



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de recherche



« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : « Biochimie appliquée »

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de
*Hyphaene thebaica***

Présenté par :

Mlle BOUIDDOUH Zahra

Mlle HAMMANE Hanane

Soutenu le 30/06/2024 devant le jury :

Mlle BENARIBA N.	Professeur	Présidente	Université de Tlemcen
Mlle MEZOUAR D.	MCA	Examinatrice	Université de Tlemcen
Mme BELKACEM N.	MCA	Promotrice	Université de Tlemcen

Année Universitaire 2023/2024

Remerciement

On remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

On tient tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à **Mme Belkacem N.**, Maître de conférences A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, pour son soutien constant, ses conseils éclairés et sa patience tout au long de l'élaboration de ce mémoire. Ses précieux commentaires et son expertise ont grandement enrichi ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à **Mlle Benariba N.**, Professeur au Département de Biologie de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen et responsable de la formation «Biochimie appliquée » pour avoir accepté d'honorer le jury par sa présidence.

Nous remercions également **Mlle Mezouar D.**, Maître de Conférences A au Département de Biologie, Faculté du SNV-STU, Université de Tlemcen, pour avoir accepté d'examiné attentivement notre travail.

On souhaite également adresser nos remerciements à nos famille et amis, pour leur soutien indéfectible, leur compréhension et leurs encouragements tout au long de cette aventure académique. Enfin, nous somme reconnaissant envers tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Nous dédions ce mémoire à nos chers parents, pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

Nous pensons également à nos frères, nos sœurs, à nos amies et à nos camarades.

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Les propriétés biologiques des différentes parties de <i>H.thebaica</i>	15
Tableau n°2 : Rendements et caractéristiques des trois extraits de <i>H.thebaica</i>	36
Tableau n°3 : Résultats de l'analyse phytochimique des extraits de <i>H.thrbaica</i>	37
Tableau n°4 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les différents extraits de <i>H.thebaica</i>	39
Tableau n°5 : Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits et des molécules de référence.....	45
Tableau n°6 : Valeurs des EC ₅₀ des différents extraits et des molécules de références pour la réduction du fer.....	50

Liste des figures

Figure n°1 : Structure chimique des Quelques phénols et acides phénoliques.....	5
Figure n°2 : Structure chimique de quelques flavonoïdes	6
Figure n°3 : Structure chimique des tanins	6
Figure n°4 : Structure de quelques alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine..	7
Figure n°5 : Structure chimique des Terpénoïdes	7
Figure n°6 : Le palmier de doum	9
Figure n°7 : Les fleures de doum	9
Figure n°8 : Les fruits de doum	10
Figure n°9 : Les racines de doum	10
Figure n°10 : Structures chimiques de quelques constituants de l'huile essentielle de fruit doum.....	12
Figure n°11 : Structures chimiques des composés phénoliques du fruit du doum	13
Figure n°12 : Structures chimiques des flavonoïdes du fruit doum	14
Figure n°13 : Balance radicaux libres / antioxydants	23
Figure n°14 : Réduction du DPPH [•] en DPPH ₂ par un antioxydant	23
Figure n°15 : Réduction du Fe ³⁺ en Fe ²⁺ par un antioxydant	24
Figure n°16 : Réduction de l'ABTS ^{•+} en ABTS par un antioxydant	25
Figure n°17 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de la synthèse de la plante <i>H.thebaica</i>	29
Figure n°18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.	38
Figure n°19 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	38
Figure n°20 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	39
Figure n°21 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des racines (n=3).....	40
Figure n°22 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des fleurs(n=3)	41
Figure n°23 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des fruits (n=3)	42
Figure n°24 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par l'acide ascorbique (n=3).....	43
Figure n°25 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par le BHA (n=3).....	43
Figure n°26 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH [•] par le BHT (n=3).....	43
Figure n°27 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux des racines (n=3).....	46

Figure n°28 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux des fleurs (n=3).....	47
Figure n°29 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux des fruits (n=3).....	48
Figure n°30 : Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique (n=3).....	49
Figure n°31 : Pouvoir réducteur du fer par le BHA (n=3).....	49
Figure n°32 : Pouvoir réducteur du fer par le BHT (n=3).....	49

Liste des abréviations

DPPH • : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DPPH, H : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazine.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

Fe²⁺ : Ferreux.

ABTS : (acide 2,2'-azinobis (3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)).

BHA : Hydroxyanisol butylé.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

IC₅₀ : Inhibiteur de concentration à 50 %.

EC₅₀ : Concentration efficace médiane.

mg EAG/gE : Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

mg EQC/gE : Milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait.

Table de matière

Introduction	1
---------------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : La phytothérapie

1. Les Plantes médicinales	4
2. Les Métabolites secondaires.....	4

Chapitre 02 : La plante *Hyphaene thebaica*

1. Description botanique	9
2. Utilisations traditionnelle	10
3. Répartition géographique	10
4. Classification	11
5. Composition chimique	11
6. Propriétés biologiques	15

Chapitre 03 : Le stress oxydatif et les radicaux libres

1. Stress oxydatif	18
1.1. Définition	18
1.2. Radicaux libres	19
1.3. Origine d'un radical libre	19
1.4. Les maladies liées au stress oxydant.....	19
1.5. Combattre le stress oxydatif.....	20
1.6. L'approche biologique de stress oxydatif.....	21
1.7. Effets négatifs du stress oxydant.....	22
2. Les antioxydants	22
3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	23

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	28
2. Rendement d'extraction	30
3. Analyse phytochimique	30

4. Dosage des composés phénoliques	31
4.1. Dosage des polyphénols totaux	31
4.2. Dosage des flavonoïdes	32
4.3. Dosage des tanins condensés	32
5. Evaluation de l'activité antioxydante	33
5.1. Piégeage du radical libre DPPH	33
5.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).....	34
Résultats et interprétation	
1. Rendement d'extraction	36
2. Analyse phytochimique	36
3. Teneurs en composés phénoliques	39
4. Activité antioxydante des extraits de <i>H. thebaica</i>	40
4.1. Piégeage du radical libre DPPH	40
4.1.1. Piégeage du radical libre DPPH• par les extraits de <i>H. thebaica</i>	40
4.1.2. Piégeage du radical libre DPPH• par les molécules de reference	42
4.1.3. Calcul des IC ₅₀	44
4.2. Réduction du fer	45
4.2.1. Réduction du fer par les extraits de <i>H. thebaica</i>	45
4.2.2. Réduction du fer par les molécules de référence	48
4.2.3. Calcul des EC ₅₀	50
Discussion	51
Conclusion	55
Références bibliographiques	57

Résumé

L'Hyphaene thebaica est une plante de la famille des Arecacea, Communément appelée doum, traditionnellement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies telque l'hypertension, la bilharziose et comme agent hématinique.

Notre étude est consacrée à l'étude phytochimique et à l'évaluation du pouvoir antioxydant des trois extraits aqueux de trois parties de la plante (racines, fleurs et fruits). Par deux techniques: Piégage duradical DPPH et la réduction du fer (FRAP).

Les rendements des extraits aqueux de différents parties de doum (racines, fleurs et fruits) sont respectivement 24,68% , 23,25% et 23,22% .

Le criblage phytochimique montre la richesse de la plante en tanins, en flavonoïdes, en quinones libres et en alcaloïdes.

Le dosage des composés phénoliques montre que l'extrait aqueux des fleurs contient la plus grande teneur en polyphénols totaux $211,92 \pm 0,00$ mgEAG/gE et en tanins condensées $368,00 \pm 2,31$ mgEAG/gE et l'extrait aqueux des fruits contient la grande teneur en flavonoïdes $106,06 \pm 5,73$ mgEAG/gE.

L'extrait aqueux des fleurs a montré une activité très élevée dans la technique de piégage de radical DPPH avec une $IC_{50}=0,62$ mg/ml par rapport aux autres extraits testés. La même constatation pour la technique de réduction de fer a été notée avec une $EC_{50}= 0,192$ mg/mL et pour les molécules de références, l'acide ascorbique est le plus puissant contre le radical DPPH avec une $IC_{50}=0,050$ mg/ml et la réduction du fer avec une $EC_{50}= 0,536$ mg/ml.

Les résultats obtenus, montrent que le *H.thebaica* est une source importante de molécules bioactives ayant une activité antioxydante à visée thérapeutique .

Mots clés : *Hyphaene thebaica* , Activité antioxydante , composés phénoliques, Extrait aqueux

Abstract

Hyphaene thebaica is a plant of the Arecacea family, commonly known as doum, traditionally used in the treatment of numerous diseases such as hypertension, bilharzia and as a hematinic agent.

Our study is devoted to the phytochemical investigation and evaluation of the antioxidant power of three aqueous extracts from three parts of the plant (roots, flowers and fruits). Two techniques were used: DPPH radical scavenging and iron reduction (FRAP).

The yields of aqueous extracts from different parts of *Hyphaene thebaica* (roots, flowers and fruits) were 24,68%, 23,25% and 23,22% respectively.

Phytochemical screening shows the plant to be rich in tannins, flavonoids, free quinones and alkaloids.

Phenolic compounds assays show that the aqueous flower extract contains the highest levels of total polyphenols $211,92 \pm 0,00$ mgEAG/gE and condensed tannins $368,00 \pm 2,31$ mgEAG/gE, while the aqueous fruit extract contains the highest levels of flavonoids $106,06 \pm 5,73$ mgEAG/gE.

The aqueous extract of the flowers showed a very high activity in the DPPH radical scavenging technique with an $IC_{50}=0,62$ mg/mL compared with the other extracts tested. The same was true for the iron reduction technique, with an $EC_{50}= 0,192$ mg/mL, and for the reference molecules ascorbic acid, with an $IC_{50}=0,050$ mg/mL in DPPH method and an $EC_{50}= 0,536$ mg/mL in FRAP method.

These results show that *H. thebaica* is an important source of bioactive molecules with antioxidant activity for therapeutic purposes.

Key words : *Hyphaene thebaica* , Antioxidant activity , Phenolic compounds, Aqueous extract

الملخص

الدوم هو نبات من فصيلة الأريكاسيا، ويستخدم تقليدياً في علاج العديد من الأمراض مثل ارتفاع ضغط الدم والبهارسيا وكعامل مدمي.

خُصت دراستنا لدراسة الكيمياء النباتية وتقييم القدرة المضادة للأكسدة لثلاثة مستخلصات مائية من ثلاثة أجزاء من النبات (الجزور والأزهار والثمار). تم استخدام تقنيتين: كسح جذر DPPH و إرجاع الحديد (FRAP).

بلغ مردود المستخلصات المائية لأجزاء مختلفة من الدوم (الجزور والأزهار والثمار) 24,68% و 23,25% و 23,22% على التوالي.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي أن النبات غني بالعفص والفلافونويدات والكينونات الحرة والقلويات.

أظهر تحديد المركبات الفينولية أن المستخلص المائي للأزهار يحتوي على أعلى محتوى من البوليفينول الكلي $211,92 \pm 0,00$ ملغم/غ و العفص المكثف $2,31 \pm 368,00$ ملغم/غ والعفص المكثف $2,31 \pm 368,00$ ملغم/غ والعفص المكثف $2,31 \pm 368,00$ ملغم/غ ويحتوي المستخلص المائي للثمار على أعلى محتوى من الفلافونويد $106,06 \pm 5,73$ ملغم/غ.

وأظهر المستخلص المائي للأزهار نشاطاً عالياً جداً في تقنية محاصرة الجذور DPPH مع تركيز مركب $IC_{50} = 0,62$ ملغم/مل مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تم اختبارها. وقد لوحظت نفس الملاحظة بالنسبة لتقنية إرجاع الحديد مع تركيز متوسطي فعال بلغ $0,192$ ملغم/مل وللجزيئات المرجعية لحمض الأسكوربيك مع تركيز متوسطي جد فعال بلغ $0,050$ ملغم/مللتر لجذر DPPH و $0,536$ ملغم/مللتر لتقنية إرجاع الحديد.

تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن الدوم مصدر مهم للجزيئات النشطة بيولوجياً ذات النشاط المضاد للأكسدة للأغراض العلاجية.

الكلمات المفتاحية : الدوم ، نشاط مضاد للأكسدة، مركبات الفينول، المستخلص مائي

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des siècles, les plantes médicinales ont été utilisées pour améliorer et guérir la santé humaine. Elles sont utilisées à différents niveaux, notamment dans le domaine thérapeutique. Le fait de confirmer les vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales, qui ont été utilisées de manière empirique depuis des millénaires, est essentiel (**Lazli et al., 2018**).

Les villageois, en particulier, utilisent les plantes indigènes comme médicaments depuis des siècles, à partir de recettes transmises de génération en génération et fondées sur les expériences de la vie, pour faire face à l'absence d'établissements sanitaires suffisants et proches (**Kumari et al., 2022**).

Le stress oxydatif est l'un des problèmes qui peuvent être traités avec ces médicaments extraits de plantes et qui résulte d'un déséquilibre dans les systèmes d'oxydants et d'antioxydants de l'organisme, générant un environnement oxydatif avec une surproduction des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (**Singal et al., 2011**).

La surproduction de ROS altère les protéines et perturbe les voies biochimiques liées aux antioxydants, entraînant un dysfonctionnement et des perturbations cellulaires (**Finkel et al., 2000 ; Sharifi-Rad et al., 2020**).

Le stress oxydatif, provoqué par une carence en antioxydants ou une surproduction de radicaux libres, provoque de nombreuses maladies et contribue au vieillissement. La plupart des antioxydants sont produits dans l'organisme, mais l'alimentation est également une source de vitamines antioxydantes, de polyphénols et d'oligo-éléments, ces antioxydants protègent les cellules des dommages causés par les radicaux libres. À cet égard, les chercheurs ont eu recours à des plantes médicinales pour extraire ces substances.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est d'effectuer une analyse biologique *in vitro*, en particulier l'activité antioxydante des extraits bruts des racines, des fleurs et des fruits de *Hyphaene thebaica* par le test de piégeage du radical DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) et le test du pouvoir réduction du fer (FRAP).

La première partie de l'étude est une synthèse bibliographique composée de trois Chapitres. Le premier représente la phytothérapie (les plantes médicinales et métabolites secondaires). Le deuxième chapitre aborde la plante *H.thebaica*, dans le troisième chapitre, nous rappelons de stress oxydatif.

INTRODUCTION

La deuxième partie est la partie expérimentale, regroupe le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude. La dernière partie est consacrée sur l'interprétation des résultats obtenus, suivie d'une discussion, puis une conclusion finale qui abordera les différentes perspectives de recherche basées sur les résultats obtenus.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : La phytothérapie

1. Les Plantes médicinales

Les plantes médicinales ont été employées depuis des milliers d'années pour prévenir et soigner diverses maladies et affections médicales. Avant l'émergence de la médecine moderne, les plantes étaient fréquemment la seule méthode de traitement. Les plantes médicinales sont encore employées aujourd'hui en médecine alternative de diverses façons, telles que l'infusion, la décoction, la macération, la teinture, la poudre ou encore les huiles essentielles (**Miraldi et al., 2019**).

2. Les métabolites secondaires

Il s'agit de composés phyto-chimiques qui sont produits après le stade actif de la croissance, mais en quantité plus faible, ce qui les rend difficiles à extraire (**Jean et al., 2005**).

Il existe plusieurs grands groupes de métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques, les terpènes et les composés azotés, y compris les alcaloïdes (**Jean et al., 2005**).

2.1. Composés phénoliques

La structure des polyphénols est caractérisée par la présence d'un ou de plusieurs groupes phénoliques dans leur métabolisme secondaire. Ils sont regroupés en divers groupes, classés en fonction de la composition de leur squelette de carbone. Les acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) et en particulier les flavonoïdes spécifiques (C6-C3-C6) sont généralement présents dans les aliments d'origine végétale (**Somchit, 2012; Svobodová et al., 2003**).

Les composés phénoliques sont classés en plusieurs catégories qui se distinguent par la complexité du squelette de base, allant d'un seul C6 aux formes très polymérisées :

2.1.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont perçus comme ayant des propriétés prébiotiques, antioxydantes et anti-inflammatoires. Ils ont une toxicité faible et sont considérés comme non toxiques (**Amiot, 2009**) (fig. n°1).

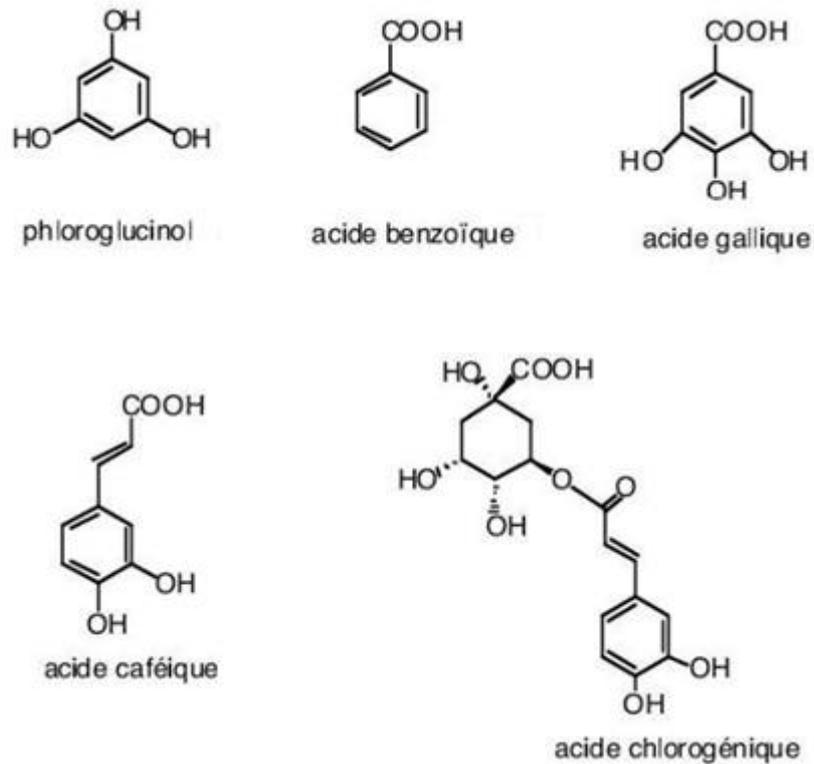


Figure n°1 : Structure chimique de quelques phénols et acides phénoliques.

(Bodo *et al.*, 2003)

2.1.2. Flavonoïdes

Dans la famille des polyphénols, les flavonoïdes représentent une variété très étendue de composés naturels. Ils sont considérés comme des pigments pratiquement universels des plantes, dont de nombreux sont responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des feuilles (Pietta, 2000) (fig. n°2).

