



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Mnistère de l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم البيعة و الحياة

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: Toxicologie et Santé

N° d'ordre:

N° de serie:

Intitulé:

Les Activités antioxydantes *in vitro* de la plante médicinale endémique *Olea europaea L*

Présenté par: Bennaceri Selma

Le 12/06/2024

Ghanem Rahma

Jury d'évaluation:

Président: Mr MENAD Ahmed (Pr- Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant: Mr ATTALAH SALAH (Pr- Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrices: Mme DEHILI Nedjoua (MAA- Constantine 1 Frères Mentouri).

Mme IHOUEL Safia (MCB- Constantine 1 Frères Mentouri)

Année universitaire 2023 – 2024

Remerciements

En premier lieu nous remercions ALLAH le toute puissant, de m'avoir guidé et inspiré toutes les années d'étude, en me donnant de santé, volonté et courage.

Nous tenons à remercier en premier Mr ATTALAH SALAH pour son encadrement, direction, pour son aide précieuse et ses conseils concernant notre travail et son immense gentillesse.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont portés en acceptant d'examiner et évaluer ce travail:

Monsieur *MENAD Ahmed* professeur à l'université de Constantine, d'avoir accepté de juger ce travail.

Madame *DEHILI Nejoua* et Madame *IHOUEL Safia* à l'université de Constantine, examinatrices de ce travail.

Nos derniers remerciements, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

*Je dédie ce travail a mes cheres parents ♥, je tiens à leur exprimer ma
profonde gratitude, tous mes respects et reconnaissances pour les
grands sacrifices consentis au service de la famille. Que Dieu leur
procure bonne santé et longue vie.*

*A mes fideles compagnons dans les moments les plus délicats de cette
vie mystérieuse mes frères **Hammoudi** et **Larbi** et mes sœurs **Aya**,
Meriem.*

A mon neveu et ma petite niece.

*A mes meilleurs amies **Malak**, **Lina**, **Hadil**.*

*A mes meilleurs copines **Maissa**, **Afnan**, **Manar**, **Hiba**, **Chaima**.*

A tous ceux qui me sont chers, et que j'ai involontairement oublié

de citer.

SELMA

Dédicace

A ceux qui nous ont donné sans rien en retour, A ceux qui nous ont encouragé et soutenu dans nos moments les plus difficiles, Et ceux à qui on doit tant A mes chers parents ♥ pour leur amour et toute l'affection qu'ils m'ont donné et leur soutien moral, je vous doit tous mon succès, bonheur et ma grande joie. Je suis très heureuses et fières de votre présence à nos côtés.

À mes chères sœurs hania et baraa, et mes frères mehdi, rahim.

RAHMA

Les Activités antioxydantes *in vitro* de la plante médicinale endémique *Olea europaea*

Résumé

Les feuilles d'olivier sont considérées comme des sources importantes en métabolites secondaires et notamment en polyphénols, ce qui fait d'eux des matrices très valorisables.

Notre étude a pour objectif de valoriser l'espèce d'*Olea europaea L.*, pour cela nous avons procédé au dosage des composés phénoliques et l'évaluation des activités antioxydante d'extrait de la plante et le test de cytotoxicité d'extrait.

L'extrait sec a été obtenu par macération en utilisant: le méthanol et l'eau. L'activité antioxydante d'extrait a été évaluée par cinq méthodes: DPPH et ABTS, FRAP, phénonthroline, SNP en utilisant l'acide ascorbique, BHA, BHT, α -Tocophérol comme des standards.

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de $314,49 \pm 22,34 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait. Et la teneur en flavonoïdes est de $96,38 \pm 1,76 \mu\text{g QE/ mg}$.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les méthodes des réductions du radical libre DPPH et ABTS car elles sont reconnues par la simplicité, la rapidité est : IC₅₀ ($31,20 \pm 1,64 \mu\text{g /ml}$), ($31,94 \pm 4,25 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Même les autres activités ont donné des résultats satisfaisants : FRAP : $43,77 \pm 2,16 \mu\text{g /ml}$, phénonthroline : $11,40 \pm 1,40 \mu\text{g /ml}$, SNP : $62,65 \pm 3,99 \mu\text{g /ml}$.

De cela, toutes les données ont confirmées que l'*Olea europaea L.* peut être une source des polyphénols donc d'agents antioxydants, et aussi les résultats obtenus ne montrent aucun symptôme de toxicité d'extrait.

Mots clés: *Olea europaea L.*, composés phénoliques, activité antioxydante, test de cytotoxicité.

Antioxidant activities of the endemic medicinal *plant Olea europaea L* *In vitro*

Abstract

Olive leaves are considered important sources of secondary metabolites and in particular polyphenols, which makes them very valuable matrices.

Our study aims to promote the species of *Olea europaea L*. To do this, we carried out the dosage of phenolic compounds and the evaluation of the antioxidant activities of the plant extract and the cytotoxicity test of the extract.

The dry extract was obtained by maceration using: methanol and water. The antioxidant activity of extract was evaluated by five methods: DPPH and ABTS, FRAP, phenanthroline, SNP using ascorbic acid, BHA, BHT, α -Tocopherol as standards.

The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, it is 314.49 ± 22.34 μg GAE/mg of extract, And the flavonoid content is 96.38 ± 1.76 μg QE/ mg.

The antioxidant activity was evaluated using the free radical reduction methods DPPH and ABTS because they are recognized by their simplicity, speed is: IC₅₀ (31.20 ± 1.64 μg /ml), (31.94 ± 4.25 μg /ml) respectively.

Even the other activities gave satisfactory results: FRAP: 43.77 ± 2.16 μg /ml, Phenanthroline: 11.40 ± 1.40 μg /ml, SNP: 62.65 ± 3.99 μg /ml.

From this, all the data confirmed that *Olea europaea L* can be a source of polyphenols and therefore antioxidant agents, and also the results obtained do not show any symptoms of extract toxicity.

Keywords: *Olea europaea L*, phenolic compounds, antioxidant activity, cytotoxicity test.

الأنشطة المضادة للأكسدة في المختبر للنباتات الطبية المستوطنة *Olea europaea L*

الملخص

تعتبر أوراق الزيتون مصادراً هامة للأيضات الثانوية وخاصة البوليفينول، مما يجعلها موارد قيمة للغاية. تهدف دراستنا إلى تمييز *Olea europaea L*. ولهذا قمنا بإجراء معايرة المركبات الفينولية وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلص النباتي واختبار السمية الخلوية للمستخلص.

تم الحصول على المستخلص الجاف عن طريق النقع باستخدام: الميثانول والماء. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للمستخلص بخمس طرق: DPPH و ABTS، FRAP، Phénanthroline، SNP باستخدام حمض الأسكوربيك، BHT، BHA، α -Tocopherol كمعايير.

حيث تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu، وهو $314.49 \pm$ 22.34 ميكروغرام GAE/mg من المستخلص. ومحتوى flavonoid هو 1.76 ± 96.38 ميكروغرام QE/mg.

تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقتي تقليل الجذور الحرة DPPH و ABTS لأنه يتم التعرف عليهما من خلال بساطتهما، وسرعتهما هي: IC50 (1.64 ± 31.20 ميكروغرام / مل)، (4.25 ± 31.94 ميكروغرام / مل) على التوالي.

حتى الأنشطة الأخرى أعطت نتائج مرضية FRAP: 43.77 ± 2.16 ميكروغرام/مل، Phénantroline: 1.40 ± 11.40 ميكروغرام/مل، SNP: 62.65 ± 3.99 ميكروغرام/مل.

ومن هذا المنطلق، أكدت جميع المعطيات أن *Olea europaea L* هي مصدرًا للبوليفينول وبالتالي عوامل مضادة للأكسدة، كما أن النتائج التي تم الحصول عليها لا تظهر أي أعراض لتسمم المستخلص.

الكلمات المفتاحية *Olea europaea*. المركبات الفينولية، نشاط مضاد الأكسدة، اختبار السمية الخلوية.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I: Partie Bibliographique

1. L'Olivier (Olea europaea L)	3
1.1. Origine et historique	3
1.2. Classification botanique	3
1.3. Description botanique	4
1.4. Caractéristiques morphologique d'olea europaea L	5
1.5. Répartition géographique d'olea europaea L	5
1.5.1. Dans le monde	5
1.5.2. Dans l'Algérie.....	5
1.6. Utilisation traditionnelle	6
1.7. Composition chimique des feuilles d'Olea europaea L	6
2. Les composés phénoliques des feuilles d'olivier	7
2.1. Généralité sur les composés phénoliques	7
2.2. Définition et localisation des composés phénoliques	8

2.3. Classification des composés phénoliques	8
2.3.1. Les acides phénoliques	9
2.3.2. Les tannins	9
2.3.3. Les Stilbenes	9
2.3.4. Les flavonoïdes	10
2.4. Classification des flavonoïdes	11
2.4.1. Les flavones	11
2.4.2. Les flavonols	11
2.4.3. Les flavanones	11
2.4.4. Les isoflavones	11
2.4.5. Anthocyanes.....	12
2.4.6. Tanins condensés	12
2.4.7. Tanin hydrosoluble	13
2.5. Propriétés biologiques des polyphénols	14
2.5.1. Activité antioxydant.....	14
2.5.2. Activité antimicrobienne.....	15
2.5.3. Activité anti-inflammatoire.....	15
2.5.4. Activité antidiabétique	16
2.5.5. Anti-cancéreux	16
2.5.6. Polyphénols et maladies neurodégénératives	17
2.5.7. Maladies cardiovasculaires	17

Chapitre II: Matériels et Méthodes

1. Matériel	18
--------------------------	----

1.1. Matériel végétal	18
2. Méthodes expérimentales	18
2.1. Préparation d'extrait	18
- Extrait hydro-méthanolique	18
2.2. Dosage des composés	18
2.2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	18
➤ Principe	18
➤ Protocole	19
2.2.2. Dosage des flavonoïdes	19
➤ Principe	19
➤ Protocole	20
• Les Activités biologiques.....	20
2.3. Activités antioxydant	20
2.3.1. Test de DPPH.....	21
➤ Principe	21
➤ Protocole	22
2.3.2. Test d'ABTS	22
➤ Principe	22
➤ Protocole	23
2.3.3. Test de pouvoir réducteur (FRAP)	24
➤ Principe	24
➤ Protocole	24
2.3.4. Test de Phenanthroline.....	25
➤ Principe	25
➤ Protocole	25
2.3.5. Test de nanoparticule d'argents (SNP).....	26

➤ Principe	26
➤ Protocole	27
2.4. Test de cytotoxicité sur les larves d'artémia.....	27
3. Etude statistique.....	27

Chapitre III: Résultats et Discussion

1. Détermination du teneur en polyphénols et la teneur des flavonoïdes	28
1.1. Dosage des polyphénols.....	28
1.2. Dosage des flavonoïdes	29
2. Activité antioxydant.....	31
2.1- Test DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	31
2.2- Test ABTS (l'acide 2, 2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6 sulphonique)	33
2.3- Test de pouvoir réducteur (FRAP)	35
2.4- Test phénanthroline	37
2.5- Test nanoparticule d'argents (SNP)	38
3. Test de cytotoxicité sur les larves d'artémia.....	40
Conclusion et perspectives	41

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Olea europaea (Olivier)	4
Figure 2: Répartition des zones oléicoles algérienne	6
Figure 3: Les principales classes des polyphénols.....	8
Figure 4: La structure de base des stilbènes (1,2-diaryléthylènes ; à gauche) et cis- et trans-resvératrol (à droite).....	10
Figure 5: Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 6: Structures de base des différents flavonoïdes	12
Figure 7: Structure d'un tanin condensé	13
Figure 8: Structure de tanins hydrolysable (1-O-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoylβ-D-glucose (OGβDG).....	13
Figure 9: Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants	15
Figure 10: Transformation du radical DPPH• en DPPHH.....	21
Figure 11: Formation et piégeage du radical ABTS●+ par un antioxydant donneur de H ●	23
Figure 12: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP	24
Figure 13: Réduction d'Ag+ en nanoparticules (SNP).....	26
Figure 14: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	28
Figure 15: La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	30
Figure 16: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des différentes concentrations soit pour les standards (α-Tocopherol, BHA, BHT) ou pour l'extrait de la plante.....	32
Figure 17: Le pourcentage de la concentration inhibitrice du radical ABTS + en fonction des différents concentrations de standards BHA, BHT et pour l'extrait de la plante.	33
Figure 18: les valeurs des A0,50 du test pouvoir réducteur.....	35
Figure 19: Les valeurs des A0,50 du test Fe2+ -phénonthroline.	37
Figure 20: Valeurs des A0,50 du test nanoparticule (SNP) pour l'extraits de Olea europaea.	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique de l'espèce <i>Olea europea</i> L.	3
Tableau 2: Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g). 7	
Tableau 3: La teneur en composés phénoliques.	28
Tableau 4: La teneur en flavonoïdes.....	30
Tableau 5: Inhibition du radical DPPH par l'extrait <i>olea europaea</i> L.	32
Tableau 6: Les Valeurs d'IC50 de l'activité ABTS par l'extrait <i>olea europaea</i> L.	33
Tableau 7: Absorbance du pouvoir réducteur par l'extrait <i>olea europaea</i> L.	35
Tableau 8: Absorbance du complexe Fe ⁺² phénanthroline par l'extrait étudié.	37
Tableau 9: Absorbance de la nanoparticule d'argent par l'extrait d' <i>Olea eurpaea</i> L.	39

Liste des abreviations

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

µg /ml: Microgramme par milliliter.

µl: Microlitre.

A0.5: Concentration indiquant 0,5 d'absorbance.

ABTS•+: Acide 2, 2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

BHA: Butylated hydroxyanisole.

BHT: Butylated hydroxytoluene.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DPPH•: Diphénylpicryl-hydrayl.

FCR: Folin-Ciocalteu.

Fe³⁺: Ion ferrique.

Fe²⁺: Ion ferreux.

FeCl₃: Chlorure de fer.

IC50: Concentration Inhibitrice à 50 %.

Mg: Milligramme.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le Stress oxydant définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants. Ce déséquilibre conduits potentiellements a des dégats structureaux et fonctionnelles (**Bensakhria., 2018**).

Il est aujourd'hui bien connu que les composés phénoliques sont fortement responsables des effets sur la santé liés à la consommation d'aliments d'origine végétale. Ils jouent un rôle clé en tant qu'antioxydants en raison de la présence de substituants hydroxyles et de leur structure aromatique, qui leur permet de piéger les radicaux libres (**Villano et al., 2007**).

L'Algérie, dotée d'une riche diversité florale, abrite une importante population d'oliviers, principalement dans les régions centrales du pays (**Aouidi., 2012**). Outre son importance économique et culturelle, l'olivier algérien recèle un potentiel thérapeutique considérable encore largement inexploité.

