED, L., STRUBE, M. and LARSEN, J. 1993. Cancer-protective factors in fruits and vegetables: Biochemical and biological background. *Pharmacol. Toxicol.* *72*(Suppl 1), 116–135.
- EL AREM, A., FLAMINI, G., SAAFI, E. B., ISSAOUI, M., ZAYENE, N., FERCHICHI, A., HAMMAMI, M., HELAL, A. and ACHOUR, L. 2011. Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. *Food Chem.* *127*, 1744–1754.
- EL AREM, A., SAAFI, E.B., FLAMINI, G., ISSAOUI, M., FERCHICHI, A., HAMMAMI, M., HELAL, A.N. and ACHOUR, L. 2012. Volatile and nonvolatile chemical composition of some date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) harvested at different stages of maturity. *Int. J. Food Sci. Technol.* *47*, 549–555.
- FUHRMAN, B., LAVY, A. and AVIRAM, M. 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* *61*, 549–554.
- GESCHER, A. 2004. Polyphenolic phytochemicals versus non-steroidal anti-inflammatory drugs: Which are better cancer chemopreventive agents? *J. Chemother.* *16*, 3–6.
- ISHURDA, O. and KENNEDY, J.F. 2005. The anti-cancer activity of polysaccharide prepared from Libyan dates (*Phoenix dactylifera* L.). *Carbohydr. Polym.* *59*, 531–535.
- JIMOH, F.O., ADEDAPO, A.A. and AFOLAYAN, A.J. 2010. Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food Chem. Toxicol.* *48*, 964–971.
- JOSEPH, J.A., SHUKITT-HALE, B., DENISOVA, N.A., BIELINSKI, D., MARTIN, A., MCEWEN, J. and BICKFORD, P.C. 1999. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *J. Neurosci.* *19*, 8114–8121.

- KIM, E.Y., KIM, Y.R., NAM, T.J. and KONG, I.S. 2012. Antioxidant and DNA protection activities of a glycoprotein isolated from a seaweed, *Saccharina japonica*. *Int. J. Food Sci. Technol.* **47**, 1020–1027.
- MANSOURI, A., EMBAREK, G., KOKKALOU, E. and KEFALAS, P. 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.* **89**, 411–420.
- MIANABADI, M., HOSHANI, M. and SALMANIAN, S. 2015. Antimicrobial and anti-oxidative effects of methanolic extract of *Dorema aucheri* boiss. *J. Agric. Sci. Tech.* **17**, 623–634.
- MUELLER, M., HOBIGER, S. and JUNGBAUER, A. 2010. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chem.* **122**, 987–996.
- PRIETO, P., PINEDA, M. and AGUILAR, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.* **269**, 337–341.
- PURI, A., SAHAI, R., SINGH, K.L., SAXENA, R.P., TANDON, J.S. and SAXENA, K.C. 2000. Immunostimulant activity of dry fruits and plant materials used in Indian traditional medical system for mothers after childbirth and invalids. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 89–92.
- SAAFI, E.B., EL AREM, A., ISSAOUI, M., HAMMAMI, M. and ACHOUR, L. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties grown in Tunisia. *Int. J. Food Sci. Technol.* **44**, 2314–2319.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. 2002. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci. Tech. Int.* **8**, 121–139.
- SHUI, G. and LEONG, L.P. 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chem.* **97**, 277–284.
- STAVRIC, B. 1994. Role of chemopreventers in human diet. *Clin. Biochem.* **27**, 319–332.
- SUBARNAS, A. and WAGNER, H. 2000. Analgesic and anti-inflammatory activity of the proanthocyanidin shelleagueain A from *Polypodium feei* METT. *Phytomedicine.* **7**, 401–405.
- TEPE, B., DEGERLI, S., ARSLAN, S., MALATYALI, E. and SARIKURKCU, C. 2011. Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia.* **82**, 237–246.
- UENO, A., NARABA, H., IKEDA, Y., USHIKUBI, F., MURATA, T., NARAMIYA, S. and OHISHI, S. 2000. Intrinsic prostacyclin contributes to exudation induced by bradikinin or carrageenan: A study on the paw edema induced in ip-receptor deficient mice. *Life Sci.* **66**, 155–160.
- WINTER, C.A., RISLEY, G.A. and NUSS, G.W. 1962. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **3**, 544–547.
- YUAN, Y.V., BONE, D.E. and CARRINGTON, M.F. 2005. Antioxidant activity of dulce (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chem.* **91**, 485–494.

Annexes

Annexes

Annexe I: Tests *in vitro*

1. Courbes d'étalonnages de l'étude phytochimique

1.1. Dosage des polyphénols totaux

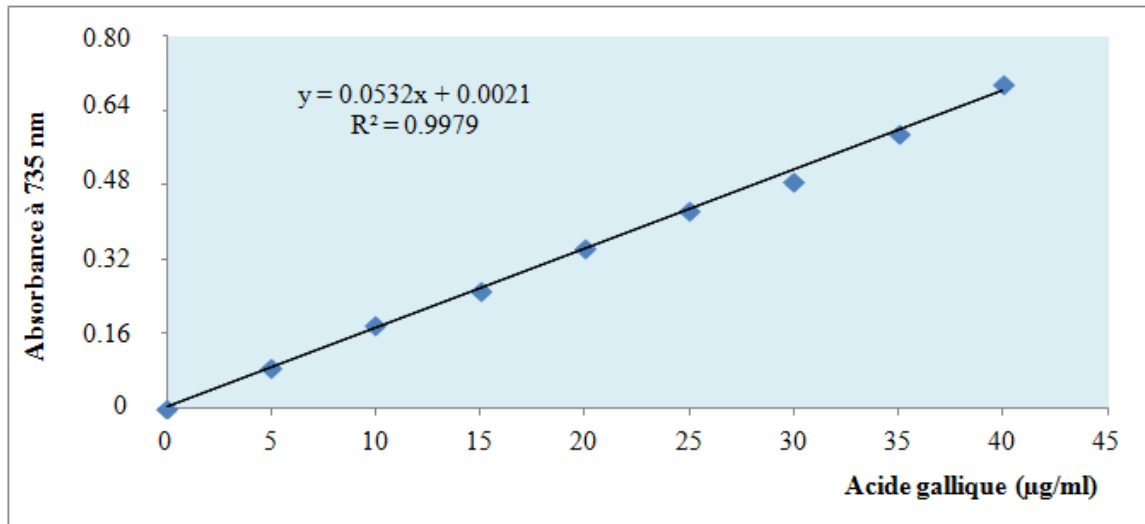


Figure 39: Courbe d'étalonnage d'acide gallique à 725nm.

