



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : Biologie Animale**

**قسم : بيولوجيا الحيوان**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Immunologie Moléculaire et Cellulaire.**

Intitulé :

---

## **Anti-inflammatoire et antioxydantes propriétés des extraits des feuilles d'olivier récoltées de différentes régions**

---

**Présenté et soutenu par :** *BENDJABALLAH Sandra*

**Le :** **07/07/2021**

*BENMEGGOURA Nourhane*

*TAOUTAOU Sara*

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme ARIBI Boutheyna (Maitre de conférence B - UFM Constantine)

**Rapporteur :** Mr MEBREK Saad (Maitre de recherche B - CRBt Constantine)

**Examineurs :** Mme MACHATI Chahinez (Maitre assistante A - UFM Constantine)

*Année universitaire  
2020 - 2021*

# *Remerciement*

*Nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, la foi et le courage pour réaliser ce travail.*

*Ce travail de la mémoire a été réalisé au Centre de Recherche en biotechnologie (CRBT, Constantine). Nous tenons à remercier Dr. Azioune Ammar, Directeur de CRBT qui nous a offert l'occasion de réaliser nos travaux de mémoire au niveau de son établissement*

*Nous remercions en particulier notre encadreur Dr. Mebrek Saad maître de recherche au CRBT d'avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils, sa disponibilité, son soutien et son suivi scientifique le long de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier vivement Mme ARIBI Boutheyna, maitre de conférences B à l'Université de Constantine 01, Mme MACHATI Chahinez, Maitre assistante A qui nous ont fait un grand honneur en acceptant d'examiner ce mémoire et de nous avoir accordé leur temps si précieux pour apprécier et juger ce travail.*

*Un grand remerciement pour Dr. Bensouici Chawki, responsable du laboratoire de Biochimie et Dr. Issaad Fatima, responsable du laboratoire de synthèse et caractérisation des molécules qui nous ont ouvert les portes de leurs laboratoires durant notre stage.*

*A tous mes professeurs et enseignants du département de biologie animal Constantine qui ont contribué à notre formation.*

*Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.*

*Merci à tous et à toutes*

## *Dédicace*

*Je tiens à remercier chaleureusement tous mes proches et tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce travail :*

*A ma chère mère : Nora et à mon cher père : Salim dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour.*

*A mon très cher mari : Marouane pour son soutien moral et orientations et sont aidé pour que je puisse aboutir à ce stade que dieu le protège.*

*A mes petits cœur bien aimés Mohamed Chakib et Celia Iline qui m'ont remplis ma vie de bonheur*

*A mon cher frère Mohamed Naguim*

*Mes chères sœurs : Maya et Narcisse*

*A mon amie ISAAD Fatima pour son orientation et aide.*

*Sandra*

## *Dédicace*

*Bien que ce travail soit modeste, mais de tous cœur je dédie à des personnes  
qui mes très chères.*

*A la seule personne qui me manque aujourd'hui, et c'est ma grand-mère  
«RAHIMA» Qui voulait être avec moi dans ces moments (رحمها الله)*

*A ma très chère mère «SABAH», la personne qui occupe la meilleur place  
dans mon cœur, celle qui a sacrifié sa vie pour guider mes pas vers la lumière,  
et qui a fait de moi ce qui je suis aujourd'hui*

*Mon chère père « RACHID » qui m'a inculqué les notions de courage, il a été  
et sera toujours pour moi un exemple de bonté, de travail et d'honnêteté.*

*A mes chers sœurs «SIRINE » et «MAYA» et spécialement ma sœur  
«MAISSOUNE» pour leur soutien moral et orientations et leurs aides pour  
que puisse aboutir à ce stade que dieu les protèges.*

*A mon chère frère «MAHDI» L'âme de ma vie, dieu que garde  
A mes grands-parents «MAHMOUD» et «Abdelhafid » et «MA DALILA » je  
souhaite la bonne santé et une longue vie*

*A mes chers oncles «HALIM » et «seif» J'ai de la chance d'avoir des oncles  
comme toi*

*A toutes mes tantes et leurs enfants : sihem, hayet, farida, zoulikha, chahra,  
amal*

*A mes chères et intimes amies : AYA, RATIBA., AYA., RIMAH, RAOUNEK,  
kAMAR, et SIHEM*

*A tous mes proches grands et petits.*

*NOURHANE*

## *Dédicace*

*Je tiens à remercier chaleureusement tous mes proches et tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce travail :*

*A ma chère mère : Nedjoi, A mon cher père : Mohamed dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour.*

*A mon petit cœur mon fils Mohamed djad qui m'a remplis ma vie de bonheur*

*A mon cher frère Zaki pour leur support*

*Mes chères sœurs : Rima- Farah-Wissal et mes nièces Miral et Djouri  
Nourssine : qui m'avez toujours soutenus et encouragé durant ces années  
d'études.*

*A mon cher mari : krimou pour leur soutien*

*A ma belle-mère Fadhila et mon beau père Azouz pour leurs encouragements*

*A mes belles sœurs Rym et Sofia pour tous leurs encouragements motivants*

*Et enfin mes plus sincères remerciements à mon encadreur : Saad Mebrek,  
mes enseignants pour tout ce qu'il m'a fait apprendre, pour ses orientations  
éminentes et fructueuse, et surtout pour ses encouragements motivants.*

*Sara*

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Généralité sur l'olivier</b>	
I. L'Olivier.....	03
I.1.Historique.....	03
I.2. Répartition géographique.....	03
I.3. Caractéristiques.....	05
II. Les feuilles d'olivier.....	05
II.1. Les propriétés des feuilles d'olivier.....	05
II.2. Historique d'utilisation des feuilles en médecine traditionnelle.....	06
II. 3. Intérêt des feuilles d'olivier pour la santé.....	06
II.4. Composition chimique des feuilles d'oliviers.....	07
<b>Chapitre II : Polyphénols des feuilles d'olivier et Leurs propriétés pharmacologiques</b>	
I. Composés phénoliques des feuilles d'olivier.....	09
I.1. Généralités sur les composés phénoliques.....	09
I.1.1 Définition et localisation des composés phénoliques.....	09
I.1.2. Extraction des polyphénols.....	10
I.1.3 Activités biologiques des composés phénoliques.....	11
II. Les principales propriétés anti inflammatoire des feuilles d'olivier.....	11
III. Propriétés anti-oxydantes.....	12
IV. Les radicaux libres et stress oxydant.....	13
IV .1.Les radicaux libres.....	13
• Production des radicaux libres.....	13
IV .2.Stress oxydant.....	14
IV .2.1.Définition .....	14
IV .2.2.Origine du stress oxydatif.....	14
V. Réponse inflammatoire.....	14
VI Utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier en médecine traditionnelle.....	15
<b>Partie expérimentale</b>	
I. But et objectif du travail.....	16
II. Matériel.....	16
II.1. Matériel biologique.....	16
II.2. Préparation du matériel biologique.....	17

	II.2.1. Séchage.....	17
	II .2.2. Broyage.....	17
	II.3. Réactifs Chimiques et solvants.....	17
	II.4.Appareil utilisés.....	17
III.	Méthode.....	18
	III.1.Préparation des extraits végétal.....	18
	• Extraction solide-liquide.....	18
	• Extraction liquide-liquide.....	18
IV.	Dosage des composés phénoliques totaux (TCP).....	20
	IV.1. Principe.....	20
	IV.2. Protocole expérimental.....	20
V.	Evaluation de l'activité antioxydante.....	21
	V.1. Activité de piégeage du radical DPPH•+.....	21
	V.1.1. Principe.....	21
	V.1.2. Protocole expérimental.....	22
	V.2. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC.....	22
	V.2.1. Principe.....	22
	V.2.2. Protocole expérimental.....	23
	V.3. Activité de piégeage du radical ABTS+.....	23
	V.3.1. Principe.....	23
	V.3.2. Protocole expérimental.....	23
	V.4. Le pouvoir réducteur.....	24
	V.4.1. Principe.....	24
	V.4.2. Protocole expérimental.....	24
	V.5. Activité de Phenontroline.....	24
	V.5.1.Principe .....	24
	V.5.2. Protocole expérimental.....	24
	V.6. Activité de Methale Chelate.....	25
	V.6.1. Principe.....	25
	V.6.2. Protocole expérimental.....	25
VI.	Activité anti-inflammatoire.....	25
	VI.1. Principe.....	25
	VI.2. Protocole expérimentale.....	25
VII.	Analyses statistiques.....	26
VIII.	Résultats et discussion.....	27
	VIII.1. Rendement d'extraction des polyphénols.....	27
	VIII.2. Evaluation de l'activité antioxydante.....	28
	VIII.2.1.Activité anti oxydante par le teste de piégeage du radical DPPH.....	28
	VIII.2.2.Activité anti oxydante par le teste de piégeage du radical ABTS+.....	30
	VIII.2.3.Activité anti oxydante par l'inhibition de la formation du complexe....	31
	Fe(II)-Ferrosine	
	VIII.2.4. Le pouvoir réducteur.....	32
	VIII.2.5.La capacité anti oxydante par réduction du cuivre CUPRAC.....	34

VIII.2.6. Activité de phénotroline.....	35
VIII.3. L'activité anti inflammatoire.....	36
Conclusion.....	40
Résumé	
Références bibliographiques	



## Liste des abréviations

$\mu\text{g}$  EAG / ml : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par millilitre

$\mu\text{g}$  EQ / ml : Microgramme d'équivalent de quercétine par millilitre

$\mu\text{g}$ / ml : Microgramme par millilitre

A0,5 : Concentration du substrat qui donne une intensité d'absorbance de 0.5

ABTS $\bullet+$  : Acide 2, 2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN : L'acide désoxyribonucléique

AChE : Acétyl-cholinestérase

AGMI : Acides Gras Monoinsaturés

AscH $\bullet$  : Radical ascorbate tricarbonyle

BChE : Butyryl-cholinestérase

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

COI : Conseil Oléicole International

COX : Cyclo-oxygénases

CUPRAC : Capacité antioxydante par réduction de cuivre

DPPH $+$  : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle

EAG : Equivalent d'acide gallique

EQ : Equivalent quercétine

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

Fe : Fer

CO<sub>2</sub> : Gaz incolore, inerte et non toxique

GPx : Glutathion peroxydase

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

IC50 : Concentration causant une inhibition de 50% d'une activité

MeOH : Méthanol

Mg /Kg : Milligramme par kilogramme

Mg /L : Milligramme par litre

NADPH : Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

OH° : Radical hydroxyl

RP : Reducing Power (pouvoir réducteur)

TCA : Tri-chloro acetic acide

TG : Triglycerides

K2S2O8 : Persulfate de potassium

FeCl3 : Chlorure de fer(III)

Cu Cl2 : Chlorure de cuivre(II)

## Liste des figures

Figure 1 : Répartition de l'olivier dans le monde.....	4
Figure 2 : Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne.....	5
Figure 3 : Feuille d'olivier après broyage.....	17
Figure 4 : Extraction solide-liquide avec agitation.....	18
Figure 5 : Extraction liquide-liquide.....	19
Figure 6 : Lecteur de microplaque.....	20
Figure 7 : Spectro-photomètre.....	20
Figure 8 : Structure de l'acide gallique.....	20
Figure 9 : Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un Antioxydant. R : H = piègeur de radicaux antioxydants ; R = radical antioxydant.....	22
Figure 10 : La réaction CUPRAC du complexe Cu(II)-néocuproïne avec des antioxydants, Produisant le chélate Cu(I)-néocuproïne de couleur jaune-orange ( $\lambda_{max} = 450 \text{ nm}$ ).....	23
Figure 11 : Rendement en pourcentage des extraits.....	27
Figure 12 : Valeurs d'IC50 de l'activité DPPH des extraits des Feuilles d'olives.....	29
Figure 13 : Valeurs d'IC50 de l'activité ABTS des extraits des Feuilles d'olives.....	31
Figure 14 : Valeurs d'IC50 de l'activité Methal Chélate des extraits des Feuilles d'olives.....	32
Figure 15 : Valeurs A0.5 du pouvoir réducteur des extraits des Feuilles d'olives.....	33
Figure 16 : Valeurs A0.5 de la réduction du cuivre des extraits des Feuilles d'olives.....	35
Figure 17 : Valeurs A0.5 de la phénantroline des extraits des Feuilles d'olives.....	36
Figure 18 : Pourcentage d'anti inflammatoire des extraits des Feuilles d'olives.....	38

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Composition chimique global des feuilles d'olivier cultivé (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs.....	07
<b>Tableau 2 :</b> Composition en acides aminées des feuilles d'olivier fraîche (exprimé en g par Kg d'azote total).....	08
<b>Tableau 3 :</b> Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière Sèche).....	09
<b>Tableau 4 :</b> Principales méthodes d'extraction des polyphénols.....	10
<b>Tableau 5 :</b> Mécanisme d'action de quelques antioxydants.....	12
<b>Tableau 6 :</b> Présentation des échantillons des feuilles d'olivier analysés.....	16
<b>Tableau 7:</b> Détermination du pourcentage d'inhibition des différents extraits des feuilles d'olives.....	37

# Introduction

---

## Introduction

L'olivier est considéré comme une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. Certains composés identifiés dans les extraits de feuilles, tels que les composés phénoliques présentent des activités biologiques importantes (**BISIGNANO et al., 1999**).

L'olivier (***Olea europaea***) est une espèce généreusement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation de l'olivier est la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les domaines médicaux de l'olivier sont également distribués à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses études scientifiques (**BISIGNANO et al., 1999**).

Les feuilles d'olivier sont engendrées en grande quantité par l'industrie oléicole. Durant la récolte, des feuilles pourront être cueillies avec les olives. Ces sous-produits sont écartés des Olives dans les oliveraies mais aussi dans les huileries. Ils sont estimés à 10% de la masse Globale des olives récoltés (**AOUIDI., 2012**). Les feuilles d'olivier, biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens, ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser. La valorisation de ces résidus est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole (**AOUIDI.,2012**).

Par ailleurs, les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine (**BISIGNANO et al., 1999**). Ces composés possèdent entre autres un large éventail d'activités biologiques : antioxydante (**DEKANSKI et al., 2011**), antivirale (**MICOL et al., 2005**), antimicrobienne (**AZIZ et al., 1998 ; SINGH et al., 2008; LEE., 2010; SUSALIT et al., 2011**) qui les rendent très importants pour les domaines de la santé publique et l'industrie agroalimentaire.

Le but de notre étude est de comparer d'un point de vue phytochimique, l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire des extraits des feuilles d'olivier de dix échantillons de différentes variétés algériennes qui sont : Sigoise, Chemlal, Azerag, Blanquette et Nebjmel originaire de Constantine, Mila, Skikda, Bejaia et Guelma.