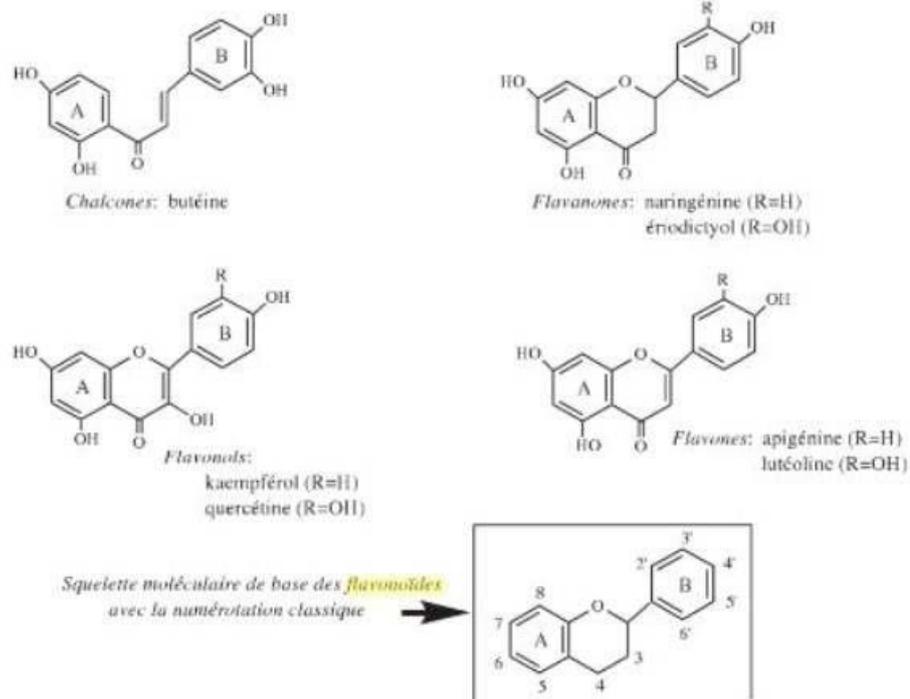


Figure n°2 : Structure chimique de quelques flavonoïdes (Jean *et al.*, 2005)

2.1.3. Tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires végétaux présents dans pratiquement toutes les parties de la plante. L'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines ont un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 (Hassanp *et al.*, 2011 ; Somchit, 2012) (fig. n°3).

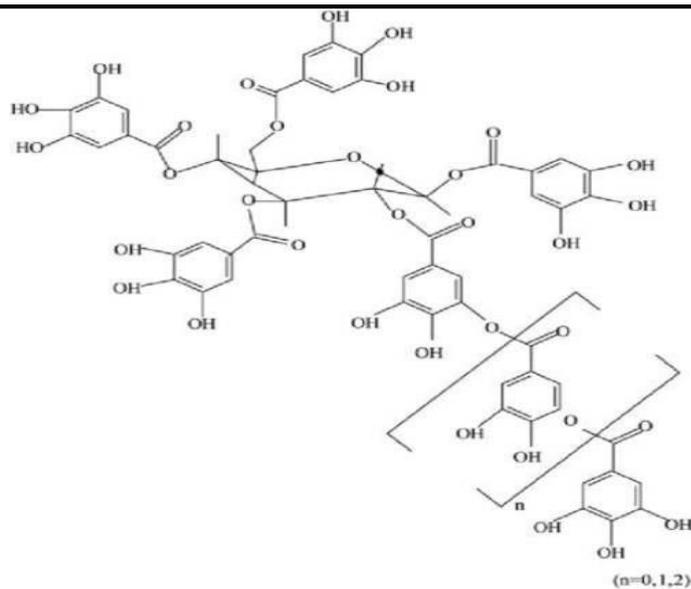


Figure n°3 : Structure chimique du tanin (Bodo *et la.*, 2004)

2.1.4. Alcaloïdes

Il s'agit de substances naturelles à base d'azote, dont l'atome d'azote est un composant d'un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est importante. Les alcaloïdes pseudo-alcalins ne sont pas des acides aminés. Les alcaloïdes terpéniques sont désignés sous le nom d'alcaloïdes proto-alcaloïdes. Amines hétérocycliques simples dont l'azote n'est pas un composant. La propriété des alcaloïdes de réagir avec des sels de métaux lourds facilite également leur caractérisation (**Bodo et al., 2003**) (fig. n°4).

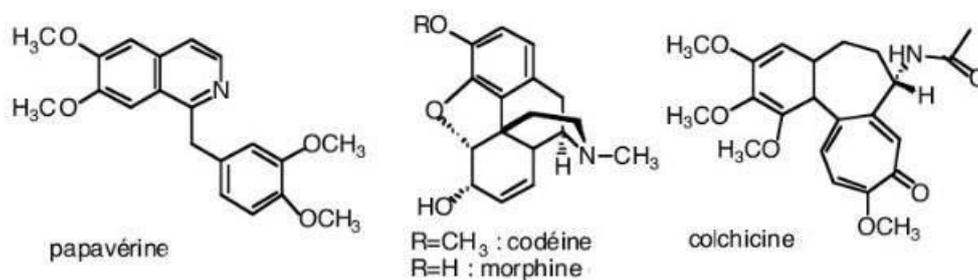


Figure n°4 : Structure de quelques alcaloïdes dérivés de la phénylalanine et de la tyrosine (**Bodo et al., 2003**)

2.1.5. Terpenoïdes

Un terpène est un composé secondaire lipophile de la famille des hydrocarbonés, principalement présents dans les essences naturelles et le latex des plantes. Les terpénies et les terpenoïdes peuvent être classés comme des isoprènes C₅ H₇ (**Hassanp et al., 2011**) (fig. n°5).

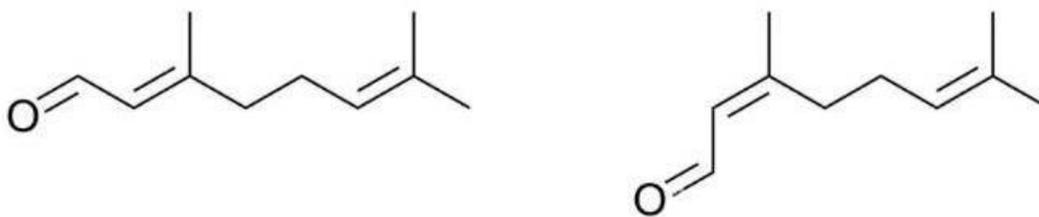


Figure n°5 : Structure chimique des Terpenoïdes (**Hassanp et al., 2011**)

Chapitre 02 : La plante
Hyphaene thebaica

1. Description botanique

Le doum est une espèce de palmier. Son tronc est divisé en deux branches, chaque branche étant à son tour divisée en deux branches, et les extrémités des branches portent de grandes feuilles en forme d'éventail. L'écorce est lisse, de couleur gris foncé, avec des cicatrices des anciennes feuilles. Les feuilles ont une taille d'environ 120 x 180 cm. Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbres différents. Les inflorescences sont similaires, mesurant environ 1,2 mètre de longueur, et comportent deux ou trois épis dans chaque branche. Les fleurs mâles ont des bractées en spathe pointues, tandis que les branches des fleurs femelles deviennent plus épaisses lors de la fructification. Les fruits du palmier femelle sont ligneux, mesurant 6-10 cm de longueur, avec des bords arrondis et une couleur brun brillant à maturité. Chaque fruit contient une seule graine de taille 2-3,5 cm (El-Beltagi *et al.*, 2018) (fig. n°6, 7, 8 et 9).

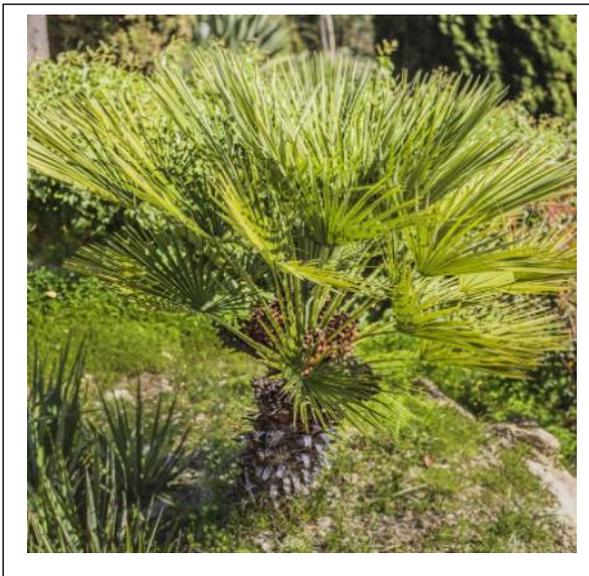


Figure n° 6 : Le palmier de doum.
(<https://palmiersetcompagnie.fr/produit/palmier-doum-stipunic-chamaerops-humilis-stine-unique/>)



Figure n°7 : Les fleurs de doum
(<https://www.newsjardintv.com/le-3-mai-c-est-le-jour-du-chamaerops/>)



Figure n°8 : Les fruits de doum
(<https://jardinage.lemonde.fr/dossier-3525-palmier-doum.html#google-vignette>)

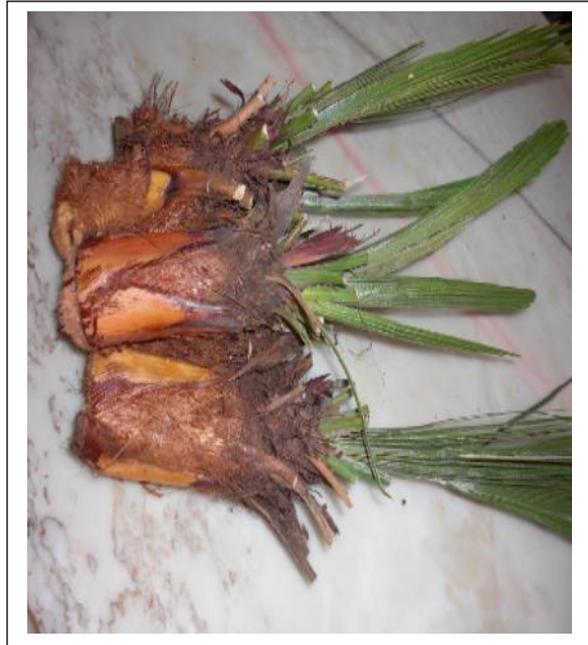


Figure n° 9 : les racines de doum
(<https://dafina.net/forums/read.php?52,277984,page=2>)

2. Utilisation traditionnelle

Dans les temps anciens, les feuilles étaient utilisées pour fabriquer des balais, des nattes, des cordes, des paniers, des ficelles, de la paille et des textiles (**Moussa *et al.*, 1998**).

Les racines sont utilisées pour fabriquer des filets de pêche et dans la construction comme supports, poutres en bois, roues et conduites d'eau, et l'écorce séchée est utilisée pour fabriquer une teinture noire pour le cuir (**Orwa *et al.*, 2009**).

Dans certains pays, comme la Turquie et le Kenya, la peau du fruit est utilisée pour fabriquer des boissons alcoolisées ainsi que des bonbons et des gâteaux (**Facciola *et al.*, 1990**).

Les extraits de palmier doum ont amélioré la production de probiotiques dans les produits laitiers (**El-Beltagi *et al.*, 2018**).

Le palmier a été proposé pour divers usages thérapeutiques, tels que le traitement de l'alopecie masculine et l'augmentation du volume des seins. Cependant, des données cliniques solides font défaut. Les médecins américains de l'école éclectique l'utilisaient principalement pour traiter les symptômes liés à l'hypertrophie bénigne de la prostate, ainsi que des troubles

urinaires chez les hommes et des problèmes mammaires chez les femmes. La médecine traditionnelle lui attribue plusieurs vertus thérapeutiques, notamment pour soulager les douleurs thoraciques avec la pâte de racines de palmier (El-Beltagi et al., 2018).

3. Répartition géographique

Hyphaene thebaica est une espèce végétale répandue en Afrique de l'Ouest et de l'Est, allant du Sénégal à la Somalie. Il est également présent en Libye, en Égypte, dans la péninsule Arabique et en Inde occidentale. Cette plante était déjà cultivée dans l'Égypte ancienne et avait une importance religieuse (Brink et al., 2012).

4. Classification

Hyphaene thebaica est classée selon la systematique suivante (Jahiel, 1993) :

- Famille : Arecacea
- Tribu : Borasseae
- Genre : Hyphaene
- Espèce : thebaica

5. Composition chimique

Le fruit du doum contient une protéine de haute qualité avec une proportion élevée de lysine et de cystéine. Il contient également de la thréonine, de la graisse brute et des fibres brutes. Le composant glucidique principal est le mannose, et il contient également du calcium, du magnésium, du potassium, du fer sodique ainsi que des traces de nickel, de cobalt et de molybdène. Les composés phytochimiques tels que les tanins, la saponine, les stéroïdes, les glycosides, les flavonoïdes, les terpènes et les terpenoïdes sont présents à des concentrations faibles et modérées (Auwal et al., 2013).

Les extraits méthanoliques ont révélé la présence d'alcaloïdes, de saponines, de stéroïdes, de terpenoïdes et de flavonoïdes, mais n'avaient pas de tanins, de phénols ni de glycosides. L'extrait d'acétate d'éthyle contenait des alcaloïdes, des saponines, des stéroïdes, des glycosides, des terpenoïdes et des flavonoïdes, mais sans tanins ni phénols. L'extrait aqueux présentait des alcaloïdes, des saponines, des terpenoïdes et des flavonoïdes, mais sans tanins, phénols, stéroïdes ni glycosides. L'extrait d'acétate d'éthyle contenait également des glycosides non détectés dans les extraits méthanoliques et aqueux. Le stéroïde était présent dans l'extrait d'acétate d'éthyle mais pas dans celui aqueux, bien qu'il soit présent dans l'extrait méthanolique.

Les glycosides de flavones de lutéoline et de chrysoériol ont été précédemment rapportés dans les fruits de *H. thebaica* (Farag *et al.*, 2013).

Les fruits de doum contiennent plusieurs polyphénols tels que l'acide vanillique, l'acide sinapique, l'acide chlorogénique, la catéchine, l'acide méthoxy-cinnamique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide 3,4 dihydroxycinnamique, l'acide caféique, l'acide hydroxycinnamique, l'épicatéchine et l'acide cinnamique. Les pulpes de doum ont une concentration élevée d'acide caféique par rapport aux fruits domestiques (Aamer *et al.*, 2016).

Les extraits des fruits de doum ont été analysés par HPLC et 11 flavonoïdes ont été détectés, dont le quercétine, l'hespérétine, la naringine et la rutine avec des concentrations maximales (Aamer *et al.*, 2016)

Selon El-Beltagi *et al.* (2018), les fruits du doum contiennent également des huiles essentielles, et parmi les composants de ces huiles on retrouve Sabinene, Limonene, Terpinen 4-ol et Sesquiterpenes (fig. n°10, 11 et 12).

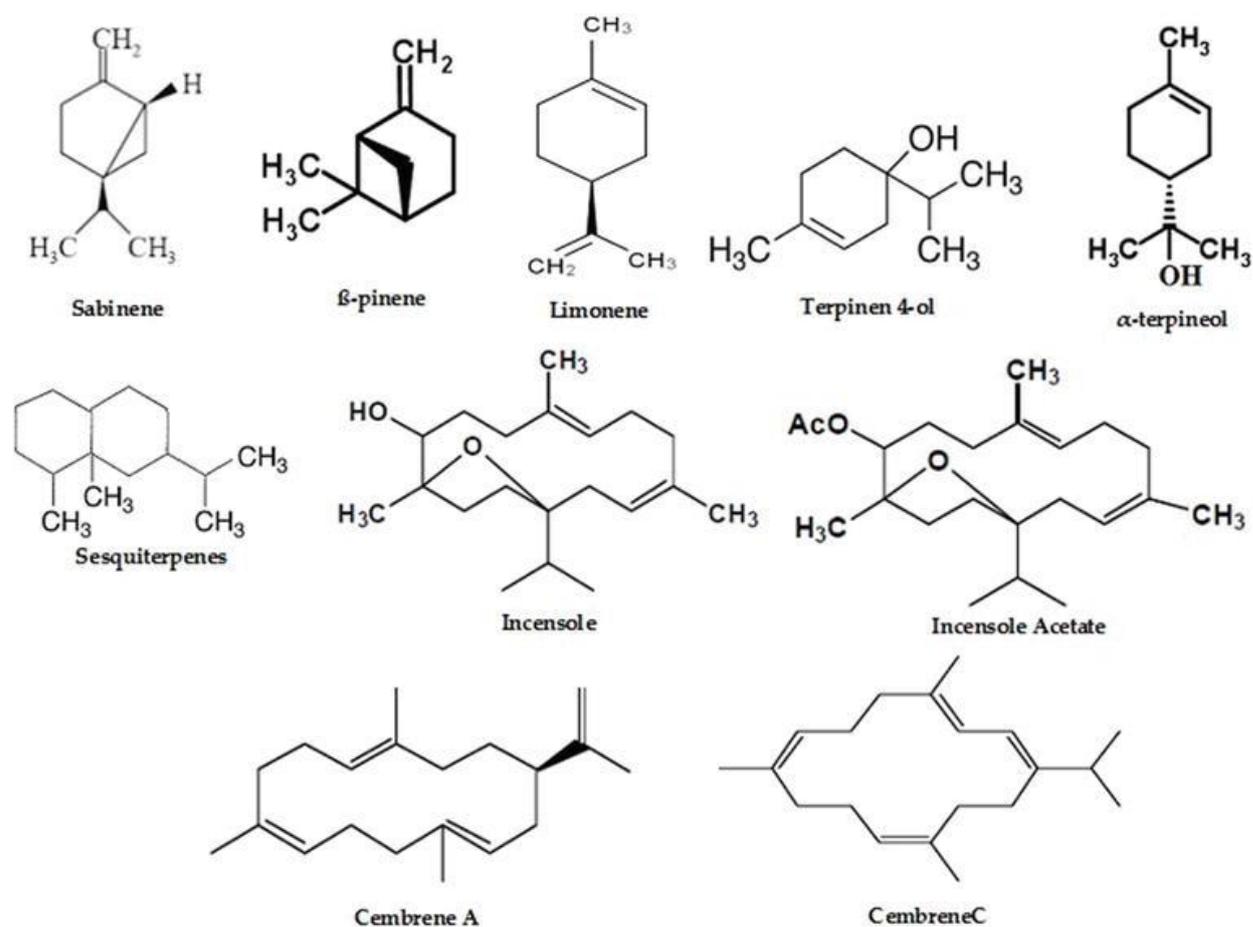


Figure n°10 : Structure chimique de quelques constituants de l'huile essentielle des fruits de doum (El-Beltagi *et al.*, 2018)