1.2. Dosage des flavonoïdes

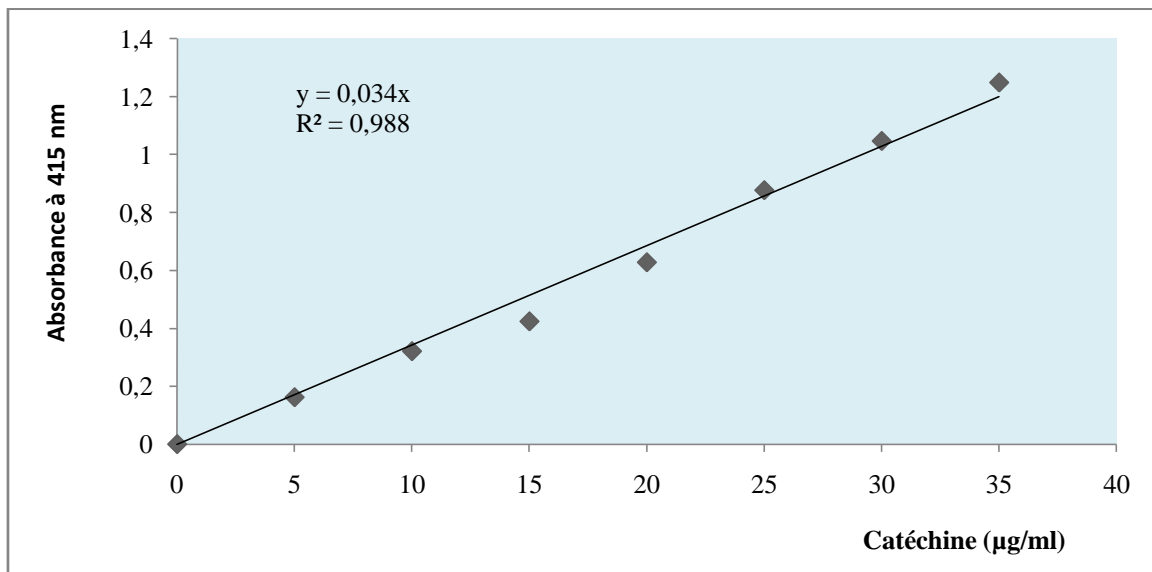


Figure 40: Courbe d'étalonnage de catéchine à 510nm.

1.3. Dosage des flavonols

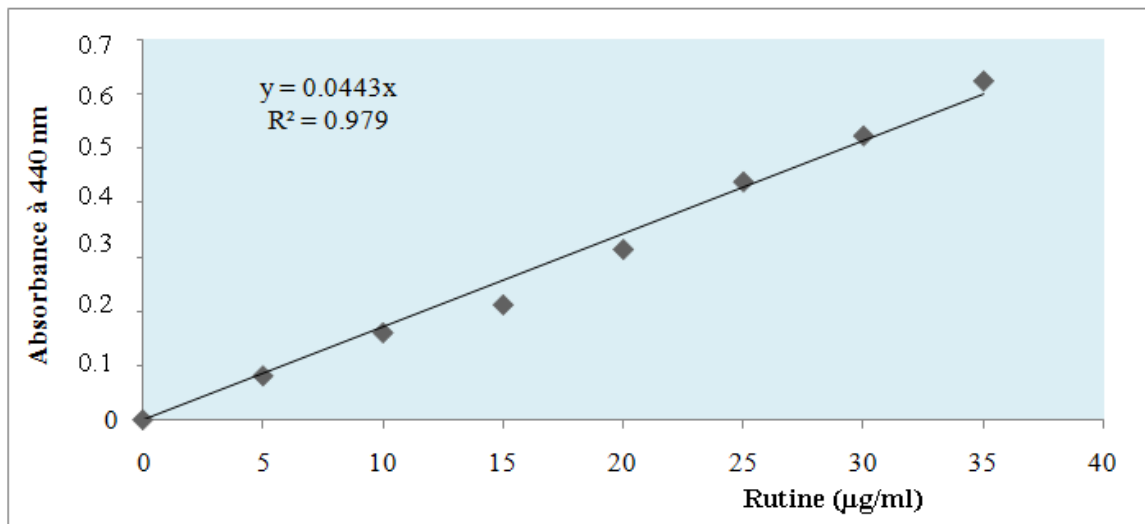
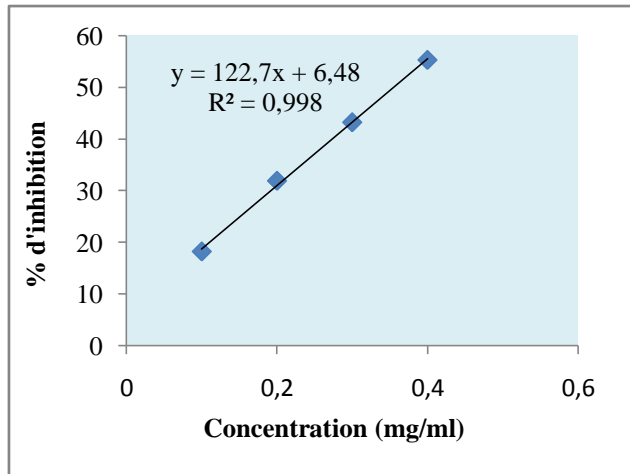


Figure 41: Courbe d'étalonnage de rutine à 440nm.

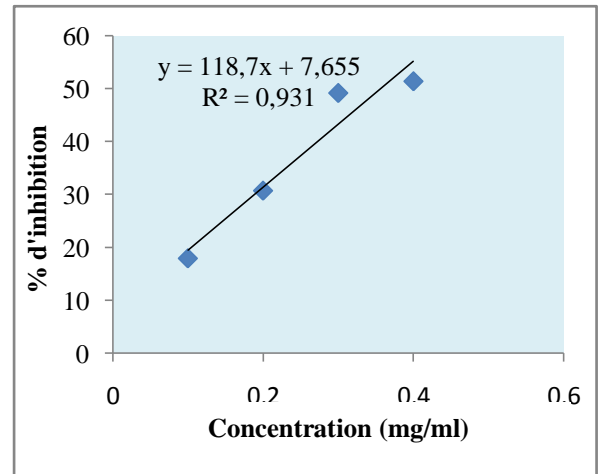
2. Courbes d'étalonnages de l'activité antioxydante

2.1. Test de DPPH

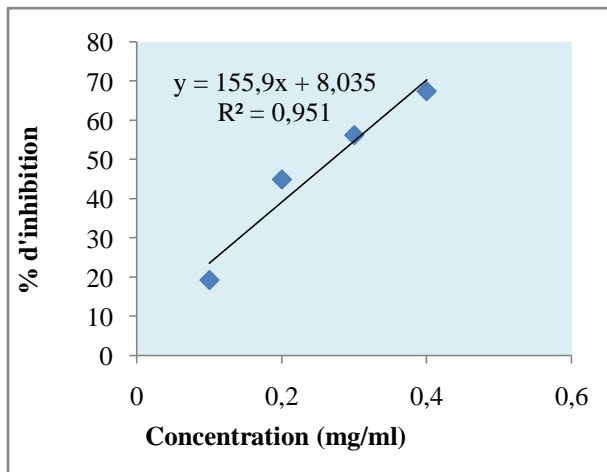
Figure 42: Courbes [% inhibition=f (concentration)] pour le calcul des IC50



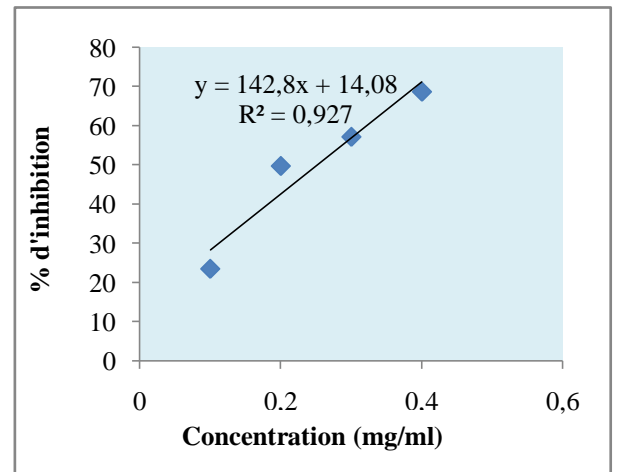
Courbe de l'extrait méthanolique de Tantebouchte.