La première partie de cette étude consiste à une synthèse bibliographique sur les feuilles d'olivier et leurs activités. La deuxième partie expérimentale, est destinée à l'extraction des

## Introduction

---

composés phénoliques des feuilles d'olivier des dix échantillons récoltés sur différentes régions géographiques et à l'évaluation de leurs activités anti oxydantes tel que l'activité chélatrice des radicaux libre DPPH, ABTS, le pouvoir réducteur du fer (RP) , la phénthroline et Métale chelate, ainsi l'activité anti inflammatoire.

**Synthèse**

**Bibliographie**

# Synthèse bibliographique

---

## Chapitre I : Généralité sur l'olivier

### I. L'Olivier

#### I.1. Historique

L'olivier est antérieur à l'apparition de l'homme sur terre. Cultivé dans le bassin méditerranéen. Cet arbre accompagne les mythes fondateurs des cultures méditerranéennes, bible et coran. **(BRETON et al., 2006).**

Dans l'Islam, prôné par le prophète Mahomet, les deux arbres sacrés de l'Éden sont l'olivier et le figuier. Dans les traditions kabyles, l'olivier est au centre de nombreux rituels, et en Afrique du Nord, chaque cimetière de village possède « son arbre des morts » autrement dit, l'olivier. **(CATHERINE et ANDRE ,2012)**

De nombreux ouvrages vantent ses vertus thérapeutiques. Ecrivain et naturaliste romain de l'Ier siècle ap. J-C, notamment les bienfaits des feuilles d'olivier pour calmer les troubles intestinaux et faciliter la cicatrisation. Au fil des siècles, l'usage des feuilles d'olivier s'est répandu. Elles ont particulièrement gagné en popularité en raison de leur effet fébrifuge **(LACOSTE., 2014).**

La feuille d'olivier, a été utilisée contre l'hypertension, l'angine de poitrine et le diabète, fébrifuge et astringent, elle a même servi pour combattre les fièvres **(SCHUCHARDT., 1997 ; BROSSE., 2000).**

D'autres usages thérapeutiques se sont également ajoutés au fil des années et des découvertes scientifiques. Les chercheurs ont notamment montré ses bénéfices contre certains troubles métaboliques comme l'hyperglycémie et l'hypercholestérolémie **(GAYET, 2018).**

#### I.2. Répartition géographique

##### I.2.1. Dans le monde

La culture de l'olivier occupe dans le monde une superficie de 8,6 millions d'hectares en 2003 pour une production de 17,3 millions de tonnes d'olives **(C.O.I., 2005).**

Les principaux pays producteurs sont : l'Espagne (27,91%), l'Italie (13 ,26%), la Grèce (8,89%), la Turquie (6,90%), la Tunisie (17,44%) qui représentent à elles seules 80% de la production mondiale d'olives **(F.A.O., 2003).**



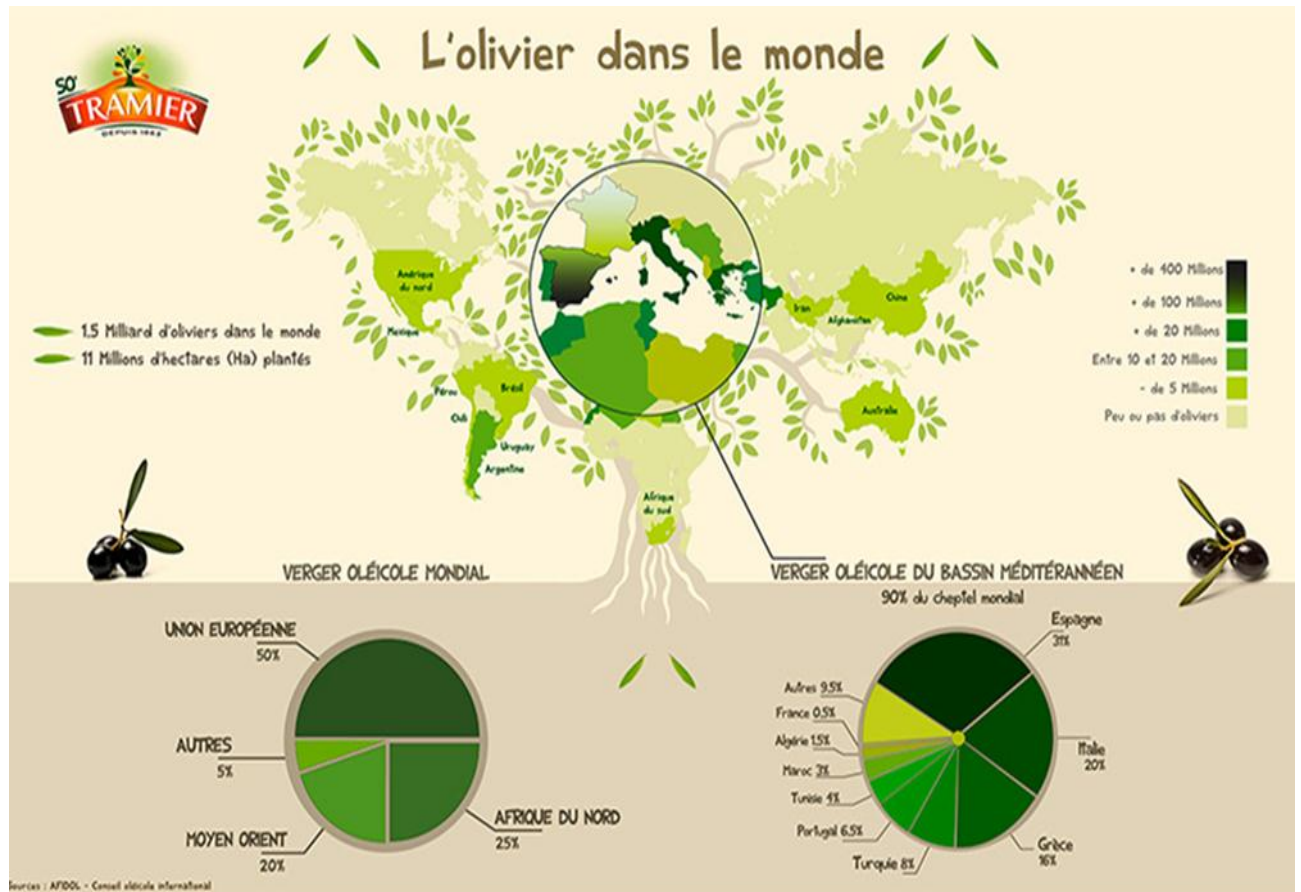


Figure 1 : répartition de l'olivier dans le monde (F.A.O., 2003)

## I.2.2. En Algérie

L'Algérie fait partie des pays du pourtour méditerranéen dont le climat est des plus favorables à la culture de l'olivier (SAAD., 2009). En Algérie, les superficies occupées par l'olivier sont de l'ordre de 281.000 ha, Cette filière se concentre dans certaines wilayas comme Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira, B.bourreridj, Setif et Jijel (LAZZERI., 2009).

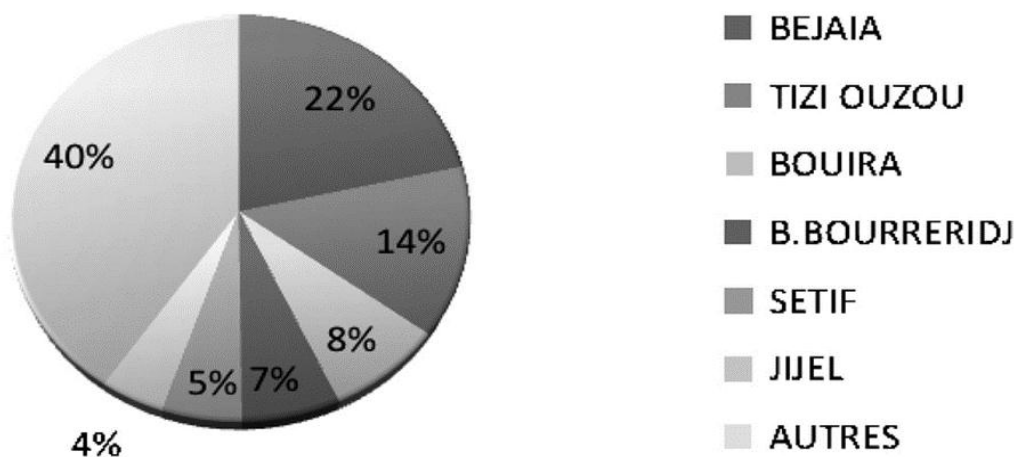


Figure 2 : Répartition des zones géographiques de l'oléiculture algérienne

(LAZZERI., 2009)

### I.3. Les caractéristiques

L'olivier est un arbre de la famille des oléacées. Arbre de taille moyenne, compris entre 4 et 8m de hauteur selon les variétés (VILLEMEUR *et al.*, 1997).

Selon ARGENSON *et al.*, (1999), L'olivier, présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, assembler les uns dans les autres, plus ou moins épineux ou inermes. Les dimensions et les formes varient avec les conditions climatiques, l'exposition, la fertilité du sol et les variétés.

L'olivier s'adapte aux conditions extrêmes de l'environnement, mais exige une intensité lumineuse importante et un sol aéré. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans doute la production de l'huile d'olive qui est un composant essentiel du régime méditerranéen. Riche en acides gras insaturés, en vitamine et en polyphénols (AKROUR *et al.*, 2011).

## II. Les feuilles d'olivier

### II.1. Les propriétés des feuilles d'olivier

Les feuilles d'olivier sont simple, épaisse et coriace, elle possède un apex mucron et se rétrécit à la base en un court pétiole, les bords sont entiers et réfléchis sur la face axiale. Elles sont étroites, allongées avec des tailles variables selon la variété de 3 à 5 centimètre de long et de 1 à 1,5 centimètre de large (POLESE., 2009 ; ROMBI *et al.*, 2015).

# Synthèse bibliographique

---

Les feuilles sont opposées sur les branches et les rameaux. Elles sont inodores, amères et acerbes, elles se renouvellent par tiers tous les trois ans, jaunissent et tombent principalement en été (**ANGINOT et ISLER, 2003**). Possèdent son propre système de protection contre la chaleur de l'été. L'évaporation se fait par la face inférieure où se trouvent les stomates, organes constitués d'orifices microscopiques, qui composent l'épiderme de la feuille et les minuscules poils qui les recouvrent. Lorsque l'air est humide, les poils se soulèvent et libèrent de la vapeur d'eau. Lorsque l'air est sec, les poils se plaquent, bouchant l'ouverture des stomates, empêchant ainsi toute transpiration (**BOLMONT et al., 2015**).

La face supérieure est de couleur vert foncé ou vert-gris lisse, est recouverte d'une épaisse cuticule; la face inférieure est plus claire, de couleur argentée et est recouverte surtout le long de la nervure médiane et des principales nervures latérales d'un fin duvet de petits poils qui peuvent retenir la plus infime quantité d'humidité ce dernier est détachable par grattage (**POLESE., 2009; ROMBI et al., 2015**).

## **II.2. Historique d'utilisation des feuilles en médecine traditionnelle**

L'olivier est cultivé depuis 3 500 ans, pour ses fruits et pour l'huile qu'on en tire. Le nom scientifique de l'arbre, *Olea*, vient d'un mot qui signifiait « huile » chez les Grecs de l'Antiquité. À cette époque, les feuilles sont employées pour désinfecter les blessures cutanées. Les Anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections. Au XIX<sup>e</sup> siècle, elles servaient pour combattre le paludisme (malaria) (**MICOL V et al., 2005**).

A nos jours, les feuilles d'oliviers se trouvent sur le marché. Les fabricants de ces produits en vantent les vertus pour le système immunitaire et contre les infections virales, bactériennes.

## **II.3. Intérêt des feuilles d'olivier pour la santé**

La feuille d'olivier est un des hypotenseurs végétaux les plus captivants. Plusieurs études cliniques ont confirmé les effets bienfaits de la consommation de feuilles d'olivier sur la santé cardiovasculaire (**PHYTOMEDICINE., 2011**). Contiennent aussi des Flavonoïdes (antioxydant), ces antioxydants aident à combattre les radicaux libres, et jouent un rôle important dans la protection de la paroi artérielle (**AYDOGAN et al., 2008**).

## Synthèse bibliographique

---

Une autre étude a également montré une baisse de la pression artérielle diastolique et systolique chez les personnes hypertendues (**SOMOVA et al., 2003**)

De plus, les feuilles d'olivier ont une action préventive sur l'artériosclérose et les maladies coronariennes, par ces propriétés elles diminuent le mauvais cholestérol ce qui en fait un inappréciable complément du traitement du diabète non insulino-dépendant (**CHERIF et al., 1996**)

### II.4.Composition chimique des feuilles d'oliviers

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que cellulose, hémicelluloses)

**Tableau 1 :** Composition chimique global des feuilles d'olivier cultivé (exprimé en g par 100 g) selon plusieurs auteurs (**AOUIDI., 2012**).

<b>Composition en%</b>	<b>GARCIAGOMEZ et al., 2003</b>	<b>MARTINGARCIA et al., 2006</b>	<b>BOUDHRIOUA et al., 2009</b>	<b>ERBAY et ICIER., 2009</b>
<b>Eau</b>	nd	41,4	46,2 – 49,7 a	49,8 a
<b>Protéines</b>	nd	nd	5,0 – 7,6 a	7,0 b
<b>Lipides</b>	6,2 b	3,2 b	1,0 – 1,3 a	6,5 a
<b>Minéraux</b>	26.6 b	16,2 b	2,8 – 4,4 a	3,6 b
<b>Glucides</b>	nd	nd	37,1 – 42,5 a	27,5 a
<b>Fibres brutes</b>	nd	nd	nd	7,0 a
<b>Cellulose</b>	19,03 b	nd	nd	nd
<b>Hémicellulose</b>	25,4 b	nd	nd	nd
<b>Lignine</b>	30,4 b	nd	nd	nd
<b>Polyphénols totaux</b>	nd	2,5 b	1,3 – 2,3 b	nd
<b>Tannins solubles</b>	nd	nd	nd	nd
<b>Tannins condensés</b>	nd	0,8 b	nd	nd

## Synthèse bibliographique

---

**a** : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

**b** : correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

**nd** : valeur non déterminée

**Tableau 2** : Composition en acides aminés des feuilles d'olivier fraîche (exprimé en g par Kg d'azote total) (selon MARTIN-GARCIA et MOLINA-ALCOIDE., 2008)

Acides aminés Concentration	Concentration
Acide aspartique	27.5
Acide glutamique	35.1
Serine	44.5
Glycine	79.6
Histidine	25.4
Arginine	162.0
Threonine	46.8
Alanine	73.8
Proline	84.2
Tyrosine	32.3
Valine	74.8
Methionine	5.36
Cysteine	1.6
Isoleucine	58.8
Leucine	1.04
Phenylalanine	51.8
Lysine	19.1
Acides aminés essentiels	547
Acides aminés non essentiels	379

## Synthèse bibliographique

---

**Tableau 3** : Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) (selon **FEGEROS et al., 1995**)

Minéraux	Concentration
Calcium (Ca)	12.7
Phosphore (P)	2.1
Manganèse (Mg)	1.9
Potassium (K)	6.3
Fer (Fe)	273.0
Cuivre (Cu)	10.7
Zinc (Zn)	21.3
Magnésium (Mn)	50.0

### **Chapitre II : Polyphénols des feuilles d'olivier et Leurs propriétés pharmacologiques**

#### **I. Composés phénoliques des feuilles d'olivier**

##### **I.1. Généralités sur les composés phénoliques**

###### **I.1.1 Définition et localisation des composés phénoliques**

Les phénols sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle – OH, ils sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié à un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction éther-ester, ou hétéroside (**HANDIQUE et BARUAH., 2002**).

