



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة 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***

Intitulé :

---

## **Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait des feuilles d'*Olea europaea .L***

---

Présenté et soutenu par :

Le : 01 /07/2017

**Deghdegh Fatima Zohra**

**Abbachi Souheila**

**Bouharma Wissem**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme AMEDDAH Souad (Pr- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme DEKDOUK Nadia (MCB- UAB Batna).

**Examineurs :** Mr BENRABAI Mouad (MCA- UFM Constantine).

Mr BOULDJADJ Redouane (MAA- UFM Constantine).

***Année universitaire  
2016- 2017***

# Remerciment

Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la  
santé  
La patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous remercions  
Notre encadreur madame **Dekdouk Nadia** maitre de conférences à  
l'université de Batna  
Qui a dirigé notre travail  
Pour sa patience et sa compréhension et ses qualités scientifiques et humaine.

Nos vifs remerciements à Notre présidente de jurée  
Madame le professeur **Ameddah Souad**

Vous nous avez accordé un immense honneur et un grand privilège en  
acceptant la présidence de notre jury de mémoire.

Nous vous prions, chère Maître, d'accepter dans ce travail le témoignage de  
notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre  
sincère respect.

Et à notre membre de jurées

Monsieur **BOULDJADJ Redouane** MAA- UFM Constantine.

Et

Monsieur **BENRABAI Mouad** Maitre de conférences à l'université des Frères  
Mentouri Constantine

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en  
acceptant de juger ce travail.  
C'est pour nous un immense plaisir de vous voir siéger parmi le jury de notre  
mémoire.

Nous n'oublions pas de remercier vivement  
Mlle **Sekrani Ibtissem** et mlle **Zaoui Heyem**

Pour leurs conseils et aide judicieux,  
Merci infiniment  
À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de  
loin  
Dans notre travail, on les remercie du fond du cœur

**Merci à vous tous**

## **DEDICACES**

Je remercie **Allah**

Tout puissant

*Pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.*

*Je dédie ce modeste travail...*

A MA TRES CHERE MERE **Hasnaa**

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as*

*Cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance*

*Et même à l'âge adulte*

À MON TRES CHER PERE **AbdAllah** *Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous*

A MES CHERS FRERES

**Feres, Yahya**

Et mes ADORABLE SOEURS

**Maroua ,Amira**

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de*

*Bonheur, de santé, de réussite*

A MES CHERS COUSINS et COUSINES

**Halima ,Nasima ,Djalila,Farid,Ishaq ,Ziad,Anwar...**

*A tous les membres de la famille ABBACHI et TAOUTAOU, petits et grands  
Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon Affection*

A LA MEMOIRE DE

MA GRANDE MERE et MON ONCLE **Ziden**

*J'aurais tant aimé que vous soyez présents.*

*Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde*

À MES AMIS DE TOUJOURS : **Chahra zed , Hala ,Fatima Zohra  
,Intissar ,Wissem,Esmâ ,Amina , Safia ,Dalila...**

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables  
que nous avons passés ensemble.*

*Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus  
Profond et mon affection la plus sincère.*

*À mon trinôme **Fatima zohra** et **wissem** qui sont partagées avec moi les  
moments difficiles pour réaliser ce travail.*

*A toutes mes enseignants qui m'ont marquée*

*Monsieur*

**Abd el rahim, Monsieur Boutaghen ,Monsieur Mili ....**

*À tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.*

**Souheila**

## **DEDICACES**

*En premier lieu je remercie **Allah** le tous puissant de m'avoir donné la  
volonté, la*

*Santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce mémoire à*

*Ma mère **Yasmina** , qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son  
soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour tout son  
assistance et sa présence dans ma vie.*

*A Mon père **Abd Al malek** , qui peut être fier et trouver ici le résultat de  
longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans  
la vie .Merci pour les valeurs nobles ,l'éducation et le soutient permanent  
venu de toi.*

*A Mes chers frères : **Ayoub ,Younesse et son épouse Sameh***

***Et mon petit frère tarek (sissou)***

*J'exprime mes profonds remerciement particulier a ma grande –  
mère « **Zohra** », Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse lui  
prêter longue vie et beaucoup de santé que dieu la garde pour nous.*

*Je tiens évidemment à remercier mes chères tantes **karima, Fouzia ...***

*Et toute ma famille*

*A Mes chères amies :**Amina,Manel ,Amel ,Imane,  
Roumaissa,chahinez,Souheila,Chahra,Hala,  
Hadjer,Esmal,Wisseem,DAlila.. Ahmed***

*Et*

*A mon enseignante : **Boukri Bariza.***

***Fatima Zohra***

## **DEDICACES**

*Je dédie ce mémoire à :*

*A la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, à la source de tendresse, de patience et de générosité, ma mère «**Zohra**».*

*Qui a œuvré pour ma réussite de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon père «**Abed Allatif** », qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*A ma précieuse sœur «**Hanane**» qui n'a jamais cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité, aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour toi ; ainsi qu'à son mari «**Abd Eldjalil**» qui m'a personnellement aidé pendant mon travail.*

*A mes petits amours, mes chères nièces «**Norhane et Mayar**», quoique je puisse dire, je ne peut exprimer mes sentiments d'amour , je vous aime.*

*A mon frère «**Abd Essatar**» et son fils «**Anoir Iyed**» puisse dieu vous protéger du mal, vous procurer une longue vie pleine de bonheur.*

*A toutes mes familles «**Bouharma et Hamadou**», mes tantes et oncles, cousins et cousines.*

*A la mémoire de mes grands-pères et ma grande mère, j'aurais tant aimé que tu sois présente.*

*Que dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde*

*A mon ange gardien et ma confidente dans les moments les plus délicates de cette vie, ma meilleure amie et my person «**Lamis**», les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi.*

*A ma chère et meilleure amie «**Hadjer**», pour son soutien, son encouragement et pour sa présence dans ma vie.*

*Une spéciale dédicace à mes magnifiques copines et merveilleuses binômes qui comptent énormément pour moi «**Soussou et Fati**»*

*A mes chères et adorables amies de toujours : «**Safa, Khadidja, Hadjer, Wided, Saloua, Mario, Hala et Esma**»*

*Je ne saurais terminer sans exprimer mes dédicaces les plus sincères à tous mes professeurs.*

*Wissem*

# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**INTRODUCTION.....1**

**PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE 1 : L'INFLAMMATION**

**1. L'inflammation.....2**

**1.1. Les facteurs déclenchant l'inflammation .....2**

**1.2. Les différents types d'inflammation .....2**

**1.2.1. L'inflammation chronique .....2**

**1.2.1.1 Les types d'inflammation chronique .....3**

**1.2.2. L'inflammation aiguë .....3**

**1.2.2.1. La phase vasculaire .....3**

**1.2.2.2. Les facteurs vasodilatateurs .....4**

**1.2.2.2. La phase cellulaire .....7**

**1.2.2.2.1. Substances chimiotactiques.....7**

**1.2.2.2.2. Afflux des cellules.....9**

**1.2.2.2.3. La phagocytose .....12**

**1.2.2.2.4. L'élimination des pathogènes .....14**

1.2.2.2.5 La peroxydation lipidique.....	17
1.2.2.3. La phase de réparation.....	19
1.3. Les anti-inflammatoires (AI).....	20
1.3.1. Les anti-inflammatoires d'origines médicamenteuses.....	20
1.3.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	20
1.3.1.1.1. Définition .....	20
1.3.1.1.2. Classification des AINS.....	20
1.3.1.1.3 .Mécanisme d'action.....	21
1.3.1.2. Anti inflammatoire stéroïdiens (AIS).....	21
1.3.1.2. 1. Définition.....	21
1.3.1.2.2. Classification.....	22
1.3.1.2.3. Mécanisme d'action.....	22
1.3.2. Les anti inflammatoires d'origine végétale .....	23
 <b>CHAPITRE 2 : L'OLEA EUROPAEA ET SON ACTIVITE BIOLOGIQUE</b>	
2. <i>Olea europaea</i> et son activité biologique.....	25
2.1. Description botanique .....	25
2.2 Culture .....	26
2.3. Composition phénolique.....	27
2.3.1. Généralités sur les composés phénoliques .....	27
2.3.1.1. Définition.....	27
2.3.1.2. Structure des composés phénoliques.....	27
2.3.1.3. Mécanisme d'action des composés phénoliques.....	29
2.3.1 .2 <i>Olea europaea</i> et composés phénoliques.....	31
2.3.2.1. Constituants des fruits, graine, pulpe, l'huile d'olive et bois.....	32

2.3.2. Composition phénolique des feuilles d'olives .....	34
2.4. Usages d' <i>Olea europaea</i> .....	37
2.5. Pharmacologie .....	39
2.5.1. Activité antidiabétique .....	39
2.5.2. Activité anticancéreuse.....	39
2.5.3. Activité antioxydante.....	40
2.5.4. Activités antimicrobiennes .....	40
2.5.6. Activités antihypertenseurs et cardioprotectives.....	41
2.5.7. Activités neuroprotectionnelles .....	41
2.5.8. Activités anti-inflammatoires et antinociceptives .....	41

## **PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE**

1. Matériel et Méthodes.....	42
1.1. Matériel biologique .....	42
1.1.1. Matériel végétal .....	42
1.1.2. Produits chimiques et appareillage .....	42
1.1.3. Matériel animal.....	42
1.2. Méthodes.....	43
1.2.1. Extraction.....	43
1.2. 2. Induction de l'inflammation par le $\gamma$ -carragénine.....	43
1.2.2.1. Traitement.....	43
1.2.2.2. Sacrifice des animaux, récupération de l'exsuda.....	44
1.2.2.3. Comptage des neutrophiles (PMNs).....	44
1.2.3. Dosage biochimique du stress oxydant dans l'exsudat.....	45

1.2.3.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans l'exsudat.....	45
1.2.3.1.1. Principe.....	45
1.2.3.1.2. Méthode de dosage .....	46
1.2.3.2. Dosage de l'activité de catalase dans l'exsudat.....	46
1.2.3.2.1 Principe.....	46
1.2.3.2.2. Méthode de dosage.....	46
1-3- Analyse statistique .....	46
 <b>Résultats et discussion</b>	
2. Résultats et discussion.....	47
2.1. Résultats.....	47
2.1.1. Étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> .....	47
2.1.2. Étude de l'effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le taux de MDA et sur l'activité de catalase dans l'exsudat.....	47
2.1.2.1. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le taux de MDA dans l'exsudat.....	47
2.1.2.2. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur l'activité de catalase dans l'exsudat.....	48
2.2. Discussion.....	55
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>54</b>

## **Références bibliographiques**

## Liste des abréviations

$\gamma$  : Gamma.

% : Pourcentage .

°C : Degré celsius .

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

$\mu\text{l}$  : Microlitre.

$^1\text{O}_2$  : oxygène singulet.

A : Absorbance.

AA : Acide arachidonique.

AC : Adénylate Cyclase .

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AINS: Anti- inflammatoire non stéroïdiens.

AIS: Anti-inflammatoire stéroïdiens.

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique.

AP-1 : Protéine activatrice 1.

B1 : Récepteur Bradykinine 1.

B2 : Récepteur Bradykinine 2.

BK : Bradykinine.

Bo OH : Un Butanol.

C : Complément.

C3a : Complément C3a.

C5a : Complément C5a.

C5aR : Récepteur Complément C5a.

**Car** : carragénine

**CAT** : Catalase.

**CD31** : Classe de Différenciation 31.

**Cl<sup>-</sup>** : Ions halide.

**COX 2** : Cyclo-oxygénase type 2.

**COX** : Cyclo-oxygénase.

**CYT B** : Cytochrome b.

**DAG** : Diacyl glycérole.

**DRO** : Dérivé réactif de L'oxygène.

**EVOO** : Huile d'olive extra vierge.

**EX** : Extraits

**GC** : Guanylate cyclase.

**GMPc** : Guanosine mono phosphate cyclique.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène ou l'eau oxygénée.

**HOCl** : Acide Hypochloreux.

**IL-1** : Interleukine 1.

**IL-1 $\beta$**  : Interleukine 1-Béta.

**IL-6** : Interleukine 6.

**IL-8** : Interleukine 8.

**iNOS** : Inductible nitric oxide synthétase .

**iNOs** : Synthase inductible de l'oxyde nitrique.

**IP** : Intra péritonéale.

**IP<sub>3</sub>** : Inositele Triphosphate.

**Kg:** Kilo gramme.

**L :** Leucocyte.

**LB :** Lame basale.

**LF :** Lactoferrine.

**LPS:** Lipo poly saccharides.

**MAC :** Complexe Attaque Membranaire.

**MCF :** Michigan Cancer Foundation.

**MDA :** Malondialdéhyde.

**MIF:** Macrophage Inhibitory Factor.

**MI :** millilitre.

**Mm :** Masse molaire.

**MMPs :** Métalloprotéases matrice.

**MPO :** Myéloperoxydase.

**NDPH :** Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate d'Hydrogène.

**NF-KB :** Nuclear Factor –Kapp B.

**nm :** Nanomètre

**No :** Monoxyde d'azote.

**NO :** Oxyde Nitrique.

**Nos :** Oxyde Nitrique Synthase.

**NS :** Nos significatives.

**O2 :** Oxygène.

**O2- :** Anion Super Oxyde.

**OCl- :** Hypochlorite.

**OH•** : Anion hydroxyle.

**P** : Pseudopodes.

**PAF** : Facteur activateur des plaquettes.

**PAMP** : Pathogène associated Molecular patterns.

**PG** : Prostaglandine.

**PGE2** : Prostaglandine E2.

**PH** : Potentiel d'Hydrogène.

**Phox** : Phagosome oxydase.

**PKC** : Protéine kinase C.

**PL** : Peroxydation lipidique.

**PLA2** : Phospholipase A2.

**PLC** : PhospholipaseC.

**PLD** : PhospholipaseD.

**PMN** : Polymorpho nucléaire Neutrophile.

**PN** : Poly nucléaire Neutrophile.

**PRR** : Pattern recognition receptor.

**Sérotonine**: Hydroxytryptamine ou 5-HT .

**SOD** : Super Oxyde Dismutase.

**TBA** : Tiobarbiturique Acide.

**TCA** : Trichloroacétique Acide.

**TH1 (cellule)** : Cellule T auxiliaire de type 1.

**TLP** : Toll – like-Receptors.

**TNF – $\alpha$**  : Tumore Necrosis Factor.

**TXA2** : Thromboxane A2.

# Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Synthèse des prostaglandines.....	4
<b>Figure 2 :</b> Les voies de signalisation pour le récepteur B1, B2 .....	5
<b>Figure 3:</b> système du complément.....	8
<b>Figure 4 :</b> principales voie de transmission du signale activées par la liaison de C5a à son récepteur.....	9
<b>Figure 5 :</b> Emigration des leucocytes .....	10
<b>Figure 6 :</b> recrutement de leucocyte aux sites d'infection.....	11
<b>Figure 7:</b> les étapes de la phagocytose.....	14
<b>Figure 8 :</b> Activation et assemblage de la NADPH oxydase.....	15
<b>Figure 9 :</b> Burst respiratoire.....	16
<b>Figure 10 :</b> Production d'oxydants par le phagocyte activé.....	17
<b>Figure 11 :</b> Production d'oxydants par le phagocyte activé .....	18
<b>Figure 12 :</b> les différents dérivés toxiques se l'oxygène (en haut) et de (en bas) .les composés les plus réactifs sont mis en exergue.....	18
<b>Figure 13:</b> Mécanisme d'action de l'anti inflammatoire non stéroïdien.....	21
<b>Figure 14 :</b> Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.....	22
<b>Figure 15 :</b> L'olivier, feuilles et fruit.....	25
<b>Figure 16 :</b> Distribution géographique.....	27
<b>Figure 17 :</b> Structure chimique des flavonoïdes.....	29
<b>Figure 18 :</b> Mécanisme d'action antioxydante d'un cathecal.....	30
<b>Figure 19 :</b> Mécanisme d'action antioxydante d'aminophenol.....	30
<b>Figure 20 :</b> Mécanisme d'action antioxydante d'hydroquinone.....	31
<b>Figure 21 :</b> Mécanisme d'action antioxydante de 4-aminophenol.....	31
<b>Figure 22 :</b> Structure chimique de l'oleupeine et l'hydroxytyrosol.....	35

<b>Figure 23 :</b> Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le nombre de neutrophiles PMNs récupéré dans la cavité intra péritoniale des souris.....	48
<b>Figure 24 :</b> Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur le taux de MDA dans l'exsudat.....	49
<b>Figure 25:</b> Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d' <i>Olea europaea</i> sur l'activité de catalase dans l'exsudat.....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Chimiokines médiatrices de l'inflammation .....	6
<b>Tableau 2:</b> Quelques exemples des plantes douées d'activités anti inflammatoire.....	23
<b>Tableau 3 :</b> Structure et classe des composés phénoliques.....	28
<b>Tableau4 :</b> Constituants phénoliques des fruits, graine, pulpe, l'huile d'olive et bois.....	34
<b>Tableau5:</b> Composition phénolique des extraits et fraction des feuilles d'olive.....	36
<b>Tableau 6:</b> Utilisation d' <i>Olea europaea</i> dans la médecine traditionnelle.....	38

# ***Introduction***

### Introduction

L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme, ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme dans des pathologies auto-immunes (**Calder et al.,2009**) . Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Cependant, l'utilisation de substances pharmaceutiques anti-inflammatoires est accompagnée toujours d'effets secondaires indésirables (**Chiolero et al., 2000**). Alors que l'utilisation de composés phytochimiques s'avère bénéfiques, utile et sans effets secondaires.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections. En Algérie, les plantes ont une importance dans la médecine traditionnelle.

Les utilités thérapeutiques d'*Olea europaea.L* ont été indiquées en médecine traditionnelle. Il a été connu pour réduire la glycémie, le cholestérol et l'acide urique (**Arab et al .,2013**). Il a également été utilisé pour traiter le diabète, l'hypertension (**Jemai et al .,2008** ) .les maladies de l'estomac et de l'intestin, l'asthme, l'inflammation (**Bouallagui et al .,2011**).Concernant les feuilles d'olivier , elles font actuellement l'objet de recherches dans le vaste domaine de la médecine et de la pharmacologie . L'utilisation des feuilles d'olivier en phytothérapie par la population locale se fait à l'état naturel (infusion ou décoction). Les feuilles sont utilisées pour leur effet hypoglycémiant et hypotenseur à des doses journalières de 40 à 50g (**Arab et al .,2013**).

Le but de cette étude est évaluer l'activité anti-inflammatoire, ainsi que l'activité antioxydante de l'extrait phénolique des feuilles de l'olivier par le modèle d'inflammation aiguë, péritonite chez la souris.

***Partie I***  
***Etude bibliographique***

# ***Chapitre 1 :*** ***L'inflammation***

## 1. L'inflammation

L'inflammation est une réponse physiologique stéréotypée aux infections et aux lésions tissulaires (**Calder *et al.*, 2009**) . Elle concerne en premier lieu l'immunité naturelle avant de mobiliser les cellules de l'immunité adaptative (**Jean-Luc et Lefranc, 2009**). L'inflammation se traduit par une accumulation locale de fluide, de protéine plasmatique, et des leucocytes (**Espinosa et Chillet , 2006**).

### 1.1. Les facteurs déclenchant l'inflammation

Les facteurs qui déclenchent les phénomènes inflammatoires peuvent être très diverses : les éléments physiques comme la chaleur (brûlure), le froid (gelure), les rayonnements ionisants qui vont entraîner des lésions tissulaires et la libération des produits de dégradation comme le collagène, les éléments solides microbiens exogènes ou endogènes, un dard des insectes ou des microcristaux (cristaux d'urate), des produits chimiques (toxines), produits de dégradation tissulaire des composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines) (**Weill et Btteux , 2003**).

### 1.2. Les différents types d'inflammation

On distingue deux types :

- L'inflammation aigue.
- L'inflammation chronique.