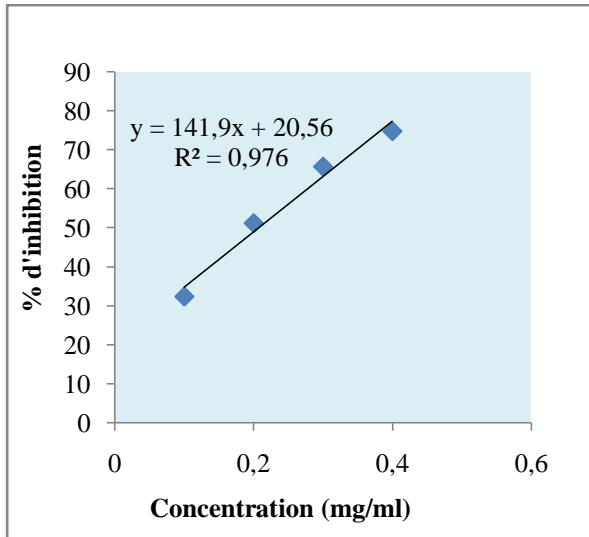
Courbe de l'extrait méthanolique de Biraya.



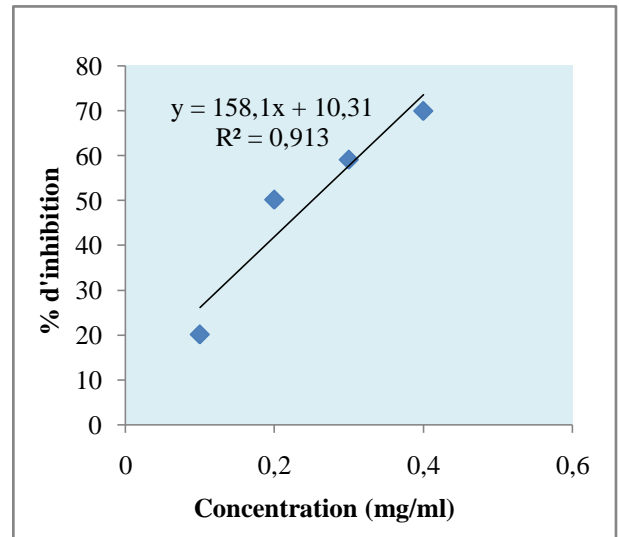
Courbe de l'extrait méthanolique des Degla Baidha.



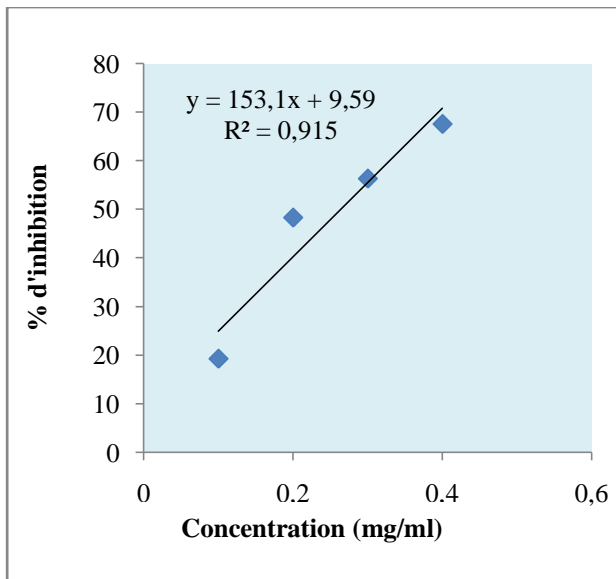
Courbe de l'extrait méthanolique de Deglet-Nour.



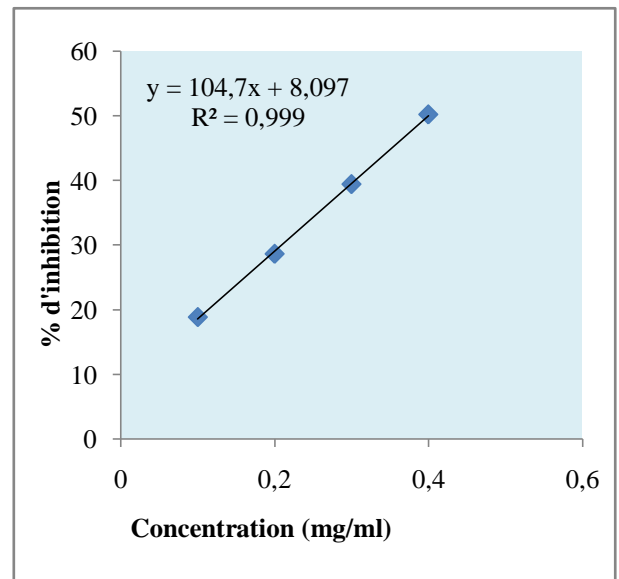
Courbe de l'extrait méthanolique d'Ali Ourached.



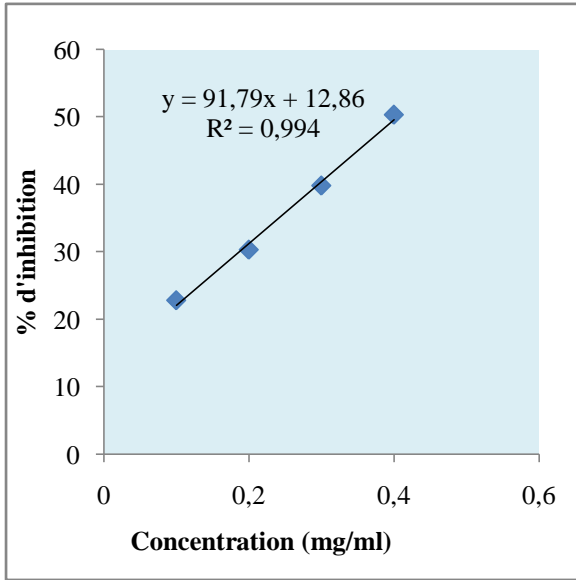
Courbe de l'extrait méthanolique de Ghars.



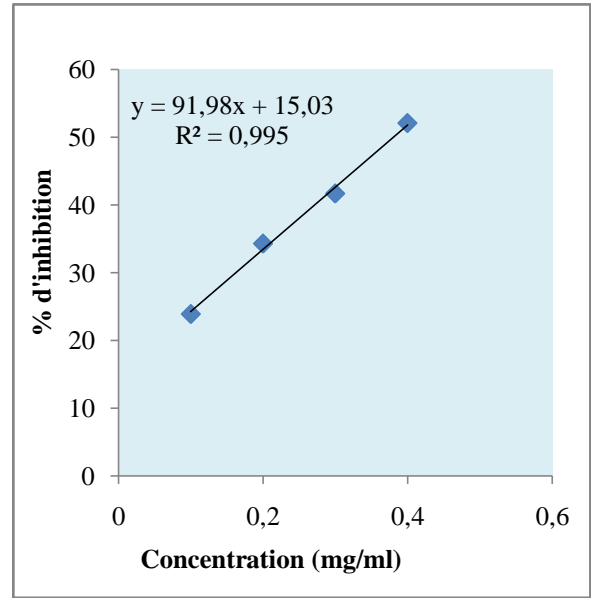
Courbe de l'extrait méthanolique de Tansine.