Les composés phénoliques sont connus par leurs rôles physiologiques très important, ils sont capables de se fixer sur certaines enzymes et protéines, et de modifier ainsi les équilibres enzymatiques : ils joueraient un rôle dans les chaînes d'oxydo-réduction et modifieraient certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogenèse. Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques ou abiotiques (**VISIOLI et al., 2002**).

# Synthèse bibliographique

## I.1.2. Extraction des polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de végétaux abondants dans l'alimentation. Les extraits, dans des conditions efficaces comprennent leurs propriétés physicochimiques modulant leurs activités possibles dans le tractus digestif (**AKOWUAH et al., 2005**).

L'extraction des composés phénoliques se fait selon plusieurs méthodes, les plus utilisées et employées sont résumées dans le tableau 4 :

**Tableau 4 : principales méthodes d'extraction des polyphénols**

<b>Techniques</b>	<b>Principe</b>
L'extraction conventionnelle par solvant	De nombreux paramètres d'extraction doivent être pris en compte pour l'optimisation de cette méthode : le type et la concentration du solvant organique, la température, le temps d'extraction et le nombre de cycles d'extraction. Le contact entre le solvant (liquide) et la matière végétale (solide) a pour but de libérer les polyphénols dans les cellules par rupture du tissu végétal et par diffusion. ( <b>OWEN et JOHNS., 1999</b> ).
Extraction assistée par ultrasons (EAU)	L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. ( <b>CHEMAT et al., 2011</b> ). Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes ( <b>CHEMAT et al., 2011</b> ).
Extraction supercritique (SFE)	Extraction supercritique (SFE) Le CO <sub>2</sub> supercritique, utilisé comme solvant d'extraction, du fait de sa faible viscosité, lui conférant une grande capacité de diffusion et lui permettant ainsi d'avoir accès à des composés phénoliques

	liés à la paroi cellulaire. Sa densité relativement élevée lui confère un pouvoir de solvatation, ce qui permet un meilleur taux d'extraction. (CHAN et MAZNAH., 2009).
--	---

### **I.1.3. Activités biologiques des composés phénoliques**

Ces substances possèdent des activités biologiques qui les rendent bénéfiques à la santé humaine. Beaucoup d'études indiquent que les polyphénols pourraient diminuer le risque de survenue d'un certain nombre de pathologies, en particulier celles liées au vieillissement et aux lésions oxydatives (cancers, maladies cardiovasculaires) (LEONG et SHUI., 2002).

Les polyphénols peuvent aussi empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase (ONG et *al.*, 1997), les flavonoïdes permettent la protection des plantes contre les radiations ultraviolettes ainsi que les agents pathogènes et les herbivores (BAYCIN et *al.*, 2007).

## **II. Les principales propriétés anti inflammatoire des feuilles d'olivier**

Les feuilles d'olivier peuvent guérir diverses infections dans le corps. C'est l'activité antimicrobienne de l'oleuropéine qui réduit et améliore l'inflammation (TABUTI J.R.SET *al.*, 2003). Plusieurs études suggèrent que les bienfaits cardioprotecteurs des feuilles d'olivier pourraient être renforcés par leurs propriétés anti-inflammatoires (M. T. KHAYYAL et *al.*, 2002).

À ce titre, la feuille d'olivier contribue à protéger l'organisme des attaques extérieures : bactéries, champignons, virus... La feuille d'olivier est le plus souvent indiquée dans trois cas précis. Pourrez traiter l'hypertension artérielle, les troubles circulatoires veineux et le diabète léger.

Les feuilles d'olivier contiennent le composé actif l'oleuropéine qui est un composé phytochimique présent dans les feuilles d'olivier, c'est un puissant anti-inflammatoire et a un fort effet antibactérien, antifongique et antiviral. Elles peuvent aider les gens de plusieurs manières, notamment en soulagent les douleurs articulaires à l'amélioration de la santé cardiaque. Elles présentent de nombreux avantages pour renforcer le système immunitaire et l'empêcher d'attraper les rhumes et la grippe ainsi que diverses maladies virales et allergiques.



## Synthèse bibliographique

---

Ces études ont également montré que les feuilles d'olivier peuvent tuer les virus et les bactéries (FATMA *et al.*, 2016).

### III. Propriétés anti-oxydantes

Les antioxydants jouent un rôle central dans la réduction des effets malsains des radicaux libres dans le corps. L'augmentation du stress oxydatif causé par les radicaux libres peut laisser le corps sujet au vieillissement avancé, aux maladies dégénératives et à une mauvaise santé en général (RITCHARDSON., 2000).

En effets, l'oleuropéine et ses dérivés l'hydroxytyrosol et le tyrosol ont montré un pouvoir anti radicalaire important. Ils sont capables de piéger les ERO et les espèces réactives de l'azote ce qui permet la protection d'ADN contre les lésions (EVREUX *et al.*, 2007).<sup>2</sup>

Les flavonoïdes exercent aussi leur activité antioxydante via leur groupe hydroxyle. Cette action est également due à la présence de triterpènes, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (NEFZAOU, 1995).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition (FAVIER., 2003). Les antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies telles que le cancer ou encore des maladies cardio-vasculaires (DIALLO., 2005). (Tableau 5)

**Tableau 5 : Mécanisme d'action de quelques antioxydants (DIALLO., 2005)**

	Nature	Mode d'action
<b>Non Antioxydant</b>	Vitamine E	Neutralise les radicaux libres
	Vitamine C	Participe à la réaction d'oxydoréduction
	Bêta-carotène	Fixation des métaux de transition
<b>Antioxydants</b>	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	catalase	Métabolise H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

# Synthèse bibliographique

---

<b>Enzymatique</b>	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et les hydroperoxydes
--------------------	-----------------------	---

## IV .Les radicaux libres et Stress oxydant

### IV .1.Les radicaux libres

Sont des molécules formées par notre organisme ou produites par des facteurs externes à l'origine de leur formation dans le corps humain. Notre corps forme ou acquiert ces molécules **(PHAM-HUY et al.,2008)**

Radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe .La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte **(CARANGE, 2010)**.

#### IV .1.1. Production des radicaux libres

La production des espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O<sub>2</sub> pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respiration oxydative. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau au niveau de la mitochondrie, elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés **(CHU et al., 2010)** .

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques **(FAVIER, 2006)**

### IV.2.Stress oxydant

#### IV .2.1.Definition

Le stress oxydatif, ou stress oxydant, est l'agression des cellules par des radicaux libres, aussi appelés « espèces réactives de l'oxygène », qui sont des atomes ou des molécules devenus très instables (réactifs) et qui peuvent interagir avec les composants des cellules et les endommager.

Provient de déséquilibre de l'homéostasie redox. Il se traduit par la formation excessive ou la suppression insuffisante des radicaux libres (RL) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydant, soit d'une surabondance des RL. Ce déséquilibre entraîne des dommages oxydatifs des différents composants cellulaires, protéines, lipides et acides nucléiques, provoquant la mort cellulaire via l'apoptose ou la nécrose.

### **IV .2.2.Origine du stress oxydatif**

Le stress oxydatif peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale a des facteurs prooxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques) (**MAGDER, 2006**).

### **V. Réponse inflammatoire**

La mise en évidence, il y a quelques années, d'activités antiinflammatoires dans différents lysats bactériens (**SOLOVTCIEKO et al., 2014**), Université de Paris-Sud ) a été la source de travaux sur les anti-inflammatoires. L'intérêt de trouver de nouveaux remèdes possédant une activité anti-inflammatoire est considérable. en effet, de nombreux médicaments, actuellement utilisés, sont des stéroïdiens qui présentent parfois des effets secondaires néfastes ; d'autre part, ces nouvelles molécules permettront peut-être de comprendre les mécanismes de la réaction anti-inflammatoire. Les Laboratoires CASSENNE nous ont donné la possibilité de continuer des travaux afin de mieux connaître la structure et la relation structure-activité d'une substance issue d'un lysat bactérien d'entérobactérie Agglomerans possédant une activité anti-inflammatoire intéressante. Notre travail a donc consisté, dans un premier temps, à purifier le lysat bactérien par différentes méthodes, puis, après avoir extrait la fraction portant l'essentiel de l'activité anti-inflammatoire, à en connaître la structure et de déterminer enfin la relation structure-activité. Dans une première partie, nous avons repris quelques notions générales sur le phénomène anti-inflammatoire, pour ensuite dans la seconde partie exposer nos travaux sur la purification du lysat bactrien et sur la structure de la glycoprotéine portant l'activité anti-inflammatoire.

### **VI. Utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier en médecine traditionnelle**

Les feuilles d'olivier ont traditionnellement été utilisées pour améliorer le fonctionnement du système immunitaire et pour renforcer les efforts de l'organisme pour lutter contre les envahisseurs. Un extrait liquide de feuilles d'olivier fraîches a une capacité antioxydante quasiment double à celle d'un extrait de thé vert et quatre fois plus élevées que la vitamine C (**TABUTI et al., 2003**).

Depuis l'antiquité les feuilles sont employées pour désinfecter les blessures cutanées. Les Anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections (**MICOL et al., 2005**).

# **Partie**

# **Expérimentale**

# Partie Expérimentale

---

## I. But et objectif du travail

L'ensemble du travail a été réalisé au deux laboratoires : laboratoire de Synthèse et caractérisation moléculaire et laboratoire de Biochimie du centre de recherche en biotechnologie (CRBt) Constantine. Différentes activités biologiques en été effectués dans le but d'évaluer les activités anti oxydantes et anti inflammatoire des polyphénols dans les dix extraits des feuilles d'oliviers de différentes variétés d'oliviers algériennes.

## II .Matériel

### II.1.Matériel Biologique

La récolte a été effectuée sur différentes régions de l'Algérie, durant la saison 2020, les feuilles d'olivier extraite à partir des différentes variétés d'oliviers a été utilisées dans ce travail, à savoir : Chemlal, Sigoise, Blanquette, Neb djmel, Azzeradj, Tazmalte, Grousse de Hamma. (Tableau 5)

**Tableau 6 : Présentation des échantillons des feuilles d'olivier analysés.**

Code	Origine présumée	Wilaya
O1	AZZERADJ	BEJAIA
O2	SIGOISE	BATNA
O3	TAZMALT	BEJAIA
O4	CHEMLAL	MILA
O5	BLANQUETTE DE GUELMA	SKIKDA
O6	CHEMLAL	CONSTANTINE
O7	NAB DJMEL	CONSTANTINE
O8	GROSSE DE HAMMA	CONSTANTINE
O9	CHEMLAL	BATNA
10	NAB DJMEL	SKIKDA

Pour éviter une éventuelle altération, les échantillons sont conservés au laboratoire à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

Notre travail expérimental se divise en :

- ✓ L'extraction de l'extrait brut des feuilles d'olivier ;
- ✓ L'activité antioxydant ;
- ✓ L'activité antiinflammatoire.

# Partie Expérimentale

---

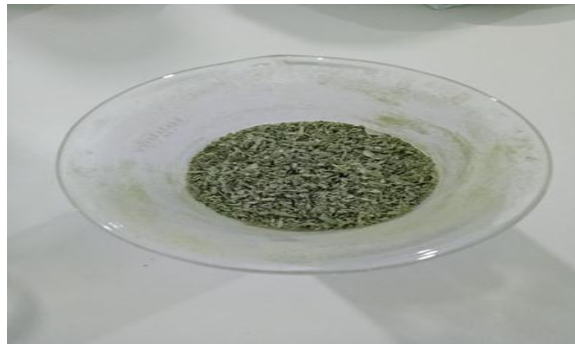
## II.2. Préparation du matériel biologique

### II.2.1. Séchage

Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau distillée pour enlever la poussière puis séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### II.2.2. Broyage

Les feuilles sont par la suite broyées avec broyeur électrique (**WARING Commerciale**) ; la poudre qui en résulte sert de support à nos extractions. (**Figure 3**).



**Figure 3 : Feuille d'olivier après broyage**

## II.3. Réactifs Chimiques et solvants

Dans cette étude nous avons utilisée : Eau distillée, Eau ultra pure, ABTS, DPPH, FeCl<sub>3</sub>, Phosphate buffer, K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, Ethanol, Methanol,  $\alpha$ -Tocophérol, BHA, BHT, Quercetine ou Catéchine, Acetate d'ammonium, Cu Cl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O, MeOH, Sulfate de fer, Phenanthroline, Quercetin (Sigma).

## II.4. Appareils utilisés

Evaporateurs Rotatif de type Buchi R-200, Agitateur Magnétique de type Heidolph, Ultrason de type Elma, Balance de précision de type Kern, Lecteur de Microplaque de type EnSpire Multimode Plate Reader – Perkin-Elmer, Bain Marie de type Julabo sw 22, Etuve de type Memmert, Micropipette de type Eppendorf, Spectro- Photometre HILIOS EPLSILON.

# Partie Expérimentale

---

## III. Méthodes

### III.1. Préparation des extraits végétal

Dans notre étude, l'extraction est effectuée par deux méthodes : l'extraction solide-liquide et l'extraction liquide-liquide.