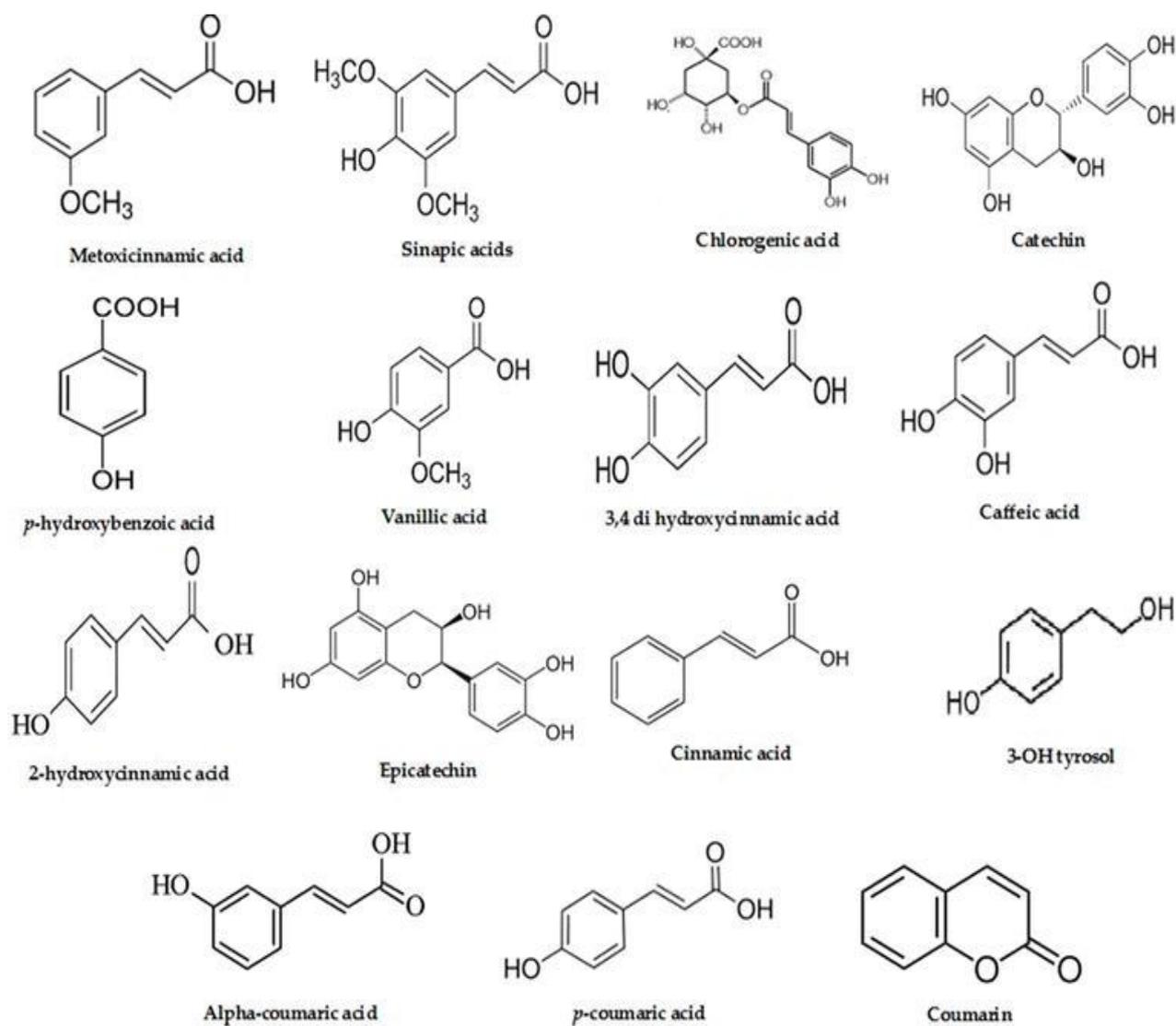


Figure n°11 : Structure chimique des composés phénoliques des fruits de doum (El-Beltagi *et al.*, 2018)

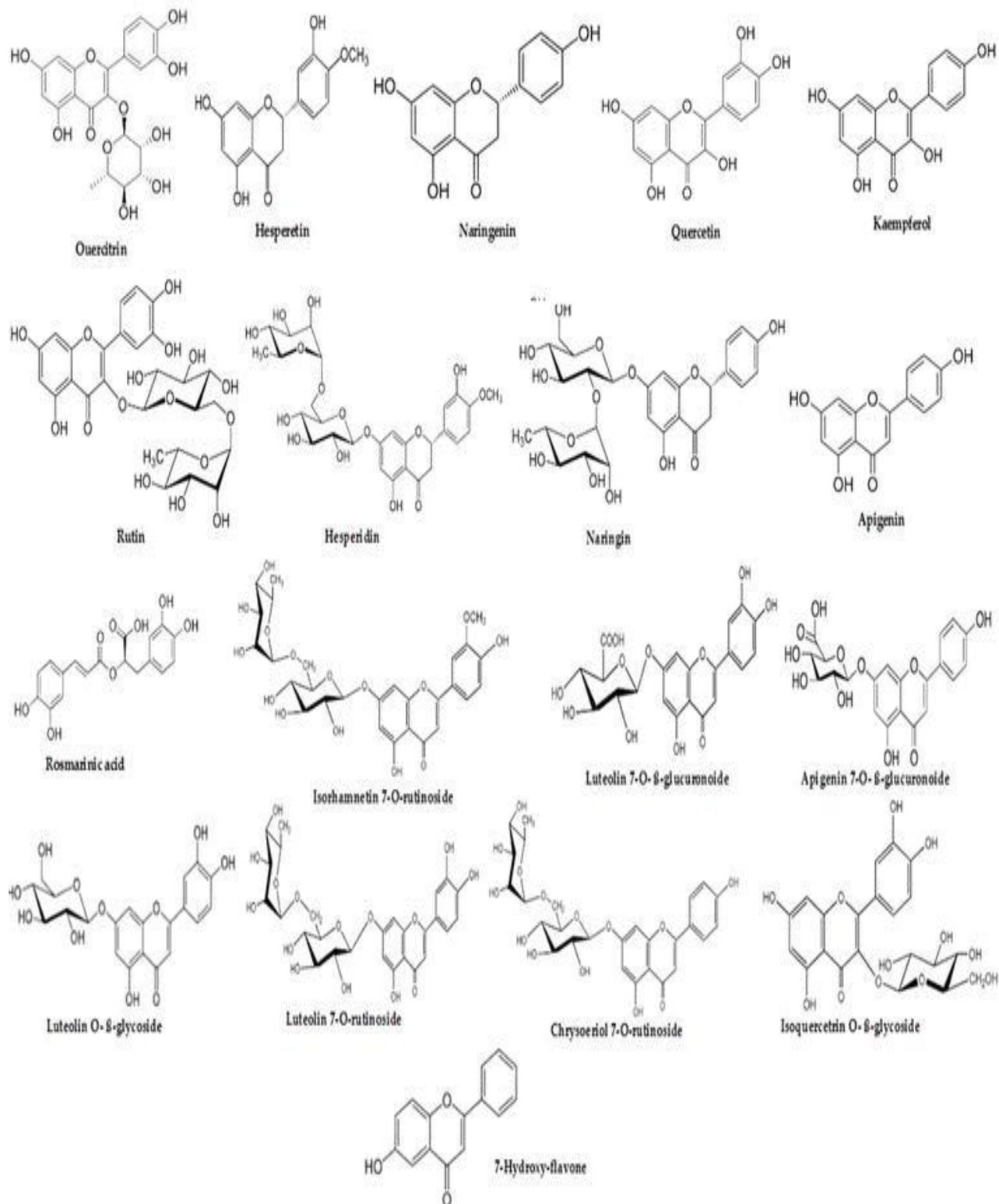


Figure n°12 : Structure chimique des flavonoïdes des fruits de doum (El-Beltagi *et al.*, 2018)

6. Propriétés biologiques

Le tableau n° 1 représente quelques propriétés biologiques de *H. thebaica*

Tableau n°1 : Les propriétés biologiques des différentes parties de *H.thebaica*

Activité	Partie	Références
Antioxydantes	Fleure-fruit	(Mohamed <i>et al.</i>, 2010) (Salih <i>et al.</i>, 2015)
Anticancéreuses	Fleure	(Fayad <i>et al.</i>, 2015) (Soare <i>et al.</i>, 1997)
Anti-inflammatoires	Fleure-fruit	(Asadi <i>et al.</i>, 2010)
Antimicrobiennes	Fleure-fruit	(Mohamed <i>et al.</i>, 2010)

Certains extraits de *H. thebaica* sont utilisés pour traiter l'hypertension et la bilharziose (Wickens *et al.*, 1986) .

L'extrait aqueux des fruits de doum peut réduire l'hyperlipidémie dans le syndrome néphrotique, diminuant ainsi le risque de glomérulosclérose et d'athérosclérose. De plus, il est efficace comme agent hypocholestérolémiant et hématinique (Habib *et al.*, 2014).

Une analyse par chromatographie a révélé que le fruit de doum contient des saponines, des coumarines, des cinnamates d'hydroxyle, des huiles essentielles et des flavonoïdes. Des études ont montré que les extraits de flavonoïdes augmentent les niveaux d'adiponectine, stimulant l'action hypoglycémique de l'insuline sans altérer sa concentration dans le sang. En outre, ces extraits peuvent améliorer le métabolisme périphérique du glucose. Des tests sur des rats ont montré que la décoction de fruits doum est bien tolérée et n'a aucun effet indésirable sur la reproduction, avec une augmentation significative des globules rouges, de l'hématocrite, de la concentration en hémoglobine et de l'activité phagocytaire. De plus, cette décoction a montré une diminution significative de la glycémie, du cholestérol, des triglycérides et des lipides totaux après 1 et 2 mois d'administration. Ces résultats confirment que les fruits du doum peuvent être bénéfiques en tant qu'agents hématiniques et hypolipidémiques, améliorant les fonctions hépato-rénales sans effets secondaires sur la reproduction (Bayad, 2016).

Chapitre 03 : Le stress oxydatif et les radicaux libres

1. Stress oxydatif

L'organisme produit constamment des composés oxydants, mais dispose également d'un système antioxydant pour maintenir l'équilibre. Cependant, un excès de production endogène ou une exposition à des substances toxiques peut causer un déséquilibre, entraînant un stress oxydatif (Mongens, 2013).

1.1. Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et les systèmes de protection antioxydants (Persson *et al.*, 2014).

Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Benbrinis, 2018) (fig.n°13).

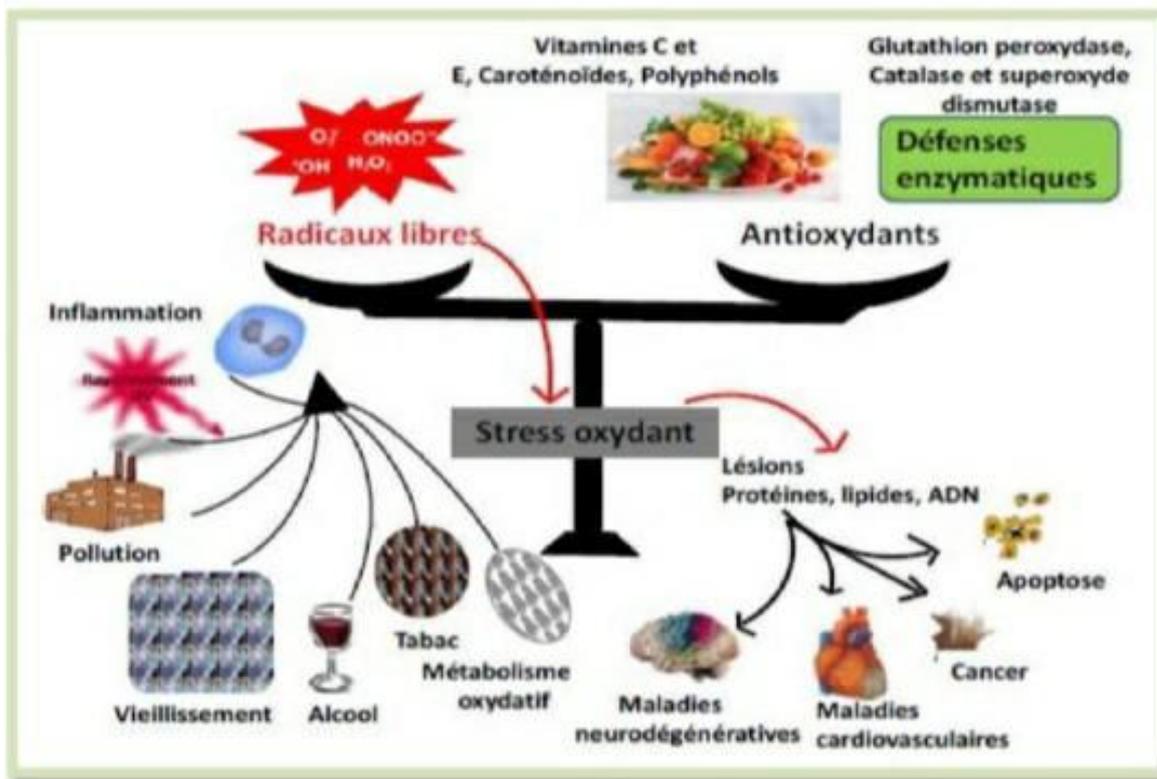


Figure n°13 : Balance radicaux libres / antioxydants (Sabour, 2017)

1.2. Radicaux libres

Les réactions d'oxydation génèrent des radicaux libres, ce qui peut entraîner de nombreuses réactions en cascade qui peuvent entraîner des dommages ou la mort de la cellule (Günel *et al.*, 2013).

Les radicaux libres désignent des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leurs couches externes. Ils s'associent à des molécules plus stables afin de les transformer. Il s'agit d'espèces chimiques fragiles, très réactives, avec une demi-vie très courte (Goudable *et al.*, 1997).

1.3. Origine d'un radical libre

- **Exogène** : Les radiations (rayons X et UV), les polluants de l'atmosphère (N, NO₂), les pesticides, les médicaments, les xénobiotiques...

- **Endogène**: La plupart d'entre eux sont fabriqués dans les chaînes respiratoires mitochondriales des cellules immunitaires et des enzymes (Haleng *et al.*, 2007 ; Tessier *et al.*, 1995).

1.4. Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses maladies, avec des conséquences médicales variées. Selon le type de maladie, il peut se localiser dans des tissus et des types cellulaires spécifiques, impliquant différentes espèces radicalaires. Il est également associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. Les maladies induites par le stress oxydant sont plus fréquentes avec l'âge en raison de la diminution des défenses antioxydantes et de l'augmentation de la production de radicaux par les mitochondries (Sohal *et al.*, 2002).

Le stress oxydant peut causer plusieurs maladies telles que le cancer, la cataracte et la sclérose latérale amyotrophique. Il accélère également le vieillissement en créant des lésions de l'ADN et en inhibant des gènes suppresseurs de tumeur. Les radicaux libres jouent un rôle central dans ces processus (Favier *et al.*, 2003).

Le stress oxydant favorise les maladies comme le diabète, Alzheimer, les rhumatismes, et les maladies cardiovasculaires (Montagnier *et al.*, 1997).

L'oxydation des LDL contribue à la formation de la plaque d'athérome en transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition

d'autres facteurs athérogènes tels que la résistance à l'insuline, l'activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs prooxydants et la prolifération des fibres lisses. L'homocystéine, un facteur de risque récemment découvert, contribue également au stress oxydant. Les principales causes de ce stress oxydant sont d'origine nutritionnelle, de surcharges en facteurs prooxydants, ou d'origine accidentelle ou génétique. Ces différents facteurs se combinent souvent pour causer le mécanisme pathogène (**Favier *et al.*, 2003**).

Les radicaux libres sont responsables des maladies causées par des mutations du gène antioxydant. Les mutations de la CuZn superoxyde dismutase provoquent la sclérose latérale amyotrophique (SLA). La dégénérescence maculaire liée à l'âge est associée à la forme valine/alanine du gène de la superoxyde dismutase (**Favier *et al.*, 2003**).

1.5. Combattre le stress oxydatif

Le stress oxydant cause de nombreuses maladies, il est donc logique de vouloir le supprimer. Cependant, il faut rester prudent et ne pas simplifier un sujet aussi complexe. Le stress oxydant est souvent responsable des premières anomalies moléculaires et cellulaires, qui apparaissent des années avant les symptômes irréversibles de la maladie. Par conséquent, les antioxydants ne peuvent pas inverser ces anomalies une fois que les lymphocytes sont sélectionnés et activés. Les antioxydants peuvent inhiber, limiter ou détruire les espèces réactives de l'oxygène (**Halliwell *et al.*, 1997**).

L'augmentation de l'apport en antioxydants dans l'alimentation vise à prévenir les maladies, mais nous ne connaissons pas tous les antioxydants bénéfiques présents dans les aliments comme les fruits et les légumes. L'alimentation contient de nombreux antioxydants tels que les vitamines (E, C, Q, β -carotène), les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), ainsi que des caroténoïdes, des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres composés présents dans divers aliments. Les antioxydants peuvent être utiles pour prévenir les récurrences de maladies, stabiliser la tolérance à l'insuline, améliorer l'immunité et réduire la toxicité des médicaments. Cependant, il faut éviter les fortes doses d'antioxydants, car elles peuvent devenir prooxydantes. Il est également important de ne pas supprimer complètement les radicaux libres, car ils jouent un rôle dans la défense anti-infectieuse et l'apoptose. L'apport d'antioxydants doit se faire dans les limites recommandées et en combinant plusieurs antioxydants complémentaires plutôt qu'en privilégiant un seul. Des essais ont montré les limites d'un apport massif de β -carotène chez des sujets à risque de lésions précancéreuses (**Heinonen *et al.*, 1994**).

Les antioxydants naturels et synthétiques sont des produits extraits de plantes ou obtenus par des modifications chimiques. Certains sont également extraits d'animaux et imitent les enzymes pour piéger les radicaux libres. Certains médicaments plus anciens, utilisés depuis longtemps comme fluidifiants bronchiques, anti-inflammatoires ou anti-hypertenseurs, ont récemment été redécouverts comme antioxydants. Cependant, peu de nouvelles molécules ont obtenu une autorisation de mise sur le marché, contrairement aux molécules historiques (**Favier et al., 2003**).