Des études scientifiques menées sur diverses parties de l'olivier, notamment ses feuilles, ont révélé la présence de nombreux principes actifs aux propriétés biologiques prometteuses (**Gbenou et al., 2011**).

L'intérêt pour les antioxydants d'origine végétale a considérablement augmenté ces dernières années en raison de leur capacité à protéger l'organisme contre les radicaux libres et à retarder le vieillissement cellulaire.

Les feuilles d'olivier, en particulier, sont une source précieuse de composés phénoliques, notamment de flavonoïdes, reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes (**Ma et al., 2009**).

Olea europaea L, est traditionnellement utilisée pour ses vertus hypotensives, émoullientes, laxatives, diurétiques, nettoyantes pour la peau, ainsi que pour traiter les infections urinaires, les calculs biliaires, l'asthme bronchique et la diarrhée.

Plusieurs phytoconstituants, tels que les glycosides, les flavonoïdes, les secoiridoïdes et les acides gras polyinsaturés, ont été identifiés dans différentes parties de la plante.

Dans ce contexte, notre étude explore le potentiel thérapeutique des feuilles d'olivier (*Olea europaea L*) algérien en évaluant *in vitro* leurs activités biologiques. Elle s'inscrit dans

une démarche de valorisation durable du secteur oléicole algérien, en mettant en lumière les propriétés bioactives prometteuses de l'olivier et en ouvrant la voie à de nouvelles applications dans les domaines de la santé et du bien-être.

Les chapitres qui vont suivre traitent les principaux points nécessaires pour comprendre ce sujet d'actualité. En premier lieu, une partie théorique dont le premier chapitre est consacrée à des généralités bibliographiques sur l'espèce *Olea europaea L.*, et le deuxième des généralités sur les composées phénoliques et leur classification et des généralités aussi sur les polyphénols et les activités antioxydantes, anti-inflammatoire, antibactérienne, antidiabétiques, anticancéreux, les maladies cardiovasculaires, et neurodégénératives.

Ensuite, dans la partie expérimentale nous nous proposons de:

- Déterminer la composition quantitative en polyphénols et en flavonoids de la plante *Olea europaea L.*
- Evaluer l'activité antioxydante par différents tests *in vitro*.
- Evaluer le teste de cytotoxicité de cette plante.

Cette partie traitera les différents protocoles réalisés, les résultats obtenus ainsi que leur analyse et explication.

En dernier lieu, une conclusion avec perspectives a été établie.

CHAPITRE I
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'Olivier (*Olea europaea* L)

1.1. Origine et historique

L'olivier est d'origine très ancienne, il existe plusieurs théories, mais l'une des plus largement acceptée est celle de **Vavilov (1949-1950)**, qui a établi le centre d'origine de l'olivier cultivé en Syrie et en Iran.

L'olivier est un arbre symbolique du bassin méditerranéen, représente la paix, la richesse et la gloire connu scientifiquement sous le nom d'*Olea europaea* L, revêt une importance historique et agricole significative dans la région méditerranéenne (**Rugini et Lavee., 1992**).

En Algérie, l'olivier est de longue date, il aurait été importé par les phéniciens puis développé plus tard par les Romains, et enfin par les arabes (**Cherrat et Naitchabane., 1999**).

L'olivier est très réparti en Algérie et largement utilisé par les populations locales, les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles (**Karim et al., 2013**), Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques, notamment l'oleuropéine.

Ces composés possèdent, des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobien qui les rendent très importants pour les domaines de la santé et l'industrie agroalimentaire (**Aouidi., 2012**).

1.2. Classification botanique

L'olivier appartient à la famille des Oléacées, qui compte 29 genres, parmi lesquels le genre *Olea*, avec 35 espèces (**Heywood., 1978**).

Tableau 1: Classification botanique de l'espèce *Olea europaea* L (**Ghedira., 2008**)

Régne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dialypetales
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae(Oléacées)
Genre	Olea
Espèce	Olea europaea L

1.3. Description botanique

L'olivier (*Olea europaea L*) est un petit arbre à feuilles persistantes qui mesure entre 8 et 15 mètres de hauteur. C'est une espèce à croissance lente et extrêmement longue durée de vie, avec une espérance de vie pouvant atteindre 1000 ans.

Son tronc court et large développe de multiples branches avec des branchettes retombantes.

Les feuilles vert argenté sont épaisses, coriaces et disposées de manière opposée, et elles persistent pendant 2 à 3 ans avant de tomber.

Les inflorescences des bourgeons floraux se développent à l'aisselle de chaque feuille, avec des bourgeons pouvant rester dormants pendant plus d'un an. Chaque inflorescence contient de 15 à 30 petites fleurs peu visibles, de couleur jaune-blanc et parfumées.

Cette espèce est monoïque avec des fleurs hermaphrodites, constituées d'un court calice à 4 segments et d'une corolle tubulaire courte contenant 4 lobes.

Le fruit est une drupe de 2 à 2,5 cm de long, noire à maturité, avec un noyau central renfermant la graine entourée par la pulpe comestible charnue. Il est dispersé principalement par les oiseaux (Guerrero et al., 2016).



Figure 1. *Olea europaea* (olivier et al .,2016)

1.4. Caractéristiques morphologique d'*olea europaea L*

L'olivier (*Olea europaea L*) est un arbre méditerranéen par excellence, se distingue des autres espèces fruitières par sa grande longévité et également par sa grande rusticité qui lui permet de se développer et de fructifier même sous des conditions d'environnement extrêmes, telles que la sécheresse, la salinité (Maas et Hoffman., 1977), la chaleur et à des basses températures (Fontanazza et Preziosi., 1969), mais il craint le gel.

Il peut s'adapter à divers types de sols, parfois très pauvres et secs, bien aérés, mais il craint l'humidité.

Son potentiel d'adaptation est dû à l'anatomie spéciale de ses feuilles, de son système racinaire et de son haut niveau de régénération morphologique (Lavee., 1997).

1.5. Répartition géographique d'*olea europaea L*

1.5.1. Dans le monde

Sa culture se répand dans diverses régions à travers le monde, notamment en Australie, en Amérique du Sud et du Nord, ainsi qu'en Afrique du Sud (Rugini and Fedeli., 1990).

Cependant, le bassin méditerranéen reste le principal centre de culture de l'olivier, abritant 95 % des vergers d'oliviers du monde.

1.5.2. Dans l'Algérie

La culture de l'olivier en Algérie est principalement centrée sur 12 wilayas situées dans les régions centrale et occidentale du pays.

Parmi celles-ci, six sont localisées dans le centre-est, représentant ainsi 75,3 % de la production nationale totale : Bejaia, Tizi-Ouzou, Bouira, Sétif, Bordj Bou Arreridj et Jijel.

Ces six wilayas représentent plus des deux tiers de la production d'olives en Algérie, avec des superficies respectives de 50 918 ha, 33 105 ha, 26 337 ha, 21 544 ha, 15 781 ha et 12 416 ha.

Le reste de la production est partagé entre les wilayas de Mascara, avec 12 481 ha, et de Skikda, avec 9 679 ha (Madr., 2015). La figure 2 ci-après illustre la répartition des zones oléicoles algérienne.

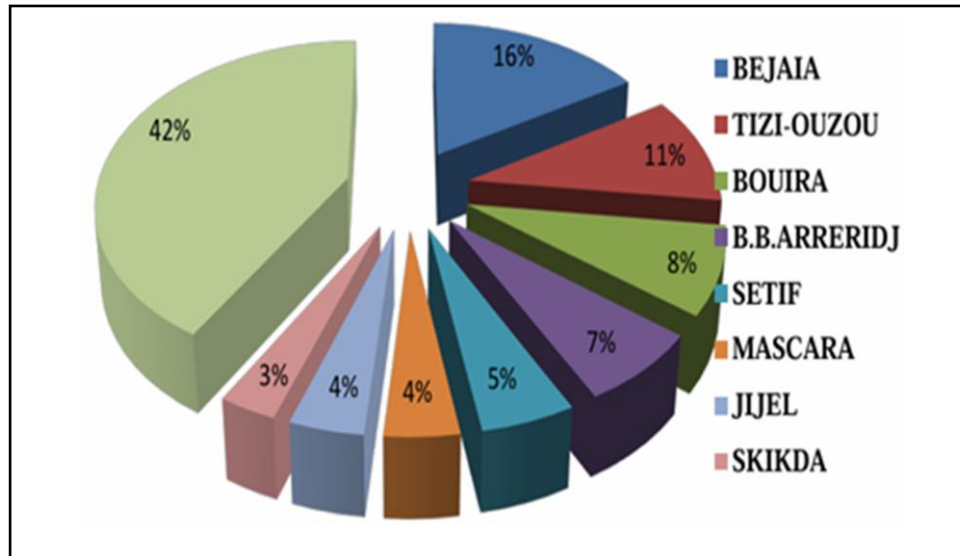


Figure2. Répartition des zones oléicoles algérienne (Madr., 2015).

1.6. Utilisation traditionnelle

En Algérie, beaucoup de plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter les maladies cardio vasculaires, inflammatoires, en particulier le rhumatisme, l'hypertension artérielle modérée, le diabète et les maladies gastro-intestinales, etc.

Parmi ces plantes, *Olea europaea l*, est largement utilisé dans la médecine traditionnelle et en nutrition (Boucherfa et al., 2012)

Et aussi fréquemment employée pour soigner la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme, souvent sous forme d'extraits, de poudre ou de tisanes.

Leur capacité antimicrobienne s'étend à divers micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les mycoplasmes (Weinstein et al., 2013)

1.7. Composition chimique des feuilles d'*Olea europaea L*

Les feuilles d'olivier sont considérées comme l'emplacement primaire du métabolisme des plantes aux niveaux des produits de base et des produits secondaires de plante.

La composition chimique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, Les conditions climatiques, l'âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (Nefzaoui., 1995).

Tableau 02 : Composition chimique global des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g)
(Boudhrioua et al., 2009).

Substance	Teneur (En %)
Eau	46,2-49,7 a
Protéines	5,0-7,6 a
Lipides	1,0-1,3 a
Minéraux	2,8-4,4 a
Carbohydrates	37,1-42,5 a
Fibres brutes	18,0 b
Celluloses	11,4 b
Hémicellulose	13,3 b
Lignine	14,2 b
Polyphénols totaux	1,3-2,3 b
Tannins solubles	0,3 b
Tannins condensés	1,0b

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.

2. Les composés phénoliques des feuilles d'olivier

2.1. Généralité sur les composés phénoliques

Le terme «polyphénols» est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux.

En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les monophénols, pourtant abondants et importants chez les végétaux.

Donc la désignation générale «composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (Fleuriet et al., 2005).

2.2. Définition et localisation des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolismes secondaires de la plante qui sont des déterminants importants de la qualité sensorielle et nutritionnelle des fruits, légumes et autres plants.

Les polyphénols forment le groupe des composés organiques phytochimiques le plus important dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante (**Seliamia et al., 2019**). Les polyphénols sont des produits résultant de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et l'acide amine de phénylalanine.

Cette biosynthèse permet la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques pour chaque d'une espèce végétale, d'un organe et d'un tissu particulier (**Laouini., 2014**).

Dans la cellule, les composés phénoliques sont essentiellement localisés sous forme soluble dans les vacuoles. Ils peuvent également s'accumuler dans les parois végétales : c'est le cas de la lignine (hétéropolymère d'alcools coniférylique, p-coumarylique et sinapylique) ou de certains flavonoïdes (**Robards et al., 1999**).

2.3. Classification des composés phénoliques

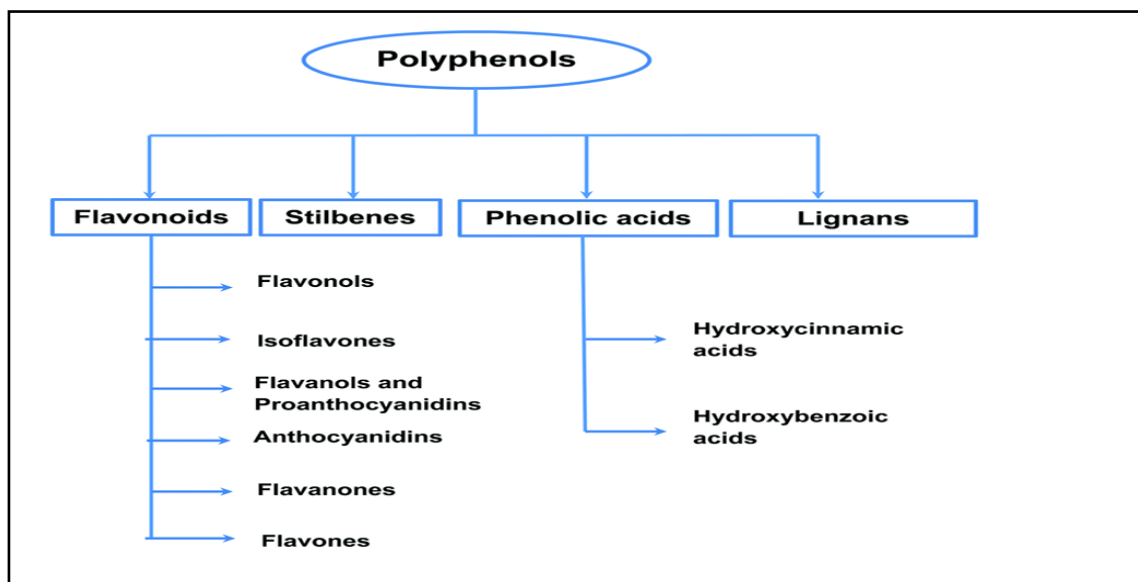


Figure3. Les principales classes des polyphénols (**Oliver et al., 2016**).

2.3.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont constitués de deux sous-groupes : Les acides hydroxy benzoïques, qui ont en commun la structure en C6-C1 et les acides hydroxy cinnamiques, des composés aromatiques avec une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3) **(Balasundram et al., 2006)**.

2.3.2. Les tannins

Les tannins sont des molécules polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes **(Achat., 2013)**.

Ils sont du grand intérêt pour la nutrition et la médecine à cause de leur capacité antioxydante puissante et leur effet protecteur possible sur la santé humaine **(Oszmianski et al., 2007)**.

La plupart des propriétés biologiques des tannins sont liées au pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier avec les protéines. Les liaisons non covalentes, hydrogènes et hydrophobes participent à la formation du complexe tannins-protéine **(Sereme et al., 2011)**.

2.3.3. Les Stilbènes

Les stilbènes, appartenant au groupe des polyphénols dérivés de l'acide cinnamique, présentent une structure de base avec deux cycles aromatiques reliés par un pont méthylène (C6-C2-C6). Les deux isomères, cis et trans, possèdent des propriétés chimiques et biologiques distinctes **(Collin et Crouzet., 2011)**.