#### 1.2.1. L'inflammation chronique

L'inflammation chronique est caractérisée par la persistance de la lésion tissulaire, due en général aux cellules inflammatoires de l'infiltrat, la présence d'un infiltrat inflammatoire chronique et l'existence d'une fibrose (**Stevens et al ., 2004**).

## 1.2.1.1 Les types d'inflammation chronique

L'inflammation chronique est divisée en trois types :

- L'inflammation chronique non spécifique : Elle fait suite à une inflammation aiguë non guéri.
- L'inflammation chronique spécifique (primaire) : Elle survient d'emblée en réponse à certains types d'agressions.
- L'inflammation granulomateuse : C'est un sous-type d'inflammation chronique spécifique caractérisé par la présence de granulomes (**Stevens et al ., 2004**).

## 1.2.2. L'inflammation aiguë

Les processus de dilatation capillaire (rougeur), d'exsudation des protéines plasmatique et aussi de liquide (œdème) due à des modifications de la pression hydrostatique et de la pression osmotique, l'accumulation des neutrophiles, sont collectivement appelés réponse inflammatoire aiguë (**Roitt et Rabson, 2002**).

L'inflammation aiguë peut être divisée en 3 grandes phases :

- Une phase vasculaire.
- Une phase cellulaire.
- Une phase de résolution et de cicatrisation.

### 1.2.2.1. La phase vasculaire

C'est une phase immédiate, de l'ordre de la minute. Caractérisé par des modifications de la microcirculation locale. La vasodilatation est due à une action sur les artérioles en amont du réseau capillaire .Cela conduit, localement, à une diminution de la vitesse du sang et à une augmentation de son volume (hyperémie). Ce phénomène est couplé à une augmentation de la perméabilité vasculaire facilitée par l'ouverture réversible des jonctions serrées entre cellules endothéliales (**Espinosa et Chillet,2010**).

Elle implique la fuite de liquide proche du plasma appelé exsudat du sang vers les tissus. De plus l'afflux massif de sang dans les capillaires provoque une augmentation de la pression hydrostatique. Ces phénomènes aboutissent à une fuite d'eau et de molécules vers les tissus : Il ya formation d'un œdème (**Espinosa et**

Chillet ,2006). Lors cette phase il y a une production des facteurs vasodilatateurs (Stevens *et al.* , 2004) .

## 1.2.2.2. Les facteurs vasodilatateurs

### ➤ Les Prostaglandines

Les Prostaglandines (PG) sont des dérivés de l'acide arachidonique (AA) qui peut également être produite à partir des phospholipides membranaires, via l'activation de la phospholipase A2 (PLA2) et à partir du Diacyl glycérol (DAG) sous l'action d'une lipase, ce qui conduit à la production de prostaglandines (PG) (Beaumont,2005). (Figure 1).

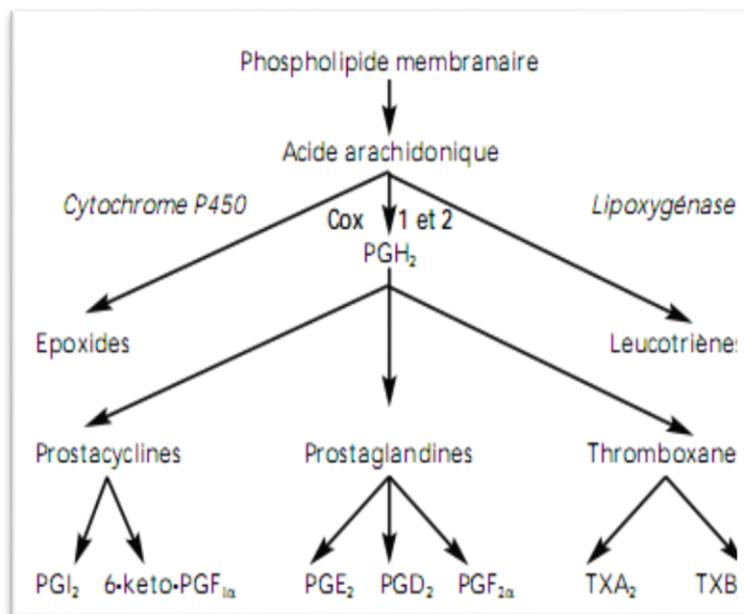


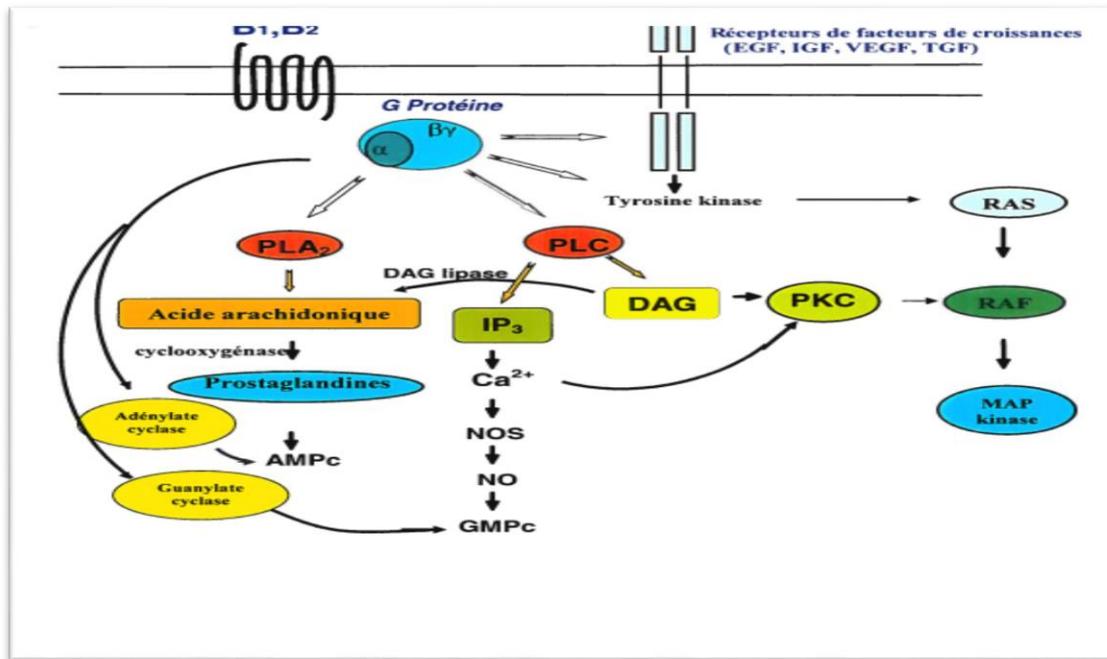
Figure 1 : Synthèse des prostaglandines (Chiolero *et al.* , 2000)

### ➤ Les kinines

Les bradykinine sont des peptide endogènes provoque divers effets biologique y compris l'œdème et la douleur (Masayuki *et al.* ,1997) .

Les récepteurs des kinines B1et B2 sont impliqués dans la transmission de la douleur (Meotti *et al.* , 2012). Et de la réponse inflammatoire (Bichoy *et al.* ,2003). La transduction des signaux pour les récepteurs des kinines est relayée par l'activation

directe ou indirecte de l'adénylate cyclase (AC) et de la guanylate cyclase (GC) menant à la formation de l'adénosine mono phosphate cyclique (AMPc) et de la guanosine mono phosphate cyclique (GMPc), l'activation de canaux ionique et l'activation des phospholipases A2, C, D (figure 2), la phospholipase C (PLC) stimule la formation d'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) et du diacyl glycérol (DAG) impliqués respectivement dans la libération du calcium intracellulaire et dans l'activation de la protéine kinase C (PKC) (Figure 2) (Beaumont, 2005).



**Figure 2 :** Les voies de signalisation pour le récepteur B1, B2 (Petcu, 2005)

Les effets pro inflammatoire du récepteur B1 incluent également la stimulation de la migration des leucocytes sanguins. L'activation du récepteur B1 induit les 3 phases du processus de recrutement des leucocytes : roulement, adhérence et migration des cellules. Le récepteur B1 des médiateurs des mastocytes et des cytokines particulière interleukine 1 (IL-1) (Bichoy *et al.*, 2003).

Autres chimiokines médiatrices de l'inflammation ont été décrites dans le ( tableau 1) (Male *et al.*, 2006).

# Chapitre 1 : L'inflammation

**Tableau 1 : Chimiokines médiatrices de l'inflammation (Male *et al.*, 2007)**

Médiateurs	Origine principale	Actions
<b>Histamine</b>	Mastocytes, granulocytes basophiles.	Augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, chimiotactisme.
<b>5-hydroxytryptamine (5HT-sérotonine)</b>	Plaquettes, mastocytes	Augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, activation des neutrophiles.
<b>Facteurs activateurs des plaquettes(PAF)</b>	Basophiles, neutrophiles, macrophages	Libération des médiateurs plaquettaires, Augmentation de la perméabilité vasculaire, contraction des muscles lisses, activation des neutrophiles.
<b>IL-8</b>	Mastocytes, endothélium, monocytes, lymphocytes	Migration des PNN et monocytes.
<b>C3a</b>	Complément C3	Dégranulation des mastocytes, contraction des muscles lisses
<b>C5a</b>	Complément C5	Chimiotactisme des PNN, activation des PNN, contraction des muscles lisses, augmentation de la perméabilité membranaire.
<b>Bradykinine (BK)</b>	Système des kinines (kininogène)	Vasodilatation, contraction des muscles lisses, augmentation de la perméabilité capillaire, douleur.
<b>Prostaglandine E2 (PGE2)</b>	Voie de la cyclo-oxygénase, mastocytes.	Vasodilatation, synergie avec histamine et bradykinine dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire.

### 1.2.2.2. La phase cellulaire

Cette phase concerne le recrutement et la mobilisation des nombreuses cellules inflammatoires. Cette mobilisation cellulaire va permettre l'élimination des micro-organismes pathogènes et des tissus lésés.

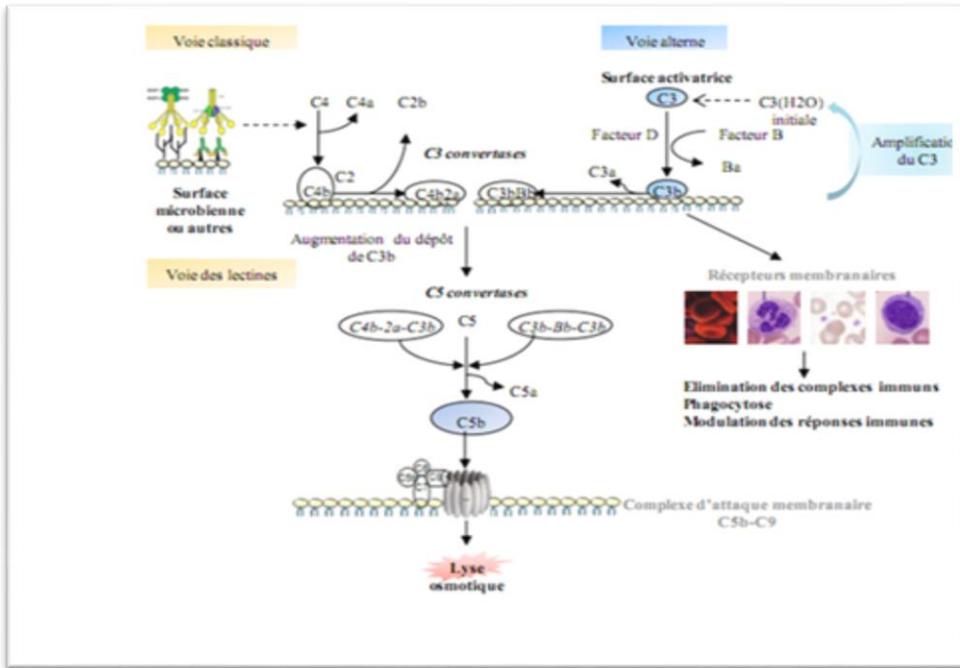
Au niveau d'un tissu infecté, les cellules immunitaires résidentes et les cellules du tissu sécrètent des molécules qui attirent d'autres cellules au niveau du site infecté. Ces molécules sont des substances chimiotactiques (**Espinosa et Chillet,2006**).

#### 1.2.2.2.1. Substances chimiotactiques

On trouve les chimiokines , les composants C5a et C3a du complément et le facteur activant les plaquettes (PAF) (**Espinosa et Chillet , 2010**) .

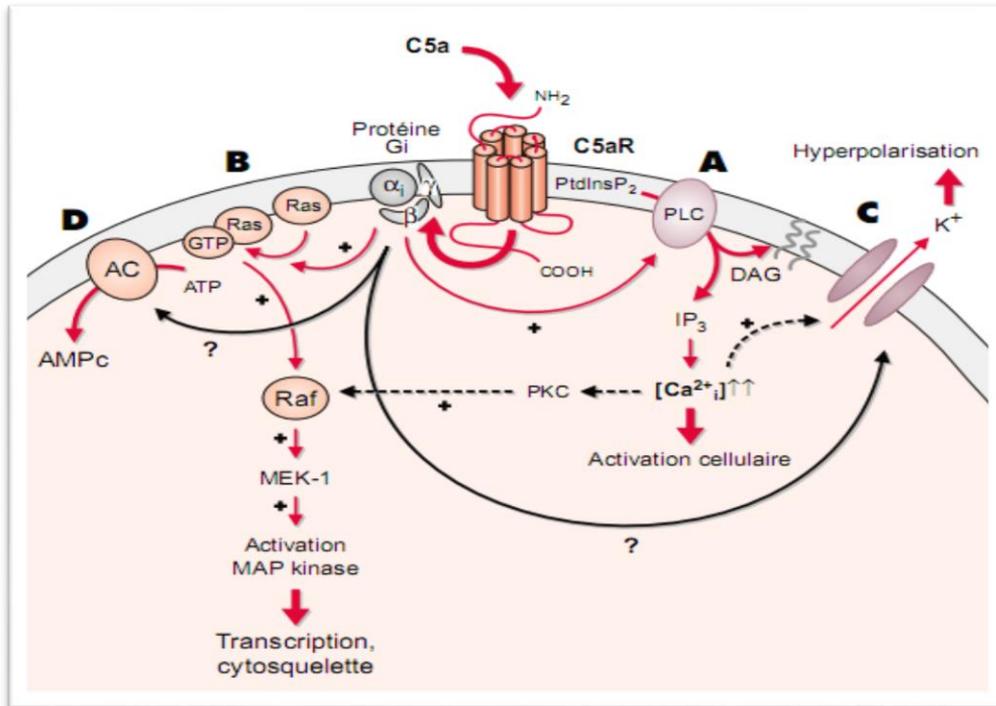
##### ➤ **Complément**

Le complément(C) est composé d'une vingtaine de protéines plasmatiques qui s'organisent en deux voies d'activation (voies classique et voie alterne) et une voie effectrice qui aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire(MAC). Ces composants solubles, s'ajoutent cinq protéines membranaires régulatrices et plusieurs récepteurs spécifiques de fragment du complément (**Sayah et al.,1998**). Une des conséquences biologiques majeures de l'activation du système du complément est la libération de trois peptides cationiques C3a, C4a et C5a regroupés sous le terme d'anaphylatoxines, sont des médiateurs prépondérants de l'inflammation (Figure 3)(**Sayah et al.,1998** ).



**Figure 3:** Système du complément (Donnette-Le Quintrec ,2013)

L'anaphylatoxine C5a exerce ses effets biologiques par la liaison à un récepteur spécifique, la C5aR présente à la surface des polynucléaires et des monocytes (Figure 4) (Sayah *et al.*, 1998).



**Figure 4** : Principales voie de transmission du signal activées par la liaison de C5a à son récepteur (Sayah *et al.*, 1998)

## 1.2.2.2.2. Afflux des cellules

La sortie des leucocytes hors du flux sanguins s'effectue surtout dans les veinules post capillaires. Le foyer d'une inflammation aigue attire selon l'origine de la réaction soit des neutrophiles et de monocytes /macrophages. La séquence des phénomènes survenant au cours de l'émigration des cellules est la suivante :

### A. Roulage des leucocytes sur l'endothélium

L'interstitium Stimule (notamment par des cytokines) et active l'endothélium, ce qui expose des molécules adhésives spécifiques (sélectine) dans la lumière.

Des ligands correspondant aux sélectines à la surface des leucocytes(L) permettent un accrochage progressif d'abord tache et rompu plusieurs fois par les forces de cisaillement du flux sanguin.

## B. Adhésion des leucocytes à l'endothélium

Les chimiokines produites notamment par les endothélicytes et les cellules de l'interstitium activent Des intégrines à la surface des leucocytes et ces dernières lient les molécules adhésives superficielles des endothélicytes (Figure 5) (Lüllmann-Rauch , 2006).

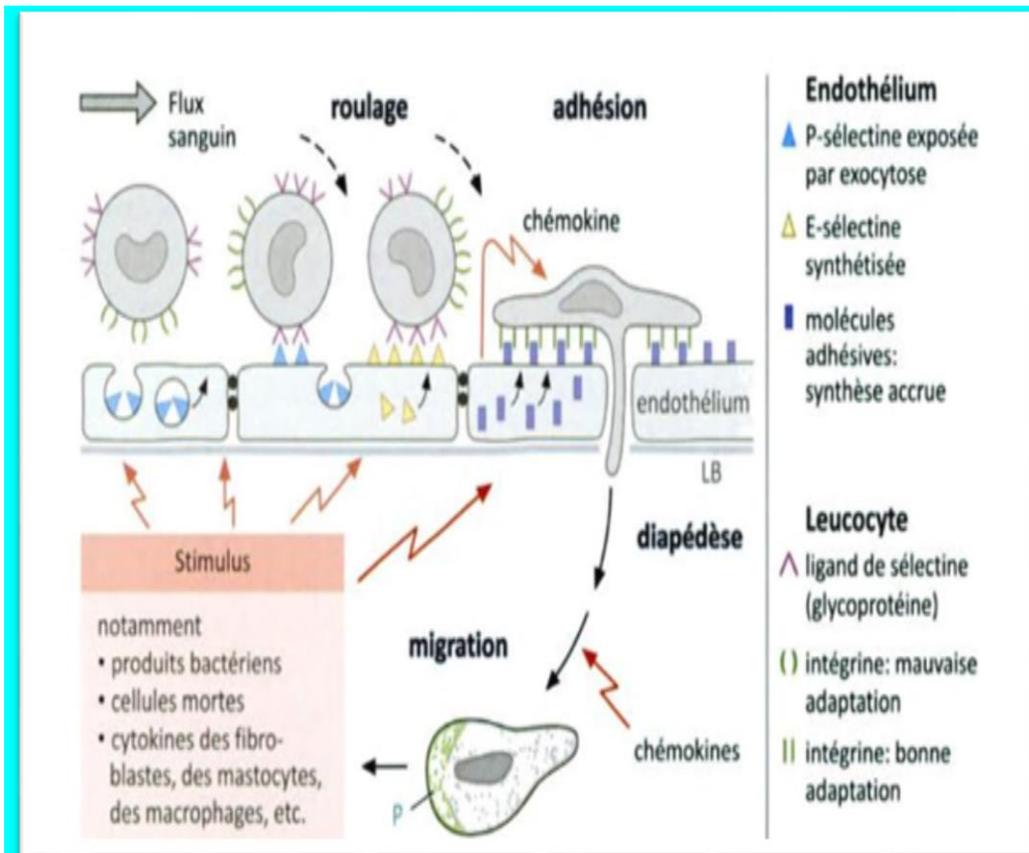


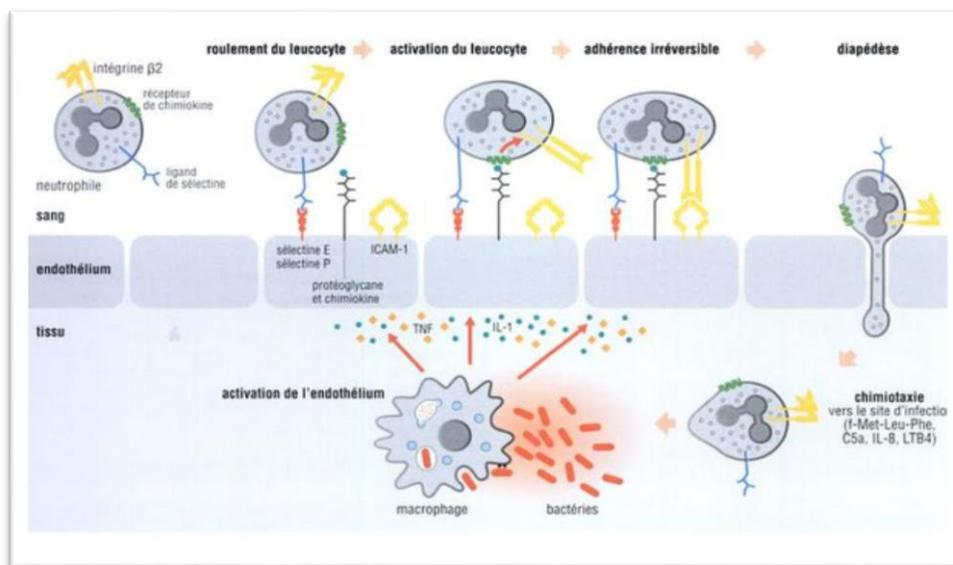
Figure 5 : Emigration des leucocytes (Lüllmann-Rauch ,2006)

### Le phénomène de diapédèse

C'est un phénomène dont lequel les leucocytes ont la possibilité de passer à travers la paroi vasculaire (Espinosa et Chillet,2006). Au moyen de molécules adhésive supplémentaire, les leucocytes s'insinuent soit entre ou à travers les endothélicytes, ils traversent la lame basale (LB) à l'aide d'une collagénase et aboutissent dans l'interstitium où ils sont attirés vers les lieux de la lésion par des chimiokines. Les types des leucocytes(L) attirés varient en conséquence, ce qui détermine la nature et la durée de l'inflammation (Renate Lüllmann, 2006).