Les dérivés végétaux sont largement utilisés dans les suppléments et les produits cosmétiques anti-vieillessement. Ils comprennent des principes actifs extraits de légumes, d'épices, de fruits et de plantes médicinales. Parmi eux, les polyphénols, tels que la quercétine, le resvératrol et la curcumine, sont les plus couramment utilisés (**Favier et al., 2003**).

L'utilisation limitée des enzymes en raison de leur faible efficacité clinique et du risque de contamination accrue depuis l'apparition de l'encéphalopathie bovine spongiforme. Les chimistes ont développé des molécules "SOD likes" basées sur des complexes de cuivre, de fer ou de manganèse. Ces molécules doivent être non toxiques, stables, avoir une longue demi-vie, ne pas former de complexes ternaires avec les composants cellulaires, réagir lentement avec l'oxygène moléculaire, traverser les membranes cellulaires et atteindre un site hydrophile ou lipophile. Certains dérivés du sélénium ont également des propriétés peroxydasiques, comme l'Ebselen, qui est commercialisé comme anti-inflammatoire dans de nombreux pays européens (**Favier et al., 2003**).

Les différents types de piègeurs chimiques incluent les dérivés phénoliques, stéroïdiens, soufrés, de la méthyl xanthine et hydroxylés (**Favier et al., 2003**).

1.6. L'approche biologique du stress oxydatif

L'utilisation thérapeutique des enzymes antioxydantes a été décevante, principalement en raison des essais portant sur la superoxyde dismutase cuivre-zinc cytosolique, une enzyme ambiguë en tant qu'antioxydant. Cependant, d'autres approches semblent prometteuses. La thérapie génique par transfert de gènes antioxydants a donné des résultats encourageants chez l'animal, réduisant les conséquences de l'ischémie du myocarde et supprimant les métastases de cancer du poumon et les tumeurs gliales. Le transfert de protéines taguées permet également de faire pénétrer des protéines antioxydantes dans les cellules,

notamment dans les îlots de Langerhans du pancréas pour protéger contre le stress oxydant chez les diabétiques (**Favier *et al.*, 2003**).

1.7. Effets négatifs du stress oxydant

Les macromolécules essentielles de cellules sont très vulnérables à l'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses, ce qui entraîne des anomalies dans l'expression des gènes et des récepteurs membranaires, la prolifération ou la mort des cellules, des maladies immunitaires, des mutations, des anomalies.

Les tissus peuvent présenter des dépôts de protéines ou de lipofuscine, des cancers, des maladies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, diabète d'Alzheimer) (**Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007**).

Les cellules et les tissus des organismes vivants sont protégés par des systèmes de défense antioxydants.

2. Les antioxydants

Une substance appelée antioxydant permet de retarder, prévenir ou éliminer les dommages oxydatifs causés à une molécule ciblée. En étant oxydés eux-mêmes, les antioxydants éliminent ces intermédiaires de radicaux libres et inhibent d'autres réactions d'oxydation, ce qui interrompt les réactions en chaîne nocives. Une substance appelée antioxydant permet de retarder, prévenir ou éliminer les dommages oxydatifs causés à une molécule ciblée. En étant oxydés eux-mêmes, les antioxydants éliminent ces intermédiaires de radicaux libres et inhibent d'autres réactions d'oxydation, ce qui interrompt les réactions en chaîne nocives (**Blokhina *et al.*, 2003 ; Crisóstomo *et al.*, 2022**).

Différents types de molécules ayant une activité antioxydante sont présents dans l'organisme, avec des mécanismes d'action distincts. On peut citer :

2.1. Antioxydants enzymatiques

- Superoxyde dismutase : Catalyse la dismutation de l'O₂
- Catalase : Métabolise le H₂O₂.
- Glutathion peroxydase : Réduction de H₂O₂ et les HO₂. (**Blokhina *et al.*, 2003 ; Crisóstomo *et al.*, 2022**).

2.2. Antioxydants non enzymatiques

Il existe un grand nombre d'antioxydants naturels qui sont principalement utilisés dans le secteur des suppléments et des produits anti-âge, qu'il s'agisse de composés extraits de légumes, d'épices, de fruits ou de plantes aromatiques (Favier, 2003).

Les composés phénoliques et poly phénoliques, les chélateurs, les vitamines : E, β carotène, C, A, ces deux derniers également appelés antioxydants non enzymatiques, les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), les caroténoïdes et la carnosine sont parmi les antioxydants naturels provenant des sources alimentaires (Fereidoon, 1997 ; Haleng *et al.*, 2007).

3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

3.1. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

En général, le substrat le plus couramment employé pour évaluer rapidement et directement l'activité antioxydante est le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), en raison de sa stabilité en forme radical libre et de sa facilité d'analyse (Evenamede *et al.*, 2017).

Cette approche repose sur la diffusion d'électrons qui génère une solution violette dans l'éthanol. La présence d'une molécule antioxydante réduit ce radical libre, qui reste stable à la température ambiante et présente une couleur violette caractéristique, ce qui donne lieu à une solution d'éthanol incolore. Le test DPPH offre une méthode facile et rapide pour évaluer les antioxydants par spectrophotométrie, ce qui peut être bénéfique pour évaluer plusieurs produits simultanément (Garcia *et al.*, 2012) (fig. n°14).

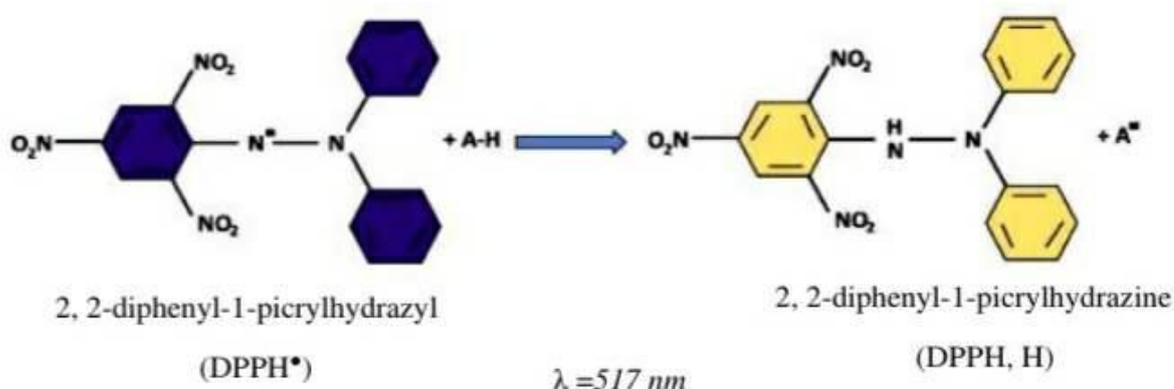


Figure n°14: Réduction du DPPH[•] en DPPH,H par un antioxydant (Bibi Sadeer *et al.*, 2020)

3.2. Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

Cette technique repose sur la modification de la couleur lors de la réduction du fer suite à un transfert d'électrons, ce qui implique le passage de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}) lorsque l'absorbance augmente à 593 nm (Antolovich *et al.*, 2002) (fig. n°15).

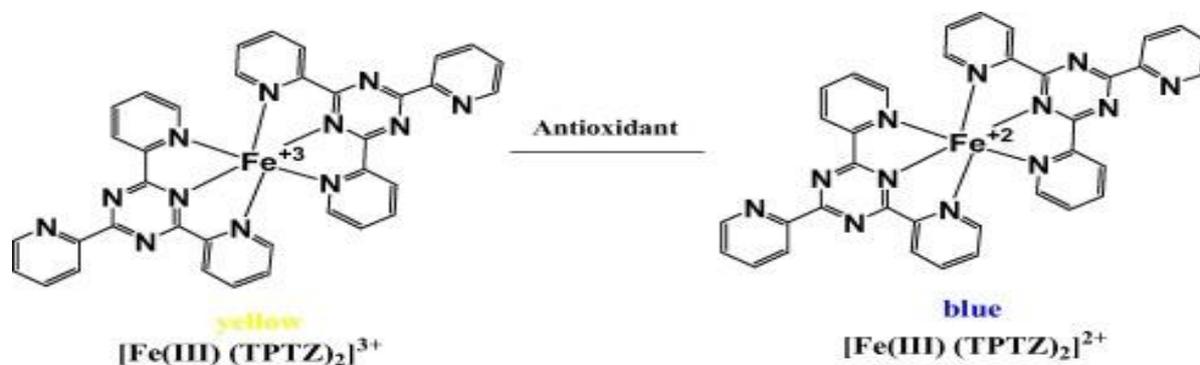


Figure n°15 : Réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} par un antioxydant (Bibi Sadeer *et al.*, 2020)

3.3. Test de piégeage du radical ABTS

Ce procédé permet d'évaluer l'efficacité antioxydante des mélanges de substances, ce qui permet de différencier les effets additifs et synergiques. L'évaluation repose sur l'interaction entre l'antioxydant et le radical cation ABTS ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) qui présente une couleur distinctive avec des maximums à 645, 734 et 815 nm (Boligon *et al.*, 2014).

Le but de ce test est de déterminer si un antioxydant peut stabiliser le radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de couleur bleu-vert en le transformant en ABTS^+ incolore, en piégeant un proton par l'antioxydant (Bouhadjra, 2011) (fig. n°16).

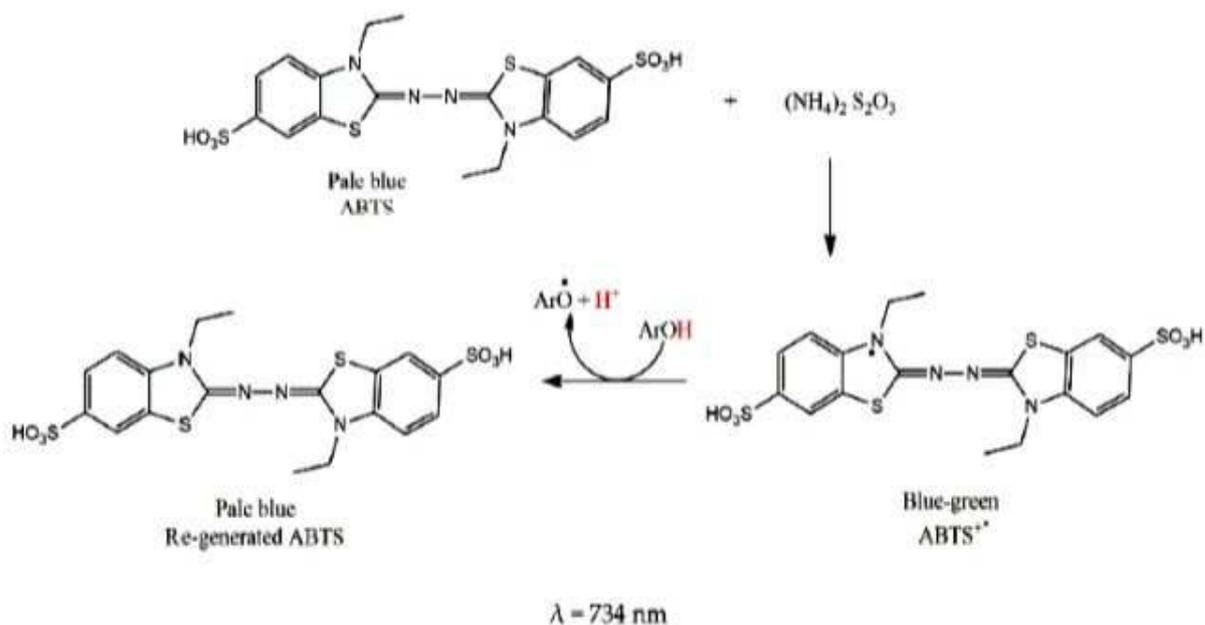


Figure n°16 : Réduction de l'ABTS^{•+} en ABTS par un antioxydant (**Bibi Sadeer et al., 2020**)

3.4. Test TRAP :

Le test TRAP consiste à commencer la peroxydation lipidique en produisant des radicaux peroxyes hydrosolubles. Il est sensible à tous les antioxydants connus qui provoquent une rupture de chaîne, mais il est assez complexe et exige une certaine expertise et expérience pour le réaliser.

Néanmoins, le test TRAP a fait l'objet de critiques en raison de son utilisation d'un oxydant non physiologique stress (radicaux peroxyes hydrosolubles), mais la méthode peut être modifiée pour intégrer des initiateurs biosolubles (**Prior et la., 2005**).

3.5. Test de résonance paramagnétique électronique RPE :

Il s'agit de la seule méthode d'analyse capable de repérer de manière précise les radicaux libres impliqués dans l'autoxydation et les processus qui y sont liés. Néanmoins, même si elle est naturellement sensible aux radicaux libres stables comme le di-ter-butylnitroxyde, la RPE ne détecte pas les radicaux libres réactifs de courte durée impliqués dans l'autoxydation (**Antolovich et la., 2002**).

3.6. Méthode DMPD (dichlorhydrate de N, N-diméthyl-p-phénylène diamine) :

L'activité antioxydante dans des échantillons alimentaires et biologiques a été évaluée à l'aide de la méthode de décoloration par cation radicalaire (DMPD). Cet essai repose

sur la diminution de la quantité de DMPD coloré dans une solution tamponnée à l'aide d'un tampon aqueux et de chlorure ferrique. Il s'agit de mesurer la réduction de l'absorbance du DMSO en présence de capteurs à son niveau d'absorption maximal de 505 nm. La réduction du DMPD est exprimée en pourcentage de l'activité (**Antonio, 1997**).

3.7. Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) :

Ce procédé repose sur l'évaluation de la capacité antioxydante des échantillons biologiques en laboratoire. Pour évaluer l'oxydation d'une molécule fluorescente après l'ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) (AAPH). En présence d'oxygène, la dégradation thermique de cette molécule va produire régulièrement des radicaux libres susceptibles d'attaquer la membrane des globules rouges (**Desmier, 2016**).

Cette méthode repose sur la mesure de la réduction de la fluorescence. La production de radicaux libres entraîne une détérioration optique de la molécule active, ce qui entraîne une diminution de sa propriété émissive et une diminution de la fluorescence du milieu. Il est prévu que l'incorporation de composés antioxydants efficaces permette de capturer les radicaux libres et de préserver la molécule fluorescente. Après avoir ajouté le générateur de radicaux libres, le milieu sera analysé par spectrofluorimétrie pendant 35 minutes, ce qui permettra de lier l'intensité de fluorescence à la concentration du milieu (**Desmier, 2016**).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATRIEL ET METHODES

Notre travail a été effectué au laboratoire de recherche antibiotiques antifongiques : physico-chimie synthèse et activité biologique (LAPSAB) Université Abou baker BELKAID - TLEMCEM - .

Ce travail a pour but d'évaluer l'activité antioxydante des extraits aqueux de différentes parties de *Hyphaene thebaica* .

La partie expérimentale de ce travail consiste à réaliser :

-Une analyse phytochimique des différents extraits aqueux préparés à partir de différentes parties de *Hyphaene Thebaica*.

-Un dosage quantitatif et qualitatif des composés phénoliques .

-Une analyse de l'activité antioxydante par deux méthodes DPPH et FRAP.

1. Matériel végétal

La plante *Hyphaene thebaica* (doum) a été récoltée au cours du mois de février dans la région de MARSSA BEN M'HIDI – Tlemcen. Les fleurs et les racines ont été isolées et séchées, à l'air libre et à l'abri de la lumière puis découpées en petits morceaux.

Les fruits ont été achetés sèches chez un herboriste de Tlemcen, puis concacées.

1.1. Préparation des extraits aqueux

10g de chaque partie de matériel végétal (racines, fleurs, et racines) sont mélangés avec 200 mL d'eau distillée en décoction sous reflux pendant 1h.

Les extraits obtenus sont filtrés puis évaporés à sec , à 37°C

La figure suivante illustre le protocole expérimental réalisé dans cette étude (fig. n°17).

MATRIEL ET METHODES

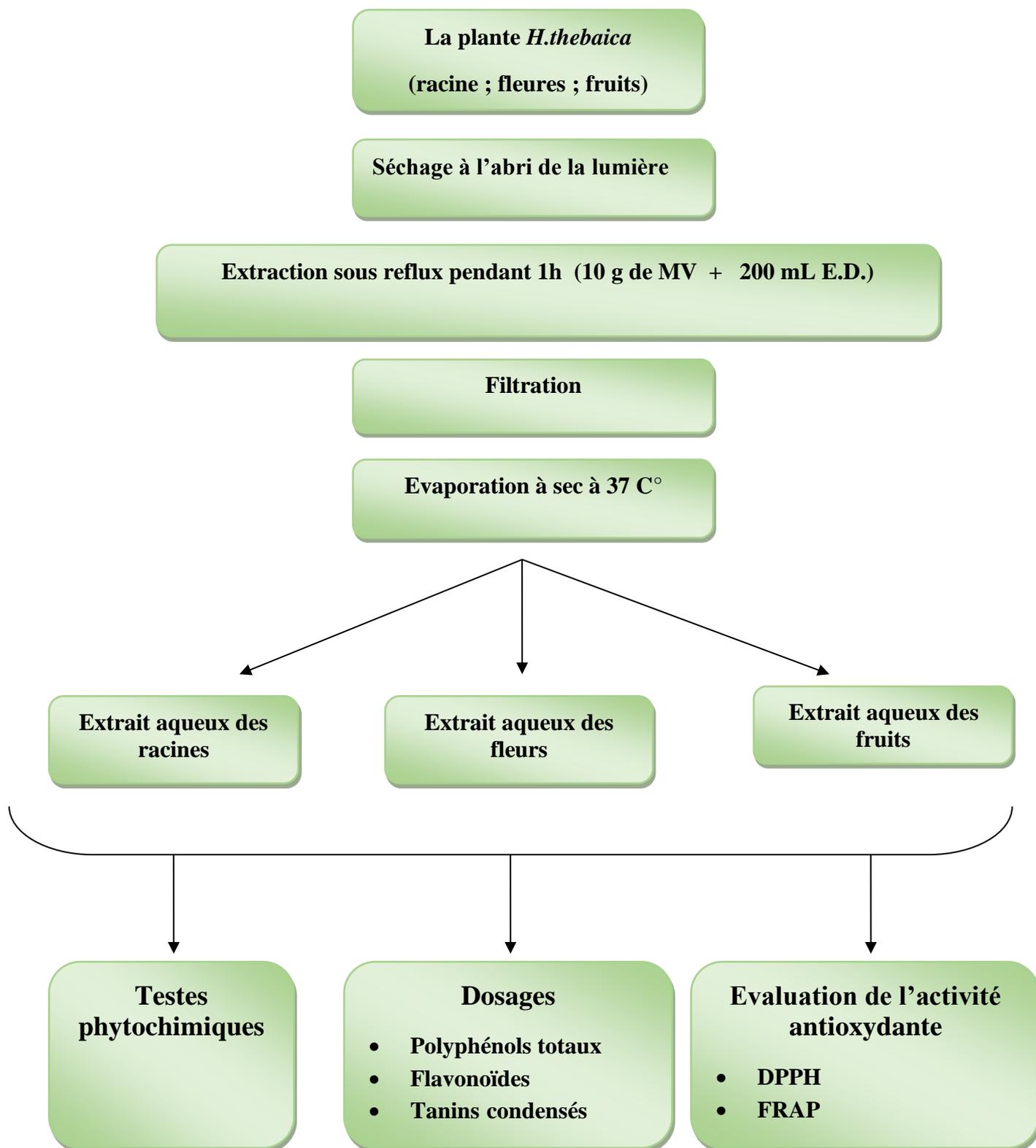


Figure n°17 : Schéma récapitulatif des différentes étapes du protocole expérimental réalisé sur *H. thebaica*

2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction de différents extraits de *H.thebaica* a été déterminé par rapport à 10 g de matière végétale est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = (m / M) \times 100$$

R% : rendement en pourcentage

m : masse en gramme de l'extrait brut sec

M : masse en gramme de matière végétal sécher

3. Analyse phytochimique

3.1. Les tanins

La détection des tanins est réalisée par l'ajout de 0,125 mL de la solution aqueuse de FeCl₃ (1%) à 0,5 mL de chaque extrait. le mélange a été incubé à température ambiante pendant 15 min. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et la couleur bleu- noirâtre indique la présence des tanins galliques (**Karumi, 2004**).