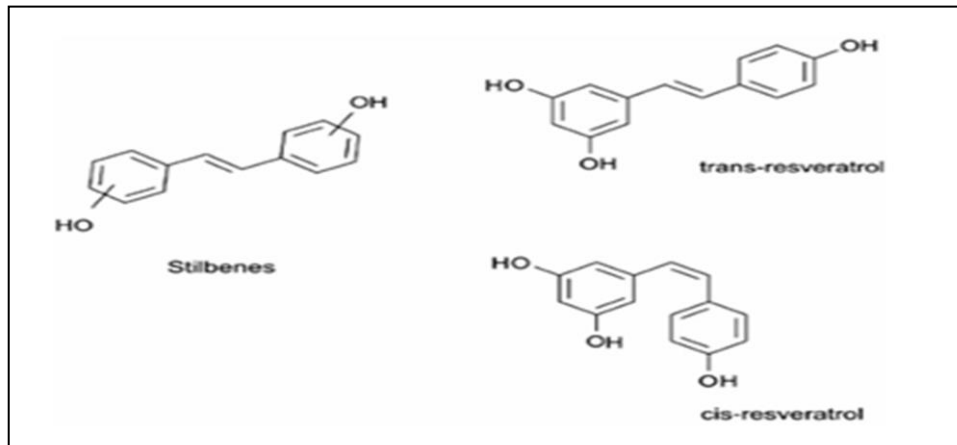


Figure 4. La structure de base des stilbènes (1,2-diaryléthylènes ; à gauche) et cis- et trans-resvératrol (à droite) (Singla et al., 2019).

2.3.4. Les flavonoïdes

C'est la classe la plus répandue dans le règne végétal, possède un squelette carboné C6-C3-C6 (Nkhili., 2009).

Ils possèdent de nombreuses activités biologiques qui sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels (Fuhrman et al., 1995).

Ils sont considérés comme des bons chélateurs d'ions métalliques, comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+), essentiels pour certaines fonctions physiologiques (Brown., 1998).

Ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :

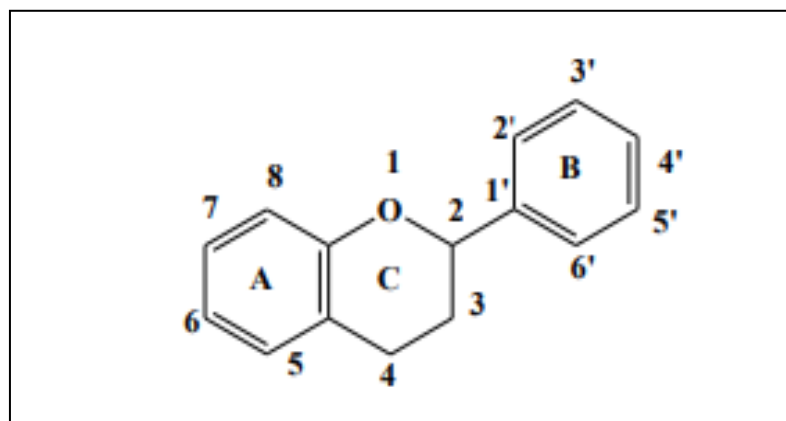
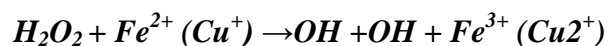


Figure 5. Structure de base des flavonoïdes (Pietta., 2000).

2.4. Classification des flavonoïdes

2.4.1. Les flavones

Les flavones sont principalement représentées dans l'alimentation par l'apigénine et la lutéoline.

Contrairement aux flavonols, elles sont moins répandues dans les fruits et les légumes. Par conséquent, leur apport alimentaire est très faible (**Fraga., 2009**).

2.4.2. Les flavonols

Les flavonols sont des composés flavonoïdes largement répandus dans le règne végétal à l'exception des algues et des champignons.

Caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C3.

Les principaux composés sont le kaempférol, la quercétine, l'isorhamnétine et la myricétine. Ils sont le plus souvent présents sous forme de glycosides, avec une molécule de glucose ou de rhamnose (**Crozier et al., 2009**).

2.4.3. Les flavanones

Les flavanones se caractérisent par l'absence de la double liaison entre les carbones C2- C3 et donc par la présence d'un centre d'asymétrie en C2. Par conséquent, le cycle B peut avoir soit la configuration (2S), soit la configuration (2R).

Cependant, la plupart des flavanones isolées des plantes est de configuration 2S parce que la réaction enzymatique catalysant la conversion de la chalcone en flavanone est stéréospécifique (**Andersen et Markham., 2006**).

2.4.4. Les isoflavones

Les isoflavones telle que la génistéine n'ont pas la structure classique en C6-C3-C6 des autres flavonoïdes, possèdent des structures peu classiques, dans lesquelles, l'anneau B est attaché à la position 3 de l'anneau C et sont moins répandus (**Ribéreau., 1968**).

Ce sont des composés presque spécifiques de la famille des Fabacées. Cette spécificité est probablement due à la présence dans cette famille de l'enzyme responsable du réarrangement du 2-phénylchromone (flavanone) au 3-phénylchromone (isoflavone) (**Chaouch., 2014**).

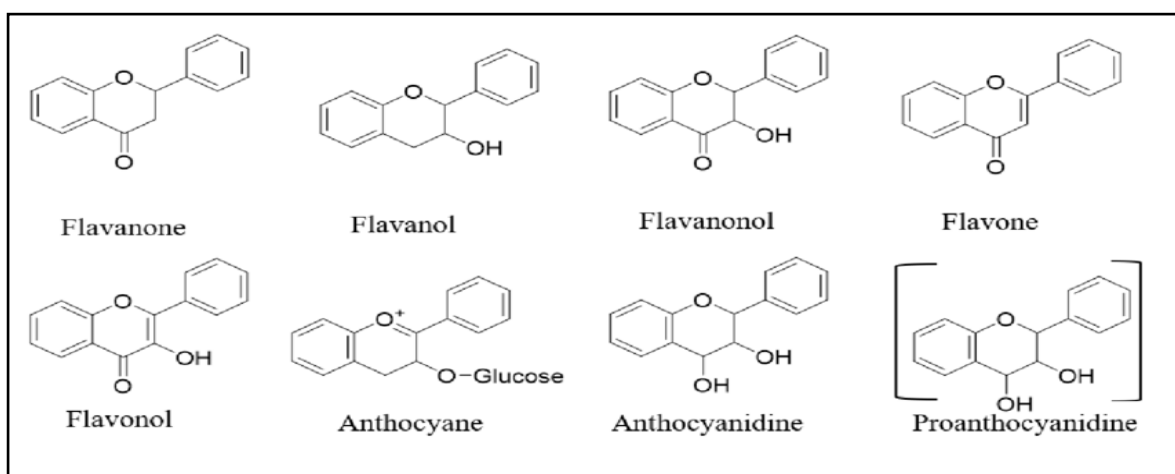


Figure 6. Structures de base des différents flavonoïdes inspiré de (**Santos et al., 2017**).

2.4.5. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes qui portent une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle central C. Ce sont des composés responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violette et bleue observées dans la nature.

Les anthocyanes interviennent directement dans les interactions plantes-animaux et surtout dans l'attraction des pollinisateurs par la couleur des fleurs (**Buchanan et al., 2000**).

Plus de 500 composés anthocyanidines sont connus selon le degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle B. Les composés les plus courants sont la pélargonidine, la cyanidine et la malvidine (**Tsao., 2010**).

2.4.6. Tanins condensés

Les proanthocyanidines, également connues sous le nom de tanins condensés, sont des dimères, des oligomères et des polymères de catéchine qui sont liés entre eux par des liaisons : structures et propriétés 11 entre C4 et C8 (ou C6). Grâce à la formation de complexes avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables du caractère astringent des fruits et des boissons.

Ils diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucres dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Manach et al., 2004).

Les polymères de ces tanins se forment sous l'action d'acides ou d'enzymes, ils sont constitués généralement de 2 à 50 unités monomériques (Vermeris et Nicholson., 2006).

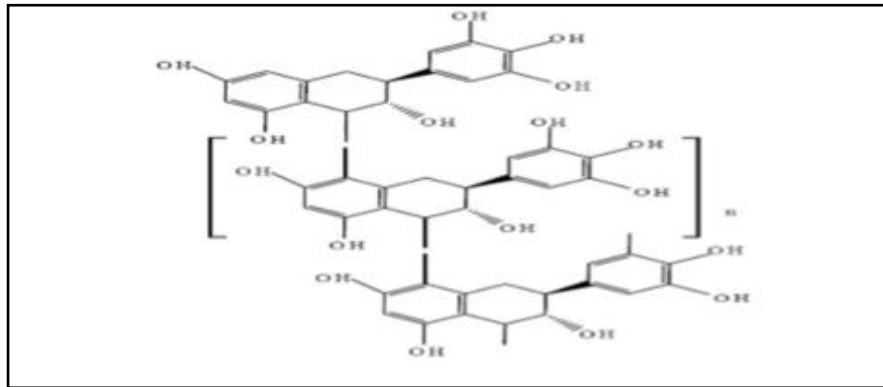


Figure 7. Structure d'un tanin condensé (Macheix et al., 2006).

2.4.7. Tanins hydrosoluble

Les tannins hydrolysables sont des esters d'un sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique.

Les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique dans le cas des gallotannins et l'acide ellagique dans le cas des ellagitannins (Zimmer et Cordesse., 1996; Derbel et Ghedira., 2005).

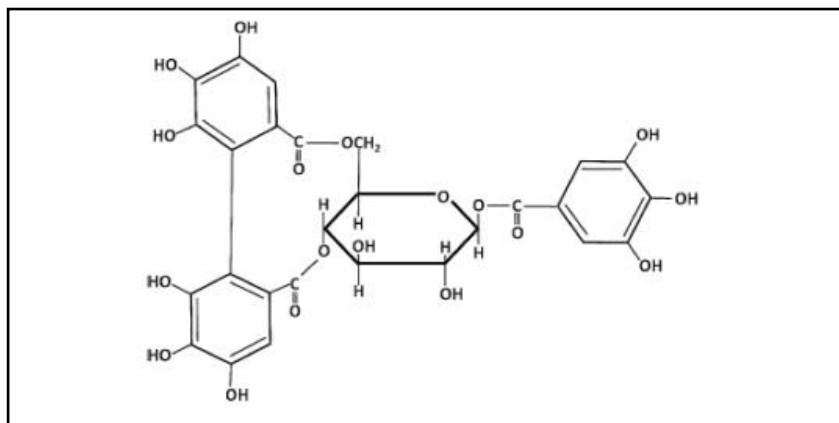


Figure 8. Structure de tanins hydrolysable (1-O-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenyl β -D-glucose (OG β DG) (Arbenz et al., 2015).

2.5. Propriétés biologiques des polyphénols

2.5.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances qui à faible concentration, préviennent ou retardent significativement l'oxydation d'un substrat (**Halliwell., 1990**).

Un nouveau concept plus général a défini les antioxydants comme "une substance qui retarde, empêche ou élimine les dommages oxydatifs à une molécule cible" (**Gutteridge et Mitchell., 1999**).

Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé, susceptible d'éliminer les radicaux libres et chélater les métaux redox à des niveaux physiologiquement appropriés (**Rahman., 2007**).

Un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères (**Valko et al., 2006**):

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres;
- Chélater des ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^+) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton ;
- Interagir avec d'autres antioxydants, et dans la mesure du possible, les régénérer;
- Avoir un effet positif sur l'expression génique;
- Être rapidement absorbé;
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.

Il existe de nombreux systèmes de défense antioxydants endogènes ou exogènes, enzymatiques ou non (**Rezaie et al., 2007**).

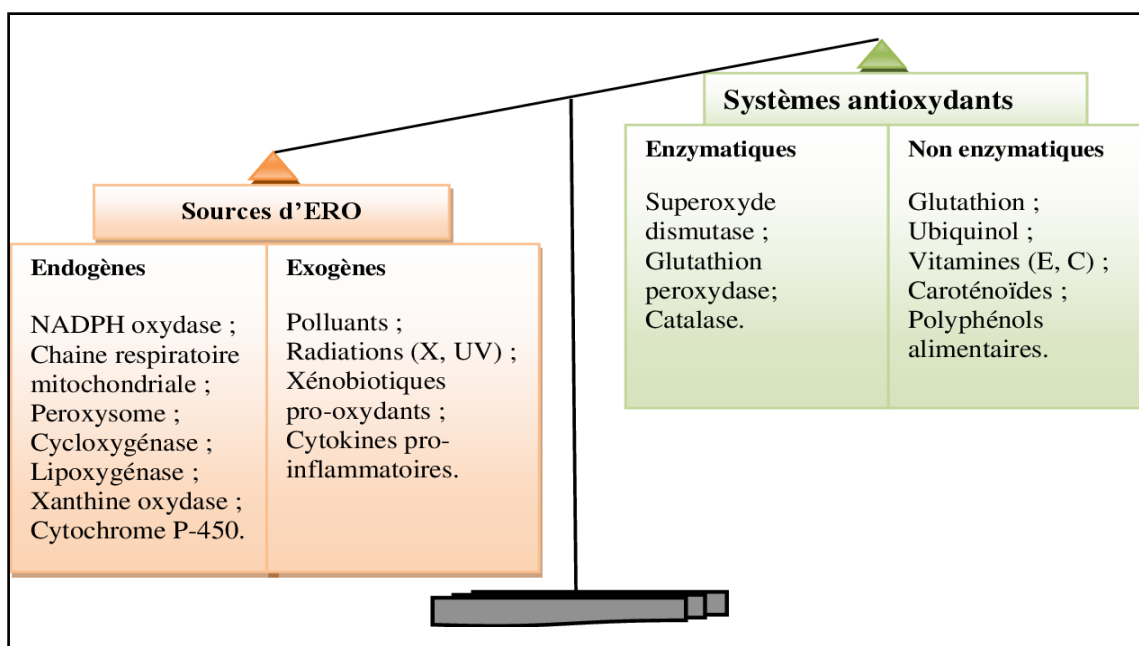


Figure 9. Déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (Nkhili., 2009).

Les composés phénoliques des feuilles d'olivier dont l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol ont montré un pouvoir antioxydant important, ils sont capables de piéger les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote ce qui permet la protection d'ADN contre les lésions (De la Puerta et al., 2001).

2.5.2. Activité antimicrobienne

Les flavonoïdes montrent une activité antimicrobienne, affectant des bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus albus*) et Gram négatif (*Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*).

De plus, de nombreuses études ont démontré l'effet antimicrobien des tanins contre divers bactéries, virus et champignons (Djenidi., 2012).