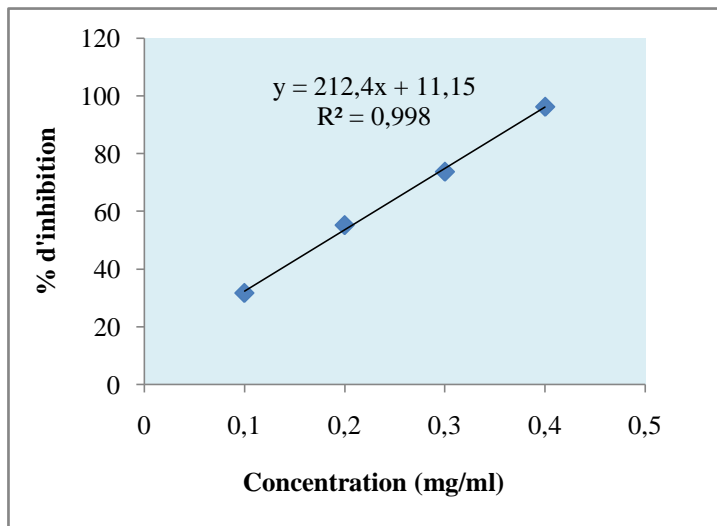
Courbe de l'extrait méthanolique de Figheth.



Courbe de l'extrait méthanolique de Tamajort.



Courbe de l'extrait méthanolique de Hamraya.



Courbe du standard BHT.

2.2. Activité antioxydante totale par la méthode phosphomolybdate

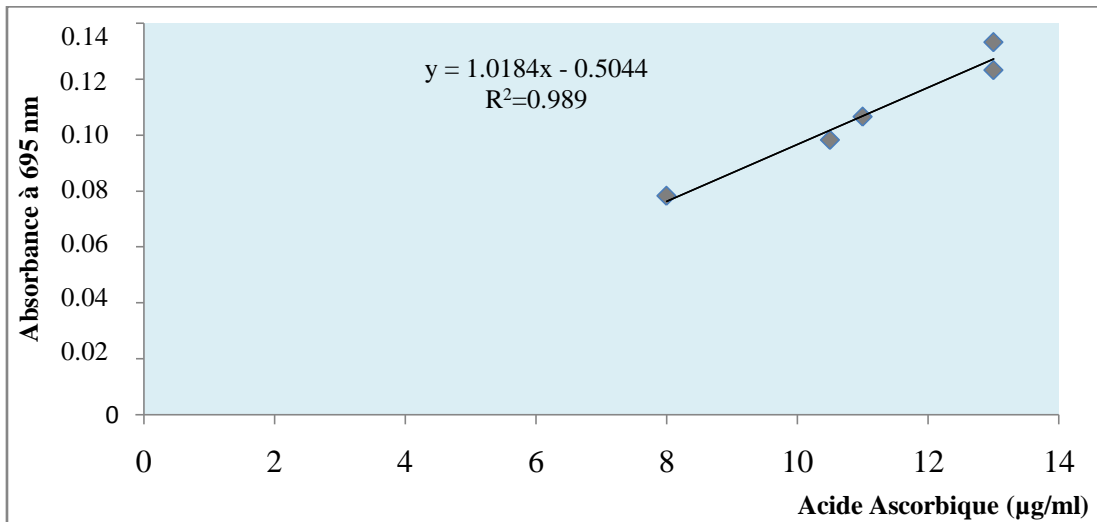


Figure 43: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique à 695 nm.

2.3. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

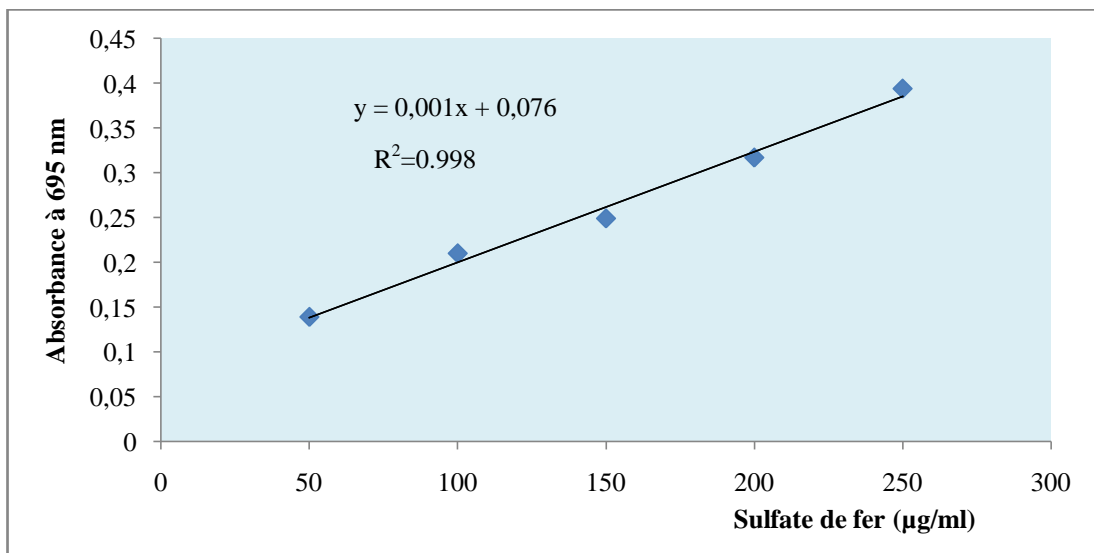


Figure 44: Courbe d'étalonnage de sulfate de fer à 593 nm.