## Chapitre 1 : L'inflammation

Cette étape est assurée par les cellules endothéliales activées par les médiateurs de l'inflammation. La pénétration du leucocyte se fait au niveau de jonctions serrées entre deux cellules endothéliales. Le leucocyte s'insinue entre les deux cellules grâce à une interaction entre les molécules CD31 (Classe de différenciation 31) exprimées à la fois sur le leucocyte et les cellules endothéliales, le cytosquelette du leucocyte(L) assure sa déformation et sa migration entre les deux cellules en s'appuyant sur l'interaction CD31-CD31 (**Espinosa et Chillet,2006**). (Figure 6).



**Figure 6** : Recrutement de leucocyte aux sites d'infection (**Franco *et al.*,2009**)

Les neutrophiles sont les cellules les plus essentielles au cours de la réponse immunitaire innée, recrutés rapidement au site inflammatoire où ils participent à la phase aiguë, (**Barrientos,2014** ). L'inflammation neutrophilique est essentielle pour le maintien de la santé et de la vie ( **Renshaw *et al.*,2006** ).

Les granules formées par les neutrophiles peuvent être subdivisées en trois types :

- Des granules primaires ou azurophiles : qui contiennent la myéloperoxydase (MPO).
- Des granules secondaires ou spécifiques : qui contiennent de la lactoferrine (LF).

- Des granules tertiaires ou gélatinase : qui contiennent les métalloprotéases de la matrice ( MMPs) ( **Gougerot-Pocidalò et al.,2007**).

La phagocytose d'activation oxydative et de dégranulation des polymorphonucléaire (PMN) première cellule effectrice de la réaction inflammatoire et de l'activité microbicides (**Descamps-Latscha,1996**) . L'action anti-infectieuse du neutrophile repose sur ses capacités de migration transendothéliale de phagocytose « d'explosion oxydative » (**Dumas et Pouliot, 2009**) .

### 1.2.2.2.3. La phagocytose

Les différentes étapes impliquées dans la phagocytose (**Coujard et al .,1980**). Sont les suivantes :

#### A. Reconnaissance du micro-organisme

La phagocytose débute par la reconnaissance de la particule à ingérer, cette reconnaissance est typique du système immunitaire inné. Elle peut être directe ou indirecte.

- La reconnaissance directe met en jeu un récepteur membranaire du phagocyte de type PRR (de pattern recognition receptor). Le PRR reconnaît son ligand PAMP (de pathogen associated molecular pattern) présent sur la particule à internaliser (**Pascale et Espinosa, 2006**).
- La reconnaissance peut être indirecte. Dans ce cas, le micro-organisme est fixe par l'intermédiaire d'une molécule du système immunitaire. Cette molécule peut être soit un anticorps, soit un composant du complément elle a pour rôle de marquer les micro-organismes, on la qualifie d'opsonine (**Pascale et Espinosa, 2010**).

#### B. Internalisation de la particule

La phagocytose conduit à l'internalisation d'une partie de la membrane du phagocyte ; elle sera par la suite recyclée. La particule internalisée se trouve prisonnière dans une vacuole de phagocytose appelée phagosome qui entre dans la voie endocytaire (**Pascale et Espinosa, 2010**).

### **C. Maturation du phagosome**

Peu après la formation du phagosome, les micros filaments d'actine entourant la vacuole sont dépolymérisés permettant sa fusion successive, ainsi, il acquiert au début le contenu des endosomes précoces puis des endosomes tardifs et enfin des lysosomes au bout d'une trentaine de minutes après sa fusion avec un lysosome, on l'appelle phagolysosome (**Pascale et Espinosa, 2010**).

### **D. Destruction des micro-organismes**

Seuls les phagocytes professionnels sont capables de tuer efficacement les micro-organismes internalisés. Les phagocytes les plus efficaces pour cette tâche sont les granulocytes neutrophiles. Ils déploient un arsenal d'armes considérable pour éliminer par exemple des bactéries phagocytées (**Pascale et Espinosa, 2010**). (Figure 7).

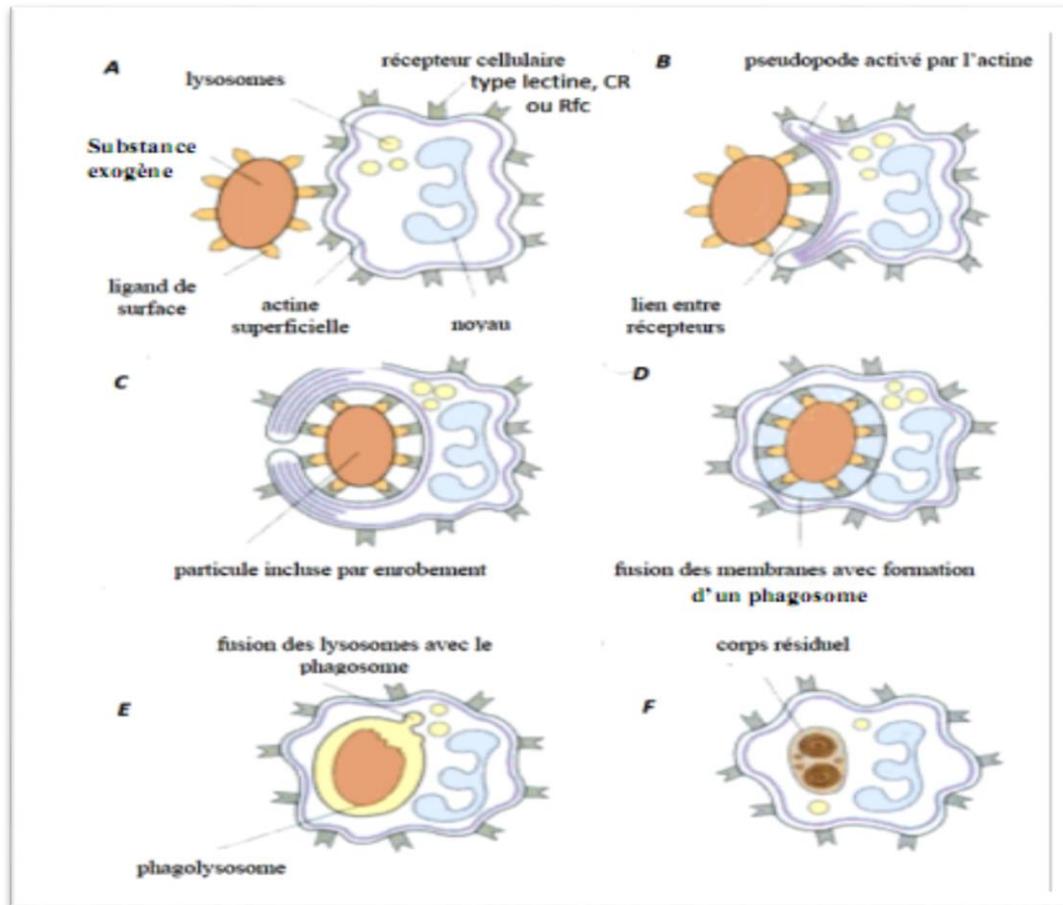


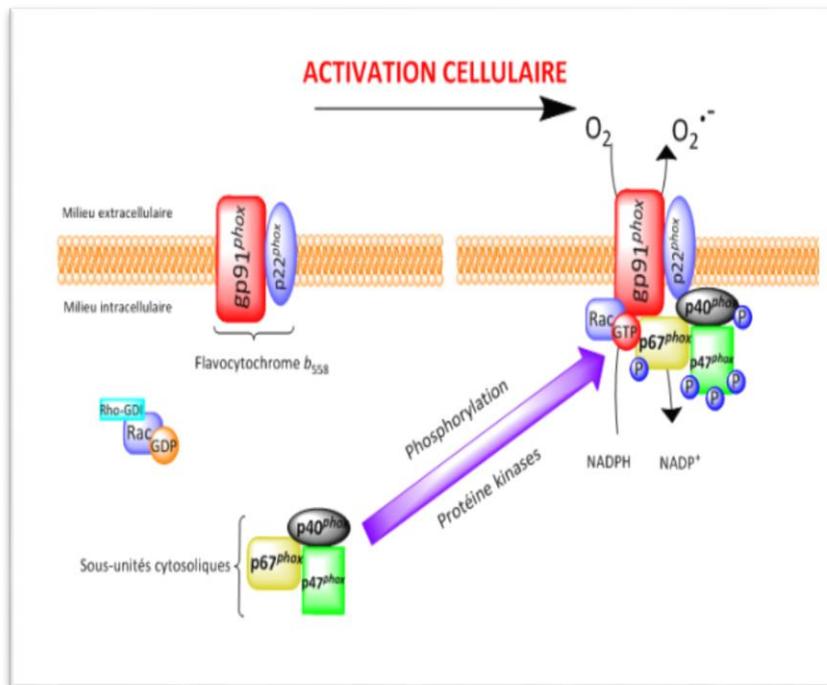
Figure 7: Les étapes de la phagocytose (Stevens et Lowe,1997)

## 1.2.2.2.4. L'élimination des pathogènes

### A. L'élimination intracellulaire oxygène-dépendante des pathogènes

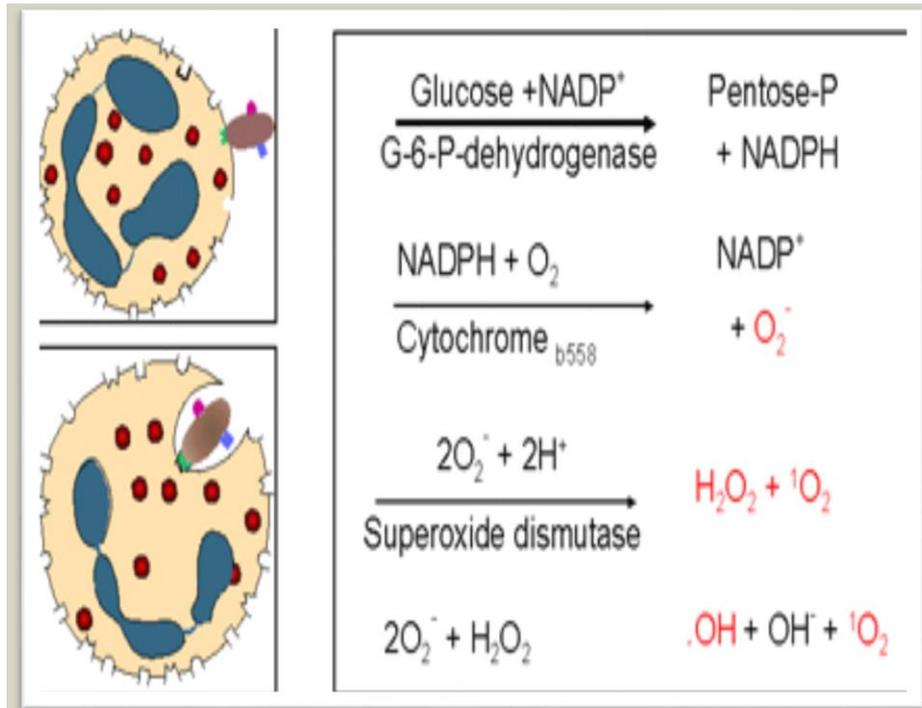
Lors de la phagocytose, le glucose est métabolisé par la voie des pentoses monophosphate et la NADPH est assemblée. Le cytochrome b(CYTB) contenu dans les granules spécifiques des neutrophiles se combine avec la (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) NADPH oxydase présente à la membrane plasmique du phagocyte et l'active. La NADPH oxydase activée utilise l'oxygène pour oxyder le NADPH. Un complexe NADPH oxydase actif (Stasia ,2007). Réduit l'oxygène(O<sub>2</sub>) moléculaire directement en anion superoxyde(O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Ainsi, la réaction clé catalysée par cette NADPH oxydase, qui initie la formation des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). (Figure 8).





**Figure 8 :** Activation et assemblage de la NADPH oxydase (Lambeth, 2004)

L'anion superoxyde est converti en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sous l'influence d'un superoxyde dismutase(SOD). De plus l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) peut réagir avec peroxyde d'hydrogène ( H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (pour former des radicaux hydroxyles et de l'oxygène singlet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)). Au final, ces réactions conduisent à la formation des radicaux oxygénés toxiques (encore appelées espèces réactives de l'oxygènes) comme l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), l'eau oxygénée( H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'oxygène singlet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) et les radicaux hydroxyles (OH•). La flambée respiratoire implique le fonctionnement de la NADPH-oxydase, de la MPO et la Oxyde nitrique synthase (Nos) (Serteyn *et al*.,2003). (Figure 9).



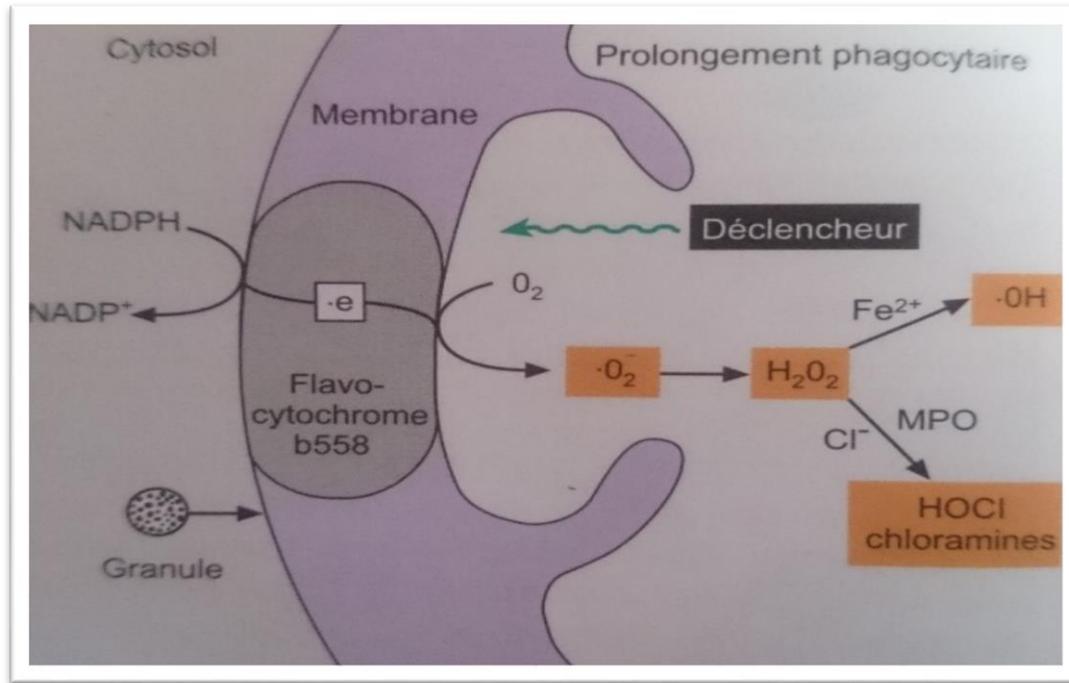
**Figure 9 : Burst respiratoire (Raichvarg, 1981)**

➤ **Elimination intracellulaire oxygène-dépendante, myéloperoxydase-dépendante des pathogènes**

Lorsque les granules azurophiles fusionnent avec le phagosome, la myéloperoxydase est déversée dans le phagolysosome. La myéloperoxydase utilise l' $\text{H}_2\text{O}_2$  et des ions halides (en général  $\text{Cl}^-$ ) pour produire l'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ). L'hypochlorite ( $\text{OCl}^-$ ) est une substance hautement toxique (Sertekyn *et al.*, 2003).

Une partie de l'hypochlorite ( $\text{OCl}^-$ ) peut spontanément conduire à la formation d'oxygène singulet. Au final, cette réaction conduit à la production d'espèces toxiques, l'hypochlorite ( $\text{OCl}^-$ ) et l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ).

La (MPO) est la seule peroxydase capable de catalyser l'oxydation du chlorure en hypochlorite à un taux significatif (Sijtsema, 1998). (Figure 10).