2.5.3. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés antioxydantes des polyphénols ont longtemps été considérées comme le principal mécanisme expliquant leurs effets protecteurs.

Cependant, de nombreuses études ont montré que les polyphénols et leurs métabolites agissent également comme modulateurs des voies de signalisation de l'inflammation.

Les recherches menées chez des individus en bonne santé ont démontré qu'un régime riche en fruits et légumes est inversement corrélé avec les marqueurs de l'inflammation dans le plasma, tels que la CRP et l'IL-6. De plus, la consommation d'anthocyanes a été associée à une diminution des cytokines circulantes, y compris l'IL-8, l'IL-13 et l'IFN- γ (**Belhaj et Bennamia., 2022**).

Des études *in vitro* ont également révélé que certains flavonoïdes, comme la lutéoline et l'apigénine, inhibent la production de cytokines telles que l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13.

Par ailleurs, il a été démontré que la quercétine inhibe la production de TNF- α par des macrophages stimulés par le lipopolysaccharide (LPS).

2.5.4. Activité antidiabétique

Les polyphénols possèdent des effets hypoglycémisants par divers mécanismes. Ils peuvent inhiber l'absorption du glucose au niveau intestinal (**Dembinska et al., 2008**) et faciliter son assimilation dans les tissus périphériques en inhibant la gluconéogenèse, en bloquant la stimulation adrénergique de l'absorption du glucose, ou en stimulant la libération d'insuline par les cellules β du pancréas.

2.5.5. Anti-cancéreux

Parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols la prévention du cancer. De nombreuses recherches *in vitro* et *in vivo* ont démontré que les polyphénols pourraient servir d'agents préventifs contre divers cancers (**Stagos et al., 2012**). Plusieurs études ont révélé que les cancers du sein, de la prostate et du système digestif sont fortement influencés par l'alimentation, notamment par l'apport en lipides et en antioxydants. L'huile d'origan, riche en polyphénols, pourrait contribuer à la prévention de certains cancers comme celui de la prostate (**Bennani et al., 2009**).

Les polyphénols ont la capacité d'interrompre ou d'inverser le processus de cancérogenèse en agissant sur les molécules des réseaux de signalisation intracellulaires impliquées dans l'initiation et la promotion du cancer, stoppant ou inversant ainsi la phase de progression du cancer. Les polyphénols peuvent également induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses en modulant plusieurs éléments clés du signal cellulaire (**Link et al., 2010**).

2.5.6. Polyphénols et maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives, telles que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, posent un problème croissant en raison du vieillissement de la population. La prévalence de ces maladies augmente avec l'âge et elles semblent être déclenchées par divers facteurs, notamment la neuro-inflammation, le stress oxydatif, l'excès de fer et la diminution des antioxydants endogènes. Une consommation régulière d'aliments riches en flavonoïdes a été associée à une réduction de 50 % du risque de démence, au maintien des performances cognitives, à un retard dans l'apparition de la maladie d'Alzheimer et à une diminution du risque de développer la maladie de Parkinson. Les flavonoïdes et les polyphénols protègent le cerveau en préservant les neurones vulnérables, en renforçant la fonction neuronale et en stimulant la régénération neuronale (**Vauzour et al., 2010**). Et aussi les polyphénols stimulent la fonction neuronale et le flux sanguin, et favorisent la neurogenèse (**Lenoir., 2011**).

2.5.7. Maladies cardiovasculaire

Plusieurs études épidémiologiques ont observé une relation inverse entre la consommation de polyphénols et le risque de maladies cardiovasculaires.

Ces composés sont bénéfiques pour les artères car ils protègent les lipoprotéines de faible densité (LDL) de l'oxydation réduisant ainsi le risque d'athérosclérose (épaississement des artères pouvant entraîner une diminution du flux sanguin et des complications tissulaires) (**Laraba et al., 2016**).

De plus, ils ont un effet inhibiteur sur l'agrégation plaquettaire, réduisant ainsi le risque de thrombose, un facteur majeur d'obstruction artérielle.

En agissant à la fois sur l'athérosclérose et la thrombose, les polyphénols contribuent à réduire les risques d'infarctus du myocarde (**Akroum., 2010**).

CHAPITRE II
MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est l'olivier (*Olea Europaea L*) a été achetée d'un herboriste en 2019 situé au niveau de la Wilaya de Constantine.

2. Méthodes expérimentales

2.1. Préparation d'extrait

➤ Extrait hydro-méthanolique

L'extraction au méthanol est effectuée par macération. Une quantité de (100 g) ont été macérées, trois fois pendant 48 h avec du méthanol-eau avec les proportions (70: 30), le macérât obtenu est filtré puis concentré à sec sous pression (jusqu'à 35 °C) à l'aide d'un évaporateur rotatif.

2.2. Dosage des composés

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi., 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque à 96 puits, décrite par (Muller et al., 2010).

Son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

Le réactif de Folin-Ciocalteu, un acide jaune, est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

Il forme un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène (w_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) lors de l'oxydation des phénols, avec une absorption maximale autour de 765 nm.

La coloration produite est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques dans les extraits végétaux.

La quantification des polyphénols totaux est effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax$) avec de l'acide gallique comme standard (**Bouchouka., 2016**).

➤ Protocole

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait de l'espèce *Olea europaea L* a été réalisé par la méthode de dosage sur microplaque à 96 puits de Folin-ciocalteu (FCR).

Un volume de 20 μ l d'extrait (4 mg d'extrait dissoute dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 μ l de FCR (10 fois dilué), ensuite un volume de 75 μ l de carbonate de sodium (7,5%) Na_2CO_3 est additionné, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (25-200 μ g/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage.

Les résultats sont ainsi exprimés en μ g d'équivalent d'acide gallique par 1g poids sec de l'extrait (μ g GAE/mg d'extrait). Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

2.3.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux, L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits d'*Olea europaea L* a été réalisée selon la méthode décrite par (**Rezzaghi., 2012**).

La teneur en flavonoïde, présent dans l'extrait, a été évaluée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), en utilisant la quercétine comme standard, Il en résulte la formation de complexes jaunâtres avec les atomes, d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

➤ Protocole

L'activité biologique mesurée est le contenu total en flavonoïdes (TFC), basée sur la réaction de formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes.

La méthode utilisée de (Topçu et al., 2007) avec quelques modifications, est adaptée pour une détermination sur une microplaque 96 puits. Un lecteur de microplaque (Perkin Elmer, Enspire) est utilisé pour mesurer l'absorbance.

Les réactifs comprennent le méthanol, l'eau distillée, du nitrate d'aluminium à 10% ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), du potassium acétate à 1 M (CH_3COOK), du quercétine (flavonoïde), et l'extrait des feuilles d'olivier *Olea europaea L.*

Pour l'analyse d'extrait de la plante et la préparation des étalons de quercétine.

➤ Pour l'extrait de plante

Préparer un blanc échantillon en mélangeant 50 μl de l'extrait des feuilles d'olivier (S2), 130 μl de méthanol (MeOH), 10 μl de solution S1 (CH_3COOK), et 10 μl de solution S2 ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Remplacer les réactifs par le méthanol (50 μl d'extrait de plante + 150 μl de méthanol). Incuber pendant 40 minutes et lire l'absorbance à 415 nm.

• Activités biologiques

Les activités biologiques ont été mesurées en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits de la marque Perkin Elmer (USA) et son logiciel EnSpire, au laboratoire de Biochimie du C.R.Bt de Constantine.

2.3. Activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante de l'espèce *Olea europaea L* a été réalisée par l'utilisation de plusieurs méthodes à savoir: piégeage du radical libre DPPH, piégeage de l'ABTS, pouvoir réducteur (FRAP), réduction par la formation du complexe Fe^{+2} (phenanthroline), et réduction des nanoparticules d'argent (SNP).

La cinétique de ces activités est réalisée pour déterminer les concentrations correspondant à 50 % d'inhibition (IC_{50}). Une valeur d ' IC_{50} plus basse correspond à une efficacité plus élevée de l'extrait. L ' IC_{50} est exprimée en $\mu\text{g}/\text{ml}$, basée sur trois répétitions pour chaque concentration testée.

• L' IC_{50} (concentration inhibitrice médiane)

➤ **Concentration inhibitrice médiane:** Est une mesure de la puissance d'un inhibiteur pour bloquer une activité biologique ou biochimique spécifique.

Elle représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour inhiber 50% de l'activité cible.

L'IC50 est une valeur quantitative fréquemment utilisée pour comparer l'efficacité de différents inhibiteurs ciblant la même fonction biologique (**Dupont., 2010**).

2.3.1. Test de DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

➤ Principe

La méthode du radical de DPPH, utilisée dans cette étude, est une approche courante où l'activité antioxydante de l'échantillon est évaluée par la diminution de la couleur de la solution de DPPH.

Lorsque le DPPH réagit avec une substance pouvant fournir un atome d'hydrogène, il se réduit, perdant sa couleur violette. La réduction est proportionnelle au nombre de protons captésconduit à l'apparition d'une couleur jaunâtre, mesurable par l'absorbance à 517 nm, offrant ainsi une évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait étudié (**Gulçin et al., 2010**) (**Figure 10**).

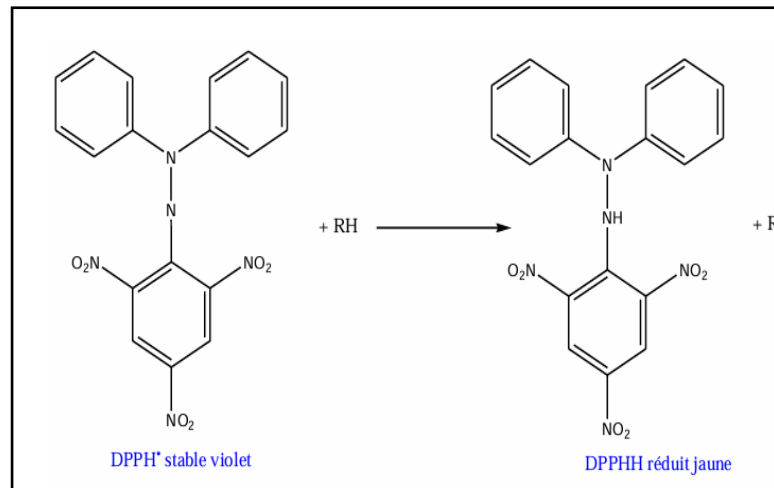


Figure10. Transformation du radical DPPH• en DPPHH

➤ Protocole

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par (**Blois., 1958**). Une quantité de 4 mg de DPPH a été dissoute dans un volume de 100 ml méthanol et mélangé pendant 30 min à l'abri de la lumière. Sur une microplaque à 96 puits, une solution de 160 µl du DPPH a été mélangé avec 40 µl de l'extrait le mélange a été maintenu à une température ambiante pendant

20 min. l'absorbance est mesurée à 517 nm. BHA, BHT, alpha tocopherol utilisé comme standard.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont déterminés selon la formule suivante: Pourcentage d'inhibition du DPPH (%) = $[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$

Abs: Absorbance à la longueur d'onde de 517nm.

2.3.2. Test de l'ABTS (l'acide 2, 2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6 sulphonique)

➤ Principe

Ce teste est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2, 2' – azino bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu verdâtre.

Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄) et le 2, 2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH).

Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : au cours de la première étape le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron e⁻ à un atome d'azote de l'ABTS.

La deuxième se déroule en présence d'antioxydant donneur de H[•], le radical d'azote concerné piège un H[•], conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraine la décoloration de la solution (Ghnimi., 2015) (Figure 11).

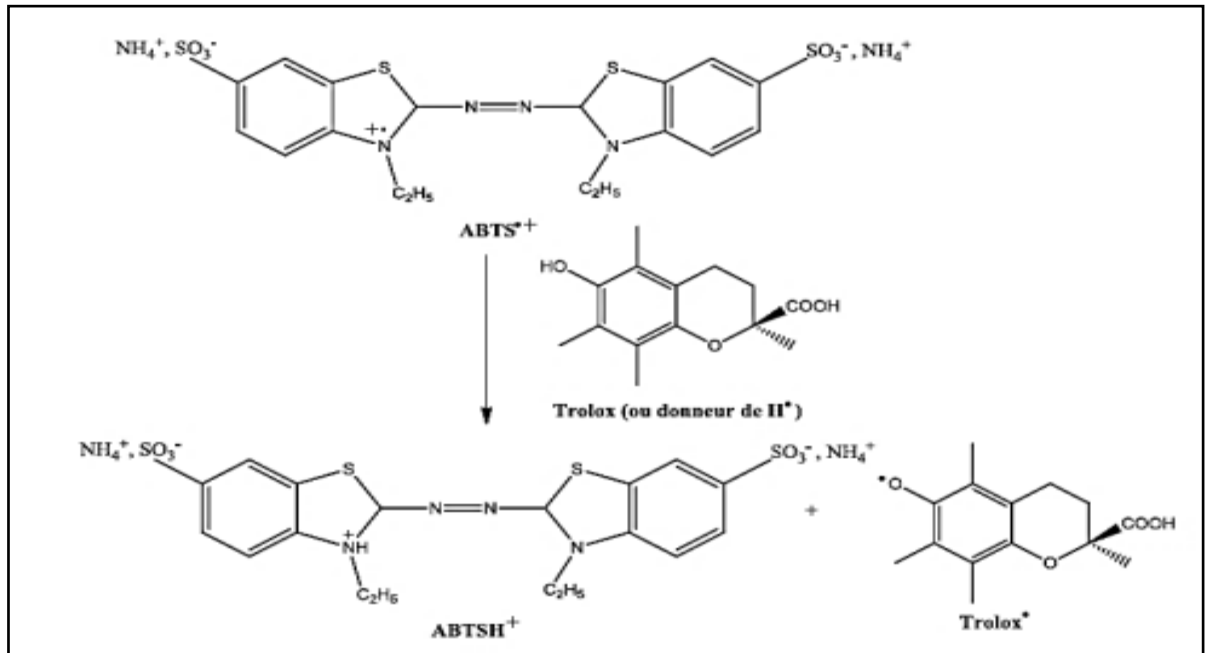


Figure 11. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (Techer., 2013).

➤ Protocole

L'activité antioxydante a été déterminée par le test ABTS selon la méthode modifiée de (Re et al., 1999).

Dissoudre 19,2 mg (7 mM) d'ABTS et 5 mg de persulfate de potassium (K₂S₂O₈) dans 10 ml d'eau distillée, après en Mélangeant soigneusement la solution et la laisser reposer à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures.

Après incubation, en ajustant l'absorbance de la solution obtenue à $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm en utilisant de méthanol ou de l'eau distillée.

On a Préparé 160 µl de réactif ABTS dilué et 40 µl d'extrait d'*Olea europaea L.* Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 734 nm.