3. Chromatogrammes de l'identification des composés phénoliques des extraits méthanoliques des dattes

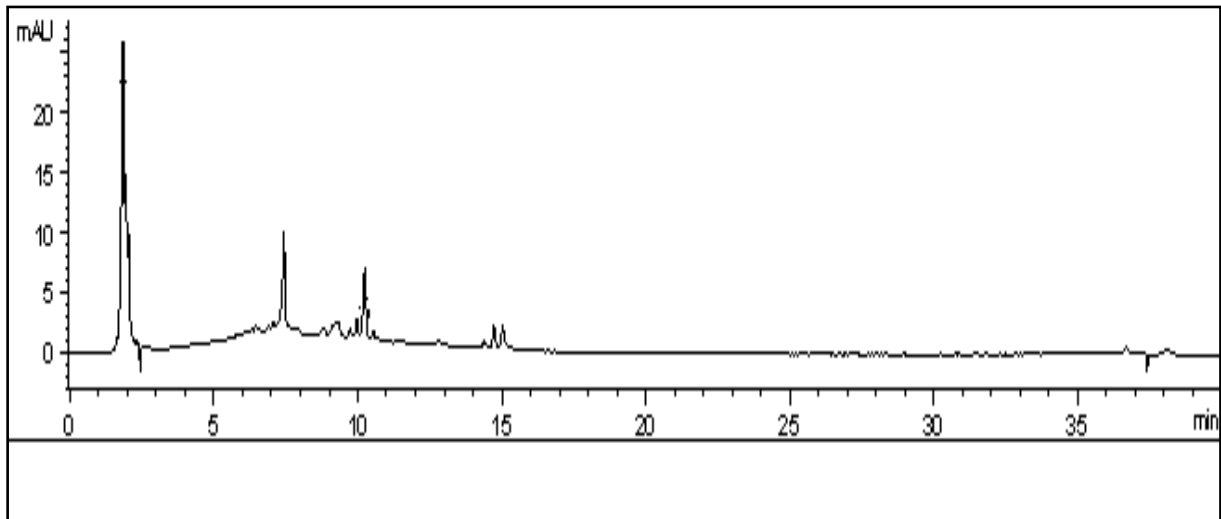


Figure 45: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tantebouchte à 365nm.

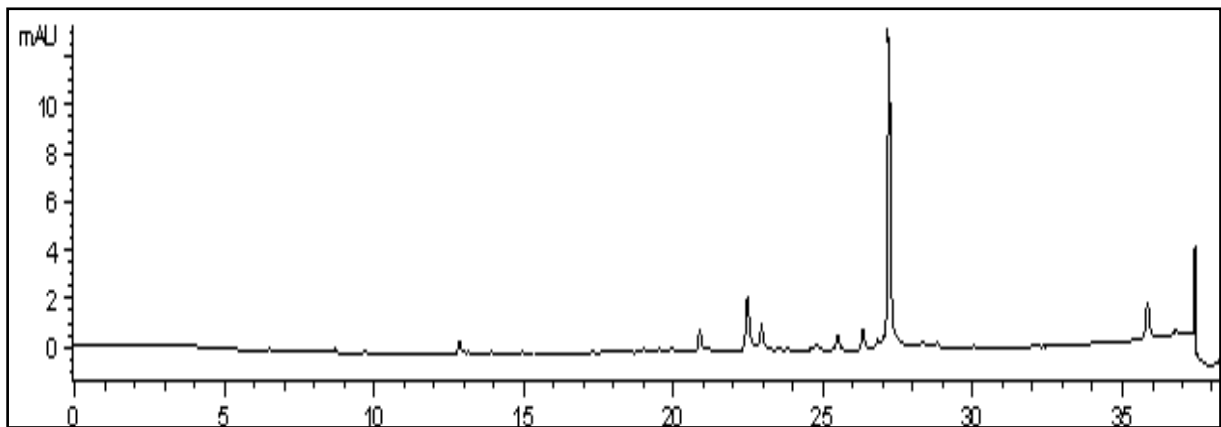


Figure 46 : Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Hamraya à 280nm.

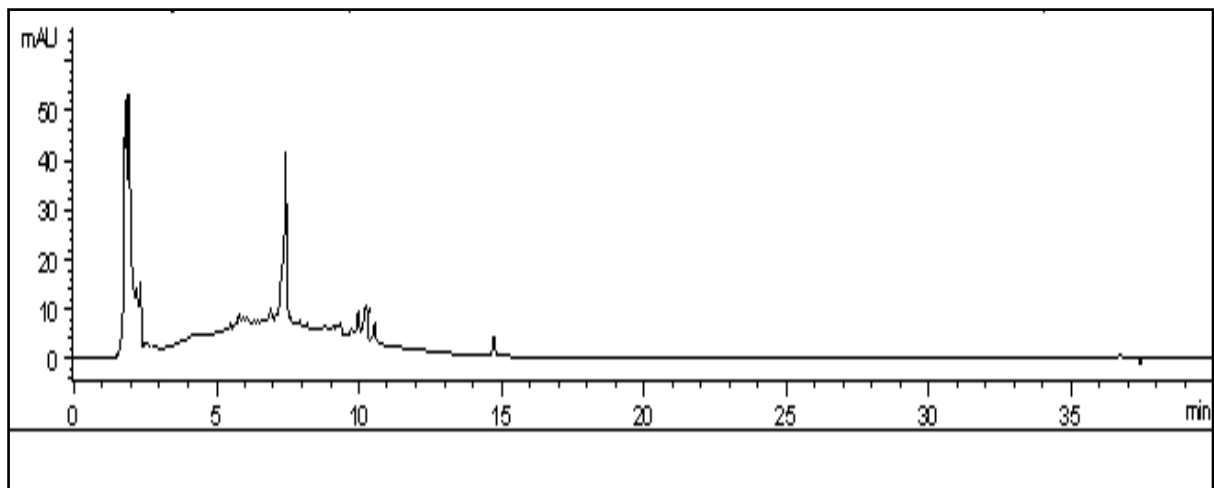


Figure 47: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Biraya à 365nm.

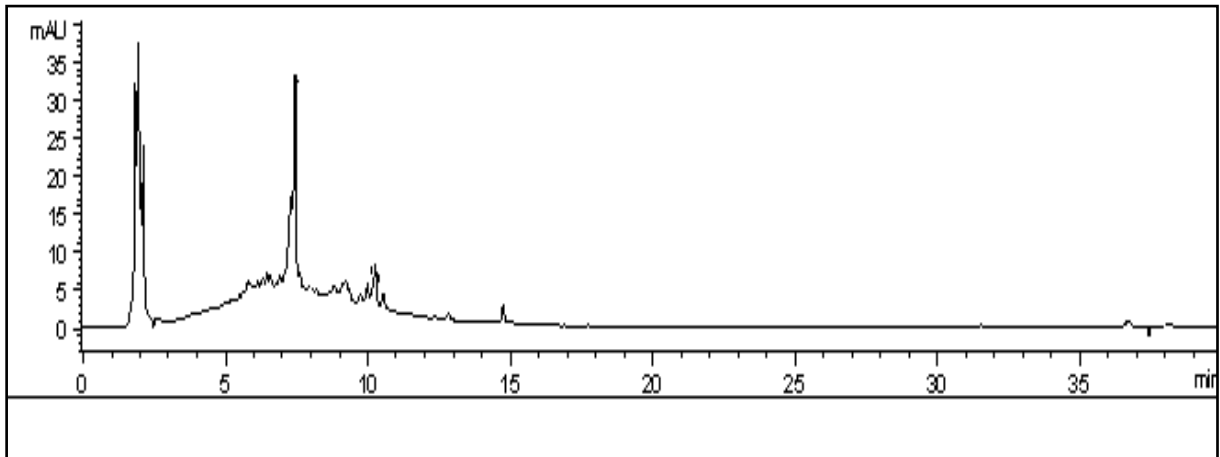


Figure 48: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Figeth à 365nm.