- **Extraction solide-liquide**

Cette technique est effectuée par la macération qui est une technique d'extraction la plus simple, elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation qui permet d'extraire certains espèces chimique d'intérêt. Une quantité de feuille d'olivier a été dissoute dans un solvant MeOH/H<sub>2</sub>O dans une proportion de (80/20, v/v). Le mélange a été agité pendant 72h dans une température ambiante. L'extraction a été répétée trois fois pendant 24 h. (**Figure 4**)



**Figure 4 : Extraction solide-liquide avec agitation**

- **Extraction liquide-liquide**

L'extrait méthanolique obtenue par l'extraction solide-liquide est soumis à une deuxième extraction de type liquide-liquide afin de pouvoir séparer les métabolites secondaire su solvant. La phase méthanolique a été par la suite évaporé en utilisant un Rotavapor à 40 C°, l'extraction a été répétée trois fois le résidu sec précipité dans la paroi de ballon récepteur

## Partie Expérimentale

---

a été sécher dans l'étuve puis récupérée dans un tube en verre et conservée à l'abri de la lumière. **(Figure 5).**



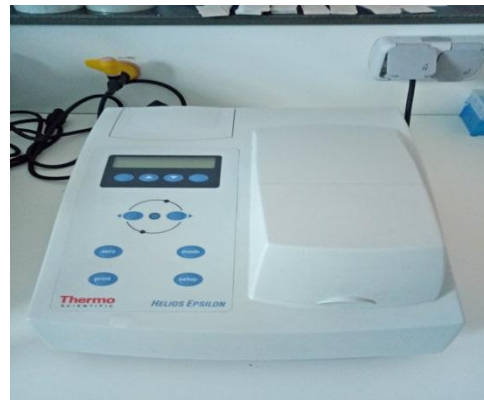
**Figure 5 : Extraction liquide-liquide**

Pour chaque activité une quantité de 4 mg a été pesée dans un eppendorf puis diluer dans 1 ml de méthanol. A partir de cette solution mère une série de 6 dilutions de  $\frac{1}{2}$  a été effectuée et utilisée pour évaluer les activités antioxydantes dans des microplaques. Les absorbances sont ainsi mesurées à l'aide d'un lecteur de microplaque (EnSpire Multimode Plate Reader - PerkinElmer). **(Figure 6).**

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire l'absorbance est mesurée à l'aide d'un Spectrophotomètre (HILIOS EPSILON) **(Figure 7).**



**Figure 6 : Lecteur de microplaque.**



**Figure 7 : Spectrophotomètre à cuve**



### IV. Dosage des composés phénoliques totaux (TCP)

#### IV.1. Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et ROSSI., 1965). Selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par (MÜLLER *et al.*, 2010). Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides qui sont l'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximum est au voisinage de 760 nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux.

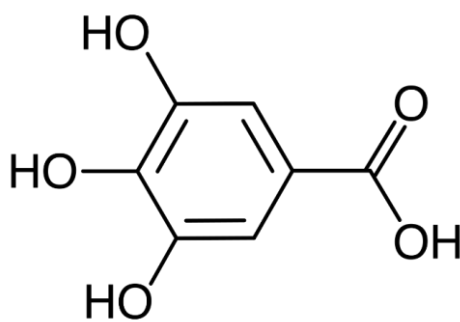


Figure 8 : Structure de l'acide gallique. (Ritchardson ., 2000)

#### IV.2. Protocole expérimental

Une quantité de l'extrait convenablement dilué dans le méthanol est mélangée avec du réactif de Folin–Ciocalteu (10 fois dilué) fraîchement préparé. Une quantité de  $Na_2CO_2$  à 7,5 % est par la suite ajoutée, le mélange est enfin homogénéisé puis incubé pendant une heure dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc (le même mélange excepté l'extrait qui est remplacé par de méthanol).

### V. Evaluation de l'activité antioxydante

Sept méthodes ont été utilisées pour évaluer la capacité antioxydante *in vitro* des extraits de 10 échantillons étudiés dans ce travail, il s'agit du pouvoir piègeur du radical cationique **ABTS**<sup>•+</sup>, pouvoir piègeur du radical **DPPH**<sup>•</sup>, la capacité antioxydante par réduction du cuivre **CUPRAC**, le pouvoir réducteur du fer RP, Phénothroline, Metal chelate. Cette étape constitue un tri préliminaire qui a pour but de déceler les extraits hydro-méthanoliques des feuilles à forte activité antioxydante.

## Partie Expérimentale

### V.1. Activité de piégeage du radical DPPH•

#### V.1.1 Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (**DPPH**) est un radical libre et stable de couleur violette. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote et absorbe au maximum à 517 nm, sa réduction par un donneur de protons (antioxydant), conduit à l'apparition d'une couleur jaunâtre qui sera suivie par spectrométrie UV-Visible (**SHEKHAR et GOYAL., 2014**) Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante :

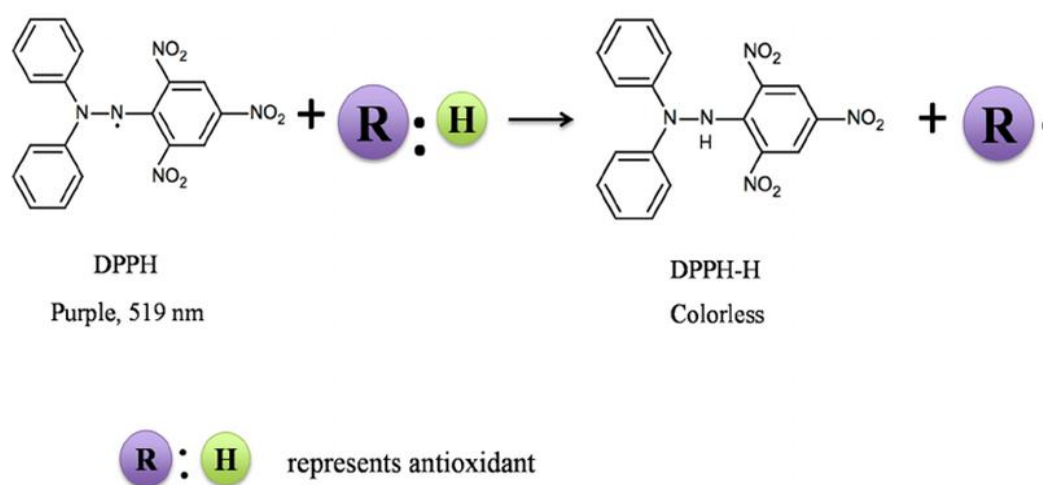
$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH (\%)} = \frac{(Ac - Ae)}{Ac} \times 100$$

Tel que :

**Ac** = Absorbance contrôle.

**Ae** = Absorbance de l'échantillon.

La concentration d'inhibition (**IC<sub>50</sub>**) qui est la concentration d'extrait ou de l'antioxydant de référence responsable de piégeage de 50% des radicaux DPPH<sup>•</sup> présents dans le milieu réactionnel, est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH<sup>•</sup> en fonction des concentrations des extraits ou des antioxydants de référence.



**Figure 9** : Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant. R : H = piégeur de radicaux antioxydants ; R = radical antioxydant. (**Ningjian et David D., 2014**)

## Partie Expérimentale

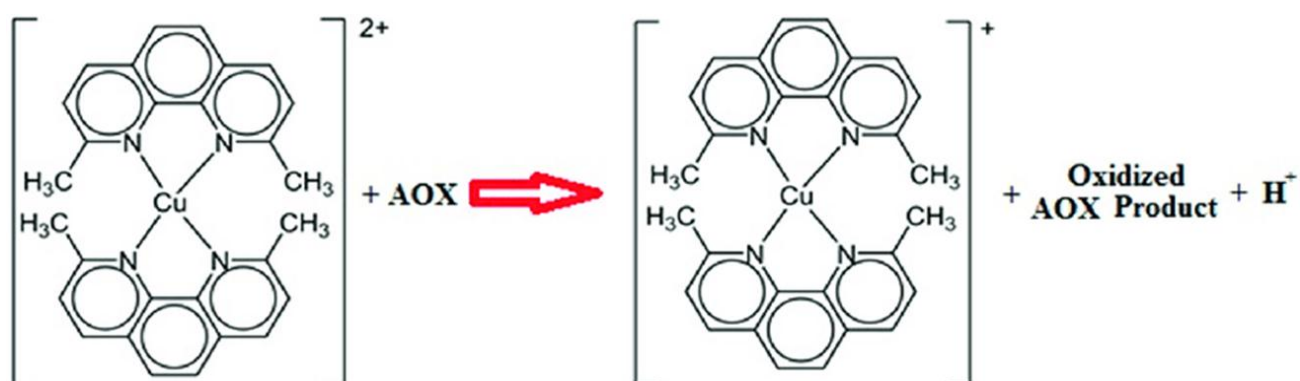
### V.1.2. Protocole expérimental

L'effet piègeur ou le pouvoir anti radicalaire des extraits étudiés vis-à-vis du radical DPPH• est évalué selon la méthode décrite par **Blois (1958)**. Une quantité de DPPH• a été dissoute dans un volume de méthanol et mélangé pendant 30 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue par la suite à une longueur d'onde de 517 nm. Un volume de la solution de DPPH• est mélangé avec chaque un des extraits à différentes concentrations. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. BHA, BHT utilisé comme standard.

### V.2. La capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC

#### V.2.1. Principe

La capacité antioxydante par réduction du cuivre est déterminée par la méthode **CUPRAC (APAK et al.,2004)**. Ce test est basé sur les modifications des caractéristiques d'absorption du complexe néocuproïne (Nc) cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant. Le potentiel de réduction de l'échantillon ou de l'étalon convertit efficacement du  $\text{Cu}^{+2}$  en  $\text{Cu}^{+1}$ , changeant ainsi l'absorbance maximum. (**Figure 8**).



**Figure 10 : La réaction CUPRAC du complexe Cu(II)-néocuproïne avec des antioxydants, produisant le chélate Cu(I)-néocuproïne de couleur jaune-orange ( $\lambda_{\text{max}} = 450 \text{ nm}$ ). (Apak et al ., 2004)**

#### V.2.2. Protocol expérimental

Les solutions aqueuses d'acétate d'ammonium ( $\text{ACNH}_4$ ) et de chlorure de cuivre (II)  $\text{CuCl}_2$  ont été préparé en les dissolvant dans l' $\text{H}_2\text{O}$ . En parallèle une troisième solution du Neocupronine a été préparé dans du méthanol.

## Partie Expérimentale

---

Dans une plaque de microtitration contenant les extraits à différentes concentrations, de l'acétate d'ammonium a été ajouté à une solution de chlorure de cuivre et de la neocupronine. Après une heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 450 nm.

La valeur  $A_{0.5}$  a été calculée à partir des courbes d'absorbance.

### V.3. Activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup>

#### V.3.1. Principe

Le composé radicalaire de l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) est générée à partir de l'oxydation de l'ABTS avec du persulfate de potassium. Ce radical est réduit en présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène.

#### V.3.2. Protocole expérimental

Le test ABTS est effectué selon la méthode décrite par **Re** et ses collaborateurs (1999). La solution a été préparé en dissolvant l'ABTS<sup>+</sup> (7mM) et le persulfate de potassium (2.45mM) dans de l'H<sub>2</sub>O. Le mélange est incubé pendant 12-16 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à une DO de  $0.700 \pm 0.020$  à 734 nm juste avant l'utilisation de la solution. L'activité antioxydante est évalué en mélangeant la solution d'ABTS<sup>•+</sup> avec les extrait, après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est ainsi mesurée à 734 nm.

$$\% \text{ d'inhibition du radical ABTS} = ((\text{Abs Contrôle} - \text{Abs Extrait}) / \text{Abs Contrôle}) * 100$$

### V.4. Le pouvoir réducteur

#### V.4.1. Principe

Les substances ayant un potentiel réducteur, réagissent avec le ferricyanure de potassium pour former le ferrocyanure de potassium, qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique pour donner naissance à un complexe ayant une absorption maximale à 700 nm (**JAYANTHI et LALITHA., 2011**).

#### V.4.2. Protocole expérimental

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par **OYAIZU (1986)**. De ce fait, une quantité de chaque extrait est mélangée avec du tampon phosphate (0.2 M) à pH 6.6 et du ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] à 1%. Le mélange est incubé à 50°C pendant

## Partie Expérimentale

---

20 min. Après incubation, le TCA (acide trichloroacétique) à 10% est ajouté avec de l'eau distillée et une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait.

La concentration de l'extrait fournissant 0.5 d'absorbance IC<sub>50</sub> a été calculée à partir du graphique d'absorbance.

### V.5. Activité de Phénanthroline

#### V.5.1. Principe

La méthode de Phénanthroline était basée sur la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> par un antioxydant. L'ion Fe<sup>2+</sup> formé a réagi avec l'ortho-phénanthroline pour former un complexe rouge-orange. (YEFRIDA *et al.*, 2018)

#### V.5.2. Protocol expérimental

Le test phénanthroline est déterminé par la méthode de (SZYDLOWSKA *et al.*, 2008) avec des volumes ajustés pour une manipulation sur microplaque de 96 puits. Pour cela, on met 10 µl extrait avec 50 µl FeCl<sub>3</sub> (0.2%) et 30 µl Phénanthroline (0.5%) puis on a ajouté en dernier 110µl MeOH. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 min à 30°C. La lecture se fait à 510 nm. Le BHT est utilisé comme standard.

Le pouvoir réducteur est déterminé par une simple mesure de l'absorbance à 510nm.

### V.6. Activité de Métal-Chelate

#### V.6.1. Principe

La méthode est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrosine après le traitement des échantillons avec les ions Fe<sup>2+</sup> (BENBRINIS., 2012).

#### V.6.2. Protocol expérimental

L'activité Métal Chélate est déterminée selon la méthode de DECKER *et* WELCH (1990). On mélange 40 µL MeOH avec 40 µl extrait, 40 µl Fe<sup>2+</sup> (0,2 mM) et 80 µl Ferene. Attendre reposer 10 mn. La lecture de la DO est faite à 593 nm. Le control est le mélange de FeCl<sub>2</sub> et de Ferene, l'EDTA est utilisée comme standard. L'effet de l'alkylation des ions de fer est évalué par l'équation suivante :

$$\text{Fe}^{2+} \text{ chelating effect (\%)} = [(\text{AS-AC})/\text{AC}] \times 100$$

## Partie Expérimentale

---

AS : absorbance du control blanc,

AC : absorbance des solutions d'extrait.

### VI. Activité anti-inflammatoire

#### VI. 1. Principe

L'activité Anti-inflammatoire *in-vitro* est déterminée par la méthode de **KANDIKATTU (2013)** avec de légères modifications. Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits.