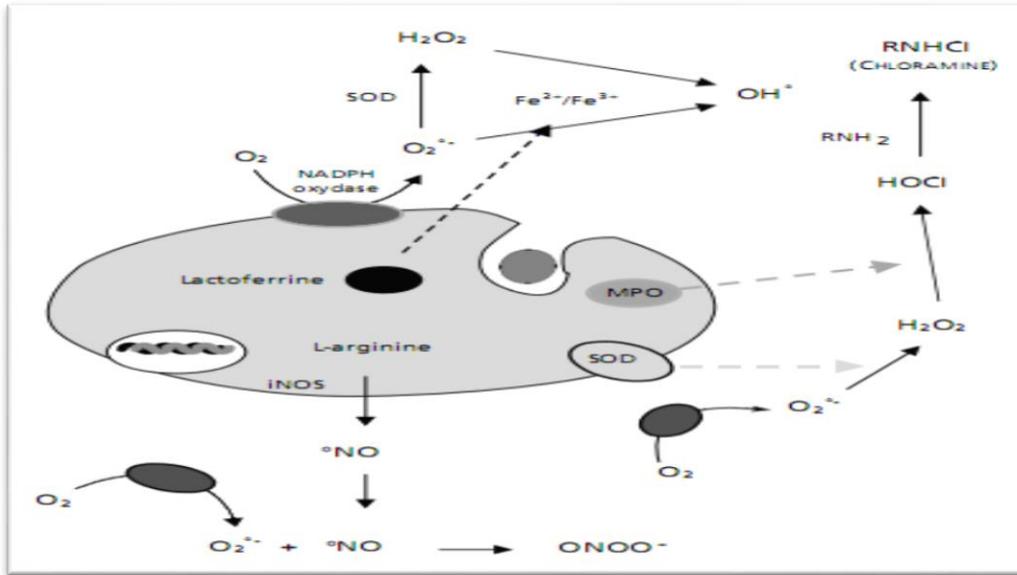
**Figure 10** : Production d'oxydants par le phagocyte activé (Roitt et Rabson, 2002)

Les neutrophiles activés pourraient induire le peroxydation lipidique (pl) (Ferradini, 1986) par les oxydants libérés dans le milieu extracellulaire comme :

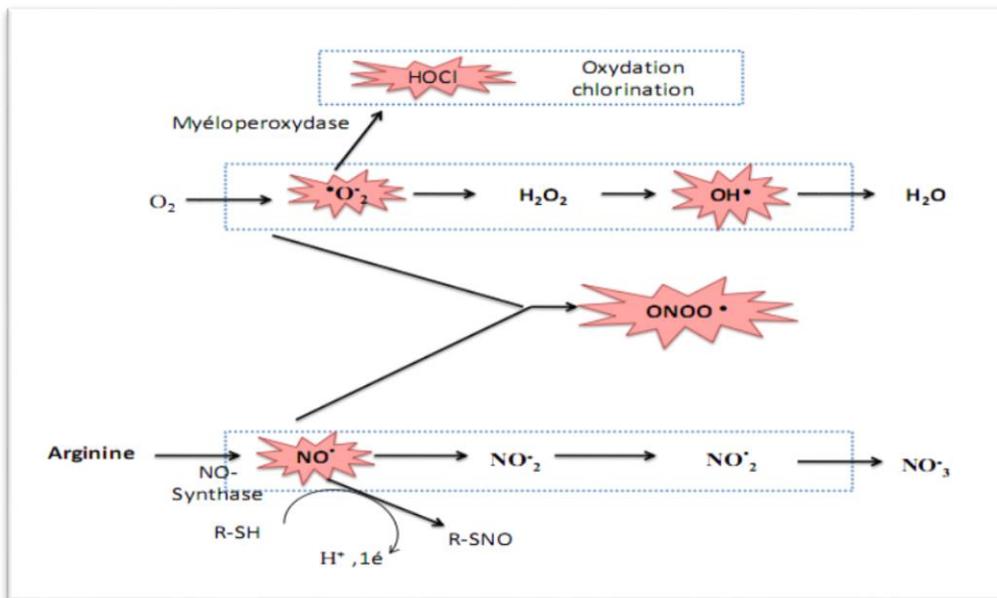
### 1.2.2.2.5 La peroxydation lipidique

Les activés connus pour libérer des espèces réactives d'oxygènes (Ferradini, 1986). L'interaction endothélium polynucléaire neutrophiles (PN) active la NADPH oxydase et la myéloperoxydase conduisent à la production d'anion superoxyde, de radicale hydroxyle et d'acide hypochlorique (HOCl) libérés dans le milieu extracellulaire (Chambon *et al.*, 2012).

La liaison des bactéries aux macrophages, notamment via les Toll-like receptors (TLP), conduit à la production de TNF-alpha, qui agit de manière autocrine pour induire l'expression du gène de l'enzyme iNOS-2 (inducible nitric oxide synthetase) résultant en la production d'oxyde nitrique (NO) (Figure 11) (Morena *et al.*, 2002). (Figure 12) (Espinosa et Chilette, 2010).



**Figure 11** : Production d'oxydants par le phagocyte activé (Morena *et al.* ,2002)



**Figure 12** : Les différents dérivés toxiques de l'oxygène (en haut) et de (en bas) les composés les plus réactifs sont mis en exergue (Espinosa et Chilette,2010)

### 1.2.2.3. La phase de réparation

Les macrophages vont sécréter des cytokines et des médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire et remodeler les éléments de leur stroma (collagène de type 1 et 3) ou de leur lame basale (LB) (collagène de type 4 et 5, laminine) (**Bernard et Batteux, 2003**).

### 1.3. Les anti-inflammatoires (AI)

#### 1.3.1. Les anti-inflammatoires d'origines médicamenteuses

##### 1.3.1.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

###### 1.3.1.1.1. Définition

Sont des médicaments dépourvus de noyau stéroïde, ayant une action anti-inflammatoire, antalgique et antipyrétique, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont comme principal mode d'action l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (PG) par inhibition d'une enzyme: la cyclo-oxygénase (COX) (**Chiolero *et al.*, 2000**).

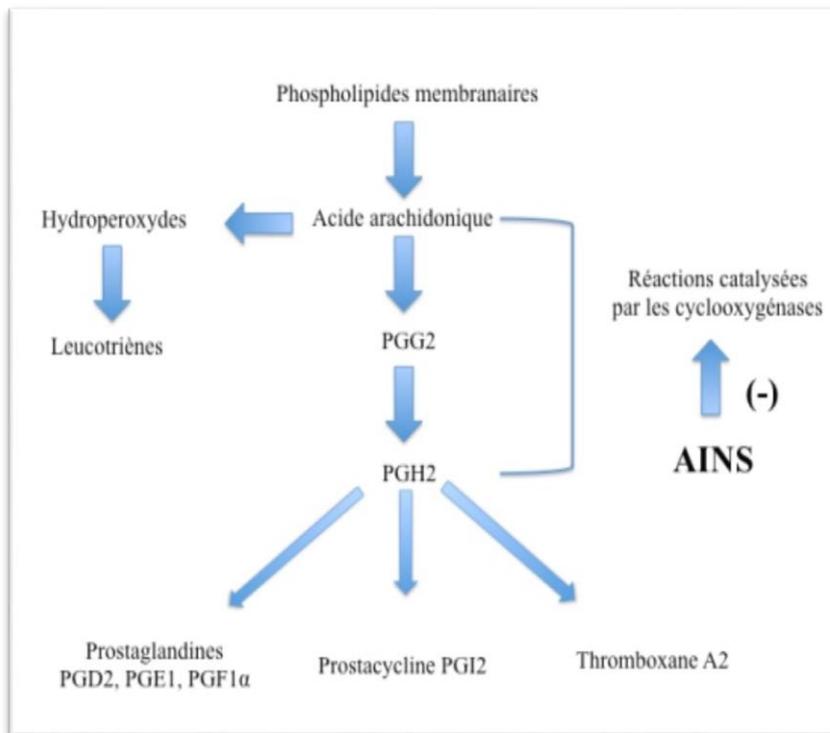
###### 1.3.1.1.2. Classification des AINS

Les AINS peuvent aussi être classés selon le degré de sélectivité (et donc d'inhibition) de l'AINS pour l'une ou l'autre COX. Quatre catégories se distinguent là encore :

- Groupe 1 correspond aux inhibiteurs sélectifs de la COX-1. C'est le cas de l'aspirine à faible doses (100 à 300 mg), à visée antiagrégante plaquettaire.
- Groupe 2 est celui des inhibiteurs non spécifiques de la COX, représenté par les AINS classiques (**Blain *et al.*.,2000**).
- Groupe 3 renferme les inhibiteurs préférentiels de la COX-2, représentés par le méloxicam et le nimésulide. Cette propriété antiCOX-2 est cependant perdue lorsque ces produits sont utilisés à fortes doses.
- Groupe 4 comporte les inhibiteurs spécifiques de la COX-2. Leurs représentants sont le célécoxib et l'étoricoxib (**Blain *et al.*., 2000**).

## 1.3.1.1.3 .Mécanisme d'action

A l'échelle cellulaire, des stimuli variés (mécaniques, chimiques...) activent les phospholipases A2 contenues dans les membranes cellulaires entraînant la transformation des phospholipides membranaires en acide arachidonique. Ce dernier est métabolisé en prostaglandines et thromboxane A2 (TXA2) grâce à une enzyme, la cyclo-oxygénase ou COX (**Blain *et al.* ,2000**). (Figure 13).



**Figure 13:** Mécanisme d'action de l'anti inflammatoire non stéroïdien (**Nicolas *et al.*,2001**).

## 1.3.1.2. Anti inflammatoire stéroïdiens (AIS)

### 1.3.1.2. 1. Définition

Les anti-inflammatoires stéroïdiens ou corticoïdes sont des produits pharmaceutiques qui traitent les inflammations.

L'anti -inflammatoire stéroïdien constitue une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (**Faure ,2009**).

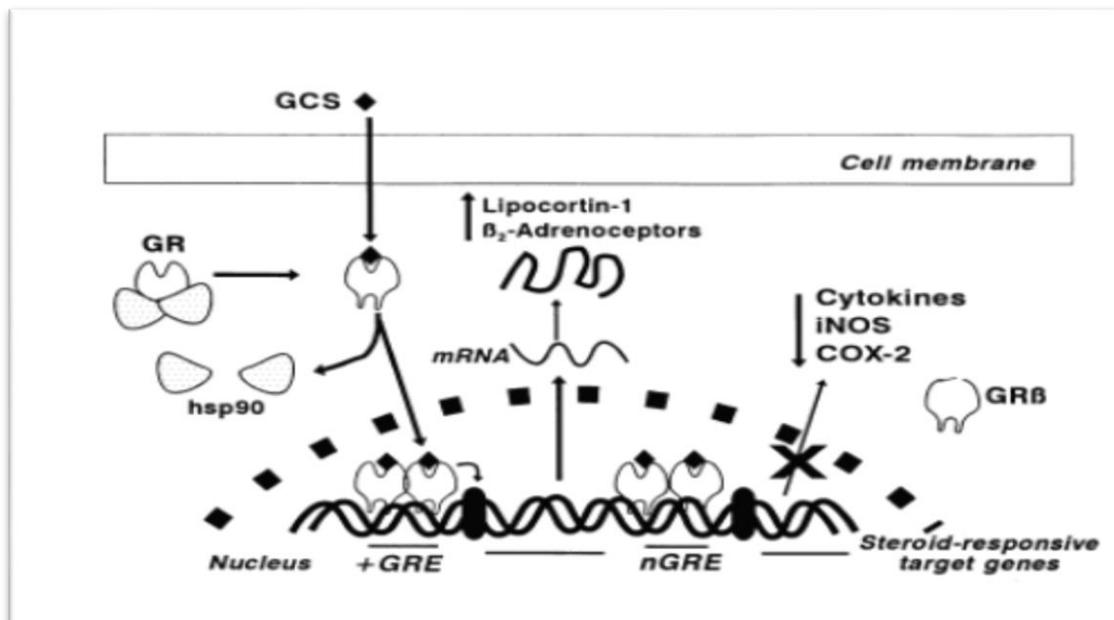
## 1.3.1.2.2. Classification

Il existe plusieurs variétés d'anti-inflammatoires stéroïdiens : le prednisone, le méthylprednisolone, le prednisolone, le dexaméthasone, le bêtaméthasone, etc. Chaque classe d'anti-inflammatoires se distingue par la durée de leur effet (court/intermédiaire/prolongé) ( **Hawkey,1999**).

## 1.3.1.2.3. Mécanisme d'action

Les AIS comme les glucocorticoïdes agissent en se fixant sur leurs récepteurs intracellulaires distribués de façon ubiquitaire, il s'ensuit une translocation intranucléaire du récepteur ainsi activé ce qui aboutit à la modulation positive ou négative des gènes cibles qui codent les protéines responsable de l'action des glucocorticoïdes.

Les glucocorticoïdes agissent sur tous les types cellulaire et tissulaire de l'organisme dans le cadre de la réaction inflammatoire, ils inhibent la migration leucocytaire vers le site inflammatoire (**Blétry *et al* .,2006**) (Figure14).



**Figure 14 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (Barnes, 1998)**

### 1.3.2. Les anti inflammatoires d'origine végétale

Le nombre des composés phytochimiques trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoires, beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (Tableau 2) (Barnes, 1998).

**Tableau 2:** Quelques exemples des plantes douées d'activités anti inflammatoire (Barnes, 1998)

Nom scientifique	Famille	Partie utilisée	Nom commun	Utilisation
<b>Zingiber officinale</b>	Zingerberaceae	Rhizome	Gingembre	Arthrose, migraine, douleurs rhumatismales
<b>Hellebcrus orientalis</b>	Ranunculaceae	Racines	Lenten-rose	Cédèmes, douleurs rhumatismales
<b>Urtica dioica</b>	Urticaceae	Feuilles, racines	Ortie	Rhinite allergique, eczéma goutte, douleurs goutte.
<b>Laurocerasus officinalis R</b>	Rosaceae	Feuilles	Laurier	Fièvre, pharyngite, douleurs d'estomac, hémorroïdes.
<b>Curcuma longa</b>	Zingiberaceae	Rhizome	Curcuma	Douleurs rhumatismales, lupus systémique, psoriasis, infections rénales

*L'Olea. europaea* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour un large éventail des problèmes de santé dans divers pays. L'écorce, les fruits, les feuilles, le bois, les graines et l'huile sont utilisés sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes. L'huile de graines est prise par voie

## Chapitre 1 : L'inflammation

---

orale comme un laxatif et également appliquée à l'extérieur comme un baume pour l'inflammation (**Mokhtari *et al* .,2015**).

***Chapitre 2 :***  
***Olea europaea et***  
***son activités***  
***biologiques***

### 2. *Olea europaea* et activités biologiques

#### 2.1. Description botanique

L'olivier est un arbre typiquement méditerranéen (**Breton *et al.*, 2006**). De 6 à 8m de hauteur à tronc tortueux à écorce grisâtre, crevassée (**Ghedira, 2008**). Peut atteindre 15 m de haut (**Hans et Kothe, 2007**). Sa longévité multiséculaire est légendaire, la température demeure à plusieurs jours à 16 C° l'isotherme -12C° correspondrait à la limite de son air de culture. Facilement identifiable à son port à feuilles blanches à 4 pétales soudé en tube à la base (**Claude et Françoise, 2007**). Les feuilles, blanches argentées à la face inférieure, vertes grisâtres à la face supérieure, opposées, persistantes, coriaces, lancéolées. Les fleurs, petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées, les fruits, olives, sont des drupes ovoïdes, verts puis noires à maturité, à noyau dur fusiforme (**Ghedira, 2008**). L'olivier exige un climat ensoleillé doux et sec, craint, l'excès de l'humidité, mais s'accommode de tout type de sol (**Claude et Françoise, 2007**).



**Figure 15** : L'olivier, feuilles et fruit (**Ghedira, 2008**)

Dans le genre *Olea*, l'olive (*Olea europaea* L.). Possède la plus grande distribution géographique, et plusieurs sous-espèces ont été décrites (**Médail *et al.*, 2001**). L'air d'extension de la culture de l'olivier (figure 15) définit l'air biogéographie que de la sphère méditerranéenne et du climat méditerranéenne (**Ghedira, 2008**).

L'espèce *Olea* L. a été nommée par Linné. C'est l'unique espèce du bassin méditerranéen représentative du genre *Olea* .

## Chapitre 2 : *Olea europaea* et activités biologiques

---

La classification botanique de l'arbre de l'olivier (**Ghedira, 2008 ; Basim et al., 2017**) est la suivante :

**Régne** : Plantae.

**Embranchement** : Magnoliophyta.

**Sous - embranchement** : Magnoliophytina.

**Classe** : Magnoliopsida.

**Sous Classe** : Dialypétales.

**Ordre** : Lamiales.

**Famille** : Oleaceae.

**Genre** : *Olea*.

**Espèce** : *Olea europaea* . L.

### 2.2. Culture

L'olivier est l'un des plus anciens arbres cultivés sur la planète Terre (**Liphschitz et al., 1991**) . La culture de l'olive a commencé dans l'Antiquité et elle remonte à plus de 7000 ans. L'utilisation de l'huile d'olive pour la santé du corps se trouve dans la littérature grecque ancienne.

Les oliviers se sont répandus vers l'ouest depuis la région méditerranéenne en Italie, au Portugal, en Espagne, en Grèce et en France (**Chiappetta et al., 2012**). Les Conquistadors espagnols, en 1560, ont porté les boutures et graines d'*Olea europaea* au Pérou. De là, des oliviers se répandent au Mexique. La production d'huile d'olive a commencé à San Diego (**Wise, 1967**).

Bien que l'olivier soit maintenant cultivé dans différentes parties du monde, la région méditerranéenne continue de servir d'oléo majoritaire et sa superficie de production d'huile représente environ 98% de la culture oléicole mondiale (**Ghanbari et al., 2012**). De nos jours, il existe plus de 2000 cultivars dans le bassin méditerranéen qui présentent une énorme diversité basée sur la morphologie de la fosse et la morphologie des fruits (**Ganino et al., 2006**) (figure 16).



**Figure 16 :** Distribution géographique (Ghedira, 2008)

### **2.3. Composition phénolique**

#### **2.3.1. Généralités sur les composés phénoliques**

##### **2.3.1.1. Définition**

Les composés phénoliques, sont des métabolites secondaires, forment le groupe des composés organiques phytochimiques le plus important dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1999).

##### **2.3.1.2. Structure des composés phénoliques**

Sous la désignation de composés phénoliques on désigne un vaste ensemble de substances qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles.

Les flavonoles montrent une grande diversité et une complexité qui dépend de la nature et de la position des hydroxylations, méthylations et glycosylations du squelette

## Chapitre 2 : *Olea europaea* et activités biologiques

carbone de base en C 15. Parmi eux, les trois classes des flavonoles, anthocyanes et flavanes-3-ols (Figure 17) (Bruneton ,1999). (Tableau3) .

**Tableau 3** : Structure et classe des composés phénoliques (Ghanbari *et al* .,2012)

Structure	Classe
C6	Phénols simples .
C6-C1	Acides phénoliques .
C6-C2	Acétophénones et acides phenylacetiques.
C6-C3	Acides cinnamiques, aldehydes cinnamyl, alcools cinnamyl.
C15	Chalcones, aurones, dihydrochalcones, flavans, flavones, flavanones, flavanonols, anthocyanidins, anthocyanins.