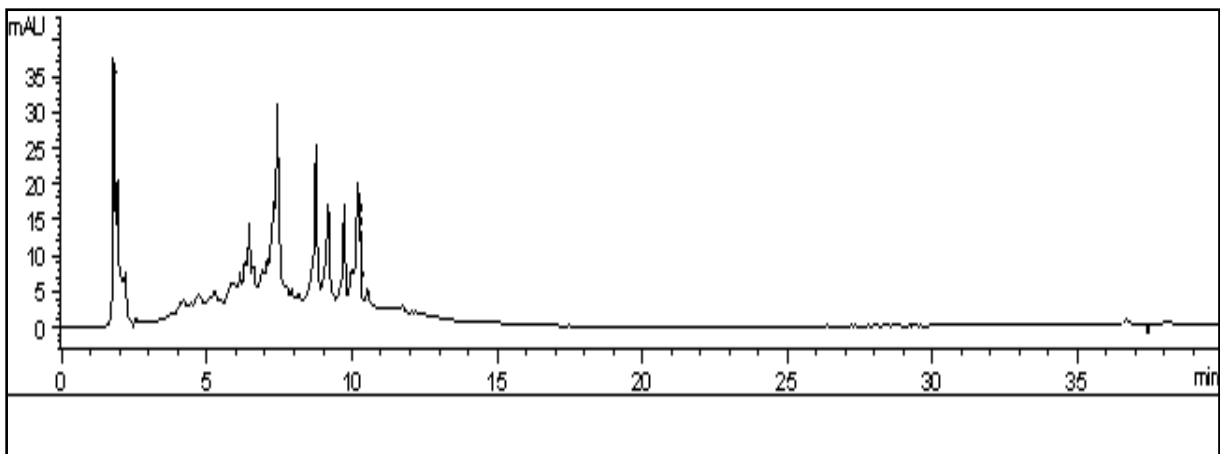


Figure 49: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Degla Baidha à 365nm.

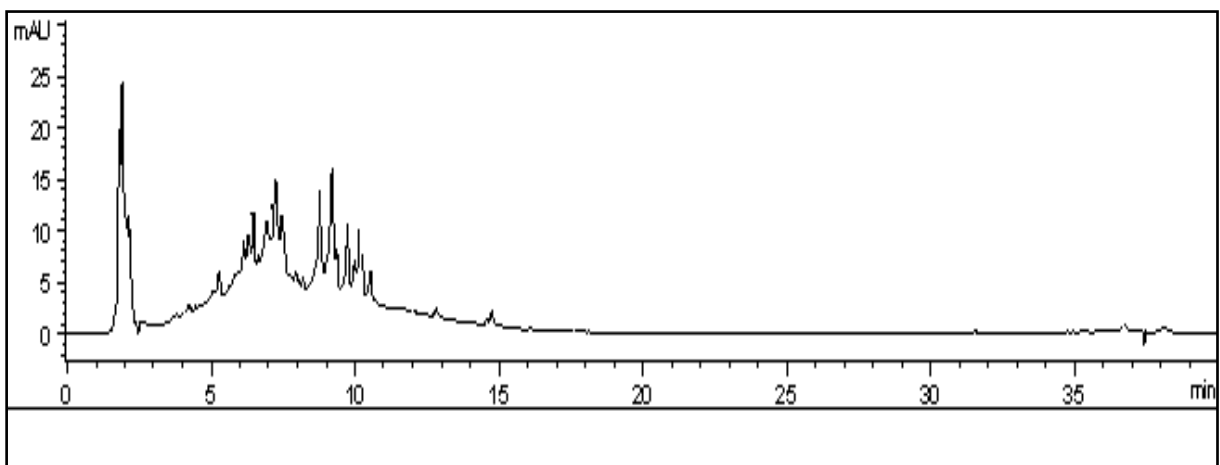


Figure 50: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Deglet-Nour à 365nm.

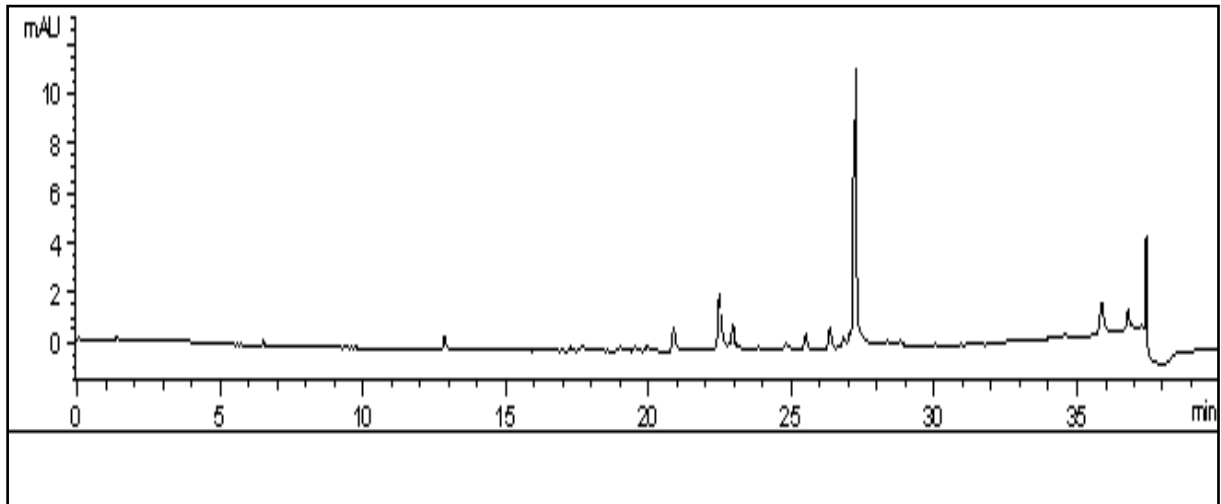


Figure 51: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Ali Ourached à 280nm.

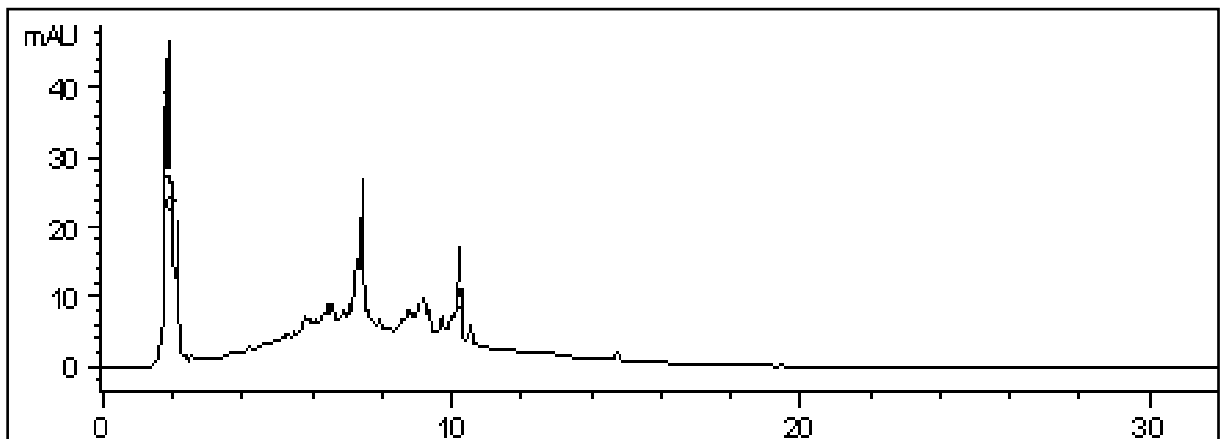


Figure 52: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tamajort à 365nm.