3.2. Les Flavonoïdes

0,5 mL de chaque extrait sont mélangés avec 0,5 mL de l'acide chlorhydrique HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge, rose ou orange (**Karumi, 2004**).

3.3. Les Flavonoïdes

À l'intérieur d'un tube à essai, on a ajouté 0,05 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%) à 0,5 mL de chaque extrait analysé. La présence d'un jaune, d'un rouge ou d'un violet signale la présence de quinones libres (**Oloyede, 2005**).

3.4. Les anthraquinones

On a détecter les anthraquinones en ajoutant 0,5 mL de NH₄OH (10 %). Une fois agité, une teinte violette apparaît, ce qui indique la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

3.5. Les terpénoïdes

Le test de Slakowski a été utilisé pour identifier les terpénoïdes en ajoutant 0,2 mL de chloroforme et 0,3 mL d'acide sulfurique concentré à 0,5 mL d'extrait. Les deux phases et une teinte marron à l'interface témoignent de la présence de terpénoïdes (N'Guessan *et al.*, 2009).

3.6. Les saponosides

Test de mousse : Dans un tube à essai, 10 mL d'extrait est agités pendant 15 secondes. Laisser reposer pendant quelques minutes et mesurer la hauteur de la mousse produite dans le tube. Une hauteur de mousse persistante, supérieur à 1 cm indique la présence des saponosides (N'Guessan *et al.*, 2009).

3.7. Les alcaloïdes

Des réactions de précipitation ont été effectuées avec le réactif de Mayer et Wagner pour effectuer les tests. Après avoir ajouté 0,25 mL de réactif de Mayer dans le premier tube, on a ajouté 0,25 mL de réactif de Wagner dans le deuxième. Le développement d'un précipité blanc et marron signale la concentration des alcaloïdes (Majob *et al.*, 2003).

3.8. Les composés réducteurs

À 0,5 mL de chaque extrait, 1 mL de la liqueur de Fehling sont ajoutés (0,5 mL réactif A et 0,5 mL réactif B). L'ensemble est incubé pendant 10 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs (Majob *et al.*, 2003).

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

4.1.1. Principe

La méthode de Folin- Ciocalteu a été utilisée pour évaluer les polyphénols totaux. Ce réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique $H_3[P(W_3O_{10})_4]$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_{40}$ de couleur jaune. Cette approche repose sur l'oxydation des substances. Le réactif Folin-Ciocalteu produit des composés phénoliques, ce qui entraîne la création d'un complexe molybdène-tungstène de couleur vert qui absorbe à une longueur d'onde de 700 nm (Vermerris *et la.*, 2007).

MATRIEL ET METHODES

4.1.2. Mode opératoire

100 µL de chaque extrait brut sont mélangés avec 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 % puis incubés pendant 5 minutes. Au mélange, 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont ajoutés, puis une deuxième incubation à température ambiante pendant 5 minutes est réalisée la densité optique en utilisant est mesurée en utilisant un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc.

Dans les mêmes conditions opératoires, la gamme d'étalonnage de l'acide gallique a été préparée à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mg/ml).

4.2. Dosage des flavonoïdes

4.2.1. Principe

Il s'agit d'une technique spectrophotométrique où le trichlorure d'aluminium. $AlCl_3$ se combine avec les flavonoïdes pour former un complexe jaune, tandis que la soude (NaOH) forme un complexe rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (Ardestani *et al.*, 2007).

4.2.2. Mode opératoire

Dans des tubes, 1 mL d'eau distillée sont mélangés avec 250 µL de chaque extrait, puis ajouté 75 µL d'une solution de nitrite de sodium $NaNO_2$ à 15 %. Par la suite, on a incubé les tubes pendant 6 minutes à température ambiante. Une fois le temps d'incubation terminé, ajoutez 75 µL de trichlorure d'aluminium. ajoutez 10 % d' $AlCl_3$. Une deuxième incubation de 6 minutes à température ambiante a été réalisée, puis 1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% ont été ajoutés. Le volume total est réduit à 2,5 mL en utilisant de l'eau distillée.

La densité optique a été mesurée par rapport à un blanc à une longueur d'onde de 510 nm par spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage de la catéchine a été effectuée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires à différentes concentrations (0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 mg /mL).

4.3. Dosage des tanins condensés

4.3.1. Principe

On a estimé la quantité de tanins condensés en utilisant la méthode de la vanilline. Les tanins condensés se dépolymérisent dans un environnement acide et, en réagissant avec la

MATRIEL ET METHODES

vanilline, se métamorphosent en anthocyanidols rouges mesurables à 550 nm par spectrophotomètre (Sun *et al.*, 1998).

4.3.2. Mode opératoire

50 µL de chaque extrait à analyser sont mélangés avec 1500 µl d'une solution méthanolique de vanilline (4%). Une fois agité, puis ajouté un volume de 750 µL d'HCl concentré. Par la suite, laissé le mélange réagir à température ambiante pendant 20 minutes.

Une gamme d'étalonnage de la catéchine a été réalisé à différentes concentrations (0,8; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 mg/mL).

La densité optique a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc.

5. Evaluation de l'activité antioxydante

5.1. Piégeage du radical libre DPPH

5.1.1. Principe :

Grâce à la présence de ce radical, la solution acquiert une teinte violacée qui absorbe vers 515 nm. En réduisant les radicaux DPPH• par un agent antioxydant, la solution se décolore et devient jaune, ce qui entraîne une baisse de l'absorbance (Atoui *et al.*, 2005).

5.1.2. Mode opératoire

1950 µl d'une solution de DPPH• (0,025mg/mL) sont mélangés avec 50 µl de différentes concentrations d'extraits. En même temps, préparez des tubes blancs en mélangeant 50 µl de chaque concentration en extrait et 1950 µl de méthanol. On a préparé le témoin négatif en ajoutant 50 µl de méthanol à 1950 µl de DPPH•. Les séries de tubes ont été stockées à température ambiante à l'abri de la lumière pendant une durée de 30 minutes. On a mesuré l'absorbance à 515 nm en utilisant un spectrophotomètre pour observer les tubes blancs.

L'acide ascorbique, le BHA et le BHT ont été également préparés comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales. Les concentrations utilisés pour le BHA et le BHT était (0,025 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 mg/mL), (0,2 ; 0,3 ; 0,5 ; 0,6 ; 0,7 mg/mL) et (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 ; 0,2 mg/mL) pour l'acide ascorbique.

5.2. La méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

5.2.1. Principe

On utilise cette méthode pour évaluer la capacité des extraits à convertir l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette diminution se manifeste par la formation d'une teinte verte qui absorbe à une longueur d'onde de 700nm, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir de réduction (Topçu *et al.*, 2007).

5.2.2. Mode opératoire

2,5 mL d'extrait à différentes concentrations sont ajoutés dans des tubes à essai, 2,5 mL de tampon phosphate (0,2 M : pH 6,6) et 2,5 mL de ferricyanure de potassium à 10 %. Le mélange obtenu a été mis en incubation pendant 20 minutes à une température de 50°C. On a ajouté 2,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à une teneur de 10%. Un mélange de 2,5 mL du surnageant a été mélangé avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution de FeCl_3 à 0,1 % après 10 min de centrifugation à 3000 rpm.

Les absorbances du milieu réactionnel ont été mesurée à une longueur d'onde de 700 nm contre un blanc en utilisant un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique, le BHA et le BHT sont utilisés comme contrôles positifs. Dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations (0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg/mL).

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Rendement d'extraction

Les résultats du rendement, des différents extraits aqueux ont été indiqués dans le tableau suivant :

Tableau n°2 : Rendements et caractéristiques des trois extraits de *H.thebaica*

Extraits	Rendement %	Aspect	Couleur	Solubilité
Extrait aqueux Racines	23,22	Pâte	Marron clair	Eau distillée
Extrait aqueux Fleurs	23,25	Pâte	Marron foncé	Eau distillée
Extrait aqueux Fruits	24,68	Pâte	Marron	Eau distillée

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les rendements des 3 extraits aqueux sont proches avec une valeur de 24,7 % pour l'extrait aqueux des fruits, alors que les deux autres extraits (racines et fleurs) les rendements sont presque égales (23%).

Les trois extraits ont un aspect se forme pâte, soluble dans l'eau distillée. L'extrait aqueux des racine a une couleur marron clair, des fruits marron et des fleurs marron foncé.

2. Analyse phytochimique

Les résultats expérimentaux des testes phytochimiques effectués sur les extraits de *H.thebaica* sont mentionnés dans le tableau n°3.

Nous remarquons que l'extrait aqueux des fleurs et fruits sont riches en tanins , flavonoides , quinones libres , alcaloïdes et les composés réducteurs , tandis qu'une faible quantité de saponosides dans l'extrait de fleurs et absent dans l'extrait des fruits

Alors que l'extrait aqueux des racines a révélé que la présence des tanins. On remarque aussi une absence totale des anthraquinones et des terpénoïdes dans les trois extraits.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Tableau n°3 : Résultats de l'analyse phytochimique des extraits de *H.thrbaica*

	Racines	Fleurs	Fruits
Les tanins	+	+	+
Les flavonoïdes	-	+	+
Les quinones libres	-	+	+
Les anthraquinones	-	-	-
Les terpénoïdes	-	-	-
Les saponosides	-	+	-
Les alcaloïdes	-	+	+
Les composés réducteurs	-	+	+

(+) : présence ; (-) : absence

3. Teneurs en composés phénoliques

Les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés des différents extraits sont calculées à partir des courbes d'étalonnage représentées sur les figures n° 18, 19 et 20.

Les teneurs en composés phénoliques sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/gE) pour les polyphénols totaux et en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/gE) pour les flavonoïdes et les tanins condensés, et elles sont données dans le tableau n°4.

RESULTATS ET INTERPRETATION

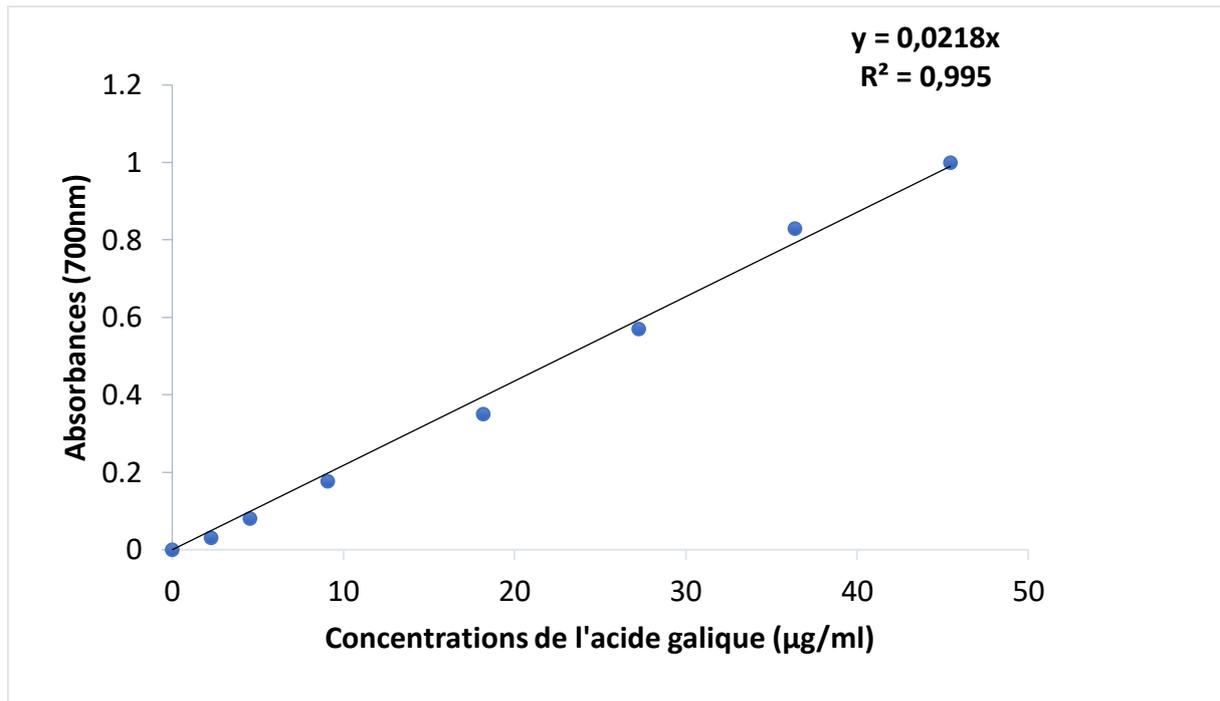


Figure n°18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

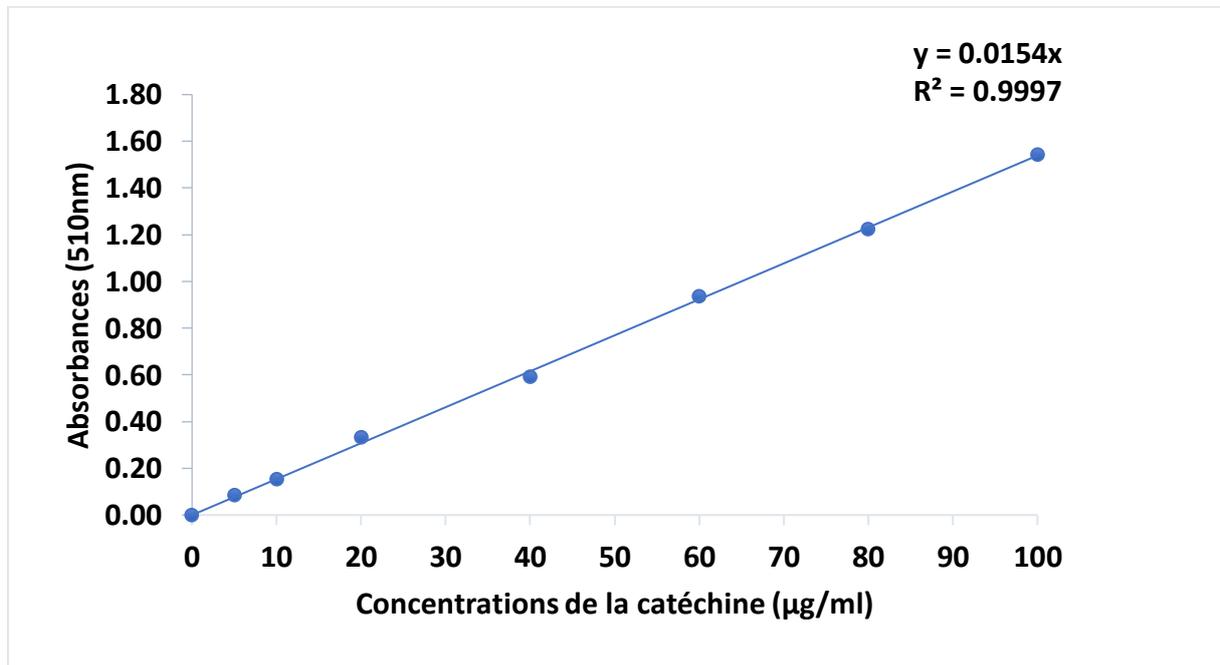


Figure n°19 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

RESULTATS ET INTERPRETATION

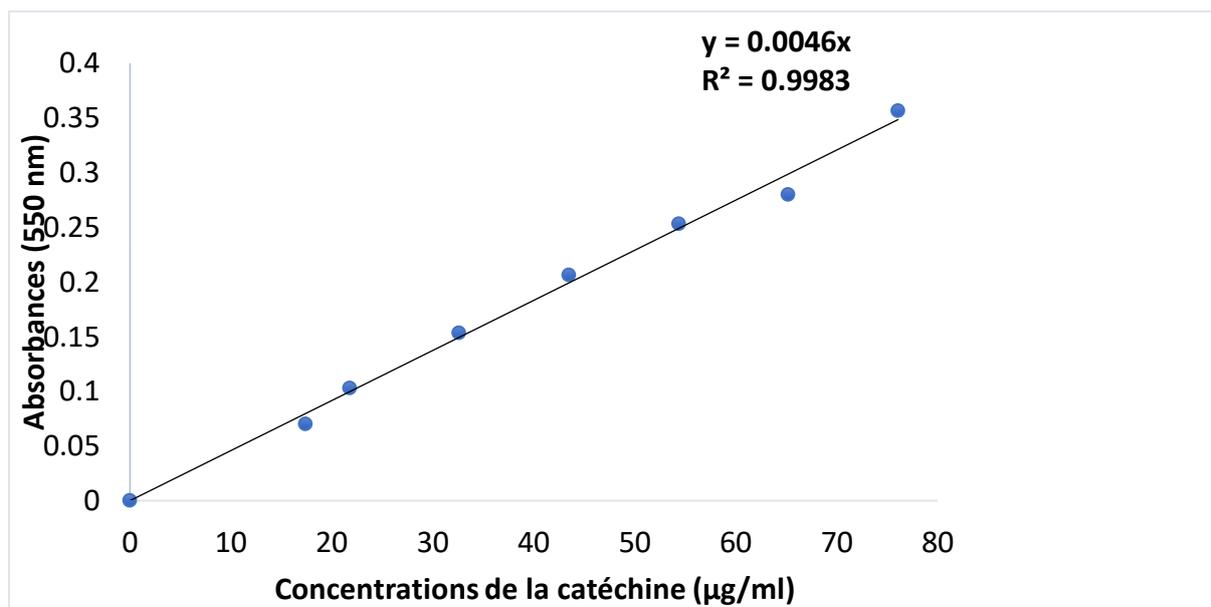


Figure n°20 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés

Tableau n°4 : Teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés dans les différents extraits de *H.thebaica*

	Racines	Fleurs	Fruits
Polyphénols totaux (mgEAG/gE)	20,18 ± 0,00	211,92 ± 0,00	178,28 ± 6,74
Flavonoïdes (mgEQC/gE)	69,26 ± 4,33	71,42 ± 5,31	106,06 ± 5,73
Tanins condensés (mgEQC/gE)	15,08 ± 2,75	368,00 ± 2,31	227,36 ± 4,87

Selon les données du tableau n°4, nous remarquons que les fleurs contiennent la plus grande quantité de polyphénols totaux avec une teneur de $211,92 \pm 0,00$ mgEAG/gE et en tanins condensés avec une teneur de $368,00 \pm 2,31$ mgEQC/gE, tandis que l'extrait aqueux des fruits renferme la teneur la plus élevée en flavonoïdes de $106,06 \pm 5,73$ mgEQC/gE, ainsi, il renferme des quantités importantes en polyphénols totaux et en tanins ($178,28 \pm 6,74$ et $227,36 \pm 4,87$ respectivement)

D'autre part, l'extrait aqueux des racines renferme les teneurs les plus faibles en polyphénols totaux $20,18 \pm 0,00$ mgEAG/gE, en flavonoïdes $69,26 \pm 4,33$ mgEQC/gE et en tanins condensés $15,08 \pm 2,75$ mgEQC/gE.