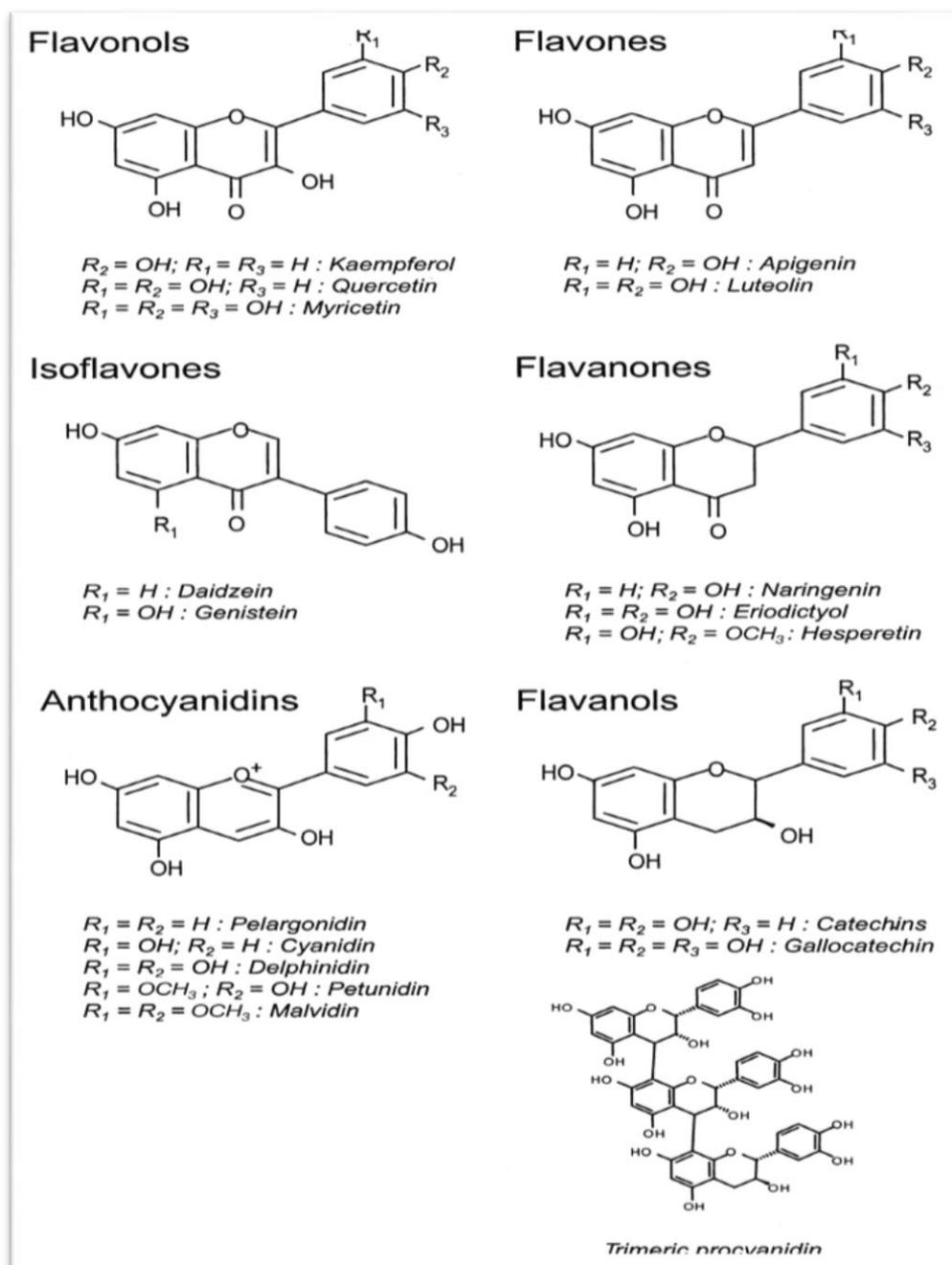


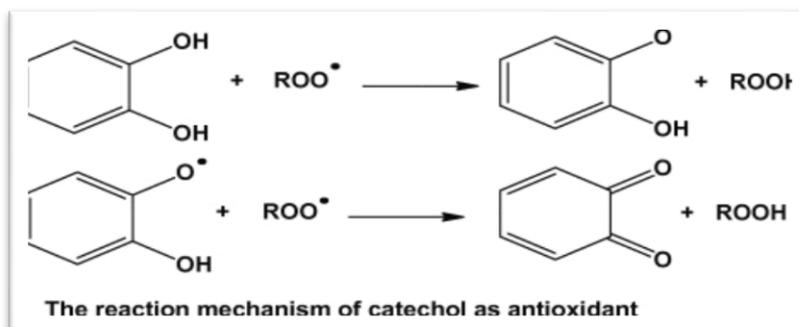
Figure 17 : Structure chimique des flavonoïdes (Bruneton ,1999)

### 2.3.1.3. Mécanisme d'action des composés phénoliques

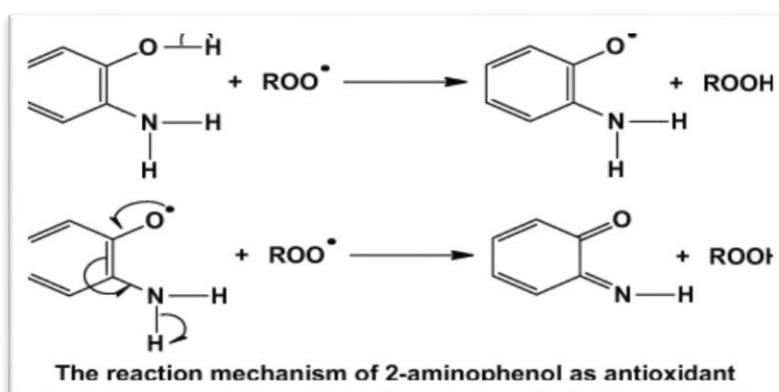
Le composé le plus actif comme antioxydant est celui qui possède plus d'un groupe actif (NH<sub>2</sub> ou OH) en position ortho. Ainsi, le composé antioxydant le plus actif est le catechol , qui possède deux groupes hydroxyle en position ortho (Valgimigli *et al.*,2008). La première chaîne portant un radical peroxyde était piégée par le transfert d'atome H à

partir de l'OH phénolique labile et la seconde par réaction avec le radical phénoxy résultant. Les catéchols peuvent piéger deux radicaux peroxylés (figures 18 et 19).

Plupart des conditions comme suit:



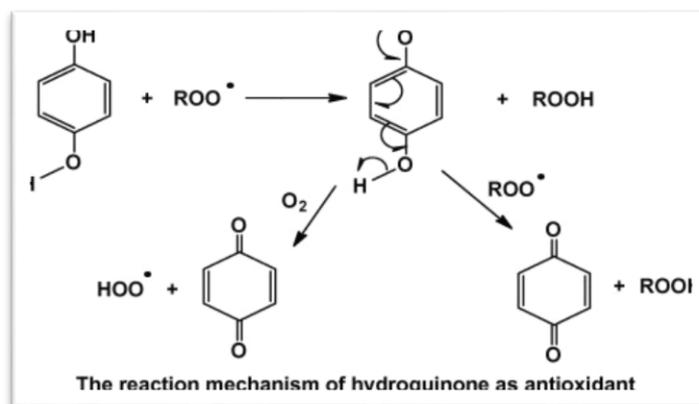
**Figure 18** : Mécanisme d'action antioxydante d'un cathecal (Valgimigli *et al.*, 2008)



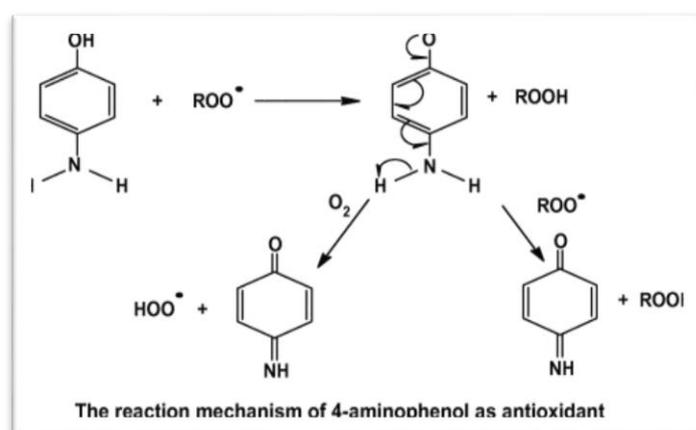
**Figure 19** : Mécanisme d'action antioxydante d'aminophenol (Valgimigli *et al.*, 2008)

L'activité antioxydante élevée de ces composés est due à la présence de groupes diactifs (OH ou NH<sub>2</sub>) en position 1,2 dans leur structure moléculaire. Cette caractéristique de structure a la capacité de former une liaison intramoléculaire d'hydrogène. L'atome de H qui n'est pas impliqué dans cette liaison sera alors abstrait par les radicaux libres, entraînant un radical phénoxy stable (Ordoudi *et al.*, 2006).

Ensuite, le 4-aminophénol, l'hydroquinone et la p-phénylènediamine étaient dans le second ordre comme antioxydants. Ces composés ont la même position de substituant. Le mécanisme de réaction de l'hydroquinone pourrait être expliqué dans les (figures 20 et 21).



**Figure 20 :** Mécanisme d'action antioxydante d'hydroquinone (Ordoudi *et al.*, 2006)



**Figure 21 :** Mécanisme d'action antioxydante de 4-aminophenol (Ordoudi *et al.*, 2006)

Dans le troisième ordre, le 3-aminophénol a une activité antioxydante médiée. Le 3-aminophénol a un groupe donneur d'électrons (NH<sub>2</sub>) mais en position méta. Cette position diminue l'effet du groupe amino sur la stabilité du radical phénoxyle résultant, de sorte que l'activité antioxydante du 3-aminophénol a diminué (Ordoudi *et al.*, 2006).

### 2.3.1 .2. *Olea europaea* et composés phénoliques

La recherche phytochimique effectuée sur *Olea europaea* a conduit à l'isolement des flavonoïdes, des flavones glycosides, des flavanones, des iridoïdes, des glycosides, des secoiridoïdes, des triterpènes, des biophénols (Obied, 2013). Des dérivés de l'acide benzoïque, des isochromans, et quelques autres types de métabolites secondaires à partir de différentes parties. Les composés phénoliques, les flavonoïdes, les secoiridoïdes (Jerman *et al.*, 2010). Sont présents dans presque toutes les parties de l'*Olea europaea*.

### 2.3.2.1. Constituants des fruits, graine, pulpe, l'huile d'olive et bois

Les secoiridoïdes constituent une partie importante des feuilles et des fruits d'*Olea europaea*. L'oléuropeïne (Grohmann,1981). le glycoside de secoiridoïde le plus abondamment trouvé dans les fruits d'*Olea europaea*. Les sécoiridoïdes et leurs glycosides se trouvent dans les fruits et graines d'olives Un grand nombre de flavonoïdes tels que la quercétine (Bianco *et al.*.,2004). Ont été signalés à partir des fruits.

Un certain nombre de composés phénoliques incluant l'acide 7-désoxylogogique (Bartolini *et al.*,1998). et l'acide gallique (de Feo et Senatore,1993) ont été identifiés dans les pulpe des olives (Peralbo-Molina *et al.*,2012).

L'huile d'olive est une source très riche en composés biophénoliques et possède de nombreuses propriétés biologiques intéressantes (Kuwajima *et al.*, 1988). la présence de l'hydroxytyrosol (Gil *et al.*,1998). Hydroxytyrosol acétate ( Golubev *et al.*,1987) et 3,4-dihydroxyphenylethyl - [(2,6-dimethoxy-3-ethylidene) tetrahydropyran-4- yl]acetate (Ali ,1982) a été rapportée dans l'huile d'olive extra vierge (EVOO) . l'hydroxytyrosol (Gil *et al.*, 1998). les flavonoides comme l'apigénine (Vlahov *et al.*, 1999). et luteoline (Sakouhi *et al.*, 2010). ont été rapportés à partir de L'huile d'olive et EVOO.

De nombreux métabolites secondaires importants ont été signalés à partir du bois d'*Olea. europaea*. Le ligostroside (Cronquist, 1981). un composant majeur de fruits et de graines d'olives, est également présent dans le bois (Servili *et al.*, 1999). un nouveau composé connu sous le nom d'acide oléanolique diméthyle (Campeol *et al.*, 2004). a été signalé à partir de la tige d'*Olea. europaea* (Khlif *et al.*,2012). (tableau 4).

## Chapitre 2 : *Olea europaea* et activités biologiques

**Tableau 4 :** Constituants phénoliques des fruits, graine, pulpe, l'huile d'olive et bois

Partie	Composé phénolique
fruits et graine	<p>- Hydroxytyrosol , Hydroxytyrosol rhamnoside ( <b>Bianchi et al.,1992</b> ).hydroxytyrosol glucoside (<b>Vlahov et al 2008</b>) .tyrosol, l'hydroxytyrosol-élénoolate (<b>Kanakis et al.,2013</b>).</p> <p>- 3,4-dihydroxyphényléthyl- [(2,6-diméthoxy-3-éthylidène) tétrahydropyranne-4-yl] acétate (<b>Shu,1996</b>). Oléoside (<b>Sibbett et al.,2005</b>).Quercétine-7-O-glucoside (<b>Maestroduran et al.,1994</b>). le luteolin-7-O-rutinoside (<b>Bastoni et al.,2001</b>). Apigénine-7-O-rutinoside (<b>Bianco et al.,2003</b> ).rutine (<b>Bianco et al.,2003</b>) . vicénine-2 (<b>Procopio et al.,2009</b>). luteolin-7- L'O-glucoside (<b>Bianchi et Pozzi,1994</b>). l'apigénine (<b>Vlahov et al.,1999</b>).</p>
pulpe des olives	<p>L'acide rosmarinique (<b>Pieroni et al.,1996</b>). acide ferulique ( <b>Darias et al.,1986</b>). l'acide cinnamique (<b>Darias et al.,1996</b>). acide shikimique (<b>Giordano et Levine,1989</b>).l'acide protocatéchuique (<b>Gastaldo,1974</b>) et l'acide gallique (<b>de Feo et Senatore,1993</b>).</p>
l'huile d'olive et EVOO	<p>Acétate d'hydroxytyrosol (<b>Golubev et al.,1987</b>). Hydroxytyrosol-elenolate (<b>Kanakis et al.,2013</b>). oleuropein aglycone (<b>USDA,2003</b>). ligstroside aglycone (<b>Bartolini et Petruccelli,2002</b>) .10-hydroxy oleuropein aglycone (<b>Kalua et al.,2007</b>).</p>

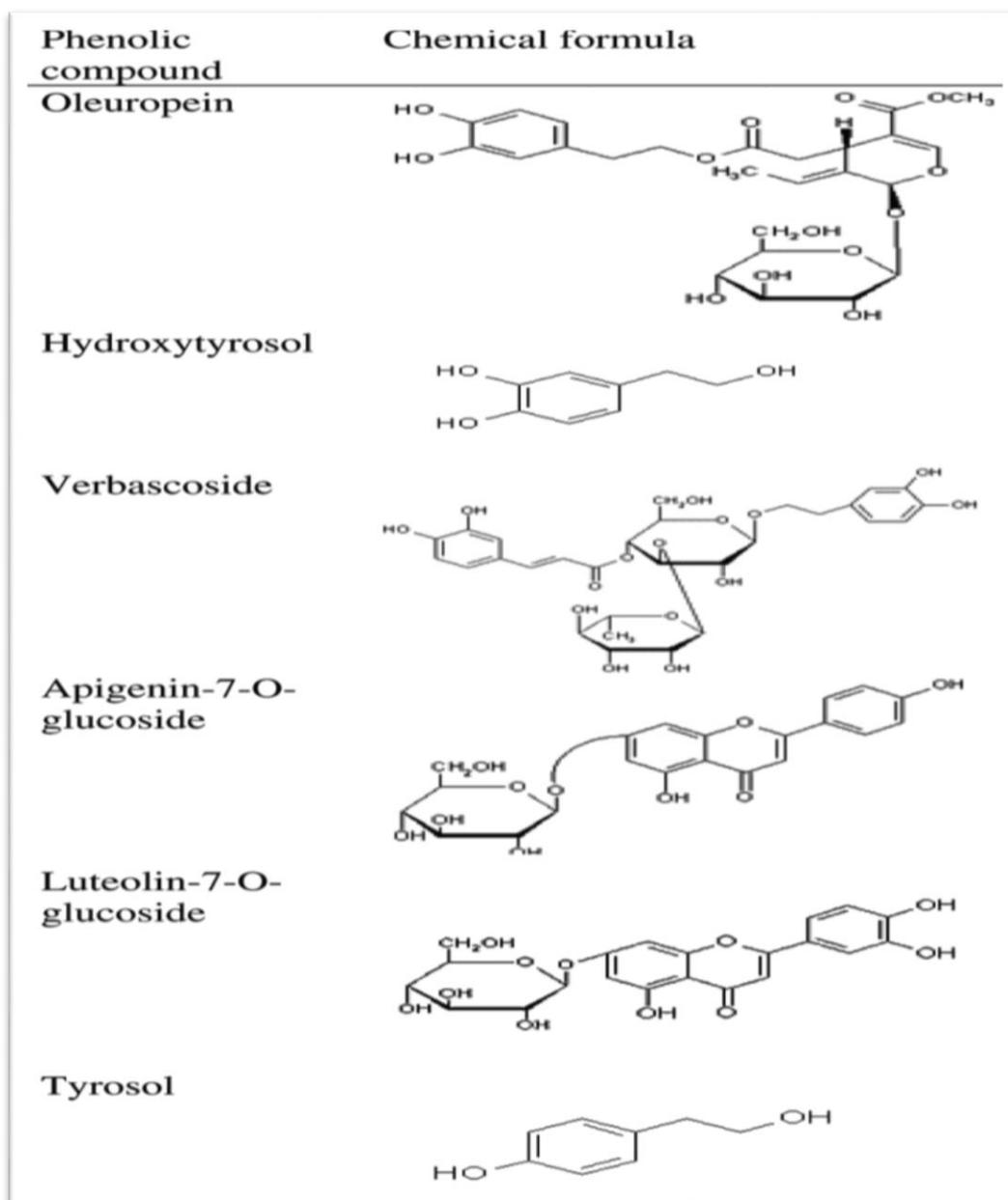
10-hydroxy-10-methyl oleuropein aglycone (**Cicerale et al.,2009**). vanillic acid (**Ribeiro et al.,1988**). p-coumaric acid (**Zargari,1997**).

### Bois

L'oléuropeine-3 " - éther méthylique (**Pérez et al.,2005**). 7 " - S-hydroxyoleuropeine (**Gooch,2005**) .oleuropeine-3'-O- $\beta$ -D-glucoopyranoside (**Médail et al.,2001**).ligstroside-3'-O- $\beta$ -D - glucoopyranoside (**Bracci,2011**).

### 2.3.2. Composition phénolique des feuilles d'olives

Les feuilles sont particulièrement riches en composés phénoliques. L'oléuropeine a été rapportée à partir de l'extrait méthanolique de feuilles (**Kuwajima et al.,1988**).L'oleuropeine et d'autres secoiridoïdes tels que le sérolinguide (**Parras Rosa,1996**). l'oléoside (**Sibbett et Ferguson,2005**). le 6'-Ep-coumaroyl-secologanoside (**Soler-Rivas et al,2000**). et le 6'-O - [(2E) -2,6-diméthyl-8- Hydroxy-2-octénoyloxy] - secologanoside (**Ayerza et Coates,2004**) .et l'hydroxytyrosol ont été isolés de l'extrait méthanolique de feuilles (**Karioti et al.,2006**). (Figure 22) .



**Figure 22 :** Structure chimique de l'oleuropein et l'hydroxytyrosol (Principale et al .,2010)

Les flavonoïdes constituent également une partie des feuilles d'*Olea Europaea*. En outre, des alcools linéaires terpéniques et des dialcools terpéniques ont également été rapportés à partir de l'extrait d'hexane des feuilles d'*Olea europaea* (Guindaet al., 2002) (Tableau 5).

Tableau 5: Composition phénolique des extraits et fraction des feuilles d'olive

Extrait/Fraction	Composé phénolique
Extrait d'acétate d'éthyle	L'oléoside (Sibbett <i>et al.</i> ,2005). L'élastomère d'hydroxytyrosol (Kanakis <i>et al.</i> ,2013) . L'ester méthylique d'acide élénolique (Zohary <i>et al.</i> ,2012) .Ligostroside ( Cronquist,1981) . Glycosides secoolidoïdes Oleuricine A (Kaniewski <i>et al.</i> ,2012) .L'Oleuroside (Erbay et Icier,2010).
Extrait aqueux	(oleaceine) (Wise,1967) .
Fraction soluble d'acétate d'éthylène	$\beta$ -amyrine (Paiva-Martins et Gordon,2001). L'acide oléanolique (Schumacher <i>et al.</i> ,2002). l'érythrodiol (Duquesnoy <i>et al.</i> ,2007). L'apigénine-7-O-rutinoside (Bianco <i>et al.</i> ,2003). La rutine (Bianco <i>et al.</i> ,2003). Et le luteolin-7-O-glucoside (Bianchi et Pozzi,1994). Glycosides de flavone, luteolin-7,4'-O-diglucoside (Cardoso <i>et al.</i> ,2011). Diosmetin (Aouidi <i>et al.</i> ,2011) .Et apigénin-7-O-glucoside (Bianco <i>et al.</i> ,1998).

### 2.4. Usages d'*Olea europaea*

L'*Olea europaea* est largement utilisé dans la médecine traditionnelle pour un large éventail de maladies dans divers pays. L'écorce, les fruits, les feuilles, le bois, les graines et l'huile sont utilisés sous différentes formes, seuls ou parfois en combinaison avec d'autres herbes. (Tableau 6) .