2.3.3. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

➤ Principe

Comme son nom l'indique, cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton.

Cette technique a été développée pour mesurer la capacité d'extrait testé à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) à un pH de 6,6 pour maintenir la solubilité du fer. En d'autres termes, ce test permet de définir la capacité d'un antioxydant à inhiber l'initiation des réactions radicalaires par les ions métalliques (Techer., 2013).

Les valeurs sont obtenues par comparaison de l'absorbance à 700 nm du mélange réactionnel contenant l'échantillon à tester avec celle d'un mélange réactionnel contenant une concentration connue en Fe^{2+} (Benzie et Strain., 1996). Ce test nous servira à évaluer l'activité anti-oxydante des composés purs uniquement.

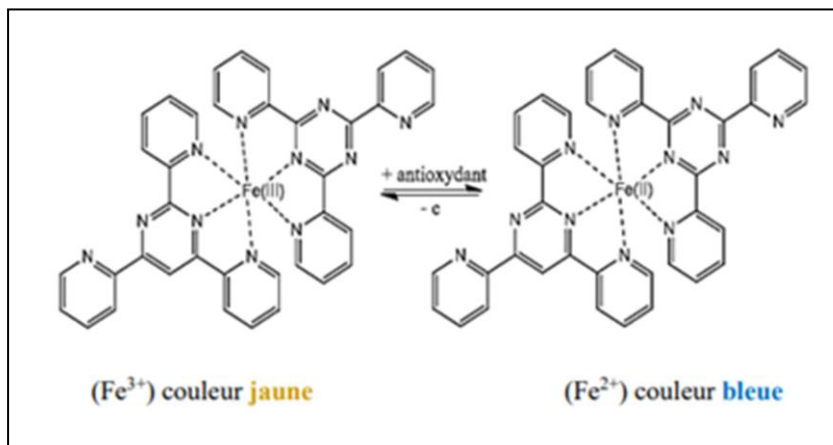


Figure 12. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP (Techer., 2013).

➤ Protocole

La méthode de (Oyaizu., 1986) évalue l'activité réductrice d'échantillon de *Olea europaea L* mesurant sa capacité à réduire le ferricyanure (Fe^{3+}) en ferrocyanure (Fe^{2+}).

La quantité de ferrocyanure formé est ensuite complexée avec le chlorure de fer (FeCl_3), produisant un complexe bleu d'intensité proportionnelle à l'activité réductrice de l'échantillon. L'absorbance de ce complexe bleu est mesurée à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque.

Dans un puits de microplaque, en ajoutant 10 μl d'extrait d'*olea europaea* Ensuite, Ajouter 40 μl de tampon phosphate buffer (pH 6,6), puis ajouter 50 μl de ferricyanide de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Incuber le mélange réactionnel à 50°C pendant 20 minutes.

Pour arrêter la réaction et développer le bleu de Prusse, ajouter 50 μl d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, 40 μl d'eau distillée, et 10 μl de chlorure de fer (FeCl_3) à 0,1%.

Mélanger soigneusement le mélange réactionnel, puis laisser reposer pendant 10 minutes à température ambiante. Enfin, lire l'absorbance du mélange à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

2.3.4. Activité de Phénanthroline

➤ Principe

La méthode de Phénanthroline consistait à réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} à l'aide d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} ainsi formé réagissait avec l'ortho-phénanthroline pour former un complexe rouge-orange (Yefrida et al., 2018).

➤ Protocole

Le test phénanthroline, basé sur la méthode de (Szydłowska et al., 2008), est adapté pour une manipulation sur une microplaque de 96 puits.

Pour cela, 10 μl d'extrait sont mélangés avec 50 μl de FeCl_3 (0,2%) et 30 μl de phénanthroline (0,5%), suivis de l'ajout de 110 μl de méthanol.

Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 20 minutes à 30°C, puis la lecture est effectuée à 510 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards.

2.3.5. Activité Nanoparticules d'argent (SNP)

➤ Principe

Une méthode colorimétrique sensible basée sur la réduction d' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphériques (SNP) (**figure 13**) par les polyphénols en présence de citrate trisodique et de grains d'argent a produit une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface très intense des SNP à 423 nm.

L'absorption plasmonique des SNP permet la détection spectrophotométrie quantitative des polyphénols (**Özyürek et al., 2012**).

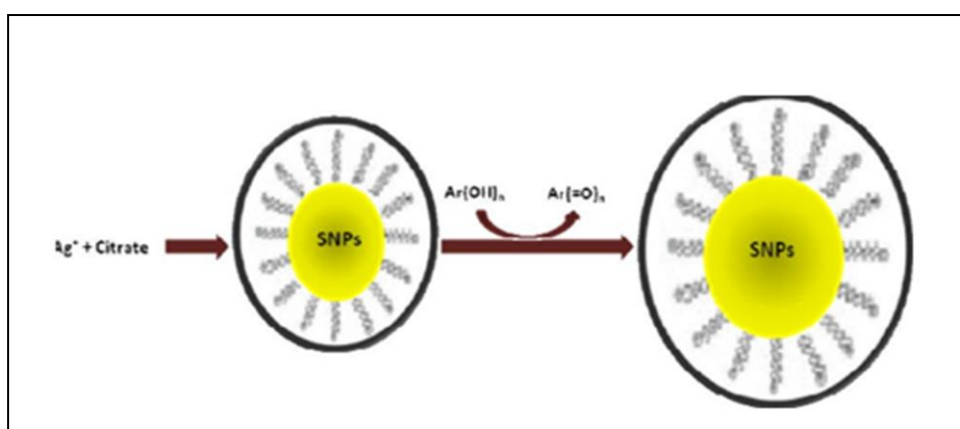


Figure 13. Réduction d' Ag^+ en nanoparticules (SNP)

La méthode de Mustafa (**Özyürek et al., 2012**) permet d'évaluer l'activité chélatrice des métaux d'un échantillon en mesurant sa capacité à réduire l'ion argent (Ag^+) en nanoparticules d'argent sphériques (Ag^0).

Les chélateurs, également appelés agents complexants, ont la capacité de se lier aux ions métalliques et de les rendre indisponibles pour d'autres réactions.

La formation de nanoparticules d'argent est un indicateur visuel de la capacité chélatrice de l'échantillon.

➤ Protocole

Un volume de 20 µl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 130 µl d'une solution SNP, et 50 µl d'H₂O. L'ensemble est incubé à l'étuve à 30°C pendant 20 min, La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 423 nm.

L'acide ascorbique et le trolox sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

2.4. Teste de cytotoxicité

Le test de cytotoxicité est très utile pour établir la cytotoxicité d'un extrait de plante selon la méthode de (Meyer et al., 1982), plusieurs concentrations de l'extrait hydrométhanolique des feuilles d'*Olea europaea L* ont été testées (2, 4, 8, 16 mg/g), diluées dans l'eau distillé.

Nous avons constitué cinq gobelets contenant chacun cinq larves d'artémia de poids homogène.

Le premier ne recevra rien (témoin négative), et les autres gobelets recevront par injection les différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique qui seront observés durant cinq jours pour noter les symptômes de toxicité et le taux de mortalité.

La formule utilisée pour calculer le pourcentage de mortalité est la suivante:

- **%Mortalité** = (Controle - Survivants) / Controle × 100
- **Controle** : nombre des larves dans le controle.
- **Survivants**: nombre des larves survivants dans chaque concentrations.

3. Etude Statistique

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type, (n = 3) a l'aide de l'ogiciel **Excel 2013**.

CHAPITRE III:

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination de la teneur en polyphénols et la teneur des flavonoïdes

1.1. Dosage des polyphénols

Les teneurs en polyphénols ont été calculées en se référant à la courbe d'étalonnage des polyphénols est exprimées en μg équivalent de l'acide gallique par mg de l'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

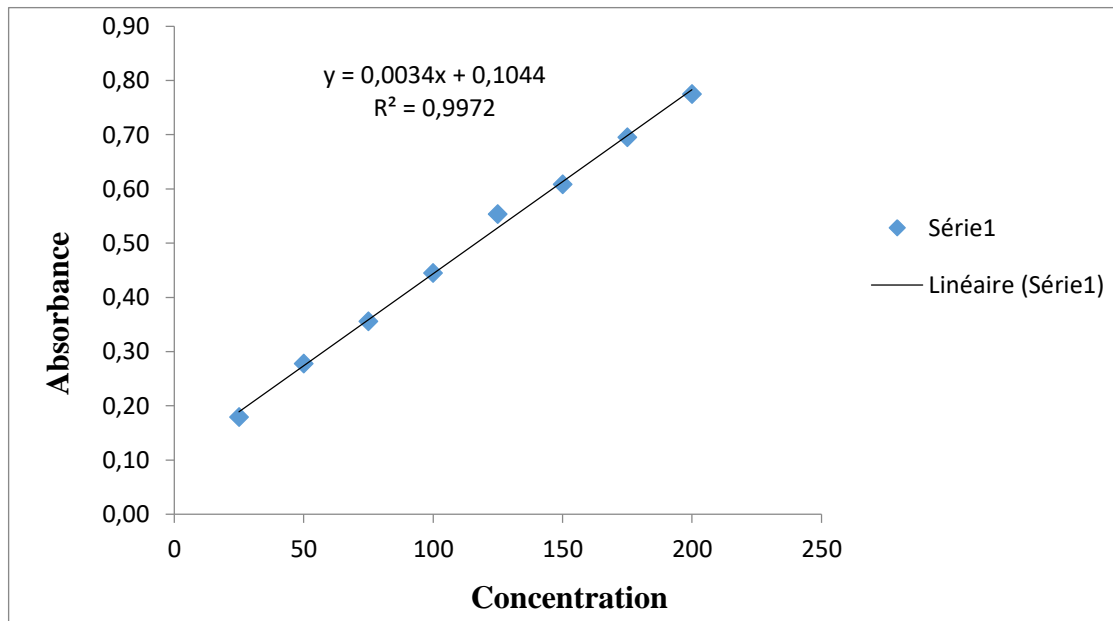


Figure 14. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique (CRBT).

➤ Les résultats sont montrés dans le tableau suivant:

Tableau 3. La teneur en composés phénoliques (Les valeurs données représentent la moyenne de trois mesures \pm ET).

	Teneur en polyphénols (μg GAE/mg d'extrait)
L'extrait hydro-méthanolique de la plante <i>Olea europaea</i> L	$314,49 \pm 22,34$

Selon les résultats présentés dans le (tableau 3), nous avons enregistré que notre extrait présente des teneurs élevées en Polyphénol ($314,49 \pm 22,34 \mu\text{g}$ GAE/mg d'extrait).

On comparant nos résultats avec d'autres travaux réalisés sur la même plante, Donc nos valeurs sont supérieures à celles enregistrées par **Madani yousfi** qui se trouve une teneur moyenne ($124,90 \pm 0,0049063$ mg EAG/g d'ES) (**Madani., 2017**), et **Lakache** estimé que l'extrait de méthanol d'*Olea europaea l* est riche en composés phénoliques (115.35 ± 2.24 mg EAG/g d'ES) (**Lakache et al., 2019**), Par contre nos résultats sont inférieures à celle enregistrées par **Acila** qui rapporte une teneur largement supérieure (388.36 ± 1.96 mg EAG/g d'ES) de la variété de Azeradj de la régions de oued souf (**Acila., 2018**).

La diversité des teneurs en polyphénols dans les feuilles d'olivier est lié aux caractéristiques génotypiques de la variété de l'olivier, aux facteurs agro-climatiques, aux conditions culturelles, le moment de la récolte, la sensibilité des méthodes d'analyse, ainsi que la durée et les conditions de conservation des feuilles récoltées (**Abdelaziz et al., 2015**).

Aussi, La concentration des composés phénoliques dans l'extrait de plante varie selon le type d'extrait, déterminé par la polarité du solvant utilisé lors de l'extraction, car la différence dans la polarité des solvants d'extraction influence la solubilité des constituants chimiques d'un échantillon ainsi que le rendement d'extraction.

C'est pourquoi le choix des solvants d'extraction est une des étapes les plus décisive pour l'obtention d'une bonne teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes ou tout autre composé, à partir d'un échantillon donné (**Sulaiman et al., 2011**).

1.2. Dosage des flavonoids

La quantité des flavonoïdes a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant la quercetine comme standard. En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercetine:

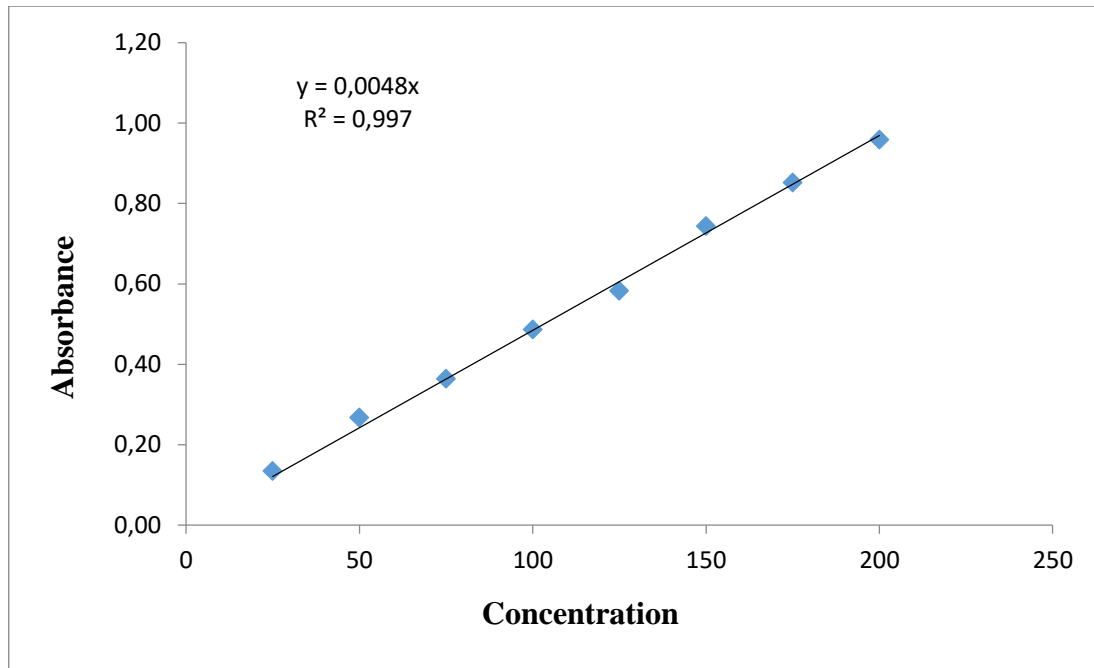


Figure 15. La courbe d'étalonnage de la quercétine (CRBT).