RESULTATS ET INTERPRETATION

4. Activité antioxydante des extraits de *H. thebaica*

Les extraits aqueux de *H.thebaica* analysés pour leur activité antioxydante en utilisant deux méthodes : la méthode de piégeage du radical DPPH• et la méthode de réduction de fer « FRAP ».

4.1. Piégeage du radical libre DPPH•

4.1.1. Piégeage du radical libre DPPH• par les extraits de *H.thebaica*

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition et comparés aux molécules de références (acide ascorbique, BHA et BHT).

Les figures n° 21, 22 et 23 représentent graphiquement les pourcentages d'inhibition des extraits aqueux racines, fleurs et fruits de *H. thebaica*, respectivement.

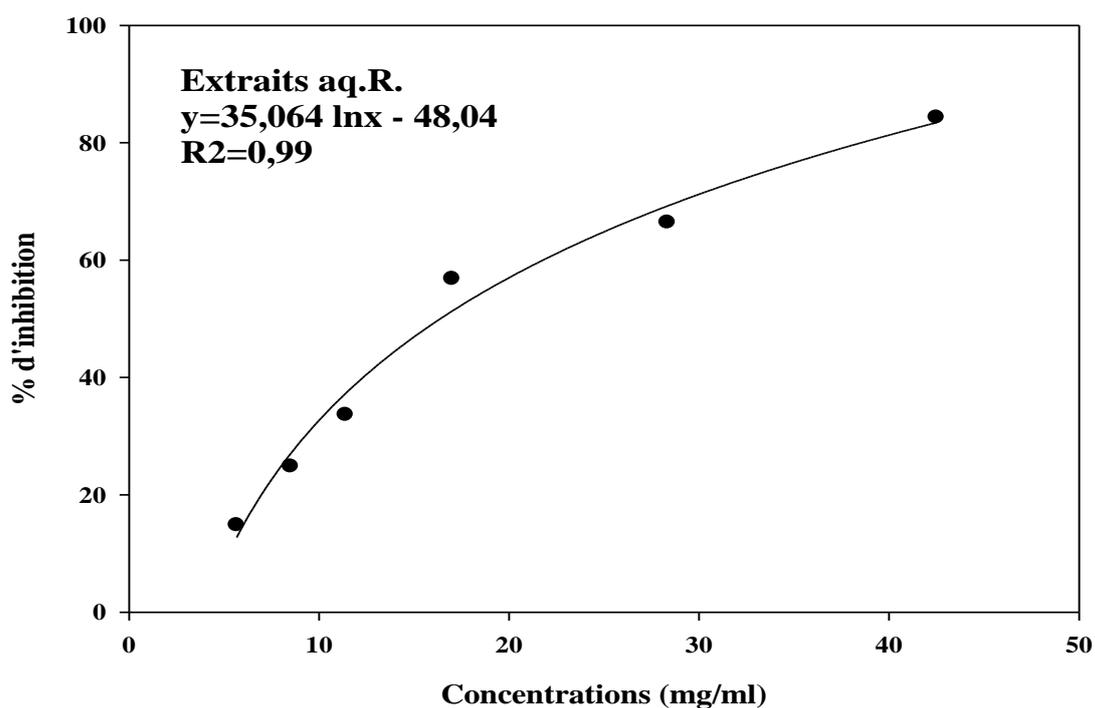


Figure n°21 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des racines de *H.thebaica* (n=3).

D'après la figure n°21, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente proportionnellement avec la concentration de l'extrait aqueux des racines de *H.thebaica* et

RESULTATS ET INTERPRETATION

suit une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,99$). D'après cette courbe, on observe que la concentration de 5,66 mg/mL correspond à un pourcentage d'inhibition de 14,87 %. En augmentant la concentration à 8,50 mg/mL, le pourcentage d'inhibition s'élève à environ 24,86 %, puis à 33,65 % à une concentration de 11,40 mg/ml, ensuite 56,84 % à 17 mg/ml.

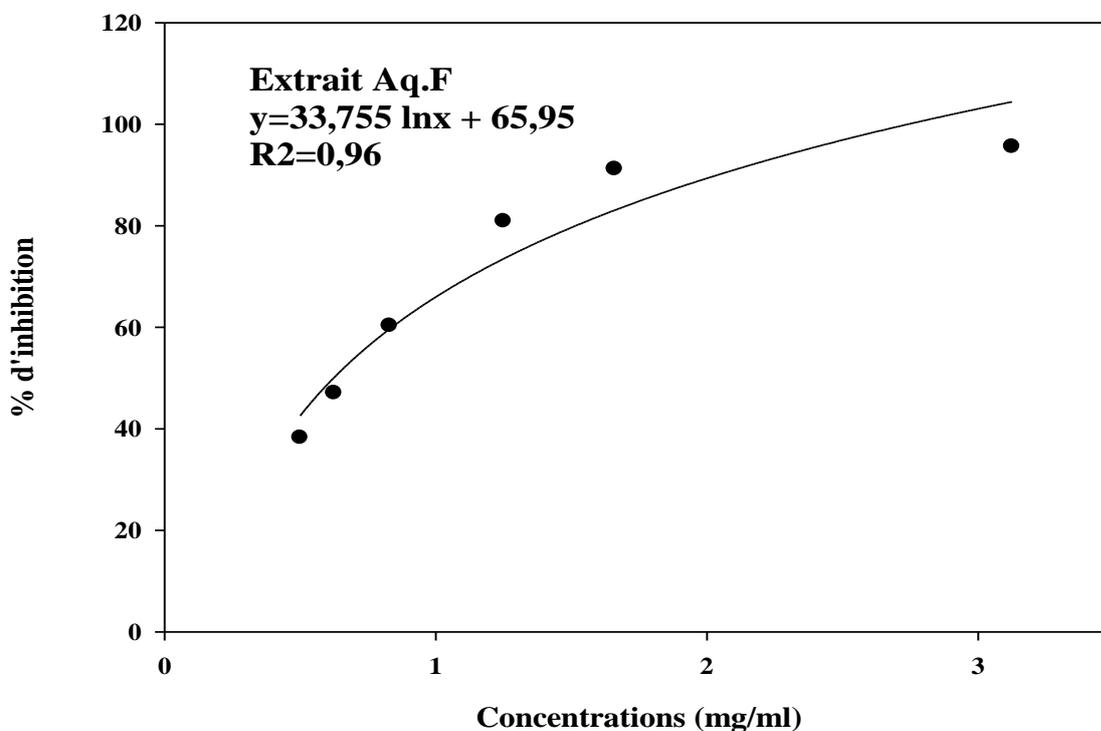


Figure n°22 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des fleurs de *H.thebaica* (n=3).

D'après la figure n°22, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente proportionnellement avec la concentration de l'extrait aqueux des fleurs suit une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,96$). D'après cette courbe, on observe qu'à la concentration de 0,5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est de 38,24 %. En augmentant la concentration à 0,83 mg/ml, le pourcentage d'inhibition s'élève à environ 60,30 %, puis à 80,88 % à une concentration de 1,25 mg/ml, ensuite 95,59% à 3,12 mg/ml.

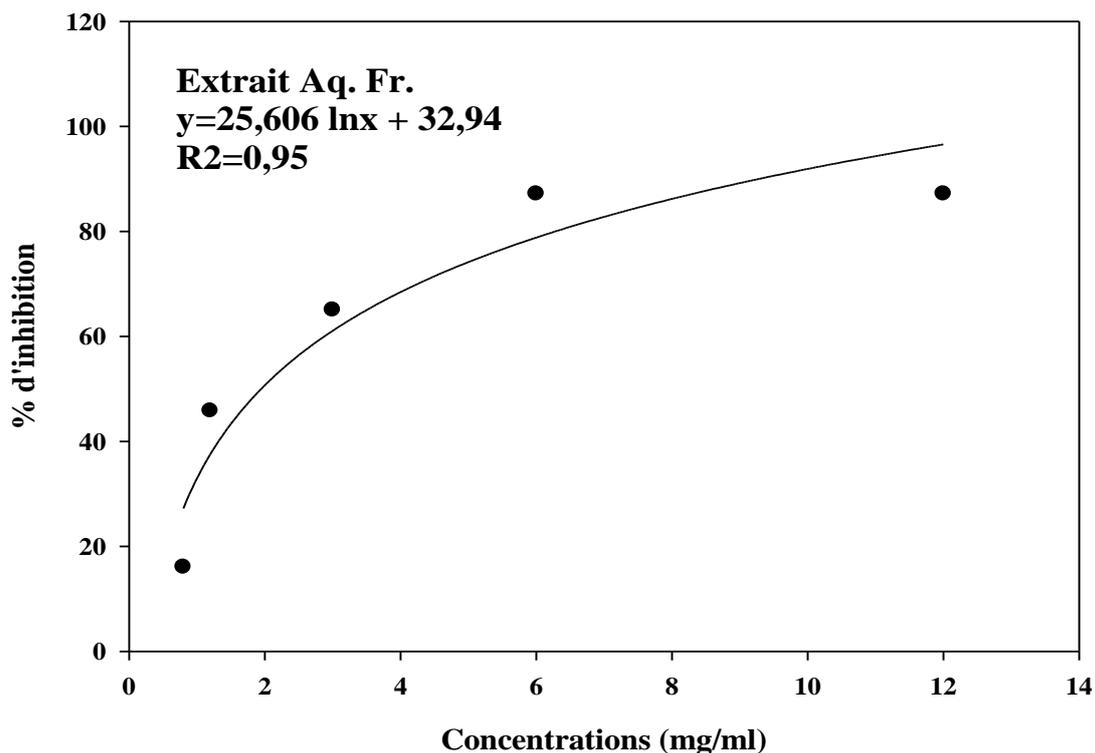


Figure n°23 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait aqueux des fruits de *H.thebaica* (n=3).

D'après la figure n°23, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH• augmente proportionnellement avec la concentration de l'extrait aqueux des fruits et suit une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,95$). D'après cette courbe, on observe que la concentration de 0,80 mg/ml a un pourcentage d'inhibition de 16,08 %. En augmentant la concentration à 1,20 mg/ml, le pourcentage d'inhibition s'élève à environ 45,80 %, puis à 87,18 % à une concentration de 6 mg/ml, ensuite 87,18 % à 12 mg/ml.

4.1.2. Piégeage du radical libre DPPH• par les molécules de référence

Les trois molécules de référence (acide ascorbique, BHA et BHT), utilisées pour piéger le radical libre DPPH•, présentent des pourcentages d'inhibition représentés sur les figures n°24, 25 et 26, avec des régressions logarithmiques et linéaires fortement corrélées.

RESULTATS ET INTERPRETATION

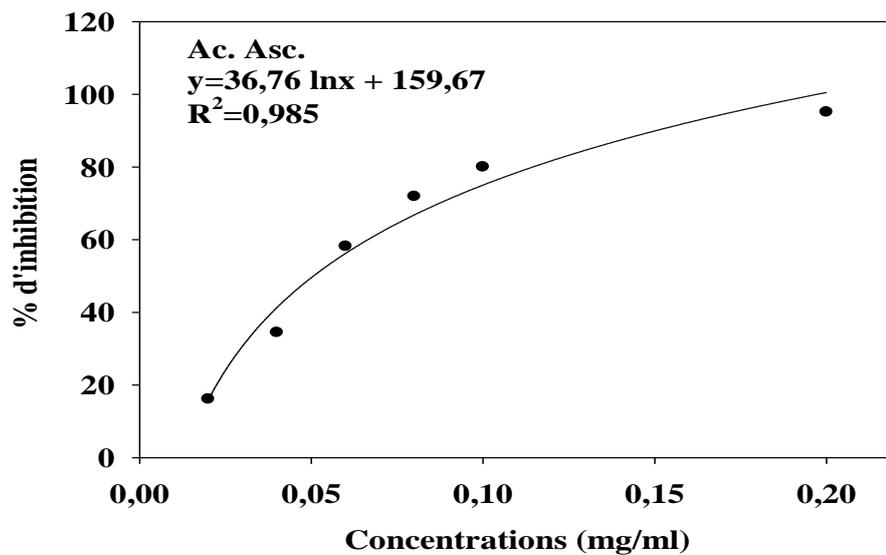


Figure n°24 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par l'acide ascorbique (n=3).

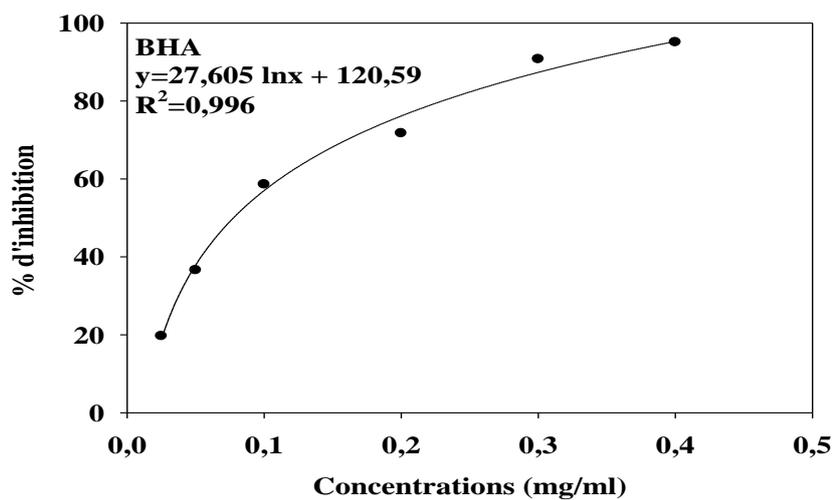


Figure n°25 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par le BHA (n=3).

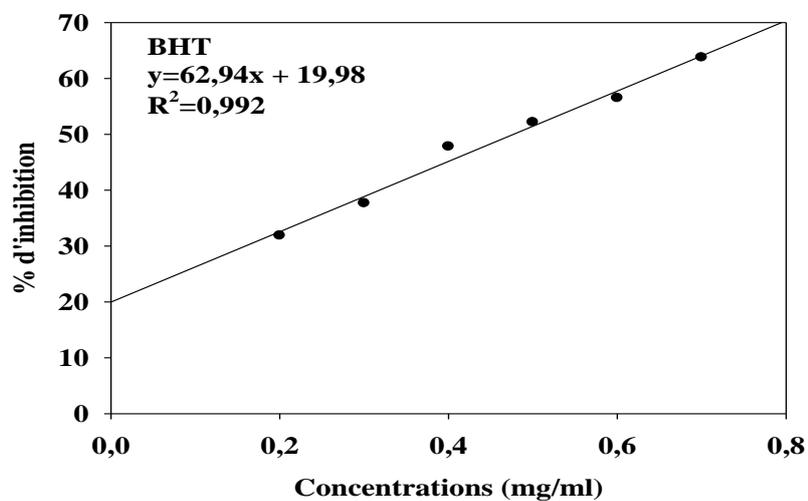


Figure n°26 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• par le BHT (n=3).

RESULTATS ET INTERPRETATION

Selon la figure n°24, on peut observer que l'acide ascorbique présente une activité inhibitrice de 16,14 % à la concentration la plus faible, soit 0,02 mg/ml. Lorsque la concentration est augmentée à 0,08 mg/ml, le pourcentage d'inhibition atteint 58,18 %. Finalement, à une concentration de 0,2 mg/ml, il atteint son maximum (90,35%), démontrant clairement l'effet dose-dépendant de l'acide ascorbique.

Selon la figure n°25, à une concentration de 0,025 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est estimé à environ 19,70 %. Ce pourcentage augmente de manière significative à 58,60% lorsque la concentration de BHA atteint 0,1 mg/ml. Enfin, à la concentration la plus élevée (0,4 mg/ml), le pourcentage d'inhibition atteint un niveau remarquable de 95,10%. Ces résultats mettent en évidence une augmentation proportionnelle de l'efficacité inhibitrice du BHA avec l'augmentation de la concentration.

D'après la figure n°26, on note qu'à la concentration la plus faible de 0,20 mg/ml, un pourcentage d'inhibition relativement faible de 31,88 % est observé. Cependant, lorsque la concentration est augmentée (0,5 mg/ml), le pourcentage d'inhibition atteint un niveau plus élevé, soit 52,17 %. Enfin, à la plus forte concentration de BHT, soit 0,7 mg/ml, un pourcentage de 63,77 % est enregistré.

En comparaison, parmi les molécules de référence testées, le BHT présente le pouvoir inhibiteur le plus faible. Tandis que l'acide ascorbique présente la meilleure activité antioxydante, reflétée par les pourcentages d'inhibition les plus élevés, suivi du BHA.