#### VI.2. Protocol expérimental

Un (01) ml de chaque concentration d'extrait (allant de 3750 µg/ml jusqu'au 468.75 µg/ml) ou du standard (diclofénac de sodium) et 1 ml de solution BSA 0.2% préparé dans le tampon Tris HCl, 0.1M, pH 6,6 sont incubés à 37° C pendant 15 min, puis dans un bain marie à 72°C pendant 5min pour la dénaturation de la protéine. La turbidité est mesurée à 660 nm. Le Diclofenac de Sodium est utilisée comme standard. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit (**Sakat et al., 2010**) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{DO contrôle} - \text{DO échantillon}}{\text{DO Contrôle}} \times 100$$

### VII. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de **IC<sub>50</sub>** (Concentration d'inhibition à 50%) et **A<sub>0.5</sub>** (concentration réductrice) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

# **Résultat et discussion**

## VIII. Résultats et discussion

### VIII.1. Rendement d'extraction des polyphénols

Les rendements d'extraction obtenus en pourcentage (%) sont calculés suivant la formule ci-dessous :

$$R (\%) = 100 \times (M_{\text{ext}}/M_{\text{éch}}).$$

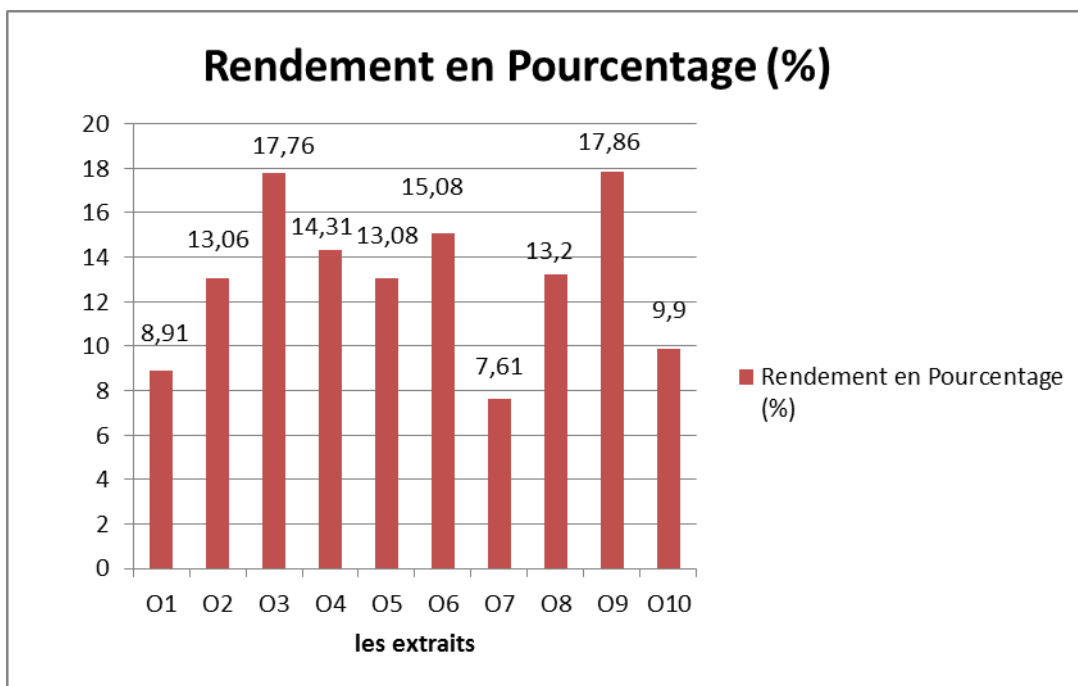
Avec :

**R**= est le rendement en %.

**M ext** = masse de l'extrait en gramme.

**M éch** = masse de l'échantillon en gramme (M échantillon = 10g).

Les rendements d'extraction de différentes fractions méthanoliques des 10 échantillons sont reportés dans le **Figure 11**.



**Figure11 : Rendement d'extractions en pourcentage des extraits**

Les résultats obtenus montrent une variabilité des rendements entre les dix extraits. Les pourcentages varient entre 7.61 % et 17.86 %. La variété CHEMLAL BATNA, donne le rendement le plus élevé (17.86%) suivie par la variété NAB DJMEL BEJAIA, CHEMLAL CONSTANTINE, CHEMLAL MILA, qui ont les valeurs de 17.76%, 15.08%, 14.31%



## Résultats et discussion

---

respectivement. Alor que NAB DJMEL HAMMA, AZERAG BEJAIA et NAB DJMEL SKIKDA possèdent les rendements les plus bas 7.61%, 8.91%, 9.90% respectivement. (Figure 11).

### VIII.2. Evaluation des propriétés antioxydantes

Dans ce présent travail, l'activité antioxydante des extraits de feuille d'olivier a été évaluée *in vitro* par six méthodes différentes : le test du DPPH, ABTS, CUPRAC, Phénanthroline, Métal-chélate et le test de pouvoir réducteur.

#### VIII.2.1. Activité anti oxydante par le test de piégeage du radical DPPH

L'activité de piégeage du radical libre DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité anti oxydante des extraits des feuilles d'olivier, elle est reconnue comme étant une activité simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (BOZIN *et al.*, 2008). La valeur  $IC_{50}$  est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50% de la concentration du radical et donc, plus la valeur d' $IC_{50}$  est basse, plus l'activité antioxydante est grande (VILLAÑO *et al.*, 2007).

On remarque que la majorité des extraits étudiés possèdent une activité antioxydante et qu'ils sont capables de piéger le radical DPPH. Les valeurs d' $IC_{50}$  sont extrêmement diverses. Les valeurs enregistrées sont comprises entre  $15.70 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$  et  $74.51 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$  correspondant aux variétés CHEMLAL Constantine et BLANQUETTE DE GUELMA Skikda respectivement. Selon BAIANO *et al.*, (2013), l'activité anti oxydante des extraits méthanoïques des feuilles d'olives évaluée par la méthode au DPPH est significativement influencée par les variétés. Quelques composés phénoliques se réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant.

Le mécanisme de la réaction entre une molécule antioxydante et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant (MOLYNEUX., 2004). D'après nos résultats, il en ressort que l' $IC_{50}$  de l'extrait de feuille d'olive le plus élevé est celui de CHEMLAL Constantine avec ( $15.70 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$ ) suivi par celui de GROSSE DE HAMMA ( $16.66 \pm 1.62 \mu\text{g/mL}$ ) et CHEMLAL Mila ( $16.74 \pm 6.28$ ). Ces variétés présentent l'activité antioxydante la plus grande mais reste relativement faible en comparaison avec le standard BHA dont la valeur d' $IC_{50}$  est de l'ordre de  $6.14 \pm 0.41 \mu\text{g/mL}$ . Cependant elles sont un peu plus proches de celle du standard BHT qui est égale à  $12.99 \pm 0.41 \mu\text{g/mL}$  et de  $\alpha$ -Tocopherol

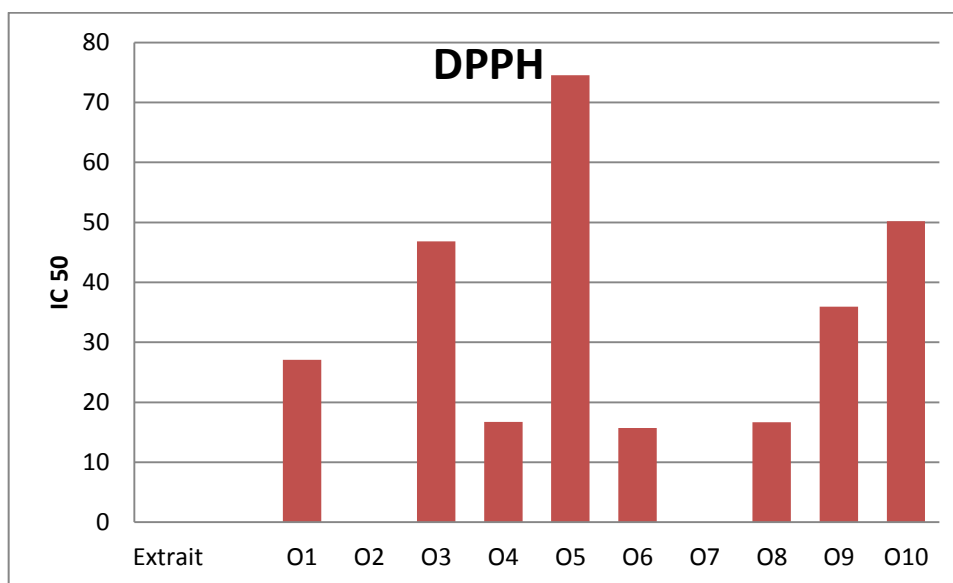
## Résultats et discussion

13.02±5,17 µg/mL. On note également que les variétés AZERADJ Bejaia (27.05±0.12 µg/mL), CHEMLAL Batna (35.95±1.32) et TAZEMALT Bejaia (46.80±4.59) possèdent quand même une activité antiradicalaire modérée avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> plus au moins significative mais reste tout de même inférieure en comparaison avec les standards BHA, BHT et α-Tocopherol. Tandis que la variété BLANQUETTE DE GUELMA Skikda dont IC<sub>50</sub> est de l'ordre de (74.51±0.12µg/mL) possède l'activité antioxydante la plus basse en comparaison avec les standards BHA, BHT et α-Tocopherol. (**Figure 12**).

On note que les activités anti-radicalaires de nos extraits ont été plus basses que ceux trouvés par l'étude de **ZIANE (2014)** qui a enregistré des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 4.30 ± 0.087 µg/ml pour l'extrait méthanolique et le BHT avec une IC<sub>50</sub> de 87.26 ± 0.001 µg/ml.

Par contre l'activité anti-radicalaire de nos dix extraits sont plus élevés que ceux trouvés par l'étude de **GOLDSMITH, 2014** qui enregistre des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 0.92±0.0258 µg/ml.

La différence des résultats est probablement liée à la différence dans la composition chimique, des facteurs saisonniers ou la région où ils sont cultivés.



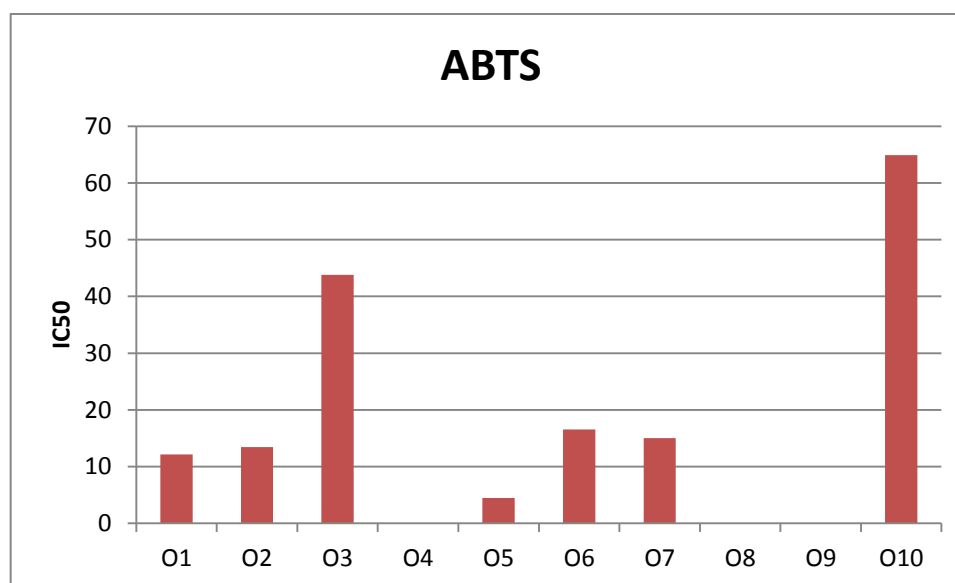
**Figure 12 : Valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'activité DPPH des extraits des Feuilles d'olives**

### VIII.2.2. Activité anti oxydante par le test de piégeage du radical ABTS<sup>+</sup>

Selon **Re et al.,(1999)** la méthode de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> est une excellente méthode pour déterminer l'activité anti oxydante pour une large diversité des substances comme antioxydants donneurs d'hydrogène. L'activité anti radicalaire est considérée comme étant la capacité des composés testés à diminuer directement la couleur du radical ABTS<sup>•+</sup>. Le contacte avec un donneur d'électron du radical ABTS<sup>•+</sup> conduit à l'ABTS<sup>+</sup> et à la décoloration de la solution du bleu foncé en bleu vert (**LIEN et al.,1999**).

Les résultats sont exprimés en termes d'IC<sub>50</sub> représentant la concentration nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical ABTS<sup>•+</sup> de 50% et la plus petite valeur d'IC<sub>50</sub> correspond à la plus grande activité anti radicalaire. L'IC<sub>50</sub> est très importante pour le BHT avec une valeur de 1.29±0.30 µg/ml, suivie par le BHA avec une valeur de 1.81±0.10 µg/ml. Concernant nos extraits, on remarque que la variété BLANQUETTE DE GUELMA Skikda enregistre la plus faible valeur d'IC<sub>50</sub> de (4.49±1.93µg/ml), suivie par la variété AZERADJ Bejaia (12.12±1.51µg/ml). Ces valeurs sont supérieures au IC<sub>50</sub> des standards BHT et BHA et correspond à une meilleure efficacité des extraits dans la neutralisation du radical ABTS<sup>•+</sup>. Pour les variétés SIGOISE Batna, CHEMLAL Constantine et NAB DJMEL Hamma possèdent également une activité anti radicalaire modérée avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> plus au moins signifiante et varient entre 13.42 et 15.04 µg/ml. Suivie par les variétés TAZEMALT Bejaia et NAB DJMEL Skikda montrés les plus basses activités anti radicalaires et les plus grandes valeurs d'IC<sub>50</sub> entre 43.81 et 64.90 µg/ml. Par contre, les extraits des variétés CHEMLAL Mila, GROSSE DE HAMMA et CHEMLAL Batna ont montrés des IC<sub>50</sub> supérieures à 800 µg/ml (**Figure 13**).

Les résultats obtenus pour nos variétés des feuilles d'olive pour l'activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par (**AIT ABDESLEM ET AIT ATMANE., 2013**) Nous constatons donc que nos échantillons sont plus efficaces et cela est probablement lié à la différence dans la composition chimique ou à des facteurs saisonniers.



**Figure 13 : Valeurs d'IC50 de l'activité ABTS des extraits des Feuilles d'olives**

### VIII.2.3. Activité anti oxydante Métal-Chélate

La capacité de chélation des métaux, un autre mécanisme antioxydant découle de la possibilité que les ions des métaux de transition être chélaté par les polyphénols, conduisant à un complexe stable. Les composés chélateurs de métaux éliminent les métaux et peut altérer leurs potentiels redox et les rendant inactifs (**ORAK et al., 2012**). L'EDTA est un chélateur puissant du métal, il est utilisé comme le composé chélateur de métal standard.

Les résultats des extraits pour l'activité de chélation des ions métalliques ont été analysés et indiqué dans le **figure 14**. La décoloration de la couleur rouge du mélange réactionnel dépend de la réduction des ions ferreux par les extraits de feuilles d'olives.

Bien claire, la variété AZERADJ Bejaia et BLANQUETTE DE GUELMA Skikda sont sueles qui possèdent l'activité de chélation des ions métalliques avec des valeurs entre 20.82  $\mu\text{g/ml}$  et 50.37  $\mu\text{g/ml}$  par contre le reste des extraits ne possèdent aucune activité (**Figure 14**). Nos résultats ne sont pas similaires à celle du **ORAK et al (2012)** qui ont enregistré une meilleure activité de chélation dans toutes les variétés avec des valeurs d'A0.5 entre 0.163 et 1.37.

Dans des études récentes, certain auteurs ont affirmé que la chélation des métaux jouait un rôle mineur dans l'activité antioxydant globale de certains polyphénols. De plus, il a été rapporté que d'autre composant tels que les polysaccharides, des protéines ou des peptides

## Résultats et discussion

dans les extraits était des chélateurs plus efficaces des ions ferreux que les composés phénoliques (ORAK *et al.*, 2012).

Par contre nos résultats sont meilleurs à celle du MILAN (2018), qui ont enregistré des valeurs entre 152.4 et 250.

La différence des résultats est probablement liée à la différence dans des facteurs saisonniers ou la région où ils sont cultivés.