➤ Les résultats sont montrés dans le tableau suivant:

Tableau 4. La teneur en flavonoïdes.

	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g QE/ mg d'extract}$)
L'extrait hydro-méthanolique de la plante <i>Olea europaea</i>	96,38 \pm 1,76

Selon les résultats présentés dans le (**tableau 4**), nous avons enregistré que notre extrait présente des teneurs moyenne en flavonoïdes (96,38 \pm 1,76 $\mu\text{g QE/ mg}$).

Donc nos résultats sont proches à ceux reportés par **Madani** qui a obtenu une concentration en flavonoïdes de (98,75 g EQ/g d'extract) (**Madani., 2017**), aussi nos résultats sont largement supérieurs à ceux reportés par **Karim** et **Touati** et **Bouabdallah** qui ont obtenus des teneurs en flavonoïdes de (0,46 et 0,65 mg EQ/g d'extract), respectivement (**Karim et Touati., 2016**) et (**Bouabdallah., 2014**).

Cette déférence entre nos résultat et le résultats de (**Bouabdallah., 2014**) peu expliquer par la période de la récolte le stade de développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004**).

Les teneurs en flavonoïdes varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs : Facteurs climatiques et environnementaux

(Ebrahimi et al., 2008), Le patrimoine génétique (Miliauskas et al., 2004), et la méthode d'extraction (Lee et al., 2003).

La méthode de quantification peut également influencer l'estimation de la teneur des flavonoïdes (Lee et al., 2003).

En fait, plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, d'où vient cette divergence entre nos résultats et les résultats d'autres études, tels que la différence d'espèce, type de constituant utilisé dans l'extraction, type de solvant (Bouzid et al., 2011), aux conditions climatiques dures (température élevée, grande exposition au soleil, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires comme les polyphénols.

Des études aussi ont montré que la présence de certains produits chimiques (acide ascorbique, acides organiques, sucres, amines aromatiques) qui peuvent également réagir avec le réactif Folin – Ciocalteu (AbdGhafar et al., 2010), peuvent affecter la teneur en phénols et en flavonoïdes, du même aussi la période de la culture, et la méthode de conservation (Sharma et al., 2001).

2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante d' extrait étudié et des standards a été déterminée par cinq méthodes: DPPH et ABTS, FRAP, Phenantroline, SNP, dont l'efficacité à piéger les radicaux libre, est traduite par le taux d'inhibition (I %) en fonction de leur différentes concentrations et par l'IC50.

La valeur IC50 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'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante est grande (Villano et al., 2007).

2.1. Test de DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH, radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés anti-radicalaires.

D'après les résultats représentés dans la (**figure 16**), il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les standards (α -Tocopherol, BHA, BHT) ou pour l'extrait de la plante.

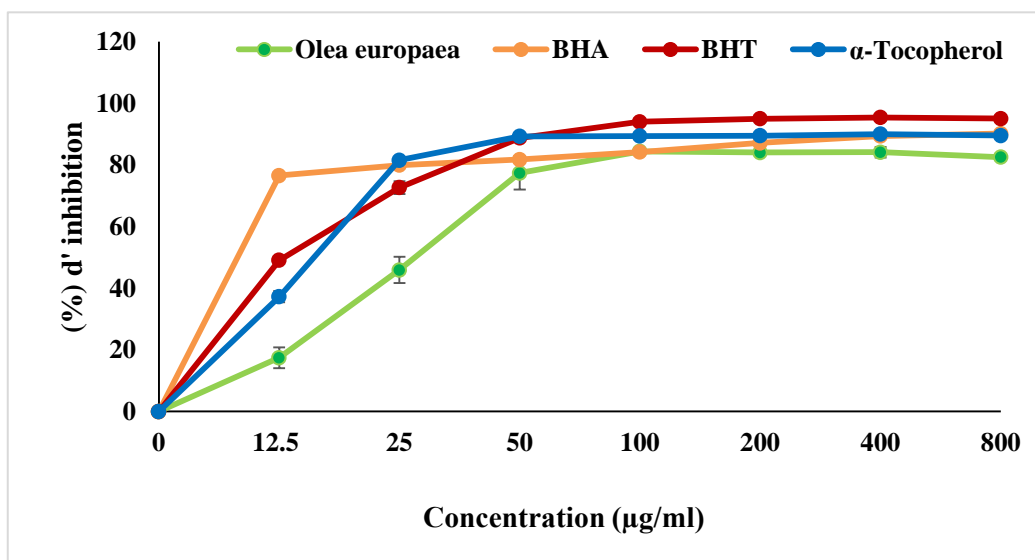


Figure 16. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH^o en fonction des différentes concentrations pour les standards (α -Tocopherol, BHA, BHT) et pour l'extrait de la plante.

Tableau 5. Inhibition du radical DPPH d'extrait *Olea europaea L.*

	IC50 \pm Ecart type ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Olea europaea</i>	31,20 \pm 1,64
α -Tocophérol	13.02 \pm 5,17
BHA	6.14 \pm 0.41
BHT	12.99 \pm 0.41

Dans ce test, on remarque que les résultats dans le (**tableau 5**) indique la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par la plante *olea europaea L* est:

IC50 (31,20 \pm 1,64 $\mu\text{g/ml}$) presque le double de standard α -tocophérol IC50 (13.02 \pm 5,17 $\mu\text{g/ml}$) et BHT IC50 (12.99 \pm 0.41 $\mu\text{g/ml}$), et cinq fois plus grand que BHA IC50 (6.14 \pm 0.41 $\mu\text{g/ml}$).

D'après les résultats de la technique du piégeage du radical libre DPPH, montre que notre plante possède une activité anti radicalaire moyenne avec IC50 (31,20 \pm 1,64 $\mu\text{g/ml}$),

Ces résultats sont supérieures à ceux obtenus par *Acila* qui rapporte une forte activité anti radicalaire avec IC₅₀ (26,57 ± 1,008 mg/g) (Acila., 2018). Donc en Remarque que notre plante possède une activité anti radicalaire moyenne.

2.2. Test ABTS (l'acide 2, 2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6 sulphonique)

Dans ce test, l'antioxydant réagit avec l'ABTS^{•+} de couleur bleu/vert par transfert d'électrons pour redonner l'ABTSH^{•+} incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice de l'extrait d'*Olea europaea l* en comparaison avec le standard BHA et BHT.

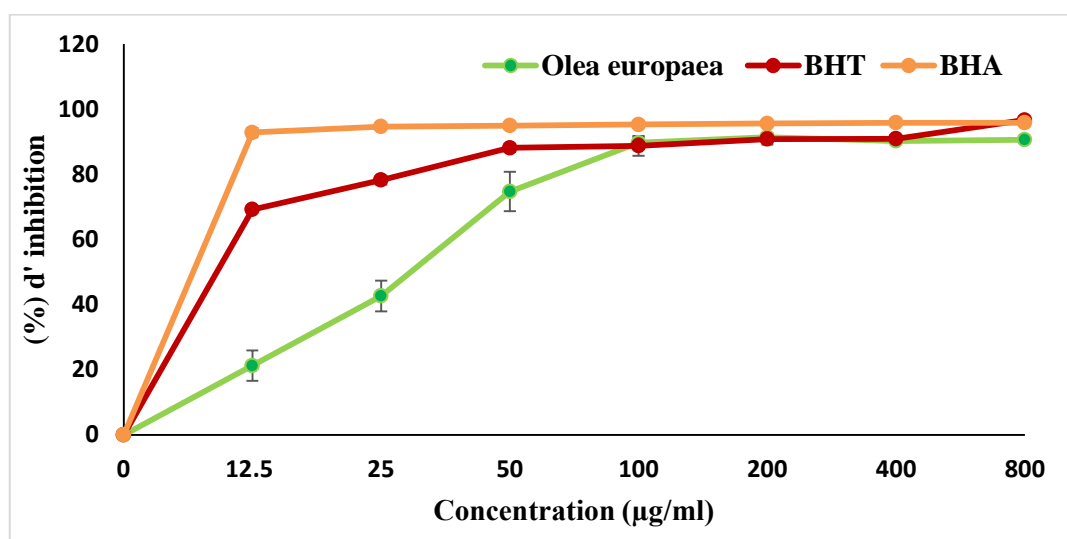


Figure 17. Le pourcentage de la concentration inhibitrice du radical ABTS^{•+} en fonction des différentes concentrations de standards BHA, BHT et pour l'extrait de la plante.

Tableau 6. Les Valeurs d'IC₅₀ de l'activité ABTS d'extrait *Olea europaea L*.

	IC ₅₀ ± Ecart type (µg /ml)
<i>Olea europaea</i>	31,94 ± 4,25
BHA	1,81±0,10
BHT	1,29±0,30

Les résultats sont exprimés en termes d'IC₅₀ représentant la concentration nécessaire pour diminuer la concentration initiale du radical ABTS^{•+} de 50% et la plus petite valeur d'IC₅₀ correspond à la plus grande activité anti radicalaire.

L'extrait d'*Olea europaea L.* présente une activité anti radicalaire largement supérieure ($31,94 \pm 4,25 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux antioxydants synthétiques BHT ($1,29 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$) et BHA ($1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$), indiquant une capacité moindre à neutraliser les radicaux libres comparativement à ces composés.

Une étude de l'activité antioxydante sur les extraits d'*Olea europaea L.* récoltée au Brésil réalisé par la méthode du piégeage du radical ABTS a montré une valeur d'IC50 égale à ($16,1 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$) (Lins et al., 2018), ce résultat est inférieure aux résultats obtenus.

Nous constatons donc que nos échantillons sont moins efficaces que celle de (Lins et al., 2018), et cela est probablement lié à la différence dans la composition chimique ou à des facteurs saisonniers.

Les extraits de feuilles d'olivier (*Olea europaea L.*) sont connus pour leur capacité à prévenir les dommages oxydatifs dans le système biologique en raison de leur forte capacité à piéger les espèces d'oxygène, comme les radicaux hydroxyls (Hayes et al., 2011).

La forte activité antioxydante des feuilles d'olivier peut être attribuée à leur contenu élevé en polyphénols totaux. En effet, les polyphénols ont été signalés comme étant l'un des constituants antioxydants les plus efficaces dans la plante (Velioglu et al., 1998).

Les polyphénols semblent être d'efficaces donateurs d'atome d'hydrogène pour les radicaux DPPH et ABTS en raison de leurs structures chimiques idéales (Turkmen et al., 2007).

En outre, l'efficacité antioxydante peut être liée à la concentration accrue d'oleuropéine dans les feuilles d'olivier, et la capacité anti-radicalaire de cette substance pourrait découler de la présence de groupes hydroxyle dans sa composition chimique (Ben Salah., 2012; Hassen et al., 2015).

Il est important de ne pas négliger les autres composés phénoliques mineurs, car la synergie entre ces différents produits chimiques doit être prise en compte dans leur activité biologique (Bourgou et al., 2008).

2.3. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test au ferricyanure de potassium est une méthode colorimétrique simple et rapide pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Le principe repose sur la capacité d'un antioxydant à réduire le ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}).

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 Fe^{3+} de complexe ferricyanide (couleur jaune) en fer ferreux (couleur bleu verdâtre), dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Gulcin et al., 2007).

L'intensité de la couleur bleue, mesurée par l'absorbance à 594 nm, est proportionnelle à la quantité de ferricyanure réduit et donc à l'activité antioxydante de l'échantillon.

En mesurant Les valeurs de $A_{0,5}$ et par comparaison avec les standards acide ascorbique et α -Tocophérol, le test nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

Tableau 7. Absorbance du pouvoir réducteur d'extrait *olea europaea L.*

	$A_{0,5} \pm \text{Ecart type } (\mu\text{g/ml})$
<i>Olea europaea</i>	$43,77 \pm 2,16$
α -Tocophérol	$34,93 \pm 2,38$
Acide ascorbique	$6,77 \pm 1,15$

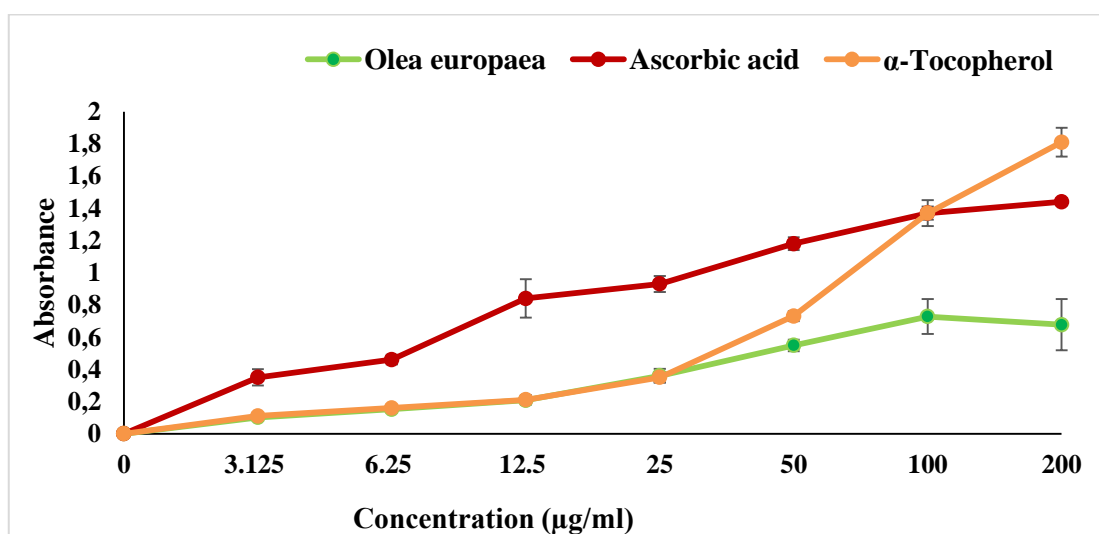


Figure 18. les valeurs des $A_{0,5}$ du test pouvoir réducteur.

Les résultats de l'activité antioxydante d'extrait des feuilles d'olivier évaluée par le test de potentiel réducteur (FRAP) révèlent que notre extrait *Olea europaea l* affiche un potentiel antioxydant notable.

Notre extrait d'*Olea europaea L* affiche une valeur d'A0,5 ($43,77 \pm 2,16 \mu\text{g/ml}$) supérieure à celle de l'acide ascorbique ($6,77 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$), ce qui signifie que l'extrait est moins puissant que l'acide ascorbique car l'acide ascorbique est capable de réduire les radicaux libres à une concentration beaucoup plus faible que l'extrait de feuilles d'olivier.