4.1.3. Calcul des IC_{50}

Pour évaluer et comparer l'activité antioxydante des extraits étudiés par rapport aux molécules de référence, on calcule le paramètre IC_{50} qui représente la concentration requise pour réduire 50 % du radical DPPH• dans une période de 30 minutes.

Les valeurs d' IC_{50} sont calculées en utilisant les équations des régressions logarithmiques et linéaires des graphes précédents, et les résultats sont indiqués dans le tableau n°5.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Tableau n°5 : Valeurs des IC₅₀ des différents extraits aqueux de *H.thebaica* et des molécules de référence.

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
Extrait aqueux Racines	16,38
Extrait aqueux Fleurs	0,62
Extrait aqueux Fruits	1,95
Acide ascorbique	0,050
BHA	0,077
BHT	0,477

Selon les données du tableau n°5. Une valeur d'IC₅₀ faible indique une activité antioxydante élevée. Ainsi, il est important de souligner que l'acide ascorbique présente l'activité antioxydante la plus puissante avec une IC₅₀ = 0,050 mg/ml.

Les résultats montrent que les trois parties de la plante ont la capacité de piéger le radical DPPH• .

L'extrait aqueux des fleurs est le plus actif avec une IC₅₀ très puissante (0,62 mg/ml) suivie de l'extrait aqueux des fruits avec une IC₅₀ = 1,95 mg/ml puis l'extrait aqueux des racines qui est une faible activité avec une IC₅₀ = 16,38 mg/ml.

Selon les résultats, il est important de souligner que l'acide ascorbique présente l'activité antioxydante la plus puissante avec une IC₅₀ = 0,050 mg/ml suivi de BHA et BHT. Ceci est très normal car l'acide ascorbique, BHA et BHT sont les meilleurs antioxydants actuellement utilisés.

4.2. Réduction du fer

4.2.1. Réduction du fer par les extraits de *H.thebaica*

La mesure de la capacité de nos extraits à convertir le fer ferrique Fe³⁺ en fer ferreux Fe²⁺ est présentée dans les figures n°27, 28 et 29 .

RESULTATS ET INTERPRETATION

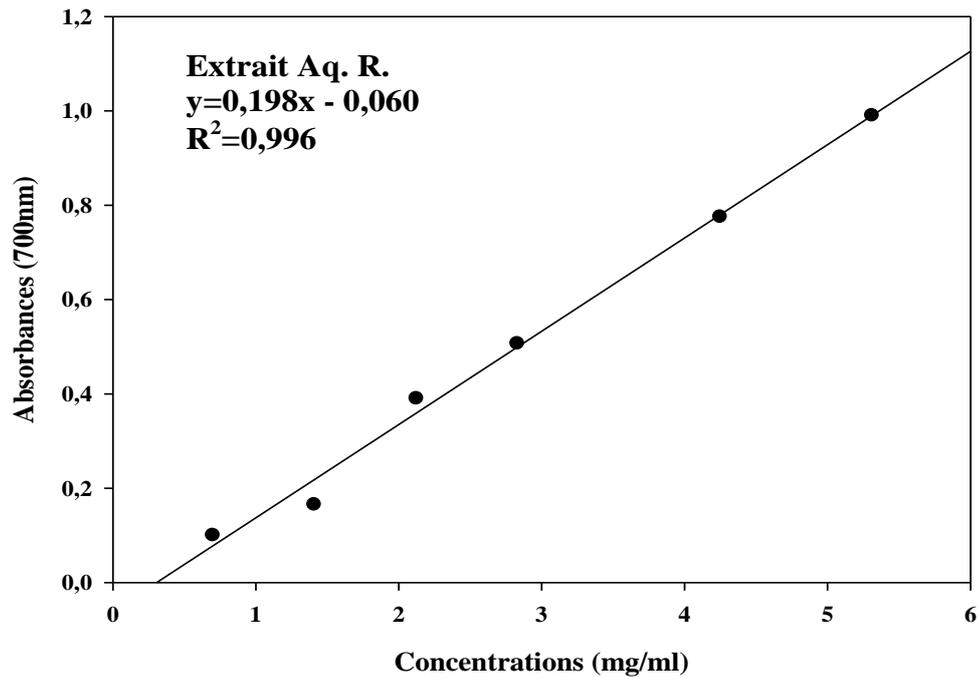


Figure n°27 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des racines de *H. thebaica* (n=3).

Selon la figure n°27, on observe que les absorbances augmentent de manière proportionnelle avec les concentrations de l'extrait, conformément à une régression linéaire ($R^2=0,99$). À une concentration de 0,70 mg/ml, l'absorbance mesurée est de 0,10. Par la suite, on observe une augmentation progressive atteignant 0,50 et 0,99 aux concentrations respectives de 2,83 mg/ml et 5,31 mg/ml.

RESULTATS ET INTERPRETATION

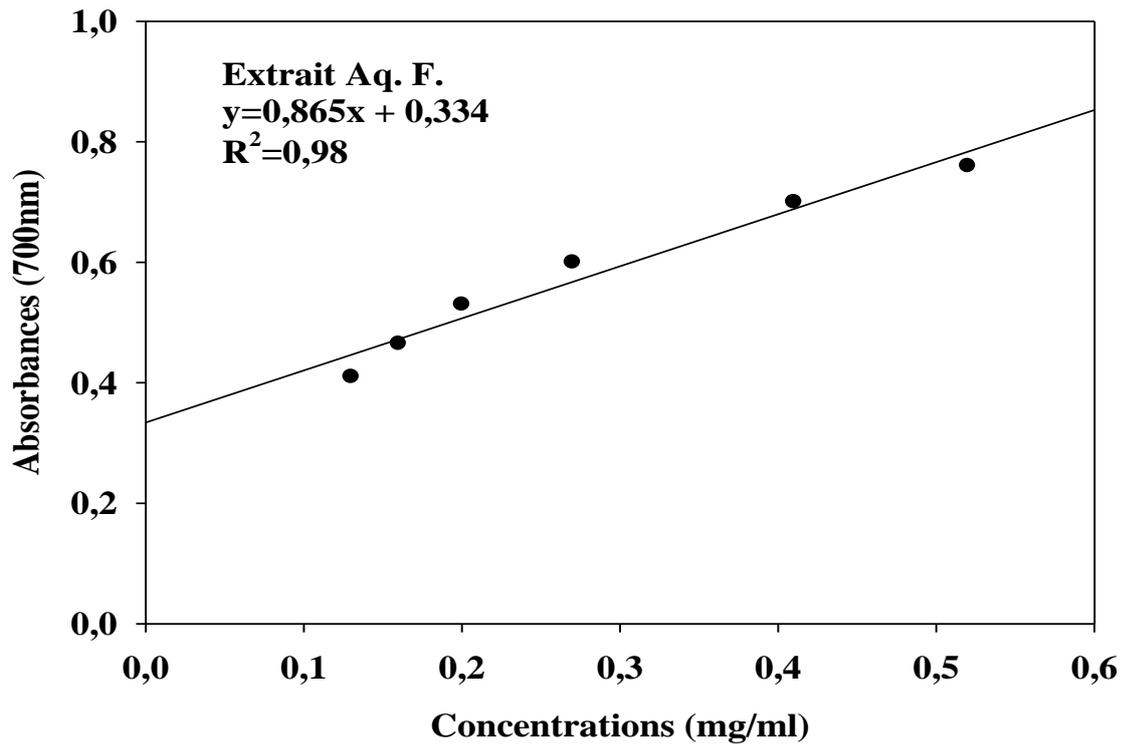


Figure n°28 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait aqueux des fleurs de *H.thebaica* (n=3).

Selon la figure n°28, on observe que les absorbances augmentent de manière proportionnelle avec les concentrations de l'extrait, conformément à une régression linéaire ($R^2=0,98$). À une concentration de 0,13 mg/ml, l'absorbance mesurée est de 0,41. Par la suite, on observe une augmentation progressive atteignant 0,60 et 0,76 aux concentrations respectives de 0,27 mg/ml et 0,52 mg/ml.

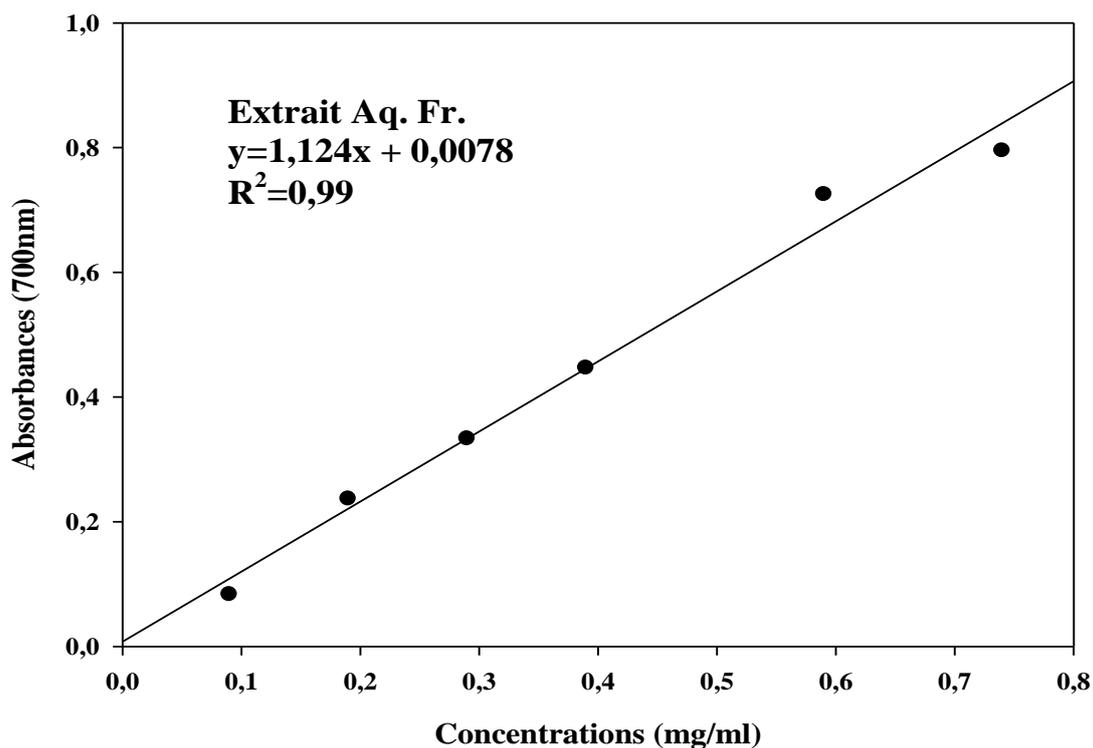


Figure n°29 : Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux fruits de *H. thebaica* (n=3).

Selon la figure n°29, on observe que les absorbances augmentent de manière proportionnelle avec les concentrations de l'extrait, conformément à une régression linéaire ($R^2=0,99$). À une concentration de 0,09 mg/ml, l'absorbance mesurée est de 0,08. Par la suite, on observe une augmentation progressive atteignant 0,39 et 0,74 aux concentrations respectives de 0,44 mg/ml et 0,80 mg/ml.

4.2.2. Réduction du fer par les molécules de référence

Les résultats des trois molécules de référence, à savoir l'acide ascorbique, le BHA et le BHT, utilisées pour réduire le fer, sont représentés respectivement sur les figures n°30, 31 et 32.

RESULTATS ET INTERPRETATION

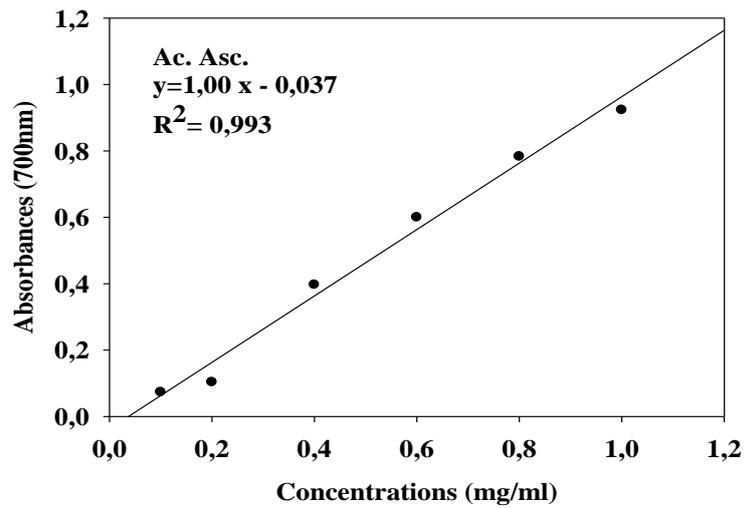


Figure n°30 : Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique (n=3).

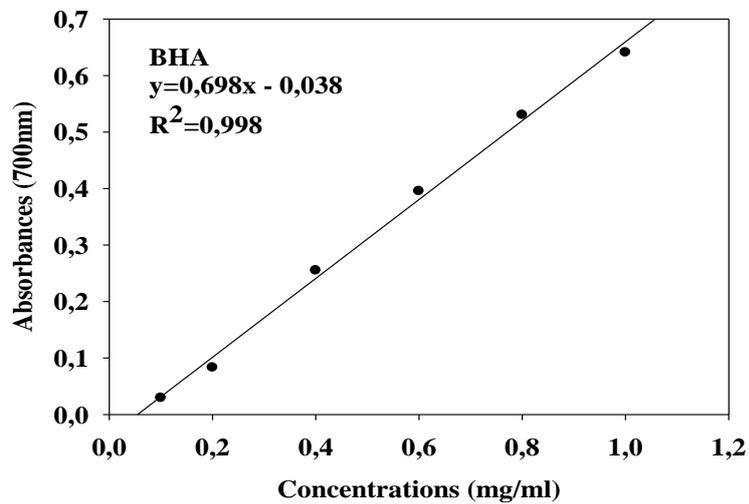


Figure n°31: Pouvoir réducteur du fer par le BHA (n=3).

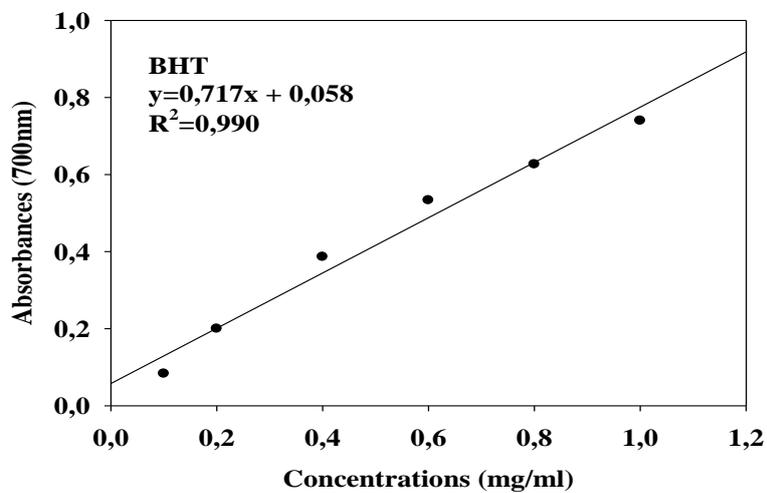


Figure n°32 : Pouvoir réducteur du fer par le BHT (n=3).

RESULTATS ET INTERPRETATION

Les résultats indiquent que pour la concentration la plus élevée (1mg/ml) d'acide ascorbique, de BHA et de BHT, les absorbances enregistrées sont respectivement, 0,923 ; 0,641 et 0,740 ; ce qui indique que le BHA a le pouvoir réducteur du fer le plus élevés suivis de BHT et acide ascorbique.

4.2.3. Calcul des EC₅₀

Les valeurs des EC₅₀ ou concentrations efficaces pour atteindre une absorbance de 0,5 calculées à partir des graphes précédents sont indiquée dans le tableau n°6.

Tableau n°6 : Valeurs des EC₅₀ des différents extraits et des molécules de références pour la réduction du fer

Extraits	EC ₅₀ (mg/ml)
Extrait aqueux Racines	2,830
Extrait aqueux Fleurs	0,192
Extrait aqueux Fruits	0,438
Acide ascorbique	0,536
BHA	0,771
BHT	0,616

Selon le tableau n°6 ,on remarquons que les extraits de fleurs et fruits présentent une activité très puissante pour réduction de fer avec un EC₅₀ = 0,192 mg/ml et EC₅₀ =0 ,438 mg/ml, respectivement , et ils ont une activité meilleure que l'acide ascorbique, BHA et BHT. L'extrait aqueux des racines a une faible activité antioxydante avec une EC₅₀=2,83 mg/ml.

À partir des résultats de cette étude, nous avons remarqué qu'il y a une corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Tandis que l'extrait aqueux des fleurs est le plus riche en composés phénoliques et possède la meilleure activité antioxydante, ensuite l'extrait aqueux de fruits et enfin l'extrait aqueux de racines, qui contient moins de composés phénoliques en parallèle à une faible activité antioxydante.

DISCUSSION

DISCUSION

La phytothérapie utilise des extraits de plantes et principes actifs naturels pour traiter diverses maladies, y compris dans la médecine traditionnelle chinoise. C'est une pratique médicale ancienne et largement utilisée (**Schlienger, 2014**).

H. thebaica est une plante médicinale utilisée traditionnellement pour les maladies cardiovasculaires. Ses effets pharmacologiques sont dus à la présence de composés naturels bioactifs tels que les flavonoïdes, triterpènes et procyanidines. Ces composés ont une importante source de médicaments (**Nabavi et al., 2015 ; Shih et al., 2013 ; Xie et al., 2012**).

Selon nos recherches phytochimiques sur les extraits de *H.thebaica*, il est démontré que tous les extraits testés (racine, fleurs, fruits) contiennent une grande quantité de tanins. Les extraits de fleurs et de fruits contiennent une grande quantité de flavonoïdes, de quinine libres, d'alcaloïdes et de composés réducteurs. Cependant, il y a une faible quantité de saponosides dans l'extrait de fleurs et absent dans l'extrait de racines et de fruits, ainsi qu'une absence totale des anthraquinones et des terpénoïdes dans les trois extraits.

Selon les résultats de **Dahiru et al. (2022)**, les extraits méthanoliques des fleurs contenaient des alcaloïdes, des saponines, des stéroïdes, des terpénoïdes et des flavonoïdes, mais pas de tanins, de phénols et de glycosides. De même, l'extrait d'acétate d'éthyle contenait des alcaloïdes, des saponines, des stéroïdes, des glycosides, des terpénoïdes et des flavonoïdes, mais pas de tanins ni de phénols. L'extrait aqueux contenait des alcaloïdes, des saponines, des terpénoïdes et des flavonoïdes, mais pas de tanins, de phénols, de stéroïdes ni de glycosides. **Sani et la. (2017)**, ont révélé la présence des saponines, flavonoïdes, glycosides, terpénoïdes et stéroïdes dans les fruits de *H. thebaica* sans alcaloïdes.