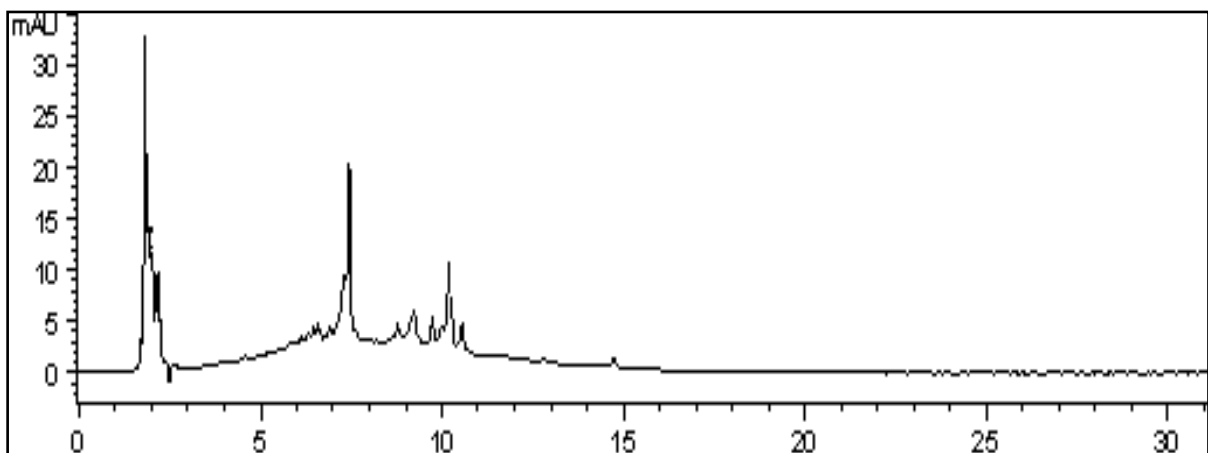


Figure 53: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Ghars à 365nm.

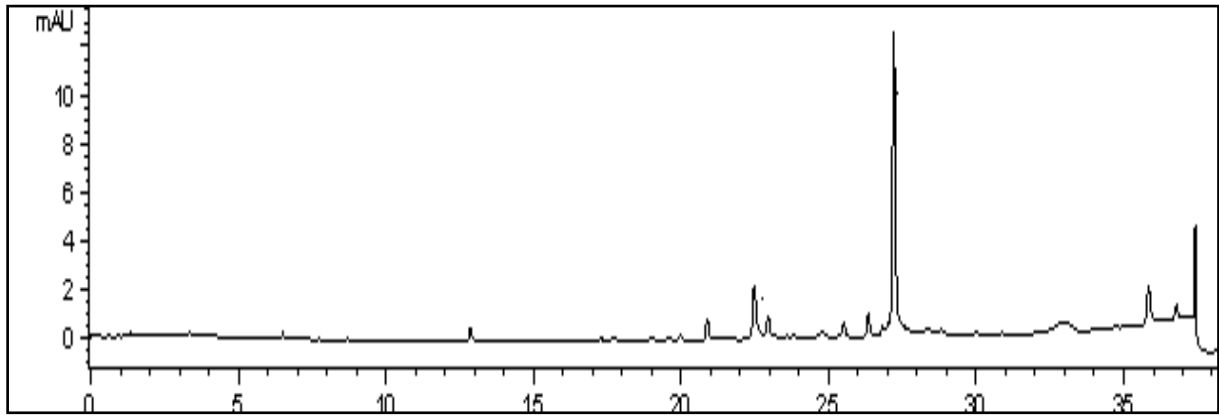


Figure 54: Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de la variété Tansine à 280nm.

4. Résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits testés

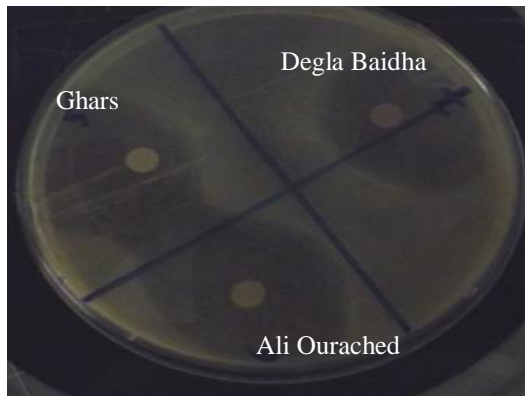


Figure 55: Effet des extraits méthanoliques sur *Salmonella typhimurium* ATCC14028.

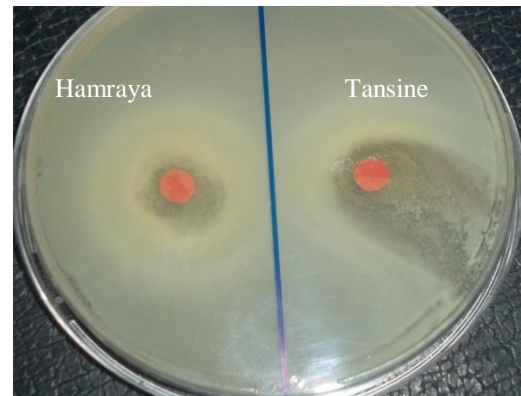


Figure 56: Effet des extraits méthanoliques sur *Bacillus spizizenii* ATCC6633.

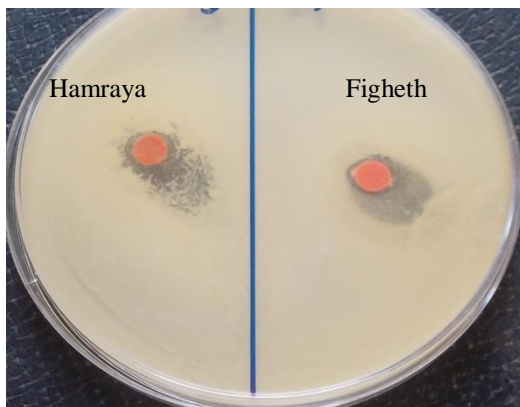


Figure 57: Effet des extraits méthanoliques sur *Staphylococcus aureus* ATCC638P.

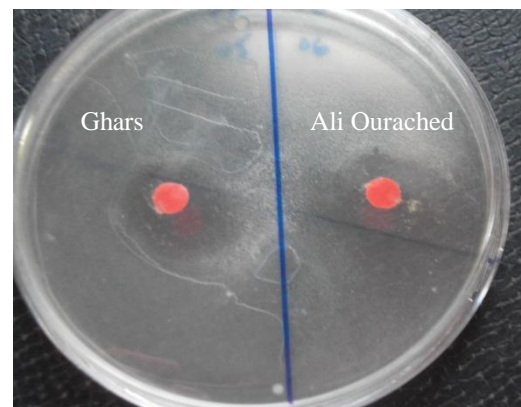


Figure 58: Effet des extraits méthanoliques sur *Escherichia coli* ATCC8739.