**Tableau 6:** Utilisation d'*Olea europaea* dans la médecine traditionnelle

<b>Partie/préparation utilisation</b>	<b>Maladie/utilisation</b>	<b>Référence</b>
<b>Fruits et feuilles</b>	Hypoglycémie ,Hypotension	<b>(Amel,2013).</b>
<b>Infusion des fruits et feuilles</b>	Antibioque	<b>(Sheth et al.,2005).</b>
<b>Décoctions de feuilles séchées et de fruits / usage oral</b>	Diarrhée, infections respiratoires et urinaires	<b>(Sheth et al.,1991).</b>
<b>Huile d'olive / appliquée sur le cuir chevelu</b>	Pour prévenir la perte de cheveux	<b>(Zargari,1997).</b>
<b>Extrait bouilli de feuilles fraîches / prises par voie orale</b>	Traiter l'asthme	<b>(Lawrendiadis,1961).</b>
<b>Extrait bouilli de feuilles séchées / prises par voie orale</b>	Traiter l'hypertension	<b>(Ribeiro et al.,1988).</b>
<b>Feuilles extraites dans de l'eau chaude</b>	Diurétique	<b>(Vardanian,1978).</b>

## Chapitre 2 : *Olea europaea* et activités biologiques

<b>Huile d'olive</b>	Appliqué sur les membres fracturés	(Ghazanfar et Al-Al-Sabahi,1993)
<b>Infusion de feuilles / usage oral</b>	Antipyrétique	(Gastaldo,1974).
<b>Fruits d'olive</b>	Nettoyant pour la peau	(Fujita <i>et al.</i> ,1995).
<b>Infusion de feuilles / usage oral</b>	Anti-inflammatoire, tonique	(Sánchez-González <i>et al.</i> ,2013).
<b>Préparation des feuilles</b>	Traiter la goutte	(Flemmig <i>et al.</i> ,2011).
<b>Feuilles d'<i>O. europaea</i></b>	Antibactérien	( Haloui <i>et al.</i> 2010.)
<b>Décoction des feuilles</b>	Antidiabétique, antihypertenseur	(Tahraoui <i>et al.</i> ,2007).
<b>Fruits et feuilles</b>	Hémorroïdes, rhumatismes et vasodilatateurs	(Süntar <i>et al.</i> ,2010).
<b>Infusions de feuilles</b>	Traitement des infections oculaires	(Guerin et Reveillere,1985).

### 2.5. Pharmacologie

#### 2.5.1. Activité antidiabétique

La plante a été utilisée par les praticiens du folk pour traiter le diabète.

**Al-Azzawie et Alhamdani, (2006).** Ont proposé que les patients antidiabétiques puissent être traités avec de bons antioxydants car l'inhibition du stress oxydatif réduit les taux de glycémie. Il a été suggéré que l'effet antidiabétique de l'oléuropeine et de l'hydroxytyrosol pourrait être dû à leur capacité à restreindre le stress oxydatif largement associé aux complications pathologiques du diabète (**Jemai et al.,2009**).

De manière plus intéressante, les extraits, en plus d'abaisser le taux de glycémie, le cholestérol total, l'urée, l'acide urique, les triglycérides et la créatinine, ont également augmenté les taux sériques d'insuline chez les diabétiques de type 2. Diverses études ont proposé que l'extrait de feuille d'olive puisse être utilisé comme agent antidiabétique (**Eidi et al.,2009**). Autre étude ont elucidé que l'extrait d'éthyle acétate des olives de chemlal a présenté une excellente activité inhibitrice in vitro contre les enzymes  $\alpha$ -amylase et glucosidases (**Dekdouk et al.,2015**).

#### 2.5.2. Activité anticancéreuse

Les constituants d'*Olea europaea* ont montré de très bonnes activités anticancéreuses sur différents types de cancers (**Casaburi et al.,2013**). Les activités antiprolifératives et apoptotiques de l'érythrodiol (**Duquesnoy et al.,2007**). Dans les cellules HT-29 de carcinome colorectal humain (**Juan et al., 2008**). Il a inhibé la croissance cellulaire sans toxicité dans les cellules d'adénocarcinome du colon. De même, des études ont été réalisées sur des extraits d'eau et d'extraits méthanoliques de feuilles d'olivier contre le cancer et les cellules endothéliales. Ces extraits bruts ont été trouvés pour inhiber la prolifération cellulaire de l'adénocarcinome du sein humain (MCF-7) (**Grohmann,1981**) .

#### 2.5.3. Activité antioxydante

L'oléuropeine et l'hydroxytyrosol ont présentent une activité antioxydante élevée (**Le Tutour et Guedon ,1992**) tandis que le tyrosol n'a présenté aucune activité antioxydante ni prooxydante .L'oléuropeine a également été évaluée pour son activité

antioxydante *in vitro* à l'aide d'un test de chimioluminescence et s'est révélée avoir une activité antioxydante remarquable (Speroni *et al.*,1998).

Quatre composés phénoliques majeurs présents dans l'huile d'olive, à savoir l'hydroxytyrosol (Gil *et al.*,1998). L'oleuropeine (Grohmann,1981). L'hydroxy-triesol-élenolate (Kanakis *et al.*,2013). Et le 3,4-dihydroxyphényléthanol-acide élenique dialdéhyde (Wise,1967). Ont montré de manière significative l'effet protecteur pour les globules rouges du dommage oxydatif (Paiva-Martins *et al.*,2009).

la peroxydation des lipides l'oxydation des protéines a également été étudié. La pulpe d'olive a montré une activité importante pour la protection de la peroxydation des lipides (Nadour *et al.*,2012).

### 2. 5.4. Activités antimicrobiennes

L'*Olea europaea* a été utilisé comme un remède populaire pour la guérison de nombreux troubles infectieux d'origine bactérienne, fongique et virale. Plusieurs études ont été effectuées dans le passé en validant le potentiel antimicrobien et antiviral d'*Olea europaea* (Adnan *et al.*,2014). Les composés phénoliques des feuilles d'olives ont également été évalués contre plusieurs microorganismes qui sont des agents causaux d'infections intestinales et respiratoires humaines, y compris des bactéries Gram positives (*Bacillus cereus*, *B. subtilis* et *Staphylococcus aureus*), des bactéries Gram négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et des champignons comprenant *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans* (Sudjana *et al.*,2009).

Les extraits de feuilles d'olive présentaient une activité antimicrobienne relativement élevée contre *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas aeruginosa* en utilisant la méthode de diffusion du disque (Ko *et al.*,2009).

Les activités bactéricides et fongicides des solutions d'olives de table sans sel ont été évaluées contre plusieurs microorganismes phytopathogènes (Medina *et al.*,2011).

### 2.5.6. Activités antihypertenseurs et cardioprotectives

L'hypertension est à l'origine de maladies cardiaques et peut causer des accidents vasculaires cérébraux, des maladies artérielles périphériques et des maladies rénales chroniques si elles ne sont pas traitées. De nombreux produits naturels ont été jugés efficaces contre l'hypertension. L'huile d'olive a été suggérée comme une source naturelle et peu coûteuse de contrôle de l'hypertension (Somova *et al.*,2004).

### 2.5.7. Activités neuroprotectionnelles

Il a été signalé que le régime méditerranéen a un effet sain sur ses personnes et qu'ils ont un risque réduit de risques neurodégénératifs (Iriti *et al.*,2010 ;Trichopoulou *et al.*,2000). L'extrait de feuille d'olivier a été étudié pour la douleur neuropathique diabétique sur des modèles *in vitro* et *in vivo*. Selon les résultats obtenus, l'extrait a réduit le volume d'infarctus, la perméabilité à la barrière hémato-encéphalique, l'œdème cérébral et l'amélioration du déficit neurologique après l'occlusion transitoire de l'artère cérébrale moyenne (Mohagheghi *et al.*,2011).

Ainsi, les résultats ont suggéré l'utilisation d'extrait de feuilles d'olivier et d'oléuropeine dans le traitement de la maladie de Parkinson (Pasban-Aliabadi *et al.*,2013).

### 2.5.8. Activités anti-inflammatoires et antinociceptives

L'huile d'olive extra vierge a montré une activité anti-inflammatoire remarquable due à oleocanthal (Ali-Shtayeh *et al.*,2012). Un composé présent dans l'huile d'olive extra vierge (EVOO) qui a un profil remarquablement similaire à l'ibuprofène, un médicament anti-inflammatoire synthétique (Beauchamp *et al.*,2005). De plus, L'administration intrapéritonéale d'huile essentielle d'*Olea. europaea* à des doses de 100, 200 et 300 mg / Kg a entraîné une réduction significative des constriction abdominales induites par l'acide acétique et de l'œdème de la patte chez la souris (Haloui *et al.*,2010).

***Partie II***  
***Etude***  
***expérimentale***

# ***Chapitre 1 :*** ***Matériels et Méthodes***

### 1. Matériel et Méthodes

#### 1.1. Matériel biologique

##### 1.1.1. Matériel végétal

Les feuilles de la plante *Olea Europaea.L* ont été récoltées en juin 2011 à partir de la région de Oued Souf –Sud Est Algérien. Les feuilles sont séchées à l'ombre et à température ambiante dans un endroit sec et aéré.

Le matériel végétal séché est par suite réduit en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre résultante est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

##### 1.1.2. Produits chimiques et appareillage

Les produits chimiques utilisés sont : Chlorure de sodium (Na Cl),  $\lambda$ -carragénine, violet de gentiane, Acide Trichloroacétique (TCA), Acide Tiobarbiturique (TBA), *n*-Butanol (BoOH), peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Les appareils utilisés sont : Balance (OHAUS), Bain Marie(MEMETT), Etuve universelle de 5 à 220°C avec ventilation (MEMMERT),Vortex (VELP), Centrifugeuse (SIGMA) , Microscope optique(MOTIC), micros pipettes, cellule de Malassez, Spectrophotomètre UV-Visible double faisceau (JENWAY 6305 UV/VIS) ,

##### 1.1.3. Matériel animal

Dans Cette étude on a utilisé 15 souris de souche Wistar Albinos, de sexe femelle dont le poids varie entre 25 et 30 grammes, fournis par le département de pharmacie, faculté de médecine, Constantine.

Elles sont utilisées après une période d'adaptation de 3 mois au sein de l'animalerie du département des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri Constantine. Les souris étaient placées dans des cages en plastiques où chaque cage regroupe 5 souris où elles ont l'accès libre à l'eau et à l'alimentation.

Les souris sont maintenues à une température ambiante 25-28 C° et photopériode de 8h à 16h. Elles ont été traitées conformément aux principes énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.

### 1.2. Méthodes

#### 1.2.1. Extraction

Les feuilles d'olivier séchées ont été broyées à une poudre fine à l'aide d'un moulin. Le poudre obtenu (230g) a été macéré avec 1 l de solvants d'extraction (petroleum d'ether, Chloroforme et méthanol) (Cioffi *et al.*,2010). L'extrait méthanolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange. L'extrait brut a été séché par évaporation sous pression réduite dans un rotavapor à 40 ° C (BUCHI). Sa teneur totale en phénols, déterminée par le dosage de Folin-Ciocalteau , était de 81 mg GAE / g d'extrait sec.

#### 1.2. 2. Induction de l'inflammation par la $\gamma$ -carragénine

La  $\gamma$ -carragénine (1%) qui est un groupe complexe de polysaccharides, et est injectable pour induire une réponse inflammatoire, cette inflammation induite par la  $\gamma$ -carragénine est aiguë, non immunisée, bien étudiée et hautement reproductible (Di rosa, 1972).

Dans cette étude, l'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles de l'*Olea europaea* est évalué en utilisant la péritonite induite chez les souris par l'injection de  $\gamma$ -carragénine (1%) comme modèle expérimental d'inflammation aiguë.

##### 1.2.2.1. Traitement

Le protocole utilisé a été adapté de la méthode décrite par (Souza et Ferreira , 1985)

Pour cela, trois groupes de 5 souris sont formés comme suit :

**Groupe témoin :** les souris reçoivent l'injection intra péritonéale de 0,2 ml de (Na Cl) 0,9% .

**Groupe contrôle positif :** les souris sont traités par 0,2 ml de  $\lambda$ -carragénine (1%) par la voie intra péritonéale.

**Groupe test :** les souris sont traitées par voie orale avec 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles de l'*Olea europaea* .L , une heure avant l'injection intra péritonéale de 0,2 ml de  $\gamma$ -carragénine (1%).

### 1.2.2.2. Sacrifice des animaux, récupération de l'exsudat

Quatre heures après l'injection de  $\gamma$ --carragénine (1%) ou du (NaCl) 0,9%, les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale et soumises à une incision dermique au niveau de l'abdomen. Cette incision permet d'atteindre la cavité péritonéale qui est ensuite rincée à l'aide de 2 ml de (NaCl) 0,9% stérile. La solution de lavage est ensuite aspirée afin de récupérer l'exsudat qui s'y est formé et les neutrophiles ayant migrées vers la cavité péritonéale.

### 1.2.2.3. Comptage des neutrophiles (PMNs)

Le nombre des neutrophiles récupérés au niveau de la cavité péritonéale de chaque souris est déterminé par comptage sur la cellule de malassez. Pour cela, 5 $\mu$ l de la suspension cellulaire sont rigoureusement mélangés à 495  $\mu$ l de la solution Turk. Une goutte de la suspension cellulaire est ensuite déposée à l'aide d'une micro pipette contre une lamelle montée sur la cellule. Les PMNs sont comptés dans les 100 carreaux de la cellule à l'aide de l'objectif  $\times 10$  d'un microscope ( MOTIC ) La concentration cellulaire est ensuite déduite par la formule suivante :

**[C]= N $\times$ 10 $\times$ 1000 où :**

**\*N :** nombre de cellules comptées dans la totalité de la cellule.

**\*10 :** le facteur de dilution.

**\*1000 :** le facteur de la cellule utilisée pour obtenir le nombre de cellules dans un volume égale à un millilitre.

Les pourcentages d'inhibitions de la migration des PMNs dans la cavité péritonéale des souris traitées par les différents extraits sont déterminés par rapport au résultat du groupe contrôle positif considéré comme 100% de migration en appliquant la formule suivante :

**%inhibition= (NC-NT/NC)  $\times$ 100**

- **NC :** Nombre de PMNs récupérés dans la cavité péritonéale des souris contrôle positifs.
- **NT :** Nombre de PMNs récupérés dans la cavité péritonéale des souris tests.

### 1.2.3. Dosage biochimique du stress oxydant dans l'exsudat

#### 1.2.3.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA) dans l'exsudat

##### 1.2.3.1.1. Principe

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la l'oxydation des acides gras polyinsaturés (lipides peroxydation) médiée par les radicaux libres.

Le dosage repose sur la formation en milieu acide et chaud (100°C) entre le MDA et le thiobarbituriques (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 520 nm, extractible par les solvants organiques comme le *n*-Butanol.

##### 1.2.3.1.2. Méthode de dosage

Un volume de (500µl) d'acide thiobarbiturique TBA 0,67%) et (250µl) d'acide Trichloroacétique (TCA 25%) sont ajoutés à (250µl) d'exsudat. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 45 minutes. Après l'arrêt de la réaction dans la glace refroidi, 2 ml de *n*-Butanol (BuOH) sont additionnés (**Ohkawa *et al.* , 1979**).

Après la centrifugation de 10 minutes à 3000 tours /min, la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 520 nm.

\*Calcul

La densité optique des échantillons d'essai est directement proportionnelle à la concentration de MDA dans l'échantillon et calculée par traçage par rapport au graphe standard. La concentration finale est exprimée en nmol /mL .

##### 1.2.3.2. Dosage de l'activité de la catalase dans l'exsudat

L'activité de catalase est déterminée selon la méthode de (**Aebi, 1984**). La méthode utilisée est basée sur les propriétés de la catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Aebi, 1984**). On effectue une lecture 412 nm.

### 1.2.3.2.1 Principe

Le principe repose sur la disparition de  $H_2O_2$  à 25°C par la présence de la source enzymatique dans l'exsudat.

### 1.2.3.2.2. Méthode de dosage

L'activité catalase est la mesure de la quantité d'enzyme active dans une préparation d'un mélange de (20µl) d'exsudat et de (200µl) de solution de  $H_2O_2$  à 30 % ; (500mM) de tampon phosphate (780µl) à pH = 7,5). La cinétique de décomposition du peroxyde d'hydrogène est suivie à une longueur d'onde de 412 nm .L'activité de la catalase est exprimée en  $\mu\text{mol } H_2O_2 / \text{min} / \text{ml}$ .

### 1-3- Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne arithmétique (M) des n valeurs obtenues ( $n=5$ )  $\pm$  l'écart moyen (SEM) [ $M \pm \text{SEM}$ ]. Le test ANOVA est utilisé pour évaluer la signification d'effet de l'extrait testé. Le seuil de significativité a été fixé à  $p < 0,05$ .

# ***Chapitre 2 :*** ***Résultats et Discussion***

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Résultats

#### 2.1.1. Étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*

Le nombre des Neutrophiles PMNs récupérés dans la cavité péritonéale des souris du groupe négatif (NaCl) ayant reçu une injection intra-péritonéale de 0,2ml de (NaCl) 0,9% (véhicule) était faible et ne dépasse pas les  $3.86 \times 10^6 \pm 3.28$  PMNs/souris (Figure 23). Par contre, les souris de groupe de contrôle positif injectés par la  $\gamma$ -carragénine (Car), présentent une cavité péritonéale riche en PMNs  $14.48 \times 10^6 \pm 1.15$  PMNs/souris (Figure 23).

L'administration de 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* induit une réduction significative ( $p < 0.05$ ) dans le développement de la péritonite chez les souris (Figure 23). En effet, le nombre des neutrophiles récupérés de la cavité péritonéale de ces souris traités était réduit de près de 56.76%. De plus, le traitement des souris avec 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* a également engendré une inhibition significative du nombre des neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale des souris  $42.28\% \pm 4.62$ .

#### 2.1.2. Étude de l'effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur le taux du MDA et sur l'activité de la catalase dans l'exsudat

##### 2.1.2.1. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur le taux du MDA dans l'exsudat

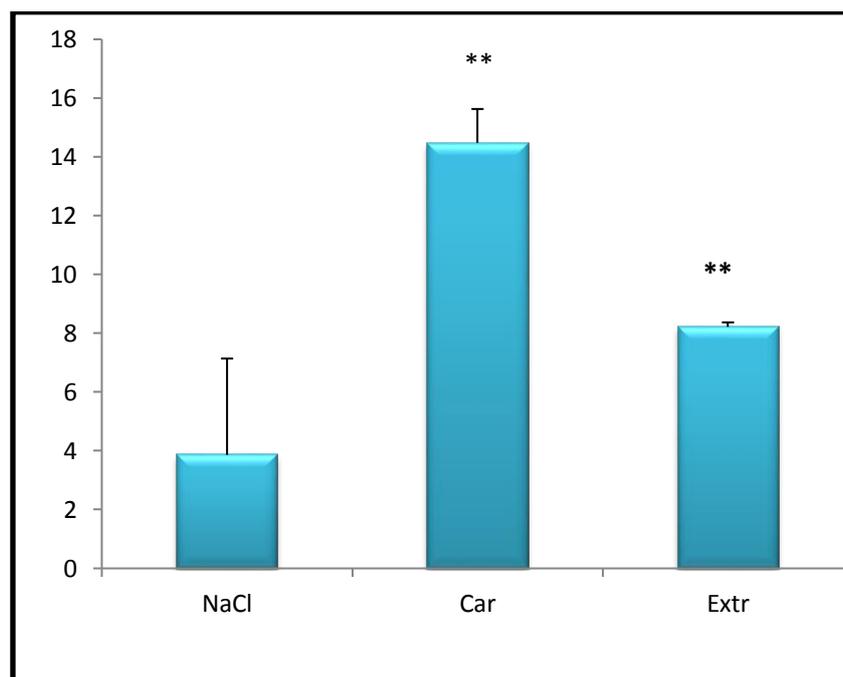
La concentration de MDA dans l'exsudat des souris du groupe négatif (NaCl) 0,9% ayant reçu une injection intra-péritonéale de 0,2ml de (NaCl) 0,9% (véhicule) était faible ( $0.017 \text{ nmol /mL} \pm 0.003$ ) (Figure 24). Par contre, une élévation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) du MDA est constatée chez les souris de groupe de contrôle positif injectés par la  $\gamma$ -carragénine (Car) ( $0.045 \text{ nmol /mL} \pm 0.007$ ).