L'étude de **Auwal et al. (2013)**, sur la composition de *H. thebaica* a révélé la présence de tanins, saponines, stéroïdes, glycosides, flavonoïdes et terpénoïdes.

Les résultats du dosage indiquent que les teneurs en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) varient significativement selon la partie de la plante. La meilleure teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés a été obtenue par l'extrait aqueux des fleurs ($211,92 \pm 0,00$ mg EAG/gE et $368,00 \pm 2,31$ mg EQC/gE, respectivement), ainsi que la meilleure teneur en flavonoïdes a été obtenue par l'extrait aqueux des fruits ($106,06 \pm 5,73$ mg EAG/gE). Contrairement à l'extrait aqueux des racines, qui montre la teneur la plus faible en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés : $20,18 \pm 0,00$ mgEAG/gE, $69,26 \pm 4,33$ mg EAG/gE et $15,08 \pm 2,75$ mg EAG/gE respectivement.

DISCUSSION

Selon l'étude de **Taha et al. (2020)**, les fruits aient la plus forte concentration de sucre (173,77 mg/g) par rapport aux fleurs (124,4 mg/g) et aux feuilles (135,4 mg/g). Les fruits et les fleurs présentaient des concentrations de saponines plus élevées (18,65 et 18,6 mg/g, respectivement) que les feuilles (17,5 mg/g). La teneur en saponines des fleurs et des fruits était significativement différente de la teneur en saponines des feuilles. La teneur en composés phénoliques a montré une variation significative entre les parties évaluées. Les fruits et les fleurs présentaient une teneur significativement plus élevée en composés phénoliques (73,3 et 36,04 mg/g, respectivement) que les feuilles (20,6 mg/g). En revanche, les feuilles présentaient une teneur significativement élevée en flavonoïdes (32,7 mg/g) par rapport aux fleurs (22,1 mg/g) et aux fruits (20,4 mg/g). La teneur en flavonols a suivi le même schéma, où la teneur la plus élevée a été trouvée dans les feuilles et les fleurs (61,29 et 61,23 mg/g, respectivement) et la teneur la plus faible a été trouvée dans les fruits (38,2 mg/g). Une différence significative dans la teneur en flavonols a été trouvée entre les feuilles et les fruits et entre les fleurs et les fruits. Les fruits et les fleurs présentaient une teneur en anthocyanes significativement plus élevée (0,33 $\mu\text{mol/g}$) que les fleurs (0,12 $\mu\text{mol/g}$) et les feuilles (0,11 $\mu\text{mol/g}$). La teneur en tanins des fleurs était la plus élevée, suivie par les fruits et les feuilles (3,85, 3,44 et 0,57 mg/g, respectivement). Des différences significatives ont été reconnues entre les fleurs et les feuilles et entre les fruits et les feuilles.

Dans ce travail, nous avons procédé à une étude du pouvoir antioxydant en utilisant des méthodes spécifiques telles que la réduction du fer et le piégeage du radical DPPH•

Les résultats obtenus à l'aide de la méthode « DPPH », montrent que l'extrait aqueux des fleurs, présente une activité antioxydante plus élevée ($\text{IC}_{50} = 0,62 \text{ mg/ml}$) par rapport à l'extrait aqueux de fruits et racines ($\text{IC}_{50} = 1,95$ et $16,38 \text{ mg/ml}$, respectivement).

Les résultats de **Gharb et la. (2018)**, montrent que l'extrait d'acétate d'éthyle de *H.thebaica* a montré une forte activité de piégeage du DPPH à des concentrations de 400, 600, 800 $\mu\text{g/ml}$.

Les variations des IC_{50} peuvent résulter du solvant, du type de composition, et des appareils utilisés pour l'extraction (**Aboshora et al., 2014**).

Pour la méthode « FRAP », nous avons observé que le profil de réduction du fer varie d'un extrait à un autre. Cependant, nous avons constaté une augmentation proportionnelle de la capacité de réduction du fer avec l'augmentation des concentrations utilisées. L'extrait aqueux

DISCUSSION

de fleurs , présente le meilleur pouvoir à réduire le fer ($EC_{50}= 0,192$ mg/ml) par rapport à l'extrait aqueux de fruits et racines ($EC_{50}=0,438$ et $2,830$ mg/ml, respectivement).

Selon **Gharb et la. (2018)**, l'extrait d'acétate d'éthyle de *H. thebaica* a montré une forte activité de piégeage du FRAP à des concentrations de 400 μ g/ml. Ceci montre que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *H. thebaica* a un effet notable sur les radicaux libres. Les composés phénoliques des extraits de *H. thebaica* sont probablement impliqués dans leur activité antiradicalaire. Bien que l'activité de l'extrait d'acétate d'éthyle de fruit de doum à une certaine concentrations soit relativement supérieure à celle du BHT, l'extrait peut être une source fiable de composés bioactifs avec de meilleures activités après fractionnement.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de composés actifs. C'est ce que nous avons pu démontrer à travers notre travail, qui consistait à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant.

Au bout de cette étude, on conclue que les extraits aqueux de l'*Hyphaene thebaica* sont très riches en tanins, en flavonoïdes, en quinones libres et en alcaloïdes.

En revanche, les deux méthodes utiliser pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante montre que l'extrait aqueux des fleurs le plus riche en polyphénols totaux 211,92 mgEAG/gE et en tanins condensés 368,00 mgEQC/gE a une meilleure activité avec une $IC_{50} = 0,62$ mg/ml et une $EC_{50} = 0,192$ mg/ml.

C'est résultats ne constituent qu'une première étape de valorisation de cette espèce végétale. Ainsi, il est intéressant d'approfondir cette étude par:

- ✘ Fractionner les extraits.
- ✘ Changer le solvant d'extraction.
- ✘ Identifier et caractériser les molécules bioactives de cette plante.
- ✘ Tester autres activités biologiques.
- ✘ Étudier la toxicité de la plante.

**REFFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aamer, R. A. (2016). Characteristics of aqueous doum fruit extract and its utilization in some novel products. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(1), 25-33.
- Aboshora, W., Lianfu, Z., Dahir, M., Qingran, M., Qingrui, S., Jing, L., Ammar, A. (2014). Effect of extraction method and solvent power on polyphenol and flavonoid levels in *Hyphaene thebaica* fruit, and its antioxidant and antibacterial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(12), 2057-2063.
- Al-Khalaifah, H. S., Khalil, A. A., Amer, S. A., Shalaby, S. I., Badr, H. A., Farag, M. F., Abdel Rahman, A. N. (2020). Effects of dietary doum palm fruit powder on growth, antioxidant capacity, immune response, and disease resistance of African catfish. *Clarias gariepinus* (B.). *Animals*. 10(8), 1407.
- Amiot, C. (2009). Cluster categories for algebras of global dimension 2 and quivers with potential. In *Annales de l'institut Fourier*, 59 (6), 2525-2590.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., & Khodagholi, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: a comparative study. *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1341-1349.
- Ardestani, A. et Yazdanparast, R. (2007). Antioxydant et anti-radicalaire potentiel des extraits d'*Achillea santolina*. *Chimie alimentaire*, 104(1), 21-29.
- Atoui, A. (2005). Thés et infusions : leur activité antioxydante et leur profil phénolique. *Chimie alimentaire*, 89(1), 27-36.
- Auwal, M. S., Sanda, K. A., Mairiga, I. A., Lawan, F. A., Mutah, A. A., Tijjani, A. N., ... & Thaluvwa, A. B. (2013). The phytochemical, elemental and hematologic evaluation of crude mesocarp extract of *Hyphaene thebaica* (doumpalm) in wistar albino rats. *Chimie alimentaire*. 54(1),13-14.
- Bayad, A. E. (2016). Influences of doum fruit *Hyphaene thebaica* extract on the reproductive parameters, blood picture, lipid profile and hepato-renal functions in rats. *MRJMMS*, 4(1), 384-391.
- Benbrinis, S. (2018). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Doctoral dissertation, 13(1), 34-45.
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety-chemistry, applications, Strengths, and limitations. *Annals of antioxidants*, 9(8), 709.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Bodo, B., Richard, J.M., Wrangham W., Tillequin, P.M., Jean Boutin, R. M., et al. (2003). Muséum national d'histoire naturelle docteur du muséum national d'histoire naturelle métabolites secondaires des plantes et comportement animal. *Annals of botany*, 45(23), 324-332.
- Boligon, A. A., Machado, M. M., & Athayde, M. L. (2014). Technical evaluation of antioxidant activity. *Med. Chem*, 4(7), 517-522.
- Bouhadjra, K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge Doctoral dissertation, UMMTO, 16(1), 123-132.
- Brink, M., & Achigan-Dako, E. G. (2012). *Plantes à fibres*, 16(1), 13-19.
- Ceriello, A., Bortolotti, N., Falletti, E., Taboga, C., Tonutti, L., Crescentini, A., ... & Bartoli, E. (1997). Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diabetes care*, 20(2), 194-197.
- Crisóstomo, L., Oliveira, P. F., & Alves, M. G. (2022). Antioxidants, oxidative stress, and non-communicable diseases. *Antioxidants*, 11(6), 1080.
- Desmier, T.(2016). *Les Antioxydants De Nos Jours, Définition et Applications*. Thèse de doctorat, Université de Limoges, 20(1), 123-130.
- El-Beltagi, H. S., Mohamed, H. I., Yousef, H. N., & Fawzi, E. M. (2018). Biological activities of the doum palm (*Hyphaene thebaica* L.) extract and its bioactive components. *Antioxidants in Foods and its Applications*, 49(1), 123-129.
- Evenamede, K. S., Kpegba, K., Simalou, O., Boyode, P., Agbonon, A., & Gbeassor, M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(6), 2924-2935.
- Facciola, S. (1990). *Cornucopia: a source book of edible plants*. Kampong publications.
- Farag, M. A., & Paré, P. W. (2013). Phytochemical analysis and anti-inflammatory potential of *Hyphaene thebaica* L. fruit. *Journal of food science*, 78(10), 1503-1508.
- Faten, M. A. E. (2009). Antioxidant and anticancer activities of doum fruit extract *Hyphaene thebaica*. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3(10), 197-201
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fayad, W., El-Hallouty, S. M., Me ky, N. H., EL-Menshaw i, B. S., Wassel, G. M., & Hasabo, A. A. (2015). Evaluation of anticancer activity of some Egyptian plants showed free radical scavenging activity. *International Journal of PharmTech Research*, 8(1), 387-393.
- Fereidoon, S. (1997). *Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects, and Applications* Fereidoon Shahidi, Ed. AOCS Press, 46(12), 123-129.
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, *International Journal of PharmTech Research*, 408(6809), 239-247.
- Garcia, E. J., Oldoni, T. L. C., Alencar, S. M. D., Reis, A., Loguercio, A. D., & Grande, R. H. M. (2012). Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. *Brazilian dental journal*, 23(13), 22-27.
- Gharb, L. A., & Fadhel, L. Z. (2018). Antioxidant activity of two different extracts from Doum (*Hyphaene thebaica*) fruits. *IOSR J. Pharm. and Biolog. Sci*, 13(4), 30-33.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. In *Nutr Clin Mdtabol*, 11(1), 37-45.
- Günal, S. Y., Üstündağ, B., & Günal, A. I. (2013). The assessment of oxidative stress on patients with chronic renal failure at different stages and on dialysis patients receiving different hypertensive treatment. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28(4), 390–395.
- Habib, D. F., Michael, H. N., Salib, J. Y., Ahmed, N. M., & Agaiby, M. H. (2014). Hypolipidemic efficacy of *hyphaenethebaica* (doum) in experimental nephrotic syndrome. *International Journal of PharmTech Research*, 4(1), 28-34.
- Haleng., J. Pincemail, J. Defraigne., O Charlier., C & Chapelle. J.P (2007). Le stress oxydant. Jean, J & Christian J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *International Journal of PharmTech Research*, 192(1), 13-19.
- Halliwell, B., Zentella, A., Gomez, E. O., & Kershenobich, D. (1997). Antioxidants and human disease : a general introduction. *Nutrition reviews*, 55(1), 44.
- Hassanp, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B., Baghbani, F., Hassanpour, S., & Mehmandar, F. B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins) : A Review. *International Journal of Forest, soil and Erosion*, 1(1), 47–53.
- Heinonen, E. H., Anttila, M. I., & Lammintausta, R. A. (1994). Pharmacokinetic aspects of l-deprenyl (selegiline) and its metabolites. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 56(1), 742-749.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Jahiel, M. (1993). Doum palm, *Hyphaene thebaica*. International Journal of PharmTech Research, 13(1), 4-10.
- Jean, J & Christian J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. International Journal of Forest, soil and Erosion, 192(1), 321-328.
- Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Ogunbaju, V. O. (2004). Identification of active principles of balsamina. International Journal of Forest, soil and Erosion, 4, 179-182.
- Kenkel, S., Rolf, C., & Nieschlag, E. (2001). Occupational risks for male fertility: an analysis of patients attending a tertiary referral centre. International Journal of Andrology, 24(6), 318-326.
- Kumari, R., Singh, C., Adlakha, M., Prasad, P. R., Scholar, P., & Professor, A. (2022). A review article on *Calotropis procera*. Certified Journal | Radha et al. World Journal of Pharmaceutical Research, 11(13), 145-149.
- Lazli, L., Boukadoum, M., & Mohamed, O. A. (2018). Computer-aided diagnosis system for Alzheimer's disease using fuzzy-possibilistic tissue segmentation and SVM classification. International Journal of Forest, soil and Erosion, 71(1), 33-36.
- Majoub, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N. et Vahidipour, HR (2003). Phytochimie criblage de certaines espèces de plantes iraniennes. Journal iranien de recherche pharmaceutique, 15(1), 77-82.
- Miraldi, E., & Bainsi, G. (2019). Medicinal plants and health in human history : From Empirical use to modern phytotherapy. Journal of the Siena Academy of Sciences, 10(1).
- Mohamed, A. A., Khalil, A. A., & El-Beltagi, H. E. (2010). Antioxidant and antimicrobial properties of kaff maryam (*Anastatica hierochuntica*) and doum palm (*Hyphaene thebaica*). Grasas y aceites, 61(1), 67-75.
- Mongens, M. (2013). Origine et conséquences du stress oxydant. Doctoral dissertation, Ecole vétérinaire de Maisons-Alfort, 13(8), 13-19.
- Moussa, H., Margolis, H. A., Dubé, P. A., & Odongo, J. (1998). Factors affecting the germination of doum palm (*Hyphaene thebaica* Mart.) seeds from the semi-arid zone of Niger, West Africa. Forest Ecology and Management, 104(1-3), 27-41.
- Montagnier, L., Brenner, C., Chamaret, S., Guétard, D., Blanchard, A., Martin, J. D. S., ... & Gougeon, M. L. (1997). Human immunodeficiency virus infection and AIDS in a person with negative serology. Journal of Infectious Diseases, 175(4), 955-959.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nabavi, S. F., Di Lorenzo, A., Izadi, M., Sobarzo-Sánchez, E., Daglia, M., & Nabavi, S. M. (2015). Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients*, 7(9), 7729-7748.
- N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G. N., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Phytochemical screening of some medicinal plants used in Ivory Coast country Krobou (Agboville, Ivory Coast). *Sciences and nature*, 6(1), 1-15.
- Oloyede, OI (2005). Profil chimique de la pulpe non mûre de papaye Carica. *Journal pakistanais de Nutrition*, 4, 379-381.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. (2009). *Psidium guajava*. *Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version*, 4(1), 123-128.
- Persson, T., Popescu, B. O., & Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail?. *Oxidative medicine and cellular longevity*. *International Journal of Forest, soil and Erosion*, 201(1), 298-318.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Prior, R. L., Wu, X., & 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.
- Salih, O. S., Ou, H., Sun, W., & McCartney, D. G. (2015). A review of friction stir welding of aluminium matrix composites. *Materials & Design*, 86(1), 61-71.
- Schlienger, J. L. (2014). Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(1), 101-106.
- Shih, P. M., Wu, D., Latifi, A., Axen, S. D., Fewer, D. P., Talla, E., ... & Kerfeld, C. A. (2013). Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(3), 1053-1058.
- Singal, A. K., Jampana, S. C., & Weinman, S. A. (2011). Antioxidants as therapeutic agents for liver disease. *Liver International*, 31(10), 1432-1448.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., ... & Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- Soare, J. R., Dinis, T. C., Cunha, A. P., & Almeida, L. (1997). Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free radical research*, 26(5), 469-478.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sohal, R. S., Mockett, R. J., & Orr, W. C. (2002). Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.
- Somchit, M. N., Mak, J. H., Bustamam, A. A., Zuraini, A., Arifah, A. K., Adam, Y., & Zakaria, Z. A. (2012). Zerumbone isolated from *Zingiber zerumbet* inhibits inflammation and pain in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 177-180.
- Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M., & Saari, N. (2012). Effect of drying techniques on the total phenolic. *Journal Med. Plants Res*, 6, 161-167.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, JM et Spranger, I. (1998). Facteurs critiques de l'essai sur la vanilline pour catéchines et proanthocyanidines. *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 46(12), 4267-4275.
- Svobodová, A., Psotová, J., & Walterová, D. (2003). Natural Phenolics In The Prevention Of Uv-Induced Skin Damage. A Review, 47(9), 456-459.
- Taha, G. A., Abdel-Farid, I. B., Elgebaly, H. A., Mahalel, U. A., Sheded, M. G., Bin-Jumah, M., & Mahmoud, A. M. (2020). Metabolomic profiling and antioxidant, anticancer and antimicrobial activities of *Hyphaene thebaica*. *Processes*, 8(3), 266.
- Tessier, F., & Marconnet, P. (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 10(1), 1-13.
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A. et Sarikurkcu, C. (2007). Activités antioxydantes de certains Extraits de plantes Lamiacées. *Recherche en phytothérapie : une revue internationale consacrée à évaluation pharmacologique et toxicologique des dérivés de produits naturels*, 21(7), 622-625.
- Vermerris, W. et Nicholson, R. (2007). *Biochimie des composés phénoliques*. Médias scientifiques et commerciaux Springer, 31(1), 3-16.
- XieWickens, G. E., & Burkill, H. M. (1986). The useful plants of west tropical Africa. *Kew Bulletin*, 41(2), 471.
- Xie, J., Xu, L., & Chen, E. (2012). Image denoising and inpainting with deep neural networks. *Advances in neural information processing systems*, 25(1), 8-13.