Il est important de considérer le contexte de la méthode de test et notre extrait pourrait avoir une activité antioxydante plus adaptée à un environnement spécifique que la vitamine C, mais la valeur est proche à celle de l' α -tocophérol ($34,93 \pm 2,38 \mu\text{g/ml}$), la proximité des valeurs suggère que l'extrait possède un pouvoir réducteur comparable à celui de l' α -tocophérol dans le contexte de cette méthode de test.

L'acide ascorbique, en tant que composé pur, présente une capacité de réduction très élevée, ce qui explique sa performance supérieure en tant qu'antioxydant. À l'inverse, l'extrait de feuilles d'olivier est un mélange complexe de divers composés, dont certains peuvent avoir une activité antioxydante moins forte ou différente de manière synergique. La proximité des valeurs entre l'extrait d'*Olea europaea l* et l' α -tocophérol indique que les composés phénoliques de l'extrait ont une efficacité antioxydante similaire à celle de l' α -tocophérol, ce qui peut être attribué à la présence de flavonoïdes et d'autres polyphénols dans l'extrait.

Comparé à l'étude (Beyoud et Zidani., 2021), notre extrait montre un pouvoir réducteur largement supérieur aux extraits de cette étude par exemple : l'extrait méthanolique de la plante *Olea europaea l* de la wilaya de Béjaïa ($A0,5 = 98,27 \pm 0,47 \mu\text{g/ml}$), et de la wilaya de Constantine ($A0,5 = 163,21 \pm 0,62 \mu\text{g/ml}$), ($A0,5 = 198,38 \pm 3,79 \mu\text{g/ml}$) et de la wilaya de Batna ($A0,5 > 200 \mu\text{g/ml}$).

Cela suggère que notre méthode d'extraction et la période de la récolte ou la source des feuilles d'olivier pourrait avoir permis de concentrer des composés antioxydants plus puissants.

2.4. Test de phénanthroline

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe rouge-orangé Fe^{+2} -phénanthroline est formé. La réduction est déterminée par la mesure des valeurs de $A_{0,5}$ des extraits d'*Olea europaea*, ainsi que celles des standards BHA et BHT, donnant les résultats suivants:

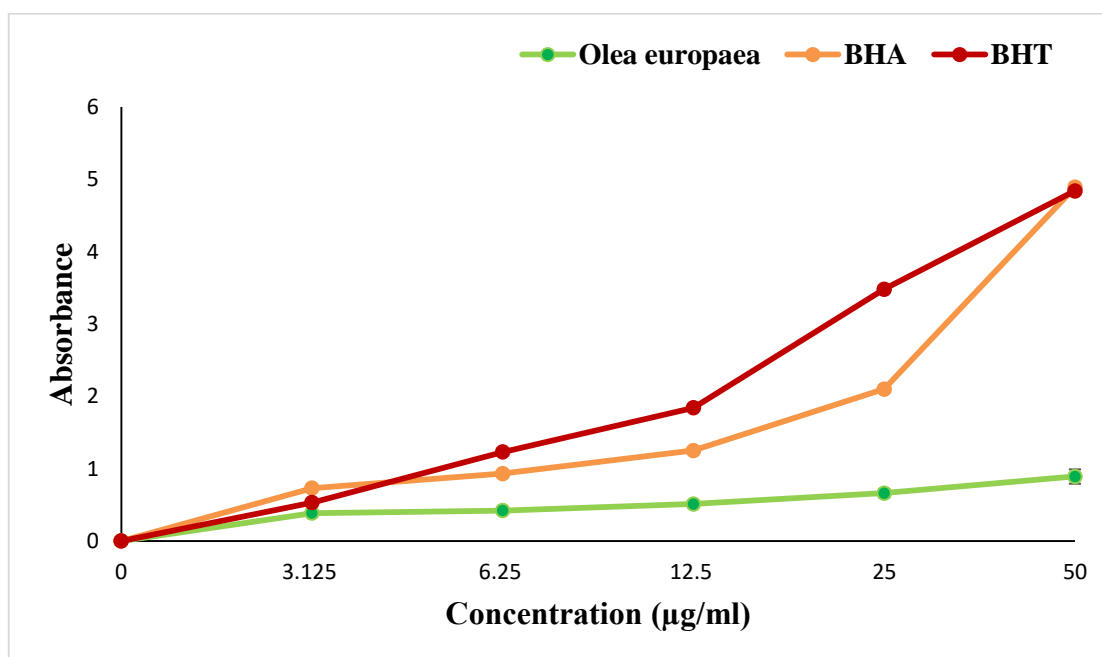


Figure 19. Les valeurs des $A_{0,5}$ du test Fe^{2+} -phénanthroline

Tableau 8. Absorbance du complexe Fe^{+2} phénanthroline d'extrait *olea europaea L.*

	$A_{0,5} \pm \text{Ecart type } (\mu\text{g /ml})$
<i>Olea europaea</i>	$11,40 \pm 1,40$
BHA	$0,93 \pm 0,07$
BHT	$2,24 \pm 0,17$

A partir du (Tableau 8) et la (Figure 19), on peut déduire que l'extrait d'*Olea europaea L* possède un pouvoir réducteur important.

Les résultats obtenus montrent que la capacité d'extrait de réduire le Fer est largement inférieure $A_{0,5}$ ($11,40 \pm 1,40 \mu\text{g/ml}$) à celle de les standards BHA et BHT $A_{0,5}$ ($0,93 \pm 0,07 \mu\text{g /ml}$) et $A_{0,5}$ ($2,24 \pm 0,17 \mu\text{g /ml}$) respectivement.

Notre résultats est a un pouvoir réducteur largement supérieure $A_{0,5}$ ($11,40 \pm 1,40 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux résultats de l'étude de Beyoud sur les feuilles de l'espèce *Olea europaea* L récoltées dans différentes régions d'Algérie (Constantine en 2019, Batna en 2018, Béjaia en 2019) entre $A_{0,5} > 15 \mu\text{g/ml}$ et $A_{0,5} < 200 \mu\text{g/ml}$ (Beyoud et Zidani., 2021).

Pour le test phénanthroline, on a pas trouvés des références mais d'après les résultats on peut dire que les valeurs enregistrés sont modérées, donc une meilleur activité antioxydante de notre extrait hydrométhanolique par rapport au résultat de Beyoud (Beyoud et Zidani., 2021).

La variation dans le pouvoir réducteur par rapport au complexe Fe^{2+} phénanthroline est attribuable à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants, qui dépendent du degré d'hydroxylation et de la conjugaison des composés phénoliques Ceci est particulièrement pertinent pour les flavonoids (Beyoud et Zidani., 2021).

2.5. Test nanoparticule d'argents (SNP)

Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport a l'acide ascorbique et le Trolox.

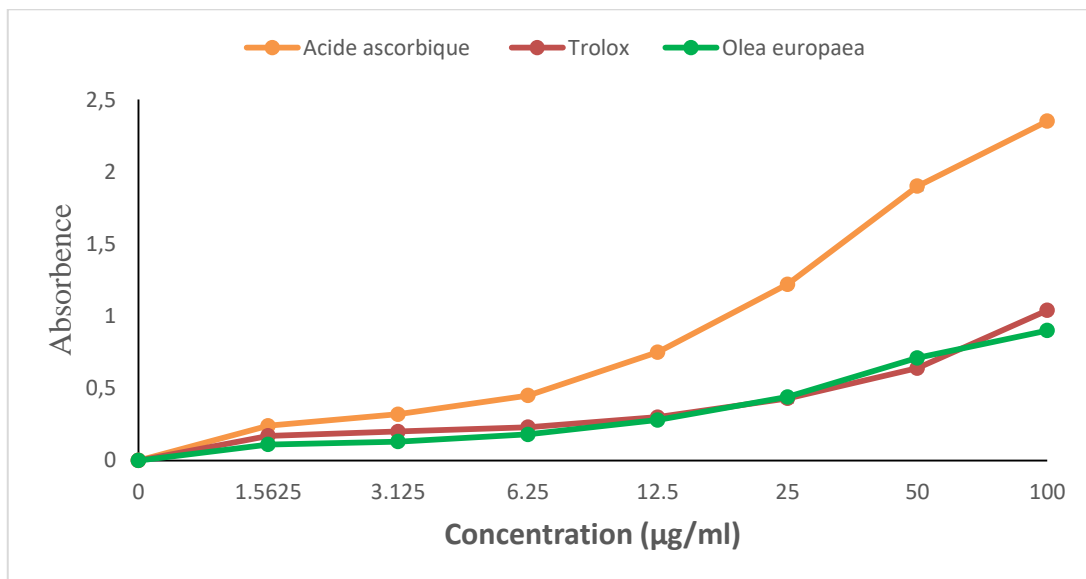


Figure 20. Valeurs des $A_{0,5}$ du test nanoparticule (SNP) pour l'extraits d'*Olea europaea* L.

Tbleau 9. Absorbance de la nanoparticule d'argent par l'extrait d'*Olea europaea L.*

	$A_{0,5} \pm \text{Ecart type } (\mu\text{g/ml})$
<i>Olea europaea</i>	62,65±3,99
Acide ascorbique	7.14±0.05
Trolox	34.17±1.23

Les résultats obtenus montrent que notre extrait a présenté une faible activité avec une valeur d' $A_{0,5}$ de $62,65 \pm 3,99 \mu\text{g/ml}$ par rapport à l'acide ascorbique et au Trolox.

Notre extrait est plus faible que le Trolox, dont la valeur d' $A_{0,5}$ est de $34,17 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$, ce qui signifie que notre extrait a une puissance réductrice inférieure à celle du Trolox. De plus, il est également plus faible que l'acide ascorbique, dont la valeur d' $A_{0,5}$ est de $7,14 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$, ce qui indique que notre extrait est beaucoup moins puissant dans ce test spécifique.

Bien que notre extrait d'*Olea europaea L* présente une activité antioxydante inférieure à celle de l'acide ascorbique et du Trolox dans ce test spécifique, il montre une puissance réductrice notable. La valeur d' $A_{0,5}$ de $62,65 \pm 3,99 \mu\text{g/ml}$ indique une bonne capacité à neutraliser les radicaux libres, même si elle n'est pas aussi élevée que les standards de référence.

Comparé à l'étude de (Beyoud et Zidani., 2021), notre extrait a une activité largement Supérieur, a celles de la wilaya de Batna $A_{0,5}$ ($191.67 \pm 1.74 \mu\text{g/ml}$), et de Constantine $A_{0,5}$ ($197 \pm 2.23 \mu\text{g/ml}$), et de Batna $A_{0,5}$ ($252.44 \pm 7.31 \mu\text{g/ml}$), et de Bejaia $A_{0,5}$ ($267.92 \pm 3.74 \mu\text{g/ml}$), ont montré le pouvoir réducteur le plus faible par rapport au notre extrait.

En effet, la formation des nanoparticules pourrait être due à la présence des polyphénols dans les extraits du fait que l'extrait de l'espèce *Olea europaea L* est très riche en polyphénols. Sa supériorité par rapport aux autres extraits étudiés indique qu'il pourrait avoir des applications intéressantes dans des contextes où des mélanges complexes de composés bioactifs sont bénéfiques, comme dans les formulations de compléments alimentaires, les produits cosmétiques ou les applications pharmaceutiques.

3. Test de cytotoxicité

Les résultats obtenus ne montrent aucun symptôme de toxicité et aucune mortalité chez les larves d'artémia ayant reçu par injection l'extrait hydro-méthanolique des feuilles d'*Olea europaea L* aux concentrations de (2, 4, 8, 16 mg/g).

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- **Conclusion**

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable des substances et des composés naturels bioactifs.

L'olivier est également une plante essentielle en raison de ses propriétés nutritionnelles (protéines, sucres et minéraux) et fonctionnelles, telles que les acides gras bénéfiques, les antioxydants et les composés phénoliques qui produisent une action physiologique définie sur le corps humain.

Dans cette étude, l'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans l'extrait analysé montre qu'il est riche par ces métabolites. La teneur en polyphénols et flavonoïdes qui est égale à $314,49 \pm 22,34 \mu\text{g GAE/mg}$ et $96,38 \pm 1,76 \mu\text{g QE/ mg}$ respectivement.

L'extrait hydrométhanolique présente des activités antioxydantes *in vitro* intéressantes dans les différents tests utilisés DPPH, ABTS, FRAP, phénonthroline et SNP.

De plus, le test de cytotoxicité d'*Olea europaea* a été utilisée pour évaluer la toxicité. Les résultats indiquent que la plante étudiée n'a aucun signe de toxicité, ce qui renforce la sécurité potentielle de l'utilisation des feuilles d'olivier.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce travail nous permettant de conclure que les feuilles d'olivier l'espèce *olea europaea* ont des propriétés antioxydantes qui pourraient justifier l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle contre plusieurs maladies. Les feuilles d'olivier peuvent être considérées comme une source potentielle de produits naturels et de composés à activités biologiques et pharmacologiques pouvant être utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

- **Perspectives**

Il serait donc intéressant d'approfondir ce travail par:

- Une réalisation d'une étude *in vivo* sur l'effet hypoglycémiant et hypocholestérolémiant de cette plante.
- Élaboration d'un produit cosmétique à base de cette plante.

- Une évaluation du pouvoir antimicrobien et antifongique de cette plante pour mettre en évidence leur effet thérapeutique.
- Une étude phytochimique visant à identifier et purifier les principes actifs de cette plante.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

A

- **Abdelaziz Lkrik, Kaies Souidi, Patrick Martin. (2015).** Effet des polyphénols extraits un partir des tourteaux et feuilles de l'olivier (*Olea europaea* l) sur la stabilité oxydatif de l'huile d'olive. Journal national de la recherche ,6: 05.
- **Abd Ghafar M. F., Nagendra, M., Prasad, K., Weng, K. K., Ismail, A. (2010).** Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. Afr J Biotechnol, 9(3): 326–330.
- **Achat S. (2013).** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Avignon. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia. 260 pages.
- **Acila Smail. (2018).** Introduction de l'olivier (*Olea europaea* L.) à Oued Souf: Situation actuelle et perspectives de développement,cas de l'exploitation Daouia. (Thèse de doctorat): Sciences Agronomiques. Université Kasdi Merbah – Ouargla.
- **Akroum S. (2010).** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat. Université du Constantine mentouri.
- **Andersen Ø.M. et Markham K.R. (2006).** Flavonoids : Chemistry, Biochemistry and Applications. Taylor & Francis Group, CRC Press, London, 918.
- **Aouidi F. (2012).** Etude et valorisation des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'industrie agro alimentaire Thèse de Doctorat Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie. Université du Carthage. 140.
- **Arbenz A., Avérous, L. (2015).**Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. Green chemistry. 26-46.