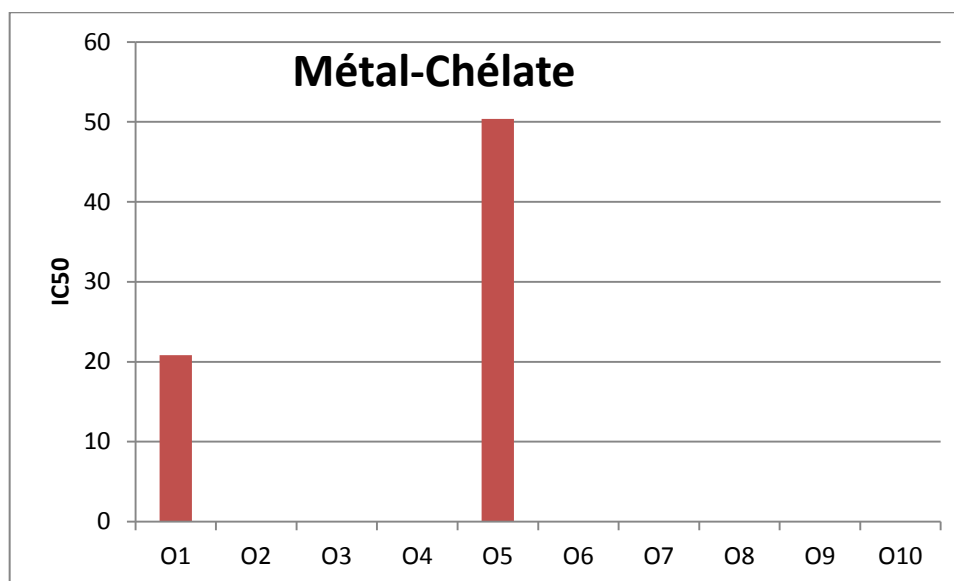


Figure 14 : Valeurs d'IC50 de l'activité Métal-Chélate des extraits des Feuilles d'olives

### VIII.2.4. Le pouvoir réducteur

Les antioxydants ayant une propriété réductrice tels que les polyphénols présents dans les extraits méthanoliques des feuilles d'olives, réagissent comme donneurs d'électrons entraînant la réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  de complexe ferricyanide (couleur jaune) en fer ferreux (couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (GÜLÇİN *et al.*, 2007). Par conséquent,  $\text{Fe}^{2+}$  peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm (APAK *et al.*, 2005).

Le pouvoir réducteur des feuilles d'olives est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques essentiellement l'oleuropeine et l'hydroxytyrosol qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants

## Résultats et discussion

(ÖZYÜREK *et al.*, 2011). Les résultats obtenus sont exprimés en termes de concentration correspond à l'absorbance 0.5.

La variété NAB DJMEL Skikda enregistre la plus faible valeur d' $A_{0,5}$  soit  $100.73 \pm 235.76$   $\mu\text{g/ml}$ , et donc le pouvoir réducteur le plus important. Suivie par les variétés BLANQUETTE DE GUELMA Skikda et CHEMLAL Mila ( $195.15 \pm 22.23 \mu\text{g/ml}$  et  $196.66 \pm 31.68 \mu\text{g/ml}$ ). Ce qui correspond à une capacité réductrice importante par rapport aux autres variétés. Alor que, les extraits des variétés AZERADJ Bejaia, SIGOISE Batna, CHEMLAL Constantine, NAB DJMEL Hamma et GROSSE DE HAMMA Hamma le pouvoir réducteur varie entre 205 et 495  $\mu\text{g/ml}$ .

Par contre la variété TAZEMALT Bejaia et CHEMLAL Batna ont les plus fortes valeurs d' $A_{0,5}$  soit  $822.78 \pm 372.04$  et  $762.00 \pm 358.36$  respectivement donc un pouvoir réducteur très faible.

Les résultats démontrent que l'extrait des feuilles d'olive de différentes variétés avait des ions ferriques marqués ( $\text{Fe}^{3+}$ ) réduisant la capacité et les propriétés des donneurs d'électrons pour neutraliser les radicaux libres en formant des produits stables. Le pouvoir réducteur reflète la capacité de don d'électrons du composé bioactif et était associé à une activité anti oxydante. (APAK *et al.*, 2004). (Figure 15)

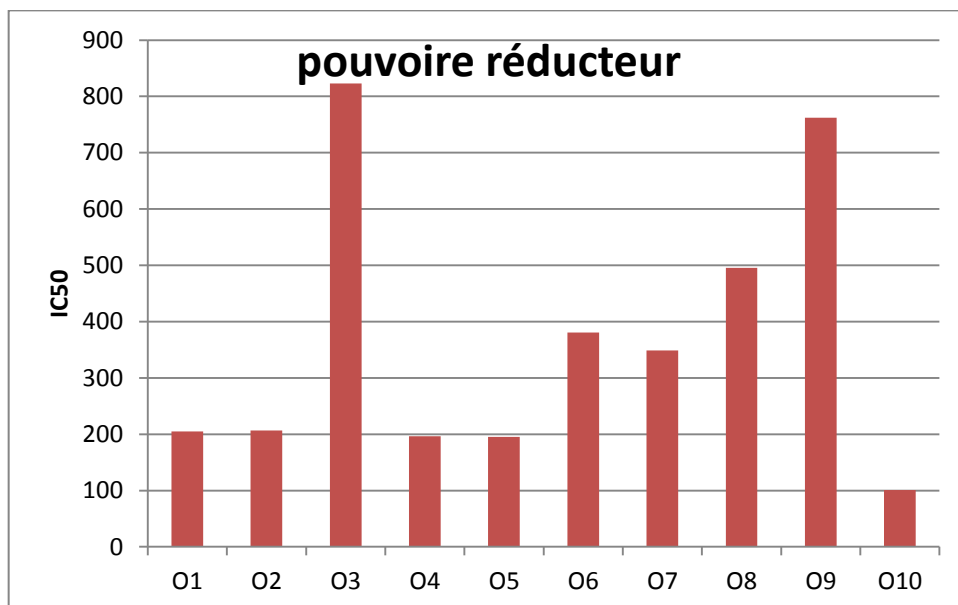


Figure 15 : Valeurs  $A_{0,5}$  du pouvoir réducteur des extraits des Feuilles d'olives

## Résultats et discussion

---

Nous résultats sont similaire à celle de **GOLDSCHMIDT, 2018**, qui a montrer la de valeur  $301\pm 281$ mg sur trois extraits GROSSE DE HAMMA, CHEMLAL Batna et TAZEMALT Bejaia. la capacité antioxydant des feuilles d'olivier est attribuée principalement à la présence des composéé phénoliques. Les effets antioxydants étaient liés à des groupes fonctionnels caractéristiques, quantité et position du groupement hydroxyle dans leur structure. Deux plus certaines études suggèrent que les composéé phénoliques ont un effet synergique sur la capacité antioxydants (**GOLDSCHMIDT et al., 2018**).

### VIII.2.5. La capacité anti oxydante par réduction du cuivre CUPRAC

C'est une méthode développée par (**APAK et al., 2004**) est basée sur la mesure de l'absorbance à 450 nm, après la formation d'un complexe stable entre les ions néocuproïne et le cuivre (I). Ce complexe est produit par la réduction des ions du cuivre (II) par les composés potentiellement antioxydants. Les résultats du CUPRAC sont exprimés en  $A_{0,5}$ . La valeur  $A_{0,5}$  est définie comme étant la concentration du substrat qui donne une valeur d'absorbance de 0.5.

**APAK et al., (2005)** ont reconnu que les résultats de la mesure CUPRAC et la concentration en polyphénols totaux étaient très corrélées. La méthode est capable de mesurer des antioxydants de type thiol, tels que le glutathion et les thiols non protéiques.

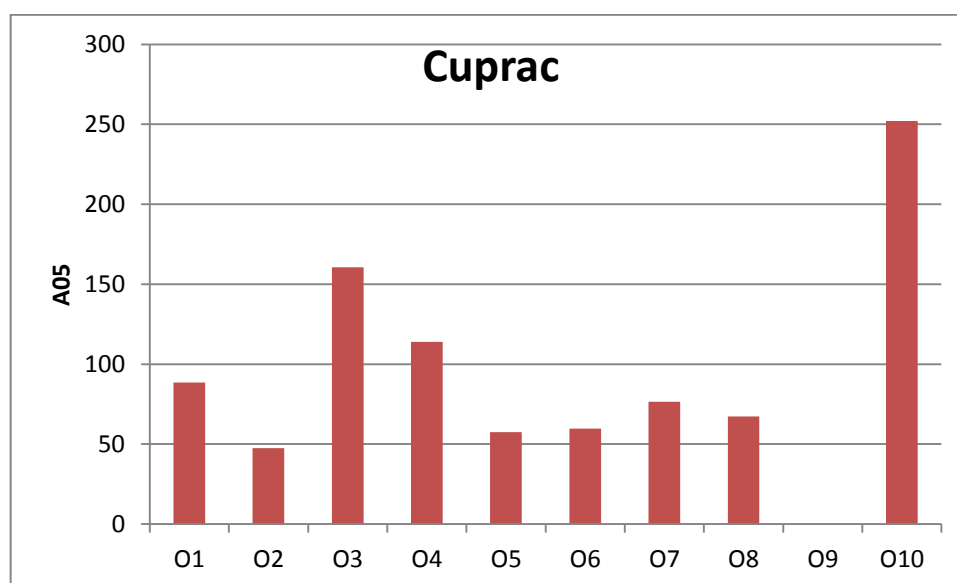
D'après les résultats obtenus Les valeurs  $A_{0,5}$  sont comprises entre  $47.40\pm 4.39$ µg/ml et  $252.00\pm 2.49$ µg/ml, on peut dire que tous les échantillons étudiés se sont dévoilés capables de réduire le cuivre qui représente respectivement la variété SIGOISE Batna et NAB DJMEL Skikda qui ont enregistré l'activité anti oxydante la plus élevé en comparaison avec le standard BHA ( $A_{0,5} = 5,35\pm 0,71$  µg/mL) et BHT ( $A_{0,5} = 8.97\pm 3.94$  µg/mL). Cette activité anti oxydante observée dans nos extraits peut être expliquée par la nature des composés phénoliques qui sont des acides phénoliques tels que l'acide gallique et ses dérivés ainsi que les flavonoïdes (**APAK et al., 2005**).

Les extraits méthanoliques représentant BLANQUETTE DE GUELMA Skikda ( $57.40\pm 5.82$ µg/ml), CHEMLAL Constantine ( $59.63\pm 1.42$  µg/ml), NAB DJMEL Hamma ( $76.57\pm 5.69$ µg/ml), GROSSE DE HAMMA Hamma ( $67.22\pm 2.67$ µg/ml) ainsi que AZERAG Bejaia ( $88.62\pm 1.49$ µg/ml) ont également enregistré une activité antioxydante raisonnable mais qui reste quand même inférieur en comparaison aux  $A_{0,5}$  des standards BHT ( $A_{0,5} = 8.97\pm 3.94$  µg/ml) et BHA ( $A_{0,5} = 5,35\pm 0,71$  µg/ml). Cependant, la variété TAZEMALT Bejaia avec

## Résultats et discussion

une valeur A0,5 de  $160.52 \pm 14.45 \mu\text{g/ml}$ , CHEMLAL Mila ( $113.89 \pm 36.89 \mu\text{g/ml}$ ) et NAB DJMEL Skikda ( $252.00 \pm 2.49 \mu\text{g/ml}$ ) enregistre l'activité antioxydante la plus faible et la plus insignifiante de nos 10 extraits de feuille d'olive en comparaison avec les standards BHT ( $A_{0,5} = 8.97 \pm 3.94 \mu\text{g/ml}$ ) et BHA ( $A_{0,5} = 5,35 \pm 0,71 \mu\text{g/ml}$ ). Tandis que la variété CHEMALA Batna présente une activité supérieure à 800. (**Figure 16**)

Les résultats obtenus ne sont pas meilleurs par rapport à ceux obtenus par (**BENFALAMI et MOUARSIA., 2018**). Cela est probablement lié à la différence dans la composition chimique ou à des facteurs saisonniers. Les antioxydants à réaction lente ont besoin d'une incubation à température élevée de manière à compléter leur oxydation (**APAK et al., 2004 ; APAK et al., 2005**). La faible corrélation observée par CUPRAK est capable de mesurer des antioxydants de type thiol, tels que le glutathion et les thiols non protéiques. (**APAK et al., 2005**).



**Figure 16 : Valeurs A0.5 de la réduction du cuivre des extraits des Feuilles d'olives**

### VIII.2.6. Activité de phénanthroline

Ce test est basé sur la réduction de  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  ion par un antioxydant. Les résultats obtenus ont montré que tous les extraits présentent une activité faible de réduction de fer ferrique dépendante à la concentration par comparaison aux BHA et BHT.

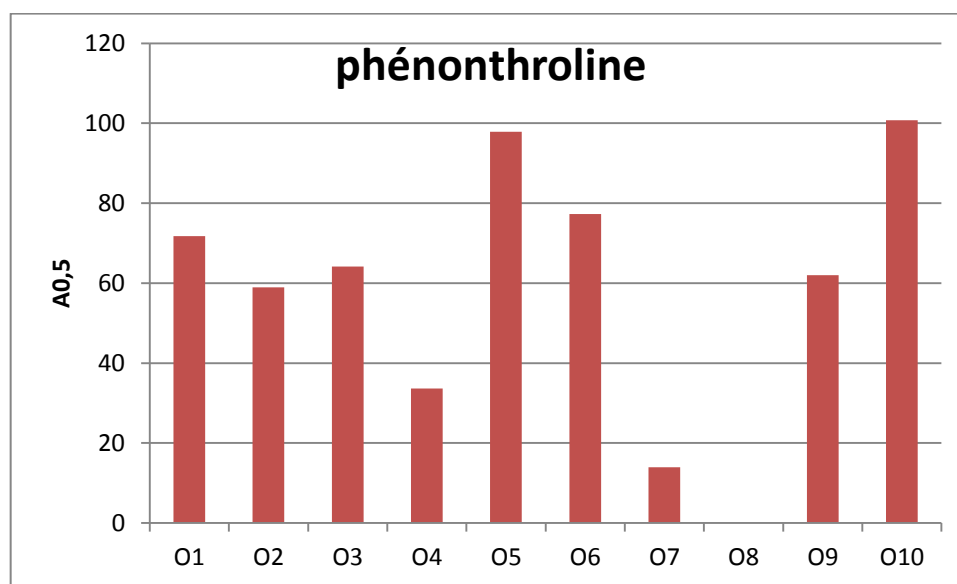
La forte activité a été obtenue dans l'extrait NAB DJMEL Hamma ( $13.92 \pm 257.94 \mu\text{g/ml}$ ) suivi par CHEMALA Mila ( $33.66 \pm 9.83 \mu\text{g/ml}$ )



## Résultats et discussion

Les extraits méthanoliques représentant SIGOISE Batna ( $58.91 \pm 130.96 \mu\text{g/ml}$ ), TAZEMALT Bejaia ( $64.18 \pm 21.99 \mu\text{g/ml}$ ) et CHEMLAL Batna ( $62.03 \pm 10.75 \mu\text{g/ml}$ ) ont enregistré une activité antioxydante modérée. Alor que l'extrait méthanolique NAB DJMEL Skikda ( $100.73 \pm 86.48 \mu\text{g/ml}$ ) a enregistré l'activité antioxydante la plus faible suivi par BLANQUETTE DE GULMA Skikda ( $97.88 \pm 50.51 \mu\text{g/ml}$ ), CHEMLAL Constantine ( $77.27 \pm 27.72 \mu\text{g/ml}$ ) et AZERADJ Bejaia ( $71.73 \pm 50.54 \mu\text{g/ml}$ ) respectivement. Tandis que la variété GROSSE DE HAMMA présente une activité antioxydant supérieure à 800. (**Figure 17**)

Les résultats obtenus pour nos variétés des feuilles d'olivier pour la Phénonthroline sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par (**BENFALAMI et MOUARSIA., 2018**) Nous constatons donc que nos échantillons sont plus efficaces pour cette activité.