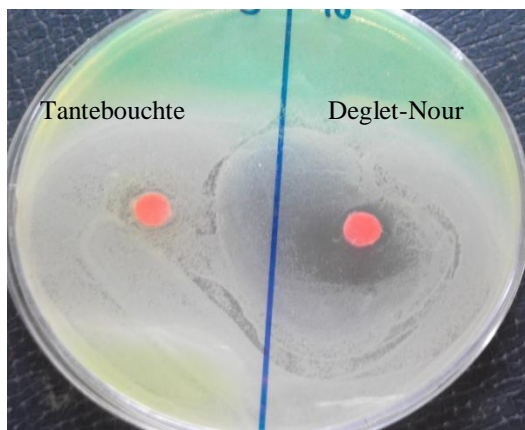


Figure 59: Effet des extraits méthanoliques sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.

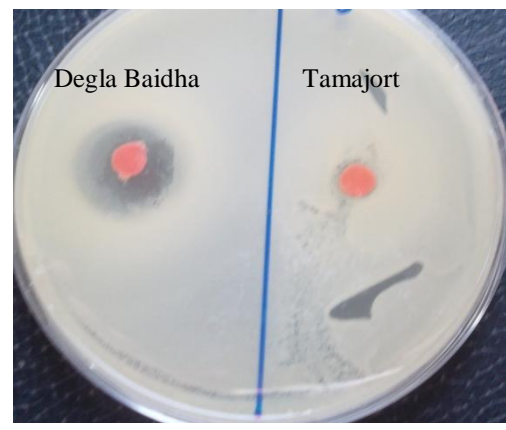


Figure 60: Effet des extraits méthanoliques sur *Listeria monocytogenes* ATCC15313.

Annexe II: Tests *in vivo*



Figure 61: Administration orale des extraits méthanoliques des dattes.

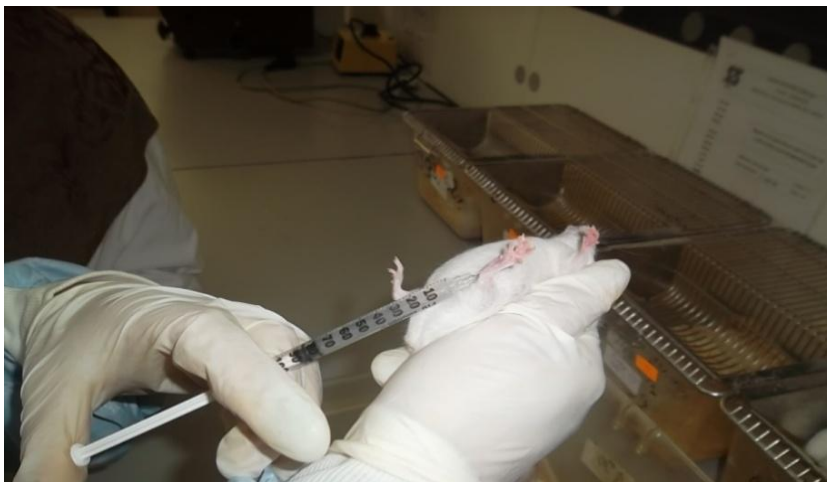


Figure 62: Injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche.



Figure 63: Souris sacrifiées avec pattes postérieures coupées.

المخلص

تحتوي النباتات الطبية على عدد كبير من المركبات النشطة بيولوجيا مثل المركبات الفينولية. للتمور (*Phoenix dactylifera* L.) خصائص علاجية تتطلب مزيدا من الدراسات المعمقة لمكوناتها ونشاطها البيولوجي. وفي هذا السياق قمنا بدراسة كان الهدف منها : تحديد المحتوى الفيتوكيميائي باستخدام HPLC ، إختبار النشاط المضاد للبكتيريا ، المضاد للأكسدة ، المضاد للإلتهابات والمضاد للتشنج و تحديد التنوع الجيني لعشر أصناف من التمور (*Phoenix dactylifera* L.) باستخدام تقنية PCR-RAPD.

تم العثور على أعلى محتوى من الفينولات الإجمالية (0.18 ± 6.53 ملغ معادلة حمض الغاليك / 100 غ من الوزن الجاف)، الفلافونيدات (4.23 ± 0.29 ملغ معادلة الكاتشين / 100 غ من الوزن الجاف) و الفلافونولات (1.43 ± 0.15 ملغ معادلة الغيتين / 100 غ من الوزن الجاف) مع المستخلص الميثانولي للصنف Ali Ourached . كشف التحليل النوعي عن طريق HPLC وجود أكثر من عشر مركبات فينولية. فيما يخص النشاط المضاد للأكسدة، أظهر المستخلص الميثانولي للصنف Ali Ourached نشاطا عاليا من خلال الطرق الأربع (إختبار DPPH، تبييض β كاروتين، القدرة المضادة للأكسدة الإجمالية وطريقة FRAP). أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أقطار مناطق تثبيط تصل إلى 20.73 ± 1.10 ملم. أظهرت المستخلصات الميثانولية لأصناف التمور المدروسة بتركيز 250 ملغ / كلغ من الوزن الجسمي نشاطا ضد الإلتهاب الناجم عن حقن الكاراجينين وكذلك نشاطا كبيرا للحد من التشنج الناجم عن حمض الخل . كما أظهرت الدراسة تنوع جيني كبير للأصناف العشر من التمور المدروسة. بينت هذه الدراسة أن مستخلصات التمور تحتوي على مكونات يمكن استخدامها في الوقاية من العديد من الأمراض وكذلك إمكانية إستخدامها في الصناعات الغذائية والدوائية.

الكلمات المفتاحية: *Phoenix dactylifera* L. ، المستخلصات الميثانولية ، HPLC ، النشاط المضاد للأكسدة، المضاد للبكتيريا، المضاد للإلتهاب، المضاد للتشنج، التنوع الجيني، RAPD-PCR .

Abstract

Medicinal plants are an inexhaustible source of bioactive compounds such as phenolic compounds. The dates (*Phoenix dactylifera* L.) have therapeutic properties that require further study of their components and their biological activities. Therefore, the objectives of this study were to determine the phytochemical composition by HPLC, to test the antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic activities and to analyze the genetic diversity among the then different cultivars of date palm using RAPD-PCR.

The highest levels of total phenols (6.53 ± 0.18 mg GAE / 100g DW), flavonoids (4.23 ± 0.29 mg CEQ/ 100g DW) and flavonols (1.43 ± 0.15 mg REQ / 100g DW) were found in the methanol extract of Ali Ourached variety. HPLC revealed the presence of more than ten phenolic compounds. The extract of Ali Ourached showed the most important antioxidant activity by four methods (DPPH test, bleaching of β -carotene, total antioxidant capacity and the method of FRAP). The results of antibacterial activity showed diameters of inhibition zones achieved to 20.73 ± 1.10 mm. The oral administration of the methanol extracts at dose of 250 mg/kg B.W has shown activity against inflammation induced by injection of carrageenan, and ability to reduce abdominal cramps induced by acetic acid. The study of molecular polymorphism cultivars *Phoenix dactylifera* L. by RAPD technique allowed us to detect a high level of polymorphism. The present study showed that date extracts contain components that can be used in the prevention of several diseases and used in the food and pharmaceutical industry.

Keywords: *Phoenix dactylifera* L., Methanol extracts, HPLC, Antioxidant activity, Antibacterial, Anti-inflammatory, Antispasmodic, Polymorphism, RAPD-PCR.