B

- **Balasundram N., Sundram K., Sammam S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*.99 :191-203.
- **Belhadj M, Bennamia N. (2022).** Composition en métabolites bioactifs et propriétés biologiques de *Tamarix gallica* L. et *Olea europaea* L. récoltées dans le Sahara septentrional (mémoire de master). Université Kasdi Merbah Ourgla.
- **Bennani, H., Fiet, J., Adlouni, A. (2009).** Impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate: étude de l'effet antiprolifératif des polyphénols. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(416): 23-26.
- **Ben Salah, M. (2012).** Study of phenolic composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia. *Med Chem*. 2:107-111.
- **Benskhria Ayoub. (2018).** toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif. 70.
- **Beyoud Yousra., Zidani Ibtissem. (2021).** Evaluation in-vitro des activités biologiques de l'espèce *Olea europaea*. Mémoire de Master .Université Mentouri 1.
- **Blois M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- **Bouabdallah, A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea sylvestris*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen.
- **Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., Sayadi, S. (2008).** Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chem.*, 108 (1): 253 262.
- **Bouchefra A, Idoui T. (2012).** Effet nutritionnel de l'huile d'olive vierge « variété Sigoise » sur les performances de croissance, les lipides plasma tiques et la flore endogène du rat Wistar. *Les technologies de laboratoire*.7 (26):20-26.

- **Bouchouka, E. (2016).** Extraction des poly phénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- **Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., Kechaou, N. (2009).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products*, 29 :412– 419.
- **Bouhlali, E., Sellam, K., Bammou, M., Alem, C., & Filalizehzouti, Y. (2016).** In vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *J Appl Pharm Sci*, 6(5): 156-162.
- **Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. (2008).** Composition phénolique et activités biologiques des pousses et racines tunisiennes de *Nigella sativa* L. *C. R. Biol.*, 331 (1): 48-55.
- **Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., Ayachi, A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubépine Monogyne. *Lebanese Science Journal*, 12(1): 59-69.
- **Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties, *Biochemical Journal*, 330(3): 1173-1178.
- **Buchanan, B., Grisse, W., Jones, R. (2000).** *Biochemistry & molecular biology of plants* (1e éd.). Maryland, USA : American society of plant physiologists.

- **Chaouch, T.M. (2014).** Contribution à l'étude des activités anti oxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales (Thèse de doctorat). Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- **Cherrat W., Naitchabane S. (1999).** Etude de l'entomofaune et estimation des dégâts dûs à *Euphyllura olivina* Costa, 1839 (Homoptère, Psyllidae) et *Bactrocera oleae* Gmel, 1788 (Diptère, Tephritidae) dans une oliveraie de Sidi Ayad (Sidi Aïch). Mém. Ing. Ecologie et environnement. Univ. Bejaia. 3-15.
- **Collin, S., Crouzet, J. (2011).** Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC. DOC, p 5 , 13 , 16 , 235.

D

- **Dembinska-Kiec A., Mykkänen O., Kiec-Wilk B., Mykkänen H. (2008).** Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition*. 99: ES109- ES117.
- **De la Puerta R., Guttierrez VR., Hout JRS (2001).** Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol.*; 57: 445–449.
- **Derbel S., Ghedira K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et Nutrition*. 1:28-34.
- **Djenane D., Aïder M., Yangüela J., Idir L., Gómez D et Roncalés P. (2012).** Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157 : H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Journal of Meat Science*.92(4) : 667-674.
- **Djenidi, H. (2012)** .Etude du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.): essais de germination, extraction des polyphénols et activité antimicrobienne (mémoire de Magistère). Université Mohamed KHEIDER. Biskra.

- **Djeridane A ., Yousfi M ., Najemi B ., Vidal N ., Lesgards Jf ., And Stocker P. (2006).**Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic Compounds and their antioxidant activity .European Food Research and Techenology. 224 : 801-809.
- **Dupont, J. (2010).** Synthèse et évaluation de nouvelles molécules inhibitrices de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ECA) (Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud).

E

- **Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A., Yousefadi M. (2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus carmanicus* at different phenological stages. Food chemistry. 110(4) :927-931.

F

- **Fleuriet, A. Jay-Allemand, C. Macheix, J. J. (2005).** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 121-216.
- **Fontanazza, G., Preziosi, P. (1969).** Osservazioni su, 37: 737-745.
- **Fraga C. G. (2009).** Plant phenolics and human health : Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. John Wiley and Sons Edition.
- **Fuhrman B., Lavy A., Aviram M. (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation, The American Journal of Clinical Nutrition, 61: 549-554.

G

- **Gbenou JD, Ahounou JF, Ladouni P, Agbodjogbe WKDD, Tossou R, Dansou P, Moudachirou M. (2011).** Propriétés antiinflammatoires des extraits aqueux de *Sterculia setigera* Delileet du mélange *Aframomum melegueta* K. Schum – Citrus.
- **Ghedira, K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie*, 6: 83-89.
- **Ghnimi, W. (2015).** Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France.
- **Gormaz, J.G., Valls, N., Sotomayor, C., Turner, T & Rodrigo, R.I. (2016).** Potential Role of Polyphenols in the Prevention of Cardiovascular Diseases : Molecular Bases. *Current Medicinal Chemistry*, 23(2) : 115-128.
- **Guerrero Maldonado, N., López, M. J., Caudullo, G., de Rigo, D., (2016).** *Olea europaea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats.
- **Gulcin L., Elias R., Gepdiremen A., Boyer L. Koksal E. (2007).** A comparative Study on the antioxidant activity of fringe tree. (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. *Journal of biotechnology*.
- **Gulçin, I., Huyut, Z., Elmastas, M., Aboul-Enein, H. Y. (2010).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3(1): 43-53.
- **Gutteridge Jm, Mitchell J. (1999).** Redox imbalance in the critically ill. *British Medical Bulletin*, 55(1) : 49-75.

H

- **Halliwell B.(1999)**. How to characterize a biological antioxidant. *Journal Free Radical Research Communications*, 9(1): 1-32
- **Hassen, I., Casabianca, H., Hosni, K. (2015)**. Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: Exceeding the expectation– A mini-review. *Journal of Functional Foods*, 18: 926-940.
- **Hayes, J., Allen, P., Brunton, N., O’grady, M., Kerry, J. (2011)**. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chem.*, 126 (3): 948-955.
- **Heywood, V. H. (1978)**. *Flowering Plants of the World*. Oxford, London, Melbourne: Oxford University Press.

K

- **Karim ARAB., Ouahiba Bouchenak., Karima Yahiaoui. (2013)**. Évaluation de l’activité biologique des feuilles de l’olivier sauvage et cultivé. *SCIENCE* 09(3): 159 – 166.

L

- **Lakache Z., Tigrine C., Aliboudhar H., Kameli A. (2019)**. Composition chimique, activités anti-inflammatoire, antalgique et cytotoxique in vivo de l’extrait méthanolique des feuilles d’ *Olea europaea*.

- **Laraba Meriem., Serrat Amina., Ouassaa Ghania. (2016).** Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. (mémoire de master université mentouri 1).
- **Laouini Salah Eddine. (2014).** Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf), thèse de magister, Université Mohamed Khider, Biskra, 36 -38.
- **Lavee, S. (1997).** Biology and physiology of the olive. Olive Encyclopaedia, International Olive Oil Council, Principe de Vergara, 154.
- **Lee-Huang S., Zhang L., Huang P;-L and Chang Y.-T. (2003).** Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. Biochem. Biophys. Res. Commun ; 307 (4) : 1029-1037.
- **Lenoir, L. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I.
- **Link, A., Balaguer, F., Goel, A. (2010).** Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: promising role for epigenetics. Biochemical pharmacology, 80(12): 1771-1792.
- **Lins, S. P., Gonzaga, M. V., Pimentel, T. C., Pereira, J. C. (2018).** Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of hydroethanolic extracts from Myrcia sphaerocarpa Mart. ex DC leaves. Food Chemistry, 252: 103-110.

M

- **M.A.D.R., (2015).** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rurale. Section des Statistiques Agricoles et des Systèmes d'information (DSASI).

- **MA Y-Q ., CHEN J-C., LIU D-H ET YE X-Q. (2009).** Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* (16): 57–62.
- **Maas, E.V., Hoffman, G.(1977).** *Journal of the irrigation and drainage division*, 103 (2): 115-134.
- **Madani yousfi M., (2017).** Dosage des polyphénols et recherche d'activité antiradicalaire de feuilles d'olives. Mémoire de Master. Université de Tlemcen.
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C & Jiménez, L. (2004).** Polyphenols : food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5) :727–747.
- **Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2): 231- 237.
- **Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., Böhm, V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6): 992-999.

N

- **NEFZAOUI A. (1995).** Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. *Advanced course. Syria* 12-23 .

- **Nkhili, E. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat en science alimentaire. Université Cadi Ayyad, Marrakech.

O

- **Oliver, S. A. B., Vittorio, O.C., Cirilloe, G., Cyrille,B.(2016).**Enhancing the therapeutic effects of polyphenols with macromolecules. Formal of the royal society of chemistry Polymer Chemistry.
- **Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer-Zarawska E et Swiader K., (2007).** Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. Food Chemistry. 100(2) : 579-583.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions : antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition, 44 : 307-315
- **Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., Apak, R. (2012).** Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. Analytical chemistry, 84(18) : 8052-8059.

R

- **Rahman K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical Interventions in Aging, 2(2) : 219-236.
- **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M and Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26: 1231-1237.

- **Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Paris, France : Dunod.
- **Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. Glover W. (1999).** Phenolic compound and their role in oxidative processes in fruits. Food Chemistry, 66 : 401-436.
- **Rugini E., E. Fedeli. (1990).** Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. In: Y.P.S. Bajaj (ed.) Legumes and oilseed crops I. Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 10 Springer, Berlin Heidelberg New York, 593-641.
- **Rugini E. and S. Lavee. (1992).** Olive. In: F.A. Hammerschlag, R.E. Litz (eds.) Biotechnology of Perennial Fruit crops. Biotechnology in Agriculture, 8 : 371-382.

S

- **Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 45: 287.
- **Selaimia H., Zerrouki S., Zarouri M. W. (2019).** Etude des vertus thérapeutiques des feuilles d'olivier cultivé et sauvage *Olea europaea* L, thèse de magister, université Saad Dahlab, Blida, 17-34.
- **Sereme, A., Milogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., Nacro, M., (2011).** Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso. Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine 15.
- **Sharma, R. R., Goswami, A. M., Singh, C. N., Chhonkar, O. P., Singh, G. (2001).** Catecholase and cresolase activities and phenolic content in mango (*Mangifera indica* L.) at panicle initiation. Sci Hort, 87(1): 147–151.

- **Singla, RK, Dubey, AK, Garg, A., Sharma, RK, Fiorino, M., Ameen, SM, Al-Hiary, M. (2019).** Polyphénols naturels: classification chimique, définition des classes, sous-catégories et structures. *Journal de l'AOAC International*, 102 (5): 1397-1400.
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- **Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A., Tsatsakis, A. M., & Kouretas, D. (2012).** Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6): 2155-2170.
- **Sudjana A N., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., et al. (2009).** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 :461-463.
- **Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., Seow, E. M. (2011).** Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and analysis*, 1(6): 121-127.
- **Szydłowska-czerniaka a, Dianoczki c, Recseg k, Karlovits g, Szlyk e. (2008).** Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*.

T

- **Techer Sophie. (2013).** Criblage d'activités biologiques de plantes endémiques ou indigènes de La Réunion - Recherche de molécules antivirales ciblant le virus du

chikungunya. *Vegetal Biology*. Thèse de doctorat. Université de la Réunion. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01199856>.

- **Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarikürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry* 103: 816-822. Mise à jour Le CRBt 10/09/2017.
- **Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12) : 1231-1246.
- **Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G. (2007).** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12 (3): 484-496.

V

- **Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., Spencer, J. P. (2010).** Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, 2(11): 1106-1131.
- **Valko, M., Rhodes, Cl., Moncoll, I., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *ChemBiolInteract*, 160: 1-40.
- **Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B., (1998).** Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric. Food Chem.*, 46 (10): 4113-4117.
- **Vermerris, W, Nicholson, R. (2006).** Phenolic Compound Biochemistry. New York, USA : Springer.

- **Villano, D., Fernandez-Pachon, M. S., Moya, M. L., Troncoso, A. M., Garcia-Parrila, M. C. (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*.

W

- **Wainstein J, Ganz T, Boaz M, Bar Dayan Y, Dolev E, Kerem Z, Madar Z (2013).** Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural medicine*.01-477.

Y

- **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.

Z

- **Zimmer N., Cordesse R. (1996).** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA productions animales*, 9(3):167-179.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : BENNACERI Selma
GHANEM Rahma

Les Activités antioxydantes *in vitro* de la plante médicinale endémique *Olea europaea L*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie et santé.

Résumé

Les feuilles d'olivier sont considérées comme des sources importantes en métabolites secondaires et notamment en polyphénols, ce qui fait d'eux des matrices très valorisables.

Notre étude a pour objectif de valoriser l'espèce d'*Olea europaea L*, pour cela nous avons procédé au dosage des composés phénoliques et l'évaluation des activités antioxydante d'extrait de la plante et le test de cytotoxicité d'extrait.

L'extrait sec a été obtenu par macération en utilisant: le méthanol et l'eau. L'activité antioxydante d'extrait a été évaluée par cinq méthodes: DPPH et ABTS, FRAP, phénanthroline, SNP en utilisant l'acide ascorbique, BHA, BHT, α -Tocophérol comme des standards.

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de $314,49 \pm 22,34 \mu\text{g GAE/mg}$ d'extrait. Et la teneur en flavonoïdes est de $96,38 \pm 1,76 \mu\text{g QE/ mg}$.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les méthodes des réductions du radical libre DPPH et ABTS car elles sont reconnues par la simplicité, la rapidité est : IC₅₀ ($31,20 \pm 1,64 \mu\text{g /ml}$), ($31,94 \pm 4,25 \mu\text{g/ml}$) respectivement.

Même les autres activités ont donné des résultats satisfaisants : FRAP : $43,77 \pm 2,16 \mu\text{g /ml}$, phénanthroline : $11,40 \pm 1,40 \mu\text{g /ml}$, SNP : $62,65 \pm 3,99 \mu\text{g /ml}$.

De cela, toutes les données ont confirmées que l'*Olea europaea L* peut être une source des polyphénols donc d'agents antioxydants, et aussi les résultats obtenus ne montrent aucun symptôme de toxicité d'extrait.

Mots clés: *olea europaeaL*, composés phénoliques, activité antioxydante, test de cytotoxicité.

Laboratoires de recherche: Laboratoire de centre de recherche en biotechnologie –CRBT Constantine.

Président du jury: Mr MENAD Ahmed (PROF - UFM Constantine 1).

Encadrant: Mr ATTALAH Salah (PROF - UFM Constantine 1).

Examinatrices : Mme DEHILI Nedjoudja (MAA) - UFM Constantine 1),
Mme IHOUEL Safia (MCB) - UFM Constantine 1).