**Figure 17 : Valeurs A<sub>0,5</sub> de la phénonthroline des extraits des Feuilles d'olives**

### VIII.3. L'activité anti inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des extraits de feuille d'olivier a été évaluée *in vitro*, par rapport à la dénaturation de BSA. Les résultats sont classés dans **le tableau 8**.

## Résultats et discussion

**Tableau 7 : Détermination du pourcentage d'anti inflammatoire des différents extraits des feuilles d'olives.**

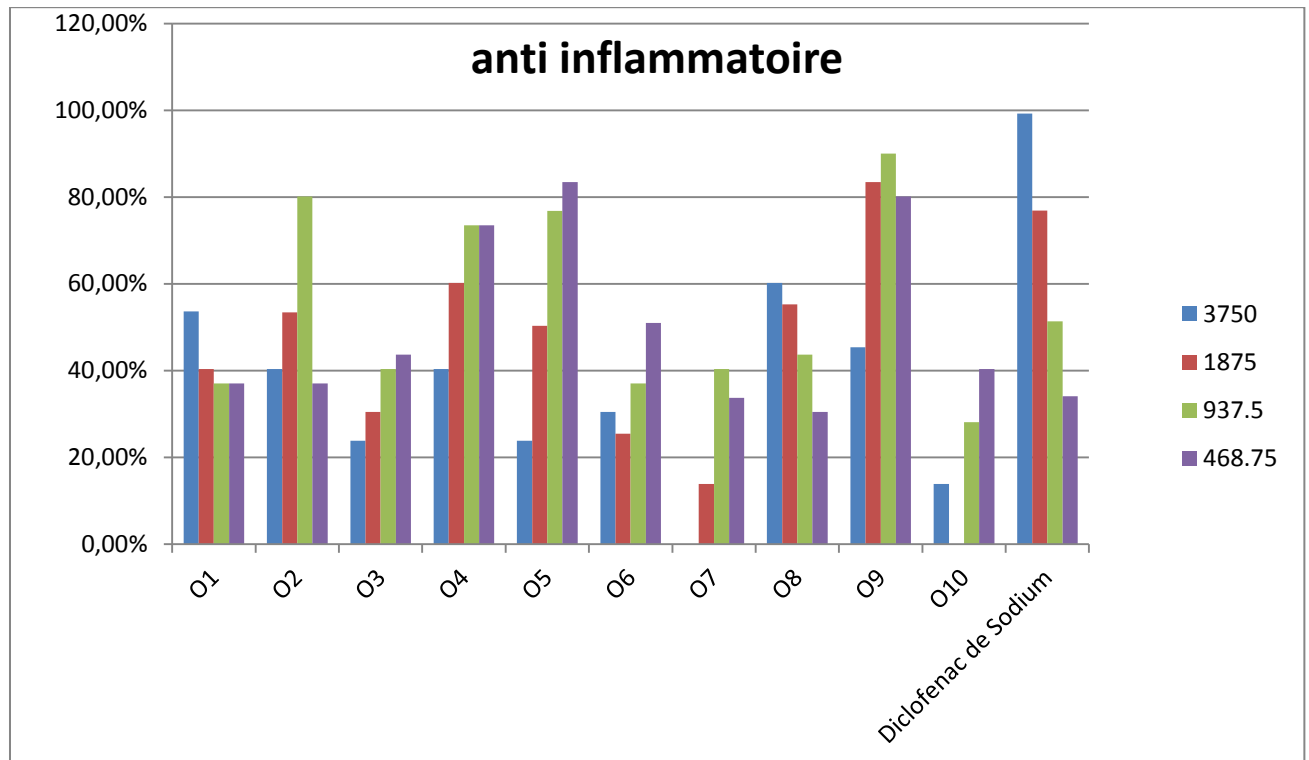
Concentration µg/ml	<b>3750</b>	<b>1875</b>	<b>937.5</b>	<b>468.75</b>
O1	53,64 %	40,40 %	37,09 %	37,09 %
O2	40,40 %	53,46 %	80,13 %	37,09 %
O3	23,84 %	30,46 %	40,40 %	43,71 %
O4	40,40 %	60,26 %	73,51 %	73,51 %
O5	23,84 %	50,33 %	76,82 %	83,44 %
O6	30,46 %	25,50 %	37,09 %	50,99 %
O7	-	13,91 %	40,40 %	33,77 %
O8	60,26 %	55,30 %	43,71 %	30,46 %
O9	45,36 %	83,44 %	90,07 %	80,13 %
O10	13,91 %	-	28,15 %	40,40 %
Diclofenac de Na	99,23 %	76,87%	51,37%	34,11%

On remarque que la majorité des extraits étudiés possèdent une activité anti-inflammatoire, Comme le montre le tableau 9, la valeur la plus forte enregistrée est CHEMLAL Batna 90.07 % à une concentration de 937.5 µg/ml, suivi par SIGOISE Batna, BLANQUETTE DE GUELMA Skikda et CHEMLAL Mila avec des pourcentages 80,13 %, 76,82 % et 73,51 % respectivement. Alor que BLANQUETTE DE GUELMA Skikda à enregistrée la valeur la plus forte 83,44 % à la concentration 468.75 µg/ml par contre GROSSE DE HAMMA est la plus faible avec un pourcentage de 30,46 %. Les pourcentages 83,44 % et 60,26 % enregistrées à la concentration 1875 µg/ml correspondants aux variétés CHEMLAL Batna et CHEMLAL MILA sont les plus élever par apport à NAB DJMEL Skikda qui n'a pas donnée aucune activité.

La concentration 3750 µg/ml a enregistré des pourcentages variables entre 60,26 % et 13,91 % correspondant à GROSSE DE HAMMA et NAB DJMEL Skikda , alors que AZERADJ Bejaia, CHEMLAL Batna, SIGOISE Batna, CHEMLAL Mila, CHEMLAL Constantine , TAZEMALT Bejaia et BLANQUETTE DE GUELMA Skikda ont enregistrées les pourcentages 53,64 %, 45,36 %, 40,40 %, 40,40 %, 30,46 %,23,84 %, 23,84 % respectivement.

## Résultats et discussion

Ces résultats montrent que l'effet anti-inflammatoire des dix extraits des feuilles d'olivier existe dans des différentes concentrations même si un extrait n'a pas donné un pourcentage dans l'une des concentrations mais à manifester dans les trois autres (**Figure 18**).



**Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA des extraits des Feuilles d'olives**

La dénaturation des protéines a été provoquée par l'application d'un stress externe : un composé comme un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou avec la chaleur. C'est un processus dans lequel les protéines perdent leurs structures tertiaires et secondaires ainsi que leurs fonctions biologiques ; ce qui peut conduire à la production d'auto-antigènes (**SIVARAJ et al., 2017**).

L'analyse phytochimique préliminaire a révélé la présence de polyphénols, ces composants possèdent plusieurs propriétés biologiques notables qui sont peut-être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait. Il est approuvé que les anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le phénylbutazone et l'indométhazine n'inhibent pas seulement la synthèse

## Résultats et discussion

---

des prostaglandines pro-inflammatoires, mais inhibent aussi la dénaturation des protéines (SIVARAJ *et al.*, 2017).

# Conclusion générale

---

## Conclusion générale

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant pour les molécules possédant naturellement des activités antioxydantes a été manifesté. L'olivier (*Olea europea L*) ainsi que d'autres plantes représentent une source inépuisable de substances et de composés bioactifs, tels que les polyphénols, à activité antioxydante pouvant être exploitées.

D'un point de vue applicatif, les travaux de ce mémoire se sont assemblés autour d'un axe d'investigation principal qui est la valorisation des polyphénols de dix extraits méthanolique des feuilles d'olivier proviennent de différentes régions de l'est Algérien avec des caractéristiques climatologiques et géographiques très variables. La feuille d'olivier est déjà utilisée depuis de nombreuses années en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques attribuées aux polyphénols et d'autres métabolites secondaires. Cette étude se focalise sur l'extraction et le dosage des polyphénols des feuilles d'olive ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante et anti-inflammatoire.

L'extraction solide-liquide et liquide-liquide des feuilles d'olivier par un solvant hydrométhanolique a permis d'obtenir une bonne teneur en composés phénoliques qui diffère d'un extrait à un autre. Les tests phytochimiques ont permis de mettre en évidence la présence des polyphénols dans toutes les variétés étudiées. Les rendements en polyphénols sont compris entre 7.61% et 17.86%.

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par différents tests *in vitro* tel que : la méthode de DPPH, la méthode ABTS la méthode CUPRAC, le test de POUVOIR REDUCTEUR, la méthode Métal Chélate et la Phénanthroline.

La méthode chimique du test DPPH, qui est basée sur la réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle. Les résultats obtenus montrent que les extraits renferment de puissants composés actifs capables de réduire ce radical libre, puisqu'ils agissent à des faibles concentrations. Les valeurs les plus basses des  $IC_{50}$  ont été enregistrées pour la variété CHEMLAL Constantine ( $15.70 \pm 0.64 \mu\text{g/ml}$ ), GROSSE DE HAMMA Hamma ( $16.66 \pm 1.62 \mu\text{g/ml}$ ), CHEMLAL Mila ( $16.74 \pm 6.28 \mu\text{g/ml}$ ) et AZERADJ Bejaia ( $27.05 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$ ).

Les résultats obtenus pour la mesure de l'activité antioxydante, en utilisant le test ABTS, montrent que les plus fortes activités reviennent à la variété BLANQUETTE DE

## Conclusion générale

---

GUELMA Skikda, AZERADJ Bejaia, SIGOIS Batna et NAB DJMEL Hamma avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> successives (4.49±1.93µg/ml, 12.12±1.51µg/ml, 13.42±0.24µg/ml et 15.04±3.07 µg/ml).

Avec le test du CUPRAC, il est remarqué que la variété SIGOISE Batna suivie par BLANQUETTE DE GUELMA Skikda sont les plus performant avec des valeurs d'A0.5 de 47.40±4.39 µg/ml et 57.40±5.82 µg/ml successivement.

Pas de résultats pour le test du Métal Chélate pour huit extraits sauf AZERADJ Bejaia (20.82±1.27 µg/ml) et BLANQUETTE DE GUELMA Skikda (50.37±6.52 µg/ml).

Le pouvoir réducteur estimé par le test de réduction de chlorure ferrique des extraits montre que la variété NAB DJMEL Skikda possède le pouvoir réducteur le plus important par rapport aux autres variétés étudiées avec des A0.5 de 100.73±235.76µg/ml.

La phénonthroline basé sur la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup> ion des extraits montre que la variété NAB DJMEL Hamma est la plus forte (13.92±257.94 µg/ml) suivi par CHEMLAL Mila (33.66±9.83 µg/ml).

Le test évaluant l'activité anti-inflammatoire a montré que les extraits des feuilles d'olivier possèdent un important effet inhibiteur de la dénaturation des protéines provoquant l'inflammation.

L'extrait de feuille d'olivier constituerait donc une source inestimable de molécules à éventuelles propriétés pharmacologiques et cosmétologiques. A la lumière de ces résultats il serait intéressant de :

- Compléter ce travail par une étude plus large sur d'autres activités
- Séparation et identification des molécules bioactives par des techniques plus poussées telles que le LC-MS-MS et Gc-MS-MS.
- Tester ces extraits sur des lignes cellulaires et *in vivo* sur des models animaux de laboratoires.

## ملخص

بدل الإنسان جهودا كبيرة لمكافحة الألم باستعمال الوسائل التي تمنحها إياه الطبيعة وخاصة النباتات، فمدونة الأدوية الجزائرية غنية بالآلاف من النباتات التي تتغير حسب النظام الإيكولوجي والغطاء النباتي. الهدف من هذه الدراسة هو تقدير محتوى مجموع البوليفينول والنشاط المضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات (تثبيط تمسخ البروتينات) في المختبر المستخلصات الميثانولية من أوراق الزيتون من مناطق مختلفة من الجزائر..BSA

أظهرت النتائج فعالية كبيرة كمضاد للالتهابات في جميع الأصناف. أعطى صنف شمال قسنطينة أفضل نتيجة لنشاط DPPH ، بينما سجل صنف بلونكيت قالمة سكيكدة و سيقواز باتنة و ناب الجمل سكيكدة أفضل القيم في أنشطة مضادات الأكسدة ABTS و Cuprac و phenanthroline على التوالي.

من ناحية، أكدت الدراسة أن أوراق الزيتون غنية بالبوليفينول والفلافونويد ولها نشاط مضاد للأكسدة وقوة مثيرة للاهتمام كمضاد للالتهابات.

**الكلمات الدالة:** أوراق الزيتون، أصناف جزائرية، بولي فينول، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات.

## **Abstract**

Man has always made efforts to combat pain by first using the means offered by his environment and more precisely plants. The Algerian Pharmacopoeia is rich in thousands of plants; they vary according to its ecosystem and vegetation cover. The objective of this study is to evaluate the contents in polyphenols, the activity antioxidant and anti-inflammatory (inhibition of denaturation proteins BSA) in vitro for methanolic extracts from olive leaves from different regions of Algeria. The results showed significant anti-inflammatory activity in all varieties. The CHEMAL Constantine variety gave the best result for the DPPH activity, while the BLANQUETTE DE GUELMA Skikda variety, SIGOISE Batna and NAB DJMEL Skikda recorded the best values in the antioxidant activities ABTS, Cuprac and phenanthroline respectively.

On the one hand, studies have confirmed that the olive leaves rich in polyphenols and flavonoids, has high antioxidant activity and an interesting anti-inflammatory power.