Par ailleurs, l'administration de 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* induit une réduction significative ( $0.02 \text{ nmol /mL} \pm 0.01$ ) dans l'exsudat (Figure 24).

### 2.1.2.2. Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur l'activité de la catalase dans l'exsudat

Une élévation significative ( $p < 0.05$ ) de l'activité de la catalase est constatée dans l'exsudat ( $2.96 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{ml} \pm 0.17$ ) des souris du groupe négatif (NaCl) ayant reçu une injection intra-péritonéale de 0,2ml de NaCl 0,9% (véhicule). Par contre, les souris de groupe de contrôle positif injectés par la  $\gamma$ -carragénine (Car), présentent une réduction significative ( $p < 0.05$ ) de l'activité de la catalase dans l'exsudat ( $1.99 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{ml} \pm 0.49$ ). L'administration de 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* induit une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) sur l'activité de la catalase dans l'exsudat ( $2.63 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{ml} \pm 0.7$ ) (Figure 25).

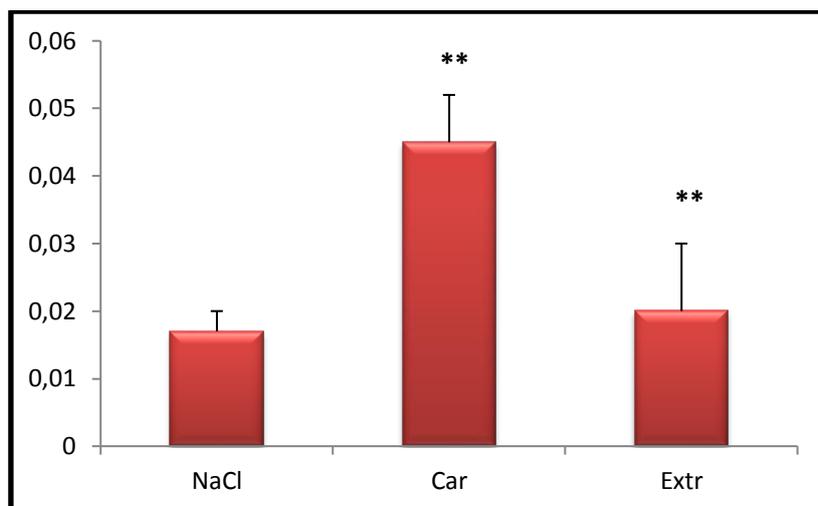
Nombre de neutrophiles  $\times 10^6$



**Figure 23 :** Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur le nombre de neutrophiles PMNs récupéré dans la cavité intra péritoniale des souris.

Groupe 1 (NaCl 0,9%), groupe 2(Car)  $\gamma$ -carragénine 1%, groupe3 (Extr) traité par gavage avec 200mg /kg de l'extrait d'*Olea Europaea*.L .Les valeurs sont données en moyenne  $n=5 \pm$  Ecart type (\*\* $p < 0.05$ ).

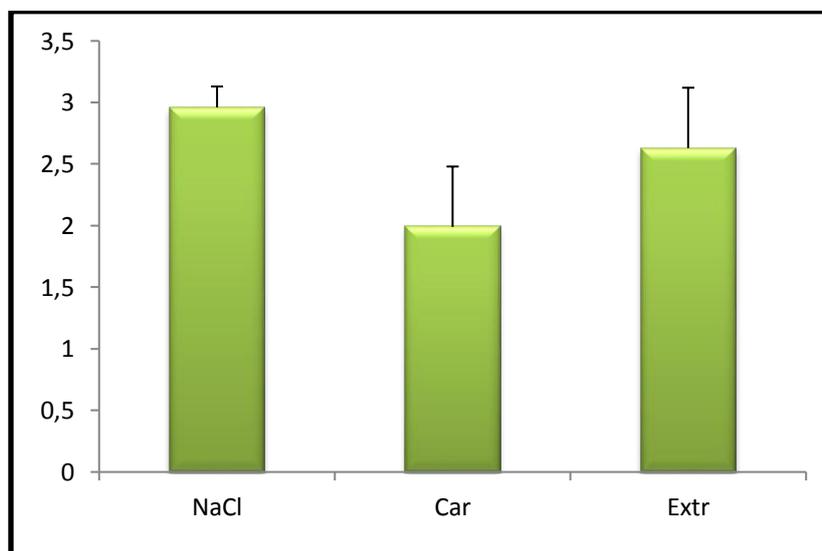
MDA nmol /mL



**Figure 24 :** Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur le taux du MDA dans l'exsudat.

Groupe 1 (NaCl) 0,9% , groupe 2 (Car)  $\lambda$ -carragénine 1%, groupe3 (Extr) traité par gavage avec 200mg /kg de l'extrait *Olea Europaea*.L .Les valeurs sont données en moyenne  $n=5 \pm$  Ecart type , (\*\* $p<0.05$ ).

$\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{ml}$



**Figure 25 :** Effet de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* sur l'activité de la catalase dans l'exsudat.

Groupe 1 (NaCl) 0,9% , groupe 2(Car)  $\gamma$ -carrageenane 1%, groupe3 (Extr) traité par gavage avec 200mg /kg de l'extrait *Olea Europaea*.L .Les valeurs sont données en moyenne  $n=5 \pm$  Ecart type , (\*\* $p<0.05$ ).

### 2.2.Discusion

Dans cette étude, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des feuilles d '*Olea europaea L* est réalisé en utilisant la péritonite aigue induite chez les souris par l'injection de  $\gamma$ -carragénine. La péritonite induite par la  $\lambda$ -carragénine est un modèle standard et pratique, largement utilisé pour l'évaluation des propriétés anti-inflammatoires de différents agents (**Serafini et al., 2015**). Le mécanisme cellulaire et moléculaire par lequel la  $\gamma$ -carragénine induit le processus inflammatoire est connu. La carragénine est une mucopolysaccharide sulfaté provenant d'une *Rhodophyceae*, elle provoque une inflammation typiquement liée à l'activation de la cyclooxygénase (**Di rosa, 1972**).

Cette inflammation est biphasique. En effet, il est connu que, chez l'animal vivant, la carragénine dans une première phase provoque la synthèse de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine. Ces facteurs provoquent des modifications vasculaires qui conduisent à l'exsudation plasmatique (**Di Rosa, 1972**). Dans une seconde phase, cette molécule de référence induit la synthèse de prostaglandines principalement, de protéases et de lysosomes.

Durant la phase tardive de ce processus inflammatoire (4-12h), ces facteurs chimio attractants induisent le recrutement des neutrophiles par chimiotactisme envers le site inflammatoire, où ils libèrent leur arsenal cytotoxique et d'autres médiateurs inflammatoires (**Carol et al ., 1997**).

Deux populations de cellules inflammatoires interviennent au cours de l'inflammation induite par la carragénine. Les neutrophiles prédominent durant les 12 premières heures. Ils sont ensuite remplacés par les monocytes qui se différencient en macrophages tissulaires. Ces mononucléaires dominent alors la réaction inflammatoire jusqu'à sa résolution après 48 heures (**Carol et al ., 1997**). En outre, le mécanisme d'action peut impliquer l'inhibition de la production de cytokines proinflammatoires (IL-6; IL-1 $\beta$ ) et de l'expression de COX-2 et à la stimulation de la cytokine anti-inflammatoire (IL-4) (**Moulin et Coquerel, 2002**) .

L'augmentation de nombre des PMNs dans la cavité péritonéale des souris durant les premières heures qui suivent l'injection de la  $\gamma$ -carragénine a été exploitée la présente étude pour évaluer l'effet anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea L.*

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que l'administration orale de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea L.* réduit significativement le nombre des PMNs recrutés dans la cavité péritonéale des souris comparée aux souris contrôle positif. Ces résultats concordent avec plusieurs études utilisant des modèles d'inflammation expérimentales qui ont montré que l'*Olea europaea* possède des effets biologiques importants y compris sa capacité à traiter les troubles inflammatoires (**Chebbi Mahjoub et al ., 2011**) . Ces effets anti-inflammatoires ont été attribués principalement à la présence dans les feuilles d'*Olea europaea* de différents composés phénoliques l'oleuropein et l'hydroxytyrosol (**Benavente Garcia et al ., 2000**) . L'oléuropeine s'est révélée être un antioxydant puissant doté de propriétés anti-inflammatoires (**Visioli et al., 1998**). Il Supprime la réponse de l'inflammation par l'atténuation de l'expression du kappa B du facteur nucléaire (NF- $\kappa$ B ) chez les animaux traités par CCl4 (**Domitavic et al., 2012**).

De plus , de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont montré l'effet inhibiteur de l'hydroxytyrosol sur les cyclooxygénases 1 et 2 et la réduction du taux de prostaglandines chez des rats subissant un œdème plantaire provoqué par la carragénine (**Procopio et al .,2009**) et l'effet suppresseur des cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ ) et la diminution de l'expression de la cyclooxygénase-2 et de l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS) dans des cultures cellulaire monocytaires humaines, le THP-1 traité avec des lipopolysaccharides (**Zhang et al .,2009**) .

Outre les composés phénoliques principaux, six flavonoïdes, Luteolin 7-O-glucoside, Luteolin, 7-O-rutinoside, 7-O-glucoside d'apigénine, rutine, Luteolin et apigénine ont été identifiés dans des feuilles d'olive (**Bouaziz et al., 2005**). Diverses études ont montré que les flavonoïdes sont capables d'inhiber les oxydants libérés par les leucocytes et d'autres phagocytes dans la zone inflammatoire ( **Dufall et al., 2003 ; Ait el cadi et al., 2012** ) et de supprimer l'inflammation associé aux gènes d'expression en bloquant les voies d'activation de NF-kappa B et AP-1 dans les macrophages alvéolaire des souris (**Chen et al .,2007**).

Le stress oxydatif peut progresser aux dommages oxydatifs impliquant des protéines cellulaires (contractiles, structurelles, et enzymatiques), des lipides, l'ADN et d'autres molécules d'une manière qui pourrait conduire à la fonction cellulaire anormale (**Madhavi et al., 1995**). Les résultats obtenus dans notre étude concernant la partie du stress oxydatif montrent une élévation bien définie de la concentration du MDA et une diminution de l'activité de la catalase dans l'exsudat chez les souris traités par la carragénine par rapport aux souris normales.

Le malondialdéhyde (MDA) est le paramètre le plus largement utilisé pour évaluer les dommages oxydatifs aux lipides (**Madhavi et al., 1995**). Ces résultats peuvent être expliqués par la diminution de l'activité antioxydante et l'oxydation des lipides qui est probablement induit par la libération en excès des espèces oxydantes : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), l'hydroxyle ( $\cdot OH$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), hypochlorite ( $HOCl$ ) et monoxyde d'azote ( $NO$ ) au cours des réactions inflammatoires (**Şener et al., 2007**) sous l'effet du système de la NADPH oxydase, la myeloperoxydase et la NO synthase inductible des neutrophiles (**Kettle et Winterbourn, 1997**).

La catalase est une enzyme antioxydante cytoplasmique importante qui détoxifie le  $H_2O_2$  à l'oxygène et à l'eau. La diminution de l'activité de la catalase peut être expliquée par la baisse de l'expression de cet antioxydant. **Clerch et al., (1996)** ont rapporté la réduction de l'expression et l'activité de la catalase dans le poumon des souris traité par le lipopolysaccharides (LPS).

L'élévation au niveau de la catalase a été trouvée en corrélation avec la diminution de MDA chez les souris traités par l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea*, montrant l'activité antioxydante de cet extrait (**Bouaziz et al., 2005**).

Ces résultats peuvent indiquer que les composés phénoliques y compris cet extrait peuvent soit augmenter la biosynthèse de la catalase ou réduire le stress oxydatif (**Bensalah et al., 2017**) via plusieurs mécanismes en appliquant l'effet chélateur des radicaux libres, l'action réductrice par la donation des électrons (**Granados-Principal et al., 2010**) et la réduction de la cytotoxicité de l'anion superoxyde (**Nakbi et al., 2011**).

En prenant en considération l'ensemble de ces données, il nous est permis de conclure que l'extrait méthanolique des feuilles de *Olea europaea* posséderait des propriétés antioxydantes en activant le système enzymatique antioxydant et en limitant la peroxydation

lipidique et activités anti-inflammatoires au moins par l'inhibition de recrutement des neutrophiles vers le foyer inflammatoire.

***Conclusion***

### Conclusion

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies chroniques et aiguë comme l'inflammation. Ce travail a été orienté pour évaluer l'influence de la phytothérapie à base de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea. L* avec une dose de 200mg/Kg contre le stress oxydant et l'inflammation aiguë engendrée chez les souris par la carragénine.

L'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea .L* à des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Les effets, en fonction de cette substance d'origine naturelle sur la péritonite des souris induit par la carragénine permettent de conclure qu'elle a également des propriétés activatrices du système enzymatique antioxydant et actions inhibitrices de la cyclooxygénase, anti-sérotoniques et anti-histaminiques. Les propriétés anti-inflammatoires de feuilles d'*Olea europaea. L* seraient liées à la présence de composés phénoliques l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine et les flavonoïdes possédant à la fois des actions antioxydantes et anti-inflammatoires. En conséquence, des expériences ultérieures utilisant des fractions riches en hydroxytyrosol et /ou en oleuropeine sont envisagées pour confirmer cette hypothèse et comprendre le mécanisme d'action des principes actifs de cette plante.

# ***Résumé***

## Résumé

Les activités antioxydante et anti-inflammatoire des feuilles de la plante *Olea Europaea.L* ont été étudiées *in vivo* par le modèle d'inflammation aiguë, engendrée par la carragénine chez la souris. L'administration de 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* induit une baisse significative ( $0.02 \text{ nmol /mL} \pm 0.01$ ) du MDA, une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) sur l'activité de la catalase dans l'exsudat ( $2.63 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/ml} \pm 0.7$ ), et une réduction significative ( $p < 0.05$ ) dans le développement de la péritonite chez les souris. En effet, le traitement des souris avec cette dose a également engendré une inhibition significative du nombre des neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale des souris  $42.28\% \pm 4.62$ . Il est possible de conclure que l'extrait méthanolique des feuilles de *Olea europaea* englobant les flavonoïdes, l'hydroxytyrosol et l'oleuropeine posséderait des propriétés anti oxydantes et activités anti-inflammatoires au moins par l'inhibition de recrutement des neutrophiles vers le foyer inflammatoire.

## Mots clés

Inflammation aiguë, neutrophiles, *Olea europaea*, MDA, catalase.

## **Abstract**

The antioxidant and anti-inflammatory activities of the leaves of the *Olea Europaea.L* plant were studied *in vivo* by the acute inflammation model, carrageenan-induced peritonitis in mice. The administration of 200 mg / kg of the methanolic extract of the leaves of *Olea europaea.L* induces a significant decrease ( $0.02 \text{ nmol / mL} \pm 0.01$ ) of MDA in, a significant increase ( $p < 0.05$ ) on the catalase activity in the exudate ( $2.63 \text{ } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 / \text{min / ml} \pm 0.7$ ) and a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the development of peritonitis in mice. Indeed, the treatment of mice with this dose also caused a significant inhibition of the number of neutrophils recruited in the peritoneal cavity of the mice  $42.28\% \pm 4.62$ . It is possible to conclude that the methanolic extract of the leaves of *Olea europaea* including flavonoids, hydroxytyrosol and oleuropein would possess antioxidant properties and anti-inflammatory activities at least by inhibition of recruitment of neutrophils towards the inflammatory focus.

## **Key words**

Acute inflammation, neutrophils, *Olea europaea*, MDA, catalase.

## الملخص

عني هذا البحث بدراسة الأنشطة المضادة للأكسدة وتلك المضادة للالتهاب الحاد لمستخلص أوراق شجرة الزيتون *Olea Europaea.L* وذلك *in vivo* وباستعمال نموذج الالتهاب الحاد والمحرض بمادة الكراجين على مستوى الغشاء الصفاقي لإينات الفئران. أدى استعمال جرعة 200 مع/كغ من وزن الحيوان من المستخلص الميثانولي لأوراق *Olea europaea.L* إلى انخفاض معنوي في مستوى المالون دي أدهيد ( $0.02 \text{ nmol / mL} \pm 0.01$ ) ( $p < 0.05$ ) وارتفاع معنوي ( $2.63 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 / \text{min / ml} \pm 0.7$ ) لنشاط إنزيم catalase بالرشاحة الالتهابية، وتراجع معنوي في تطور التهاب الغشاء الصفاقي لدى الفئران. حيث تثبطت هذه الجرعة تشغيل كريات الدم البيضاء عديدة الأنوية وذلك بنسبة تثبيطية قدرها  $4.62 \pm 42.28\%$ . واستنادا على ما توصلت إليه هذه الدراسة يمكن الاستنتاج بأن المستخلص الميثانولي لأوراق شجرة الزيتون *Olea Europaea.L* الضام للمركبات الفلافونيدية، وoleuropein، hydroxytyrosol يحظى بخصائص مضادة للأكسدة وأخرى مضادة للالتهاب من خلال آلية تثبيط تشغيل كريات الدم البيضاء عديدة الأنوية باتجاه موقع الحدث الالتهابي.

## الكلمات المفتاحية

الالتهاب الحاد، *Olea Europaea.L*، كريات الدم البيضاء عديدة الأنوية، المالون دي أدهيد، إنزيم catalase.

# ***Références bibliographique***

## Listes des références

### A

**Adnan M., Bibi R., Mussarat S., Tariq A., Shinwari ZK. (2014).** Ethnomedicinal and phytochemical review of Pakistani medicinal plants used as antibacterial agents against *Escherichia coli*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13 :1-40 .

**Aebi H. (1974).** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105 :121-126.

**Ait el cadi M., Makram S., Ansar M., Khabbal Y., Alaoui K., Cherrah Y., Taoufik J. (2012).** Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 70: 113-116.

**Al-Azzawie H. F., Alhamdani M.-S. S.(2006).** Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*,78 :1371–1377.

**Ali-Shtayeh MS., Jamous R M., Jamous R M. (2012).** Complementary and alternative medicine use amongst Palestinian diabetic patients. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 18 :16–21.

**Amel B. (2013).** Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras district. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5:12–20.

**Aouidi F., Dupuy N., Artaud J., et al. (2011).** Rapid quantitative determination of oleuropein in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses. *Industrial Crops and Products*, 37 :292–297.

**Arab K ., Bouchenak O ., Yahhiaoui K . (2013) .**Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique SCIENCE*, 09 :159 – 166 .

**Ayerza R., Coates W. (2004).** Supplemental pollination—increasing olive (*Olea europaea*) yields in hot, arid environments. *Experimental Agriculture*, 40 :481–491.

### B

**Barrieto L. (2014).** Modulation fonctionnelle des cellules dendritiques par les « Neutrophil Extracellular Traps ». **Cytokines, chimiokines et immunopathologie**, 01 :11-16.