**Keywords :** Olive leaves, Algerian varieties, polyphenol, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.



## Résumé

L'homme s'est toujours donné les moyens de combattre les maladies en utilisant d'abord les moyens que lui offrent son environnement et en particulier les plantes. La pharmacopée algérienne est riche de milliers de plantes ; elle varie en fonction de son écosystème et de son couvert végétal. L'intérêt de ce travail est d'évaluer les teneurs en polyphénols, l'activité antioxydante et anti inflammatoire (inhibition de la dénaturation des protéines BSA), *in vitro* des extraits méthanolique des feuilles d'oliviers des différentes régions de l'Algérie. Les résultats ont montrés une importante activité anti inflammatoire dans toutes les variétés. La variété CHEMAL Constantine a donné le meilleure résultat pour l'activité DPPH, tandis la variété BLANQUETTE DE GUELMA Skikda , SIGOISE Batna et NAB DJMEL Skikda ont enregistré les meilleur valeurs dans les activités antioxydantes ABTS, Cuprac et phénanthroline respectivement.

Cette étude a montré que la feuille d'olivier riche en polyphénols et flavonoïdes et a une activité antioxydante élevé et un pouvoir anti inflammatoire intéressant.

**Mots clés :** Feuilles d'olivier, variétés algériennes, polyphénol, activité antioxydante, activité antiinflammatoire.

**Référence**

**Bibliographique**

## Références Bibliographiques :

- AIT ABDESLEM, K et AIT ATMANE, S., 2013. Etude comparative de l'extraction assistée par micro-ondes et extraction conventionnelle : Effet sur les antioxydants de *Paronychia argenta*, Département de Biologie Physiologie chimique, Bejaia.
- AMOURETTI M.C., COMET C., 2000. Le livre de l'olivier. Aix-en-Provence, éditions EDISUD.
- APAK, R., GÜÇLÜ, K., ÖZYÜREK, M., & KARADEMIR, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*.
- ARGENSON C., REGIS S., JOURDAIN J.M et VAYSEE P. (1999). *Olivier Centre Technique interprofessionnel des fruits et légumes*.
- ANGINOT P et ISLER F (2003). *L'Olive*, Libris: 43.
- AYDOGAN C, *Phytotherapy Research* 2008. Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) Leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive Monozygote twins. *phytoher. Res.* 22.1239-1242.
- AOUIDI, F. (2012). Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molécules*, Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-Alimentaire. Thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie).
- AKOWUAH GA, ZHARI I, NORGYATI I, SADIKUN A ET KHAMSAH SM. The effects of different extraction solvents of varyin polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chem.* Vol 87.
- AKROUR N et HARANI F. (2011). Contribution à l'amélioration de l'activité antibactérienne d'extrait de feuilles d'olivier par addition de la Nisine, et leur application à la conservation de la viande hachée bovine. Mémoire d'ingénieur Spécialité : Technologie Alimentaire. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou Algérie
- AZIZ N.H., FARAG S.E., MOUSA L.A and ABO-ZAID M.A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*.
- BAIANO, A., TERRACONE, C., VIGGIANI, I., & Del Nobile, M. A. (2013). Effects of cultivars and location on quality, phenolic content and antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* : 90(1) : 103-111.
- BOZIN, B., MIMICA-DUKIC, N., SAMOJLIK, I., GORAN, A., & IGIC, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*. 111(4).
- BISIGNANO G, TOMAINO A, LOCOUSCIO R, CRISAFI G, UCCELLA N, SAIJA A, 1999. On the in-vitro antimicrobial actevity of Oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm pharmacol.* (1999).

- BENBRINIS Soumia. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Magister : Biochimie. Sétif : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2012.
- Benhammou N. 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Algérie.
- BENAVENTE-GARCIA O., CASTILLO J., LORENTE J., ORTUNO A and DEL J.A. (2000). Antioxydant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* leaves. *Food Chem.*
- BERTON C., BESNARD G., BERVILLÉ A., 2006. Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: De l'olivier à L « oleastre : Origine et domestication de *Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen., Cahiers agricultures vol. 15.
- BENFALAMI R et MOUARSIA S., 2018. Etude phytochimique et évaluation in vitro des activités antioxydantes et enzymatique des extraits d'une plante médicinale « *Paronychia argentea*.L » .Diplôme pour l'obtention du diplôme de master.université de constantine 1.
- BROSSE J. (2000). Larousse des arbres : Dictionnaire des arbres et des arbustes.
- BOLMONT R., BUSSLER L., JAUBERT J-P et le chantier BT de l'ICEM. (2015).
- Bovine. Mémoire d'ingénieur Spécialité : Technologie Alimentaire. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou Algérie :
- BRUNETON J. (2009). Pharmacognosie : Photochimie. Lavoisier, 4eme édition. Paris.
- BAYCIN D., ALTIOK E, Adsorption of Olive Leaf (*Olea europaea* L.) Antioxidants on Silk Fibroin, *J Agric Food Chem* 2007.
- CATHERINE BRETON et ANDRE BERVILLE. Histoire de l'olivier, édition Quae RD 10.78026 Versailles cedex, 2012.
- Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières.
- CHERIF S., RAHAL N, A CLINICAL trial of a titrated *Olea* extract in the treatment of essential arterial hypertension. *J Pharm Belg* 1996.
  - Chiou, A., Kalogeropoulos, N., Salta, N., Efstathiou, P. et Andrikopoulos, K., (2009) ; Pan-frying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative stability and fate of microconstituents. *LWT - Food Science and Technology* 42, 1090–1097.
- CHEMAT, F., HUMA, Z., KHAN, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology , Processing, preservation and extraction. *Ultrasonincs Sonochemistry*.
- CHAN K.N and MAZNAH I (2009). Supercritical carbon dioxide fluid extraction of hibiscus *Canna bimus* L. seed oil: Apotential solvent-free and high antioxydative edible oil : 1291-1296.
- C. GAYET, Guide de poche de phytothérapie : Acné, ballonnements, migraines. Soignez-vous au naturel !, Éditions Leduc, Mars 2018.
- Course.Syria :12-23 March 1995.

- DECKER, E. A., & WELCH, B (1990). Role of ferritin as a catalyst lipid oxidation in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- DIALLO AMADOU (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (myrtaceae). Diplôme d'état pour le grade de docteur en pharmacie.
- EVREUX, F., DELAPORTE, B., LERET, N., BUFFET-JANVRESSE, C., MOREL, A., (2007). Méningite.
- FAVIER, A., (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.
- FEGEROS, K., ZERVAS, G., APSOKARDOS, F., VASTARDIS, J., APOSTOLAKI, E. (1995). Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*.
- FATMA PEHLIVAN KARAKASA, B, ARZU UCAR TURKERB, ALPER KARAKASB, VAKHTANG MSHVILDADZEC, ANDRE PICHETTEC, JEAN LEGAULTC . In vitro cytotoxic, antibacterial, antiinflammatory and antioxidant activities and phenolic content in wild-grown flowers of common daisy/A medicinal plant, 2016.
- [Gronomie.info/fr/caracteristiques-morphologiques-et-physiologiques-de-lolivier/](http://Gronomie.info/fr/caracteristiques-morphologiques-et-physiologiques-de-lolivier/) (source : Tabti, Dalila 2010. Régénération in vitro de plants s) Apex caulinaires d'olivier *Olea europaea* L. var. Chemlal.
- GÜLÇİN L., ELIAS R., GEPIREMEN A., BOYER L. ET KOKSAL E. (2007). A comparative Study on the antioxidant activity of fringe tree . (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *Journal of biotechnology*.
- HANDIQUE, J., et BARUAH, B (2002) ; Polyphenolic compounds : an overview. *React.Funct. Polym.*, 52,193-188.
- GONZALEZ M., ZARZUELO A., GAMEZ J.M., Utrilla M.P., Jimenez J., Osuna I., Hypoglycemic activity of olive leaf,. *Planta Med* 1992.
- GOLDSMITH CHLOE D, QUAN V.VUONG, COSTAAS STATHOPOULOS, PAUL D.ROACH AND CHRISTOPHER J.SCARLETT.(2014). Optimization of the aqueous extraction of phenolic compounds from olive leaves.
- GOLDSMITH D LINS, SILVANA MARINA PICCOLI PUGINE, ANTONIO MARCIO SCATOLINO, MARIZA PIRES DE MELO., 2018. in vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. Department of basic science, Faculty of animal science and food engineering, University of Sao Paulo Pirassununga, SP, Brazil.
- LEONG L.P et SHUI G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem* 76: 69-75.
- LI B.B., SMITH B, HOSSAIN M.M., 2006b. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*. 48.
- LEONG L.P and SHUI G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore, markets. *Food Chem* 76: 69-75.
- LIEN, E.J., BUI, H.H., WANG, R. (1999). Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 26.

- MILAN IVANO , UNA-JOVANA AJIC , NEENA MIHAJLOVIC-STANOJEVIC, ZORAN MILORADOVIC, DJURDJICA JOVOIC, JELICA GRUJIC-MILANOIC, 2018. Highly potent antioxidant olea europaea l. Leaf extract affects carotid and renal haemodynamics in experimental hypertension ; the role of oleuropein. Department of cardiovascular physiology; institute of medical research, university of BELGRADE.SERBIA.
- MICOL V., CATURLA N., PEREZ-FONS L., MAS V., PEREZ V., ESTEPA A. The olive leaf extract exhibits - antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). Antiviral Research 2005.
- Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: Toxic molecules or spark of life? Critical Care Med Journal, Vol 10, pp. 208-216.
- MARTIN-GARCIA, A.I., MOLINA-ALCAIDE, E., (2008). Effect of different drying procedures on the nutritive value of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) leaves for ruminants. Animal Feed Science and Technology.
- MOTILVA M-J., SERRA A and MACIA A. (2013). Analysis of food polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An Overview. Journal of Chromatography A, State of the art of (UHP) .Techniques and their Practical Application.1292 : 62-82.
- M. T. KHAYYAL, et al., Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats. Arzneimittelforschung, 2002.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. technol, 26(2) / 211-219.
- MICOL V., CATURLA N., PEREZ-FONS L., MAS V et ESTEPA A (2005).The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). Antiviral Research., 66 : 129-136.
- NEFZAOU, A., (1995). Feeding value of Mediterranean-ruminant feed resources. Advanced.
- Néonatale à *Bacillus cereus*, à propos d'un cas, Archives de Pédiatrie. 14: 265-368.
- NINGJIAN LIANG et DAVID D KITTS. (2005). Antioxidant property of coffee component. Assessment of methods that define mechanisms of action.
- ORAK HAKIM HULYA, SEBNEM SELEN ISBILIR et HULYA YAGAR , 2012. Determination of antioxidant properties of lyophilized olive leaf water extracts obtained from 21 different cultivars. Department of food technology, vocational school of technical sciences, Namik kemel university; Turkiye.
- RAJAN MURUGAN, THANGARAJ PARIMELAZHAGAN ., 2013. Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *Osbeckia parvifolia* Arn. – An in vitro approach.
- OGAB SALIHA ET ZOUDJI FATIMA ZOHRA (2017). Caractérisation morphologique, culturale et pathogénique de *Verticillium dahliae* Kleb. Agent causal de la verticilliose de l'olivier.

- OWEN P et JOHENS T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. 64: 149-160.
- ONG K.C., KHOO H.E, Biological Effects of Myricetin, General Pharmacol (1997) :121-126.
- Özyaürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30(4).
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci. 2008 Jun;4(2):89-96. PMID: 23675073; PMCID: PMC3614697.
- POLESE JM. (2009). Olivier pas à pas. EDISSUD Provence.
- RITCHARDSON J (2000). Extrait de feuille d'olivier / puissant agent antibactérien, antiviral et antifongique. Marketing du spectre, Australie.  
SOLOVTCiE?KO A.M., Thèse Ph-xacie 2014, Université de Paris-Sud.
- SAKAT, S., JUVEKAR, A.R., GAMBHIRE, M.N., 2010. In vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. Int. J. Pharm. Pharmacol.
- SIVARAJ, C., NIKHISHAA-SREE, R. P., ARUMUGAM, P et GAYATHRI,K. (2017). Antiinflammatory, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Essential Oil Extracted from *Salvia officinalis* L. World Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol.5, N°6, pp.257-263.
- SOMOVA LI, et al. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies *africana* leaves Ethnopharmacol. (2003).
- S. LACOSTE, Ma bible de la phytothérapie : Le guide de référence pour se soigner avec les plantes, Éditions Leduc.s, Sept 2014.
- SCHUCHARDT H. (1997). Encyclopédie Mondiale de l'olivier. Conseil Oléicole international.
- SZYDLOWSKA-CZERNIAKA A, DIANOCZKI C, RECSEG K, KARLOVITS G, SZLYK E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta 2008.
- TABUTI J.R.S., LYE K.A., DHILLION S.S. (2003)/ Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, Journal of Ethnopharmacology, 88: 19-44.
- VILLAÑO, D., FERNANDEZ-PACHON, M. S., MOYA, M. L., TRONCOSO, A. M., & GARCIA-PARRILLA, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta.
- Yefrida., Hamzar suyani., mai efdi., aziz hermansyah. (2018). Comparaison des méthodes de réduction du fer sur la détermination de la teneur en antioxydants dans l'échantillon de légumes.
- Ziane N. 2014. Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiante des extraits de *Pistacia atlantica* Desf ; de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) –Algérie. Thèse de magistère, université Ferhat Abbas, Algérie.

**Intitulé : Anti inflammatoire et antioxydantes propriétés des feuilles d'olives récoltées de différentes régions.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Immunologie Moléculaire et Cellulaire.

**Résumé :**

L'homme s'est toujours donné les moyens de combattre les maladies en utilisant d'abord les moyens que lui offrent son environnement et en particulier les plantes. La pharmacopée algérienne est riche de milliers de plantes ; elle varie en fonction de son écosystème et de son couvert végétal. L'intérêt de ce travail est d'évaluer les teneurs en polyphénols, l'activité antioxydante et anti inflammatoire (inhibition de la dénaturation des protéines BSA), in vitro des extraits méthanolique des feuilles d'oliviers des différentes régions de l'Algérie.

Les résultats ont montrés une importante activité anti inflammatoire dans toutes les variétés. La variété CHEMAL Constantine a donné le meilleure résultat pour l'activité DPPH, tandis la variété BLANQUETTE DE GUELMA Skikda, SIGOISE Batna et NAB DJMEL Skikda ont enregistré les meilleur valeurs dans les activités antioxydantes ABTS, Cuprac et phénanthroline respectivement.

Cette étude a montré que la feuille d'olivier riche en polyphénols et flavonoïdes et a une activité antioxydante élevé et un pouvoir anti inflammatoire intéressant.

**Mots clés :** Feuilles d'olivier, variétés algériennes, polyphénol, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

**Laboratoire de recherche :** Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) Constantine, Laboratoire de Biochimie

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** *Mme ARIBI Boutheyna (Maitre de conférence B- UFM Constantine).*  
**Rapporteur :** *Mr MEBREK Saad (Maitre de recherche B - CRBt Constantine).*  
**Examineur :** *Mme MACHATI Chahinez (Maitre assistante A)*

**Date de soutenance :** 07/07/2021