- Basım E., Basım H., Abdulai M., Baki D., Oztürk N. (2017).** Identification and characterization of *Alternaria alternata* causing leaf spot of olive tree (*Olea europaea*) in Turkey. *Crop Protection*, 92 :79-88.
- Bastoni L., Bianco A., Piccioni F., Uccella N. (2001).** Biophenolic profile in olives by nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*, 73 :145–151.
- Beauchamp G K., Keast R. S. J., Morel D., et al. (2005).** Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*, 437 :45–46.
- Beaumont S. (2005).** Biochimie cour, exercices, animales et QCM corrigés. Édition Dound. 2<sup>e</sup> Édition. Paris, P : 115-118.
- Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J., Younos C. (1991).** Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *Journal of Ethnopharmacology*, 35 :123–143.
- Ben Salah M., Hafedh A., Manef A. (2017).** Anti-diabetic activity and oxidative stress improvement of Tunisian Gerboui olive leaves extract on alloxan induced diabetic rats. *JMES*, 8: 1359-1364.
- Benavente-Garcia O., Castilla J., Ortuno J., Lorente J., Ortuno A., Del Rio JA. (2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. Leaves. *Food Chemistry*, 68:457-462.
- Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., et al. (2007).** Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12 :1679–1719.
- Bianchi G., Murelli C., Vlahov G. (1992).** Surface waxes from olive fruits. *Phytochemistry*, 31 :3503–3506.
- Bianchi G., Pozzi N. (1994).** 3,4-Dihydroxyphenylglycol, a major C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub> phenolic in *Olea europaea* fruits. *Phytochemistry*, 35 :1335–1337.
- Bianco A., Scalzo R L., Scarpati M L. (1993).** Isolation of cornoside from *Olea europaea* and its transformation into halleridone. *Phytochemistry*, 32 :455–457.

**Bianco A., Buiarelli F., Cartoni G. P., Coccioli F., Jasionowska R., Margherita P. (2003).** Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters, Part I. *Journal of Separation Science*, 26 :409–416.

**Bianco A., Buiarelli F., Cartoni G. P., Coccioli F., Jasionowska R., Margherita P. (2003).** Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in virgin olive oil, Part II. *Journal of Separation Science*, 26 :417–424.

**Bianco A., Mazzei R. A., Melchioni C., Scarpati M. L., Romeo G., Uccella N. (1998).** Microcomponents of olive oil. Part II. Digalactosyldiacylglycerols from *Olea europaea*. *Food Chemistry*, 62 :343–346.

**Bianco A., Melchioni C., Ramunno A., Romeo G. (2004).** Uccella N. Phenolic components of *Olea europaea*—isolation of tyrosol derivatives. *Natural Product Research*. 18 :29–32.

**Bichoy HG., Couture R., Sirois P. (2003)** .Dualité fonctionnelle des récepteurs des kinines en physiopathologie. *Med Sci (Paris)*, 19: 1101–1110.

**Blain H., YJouzeau J., Nette P., Jeandel C. (2000).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2.intérêt et perspectives, 21 :978-988 .

**Blétry O., KahnJ-E. ,SomogyiA. (2006).**Immunopathologie , réaction inflammatoire. Édition de Masson . 2<sup>e</sup> Édition.Paris,P :18-20.

**Bouallagui Z., Han J., Isoda H., Sayadi S. (2011).** Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 Human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 197-184.

**Bouaziz M., Sayadi S. (2005).**Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree .*Eur.J.Lipid Sci.Technol*, 107:497-504.

**Bracci T., Busconi M., Fogher C., Sebastiani L. (2011).** Molecular studies in olive (*Olea europaea* L.): overview on DNA markers applications and recent advances in genome analysis. *Plant Cell Reports*, 30 :449–462 .

**Breton C., Médail F., Pinatel C., Bervillé A. (2006)** . De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures, 15 : 329-335.

**Bruneton J. (1999)**. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème oleuropein. *Rejuvenation Research* ,16 :134–142.

## C

**Calder PC., Albers R., Antoine J-M., Blum S. (2009)**. Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. *Journal of Nutrition* ,101 : 1-45.

**Campbell DJ. (2000)**. Towards understanding the kallikrein-kinin system: insights from measurement of kinin peptides. *Send to Braz J Med Biol Res*, 33 :665-677.

**Campeol E., Flamini G., Cioni P L., Morelli I., D'Andrea F., Cremonini R. (2004)**. 1,5-Anhydroxyitol from leaves of *Olea europaea* . *Carbohydrate Research*,339 :2731–2732.

**Cárdeno A., Sánchez-Hidalgo M., Rosillo M A., de la Lastra C A. (2013)**. Oleuropein, a secoiridoid derived from olive tree, inhibits the proliferation of human colorectal cancer cell through downregulation of HIF-1 $\alpha$ . *Nutrition and Cancer*, 65 :147–156.

**Cardoso S M., Falcão S. I., Peres A. M., Domingues M R M. (2011)**. Oleuropein/ligstroside isomers and their derivatives in Portuguese olive mill wastewaters. *Food Chemistry*, 129:291–296.

**Carol AF., Timothy M ., Wright .MD. (1997)** .Cytokines in acute and chronic inflammation .*Frontiers in Bioscience* , 2 : 2-26.

**Casaburi I., Puoci F., Chimento A., et al. (2013)**. Potential of olive oil phenols as chemopreventive and therapeutic agents against cancer: a review of *in vitro* studies. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57 :71–83.

**Chakravarti A., Allaey I., Poubelle PE. (2007)**. Neutrophile et immunité Est-ce inné ou acquis. *MEDECINE : SCIENCES* ,23 : 862-867.

**Chambon J-P., Zerbib CP., Helon AK. (2012).** Pathologie vasculaire du tube digestif physico pathologie ,diagnostic et Traitement . Édition springer . 2<sup>e</sup> Édition.Paris., P :41.

**Charoenprasert S., Mitchell A. (2012).** Factors influencing phenolic compounds in table olives (*Olea europaea*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,60 :7081–7095.

**Chebbi Mahjoub R., Khemiss M., Dhidah M., Dellaï A., Bouraoui AF. (2011).** Chloroformic and Methanolic Extracts of *Olea europaea* L. Leaves Present Anti-Inflammatory and Analgesic Activities .*Pharmacol*, 56:49-72.

**Chen CY., Peng WH., Tsai KD., Hsu SL. (2007).** Luteolin suppresses inflammation - associated gene expression by blocking NF-kappa and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages. *Life.Sci*, 81:1602-1614.

**Chiolero A., Würzner G., Burnier M. (2000).** Les inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase de type 2: moins d'effets rénaux que les anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques? .*Néphrologie*, 21 : 425-430.

**Cicerale S., Conlan X. A., Sinclair A. J., Keast R. S. J. (2009).** Chemistry and health of olive oil phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*;49 :218–236.

**Cillard J., Cillard P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidiques et des anti – oxydations .*Ocl*,12 :24-29.

**Cioffi G., Pesca M.S., Caprarits B.A., Severino L., De Tommasi N. (2010).** Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania ,Italy) and their antioxidant activity .*Food Chemistry* ,121: 105-111.

**Claster S., Chiu DT., Quintanilha A., Lubin B. (1984).** Neutrophils mediate lipid peroxidation in human red cells. *Blood*,64 :1079-1084.

**Claude M- M., Françoise D. (2007).** Herbar méditerranéen.Paris , P : 9.

**Clerch LB., Wright A., Chung DJ., Massaro D. (1996).** Early divergent lung antioxidant enzyme expression in response to lipopolysaccharide. *Am J Physiol*, 271: L949–L954.

**Coujard R., Poirier J., Racadot J. (1980).**Précis D'histologie humaine. Édition Masson , P : 196-197.

**Cronquist A. (1981).***An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press.

## D

**Daccache A., Lion C., Sibille N., et al. (2011).** Oleuropein and derivatives from olives as Tau aggregation inhibitors. *Neurochemistry International*, 58 :700–707.

**Darias V., Abdala S., Martin D., Ramos F. (1996).** Hypoglycaemic plants from the Canary Islands. *Phytotherapy Research*, 10 :S3–S5.

**Darias V., Bravo L., Barquin E., Herrera D. M., Fraile C . (1986).** Contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Islands. *Journal of Ethnopharmacology*, 15 :169–193.

**de Feo V., Senatore F. (1993).**Medicinal plants and phytotherapy in the Amalfitan Coast, Salerno Province, Campania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*,39 :39–51.

**DekdoukN., MalafronteN., RussoD., Immacolata FaraoneI., Tommasi ND., Ameddah S., Severino L., Luigi L. (2015).** Phenolic Compounds from *Olea europaea* L. Possess Antioxidant Activity and Inhibit Carbohydrate Metabolizing Enzymes *In Vitro*.*Evid Based Complement Alternat Med* .2015: 1-9.

**Descamps-Latscha B. (1996).** Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires.Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique , 36 :310-314.

**Di rosa M. (1972).** Biological properties of carrageenan. *J Pharma and Pharmacol*, 24:

**Domitracic R., JakovacHrvoje V., Marchesi V., Sain I.,Romic Z., Rahelic D . (2012).** Preventive and therapeutic effects of Oleuropein against Carbon tetrachloride induced liver damage in mice .*Pharmacological Research* ,65:451-464.

**Donnette-Le Quintrec M. (2013)** .Facteurs prédictifs de récidence et de sévérité du syndrome Hémolytique et urémique atypique et de la Glomérulonéphrite à C3 après transplantation rénale.Thèse de doctorat. L'UNIVERSITE PARIS DIDEROT .

**Dufall KG., Ngadjui BT., Simeon KF., Abegaz BM., Croft KD. (2003).** Antioxidant activity of prenylated flavonoids from the West African medicinal plant *Dorstenia mannii*. *J Ethno pharmacol*, 87: 67-72 .

**Dumas A., Pouliot M. (2009).** Le neutrophile : ennemi ou ami ?. *MEDECINE/SCIENCES* , 25 : 699-704 .

**Duquesnoy E., Castola V., Casanova J. (2002).** Triterpenes in the hexane extract of leaves of *Olea europaea* L.: analysis using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, 18 :347–353.

## E

**Eidi A., Eidi M., Darzi R. (2009).** Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 23 :347–350.

**Eidi A., Moghadam-Kia S., Moghadam J. Z., Eidi M., Rezazadeh S. (2012)** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of olive oil (*Olea europaea* L.) in mice. *Pharmaceutical Biology*, 50:332–337.

**Erbay Z., Icier F. (2010).** The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*, 26:319–334.

**Espinosa E ., Chillet P . (2010)** .immunologie . Édition Ellipses. .Paris. P : 83-87-88-130-114 -128.

**Espinosa E ., Chillet P. (2006).** Immunologie. Édition Ellipses.Paris. P :16- 110- 114-117- 121-114-128.

## F

**Faure S. (2009).** Anti-inflammatoires stéroïdiens.Pharmacothérapeutique pratique, 48 :51-56.

**Ferradini C. (1986).** Espèces activées radicalaires de l'oxygène Oxygen free radicals. *Biochimie*,68 :779-785.

**Flemmig J., Kuchta K., Arnhold J., Rauwald H W.(2011).** *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*, 18 :561–566.

**Franco A., Robertson M., Locksley R. (2009).**immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. Édition De Boeck. Bruxelles, P : 83.

**Françoise Russo-M., André P., Polla B S. (1998).**L'inflammation.Paris,P :290.

**Fujita T., Sezik E., Tabata M., et al. (1995).** Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Economic Botany*, 49 :406–422.

## G

**Galili E., Stanley DJ., Sharvit J., Weinstein-Evron M. (1997).** Evidence for earliest olive-oil production in submerged settlements off the Carmel Coast, Israel. *Journal of Archaeological Science*, 24 :1141–1150.

**Galili E., Stanley D. J., Sharvit J., Weinstein-Evron M. (1997).** Evidence for earliest olive-oil production in submerged settlements off the Carmel Coast, Israel. *Journal of Archaeological Science*, 24 :1141–1150.

**Ganino T., Bartolini G., Fabbri A. (2006).** The classification of olive germplasm—a review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81:319–334.

**Gastaldo P. (1974).** Official compendium of the Italian flora. XVI. *Fitoterapia*, 45:199–217.

**Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy KM., Gilani A-H., Saari N. (2012).** Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—à review. *International Journal of Molecular Sciences*, 13:3291–3340.

**Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy KM., Gilani AH., Saari N. (2012).** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L). *Int. J. Mol. Sci*, 13 :3291-3340.

**Ghazanfar S A., Al-Al-Sabahi A M. (1993).** Medicinal plants of Northern and Central Oman (Arabia) *Economic Botany*, 47 :89–98.

**Ghedira K (2008).** L'olivier. *Phytothérapie*, 6: 83–89.

**Giordano J., Levine P. (1989).** Botanical preparations used in Italian folk medicine: possible pharmacological and chemical basis of effect. *Social Pharmacology*, 3 :83–110.

**Golubev VN., Gusar Z D., Mamedov ES. (1987).** Tocopherols of *Olea europaea* . *Chemistry of Natural Compounds*,23 :119–120.

**Gooch E.(2005).** *Ten Plus One Things You May Not Know about Olive*. Epikouria Magazine, Triaina Publishers.

**Gougerot-Pocidallo M-A., El Benna J., My-Chan Dang P., Elbim C . (2007) .** Quand les polynucléaires neutrophiles attrapent les agents pathogènes dans leurs filets . *médecine/sciences*, 23 :464-465.

**Granados-Principal S., Quiles JL., Ramirez-Tartosa CL., Sanchez-Rovira P., Ramirez-Tortosa MC. (2010).** Hydroxytyrosol: From laboratory investigations to future clinical trials.*Nutrition Reviews* ,68 :191-206.

**Granados-Principal.,Ouiles J.,Ramirez-Tortosa C.L.,Sanchez-Povira P.,Ramirez-Tortosa M.C.(2010).**Hydroxytyrosole :Form laboratory investigations to futire clinical trails.*Nutrition Reviews*,68 :191-206.

**Grohmann F. (1981).** Oleaceae. *Flora of Pakistan*, 59: 9.

**Guerin J., Reveillere H. (1985).** *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Paris. France: Masson Editeur,P: 77–81.

**Guinda Á., Lanzón A., Rios J J., Albi T. (2002).**The isolation and quantification of the components from olive leaf: hexane extract. *Grasas y Aceites*, 53 :419–422.

## H

**Haloui E., Marzouk Z., Marzouk B., Bouftira I., Bouraoui A., Fenina N. (2010).** Pharmacological activities and chemical composition of the *Olea europaea* L. leaf essential oils from Tunisia. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8 :204–208.

**Hans w.,Kothe. (2007).**1000 plantes aromatiques et médicinales. Èdition Toulouse, P :221.

**Hawkey CJ . (1999) .**COX-2 inhibitors .*The lancet*, 353 :307-331.

## I

**Iriti M., Vitalini S., Fico G., Faoro F. (2010).** Neuroprotective herbs and foods from different traditional medicines and diets. *Molecules*, 15 :3517–3555.

## J

**Jacobs RF., Tabor DR., Burks AW., Campbell GD. (1989).** Elevated interleukin-1 release by human alveolar macrophages during the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*, 140:1686- 1692.

**Jean-Luc A., Lefranc G. (2009).** Immunologie humaine. Èdition De Boeck .Bruxelles, P :59.

**Jemai H., Bouaziz M., Fki I., El Feki A., Sayadi S. (2008).** [Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves.](#) *Chemico-biological interactions*, 176 : 88-89.

**Jemai H., Feki A E L., Sayadi S. (2009).** Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 :8798–8804.

**Jerman T., Trebše P., Vodopivec B M . (2010).** Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. *Food Chemistry*, 123 :175–182.

**Juan M E., Wenzel U., Daniel H., Planas J. M. (2008).** Erythrodiol, a natural triterpenoid from olives, has antiproliferative and apoptotic activity in HT-29 human adenocarcinoma cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52 :595–599.

## K

**Kalua C M., Allen MS., Bedgood D R Jr., Bishop A G., Prenzler P D., Robards K. (2007).** Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review. *Food Chemistry*, 100 :273–286.

**Kanakis P., Termentzi A., Michel T., Gikas E., Halabalaki M., Skaltsounis A-L. (2013).** From olive drupes to olive Oil. An HPLC-orbitrap-based qualitative and quantitative exploration of olive key metabolites. *Planta Medica*, 79 :1576–1587.

**Kaniewski D., van Campo E., Boiy T., Terral J-F., Khadari B., Besnard G. (2012).** Primary domestication and early uses of the emblematic olive tree: palaeobotanical,

historical and molecular evidence from the Middle East. *Biological Reviews*, 87 :885–899.

**Karioti A., Chatzopoulou A., Bilia A. R., Liakopoulos G., Stavriankou S., Skaltsa H. (2006).** Novel secoiridoid glucosides in *Olea europaea* leaves suffering from boron deficiency. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70:1898–1903.

**Kettle A.J., Winterbourn C.C. (1997).** Myeloperoxidase: a key regulator

**Khlif I., Hamden K., Damak M., Allouche N. (2012).** A new triterpene from *Olea europaea* stem with antidiabetic activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 48 :799–802.

**Ko K-W., Kang H J., Lee B Y. (2009).** Antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of olive (*Olea europaea* L.) Leaf Extracts. *Food Science and Biotechnology*, 18 :818–821.

**Kumar S., Kahlon T., Chaudhary S A. (2011).** rapid screening for adulterants in olive oil using DNA barcodes. *Food Chemistry*, 127:1335–1341.

**Kuwajima H., Uemura T., Takaishi K., Inoue K., Inouet H A. (1988).** secoiridoid glucoside from *Olea europaea*. *Phytochemistry*, 27 :1757–1759.

## L

**LAMBETH J.D. (2004).** Nox Enzymes and the Biology of Reactive Oxygen. *Nat Rev Immunol*, 4 : 181-189.

**Lawrendiadis G. (1961).** Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta Medica*, 9 :164–169.

**Le Tutour B., Guedon D. (1992).** Antioxidative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compound. *Phytochemistry*, 31 :1173–1178.

**Lipshitz N., Gophna R., Hartman M., Biger G. (1991).** The beginning of olive (*Olea europaea*) cultivation in the old world: a reassessment. *Journal of Archaeological Science*, 18 :441–453.

**Lüllmann-Rauch R. (2008).** Histologie. Édition De Boeck. .Bruxelle, P : 284-288.

## M

**Maestro Duran R., Leoncabello R., Ruizgutierrez V., Fiestas P., Vazquezroncero A. (1994).** Bitter phenolic glucosides from seeds of olive (*Olea europaea*). *Grasas y Aceites*, 45 :332–335.

**Male D., Brostoff J., Roth D B., Roitt I. (2007).** Immunology. Édition Elsevier Masson. 7<sup>e</sup> Édition . Paris,P : 6.

**Masayuki A., Hatori C., Inamura N., Sawai H., Hirosumi J., Fujiwara T., Nakahara K. (1997).** Effects of a nonpeptide bradykinin B2 receptor antagonist, FR167344, on different in vivo animal models of inflammation .*British Journal of Pharmacology*, 122 : 1436–1440.

**Médail F., Quézel P., Besnard G., Khadari B. (2001).** Systematics, ecology and phylogeographic significance of *Olea europaea* L. ssp. *maroccana* (Greuter & Burdet). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 137:249–266.

**Medina E., Romero C., de Los Santos B., et al. (2011).** Antimicrobial activity of olive solutions from stored alpeorujo against plant pathogenic microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 :6927–6932.

**Meotti FC., Campos R., Da Silvo K., Paszcuk AF., Costa R., Calixto JB. (2012).** Inflammatory muscle pain is dependent on the activation of B 1 and B2 receptors and intracellular kinase pathway. *British Journal of Pharmacology*, 166 :1127-1139.

**Michel F., Bonnefont-Rousselot D., Mas E., Draï J., Théron P. (2008).** Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. *Annales de Biologie Clinique*, 66 :605-620.

**Mohagheghi F., Bigdeli M R., Rasoulia B., Hashemi P., Pour M R. (2011).** The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood-brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. *Phytomedicine*, 18 :170–175.

**Morena M., Martin-Mateo M., Cristol J-P., Canaud B. (2002).** Stress oxydant, hémocompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23 :201-208.

**Moulin M., Coquerel A. (2002).** *Pharmacologie, Connaissance et Pratique*. 2nd edition. Paris, France: Masson.

## N

**Nadour M., Michaud P., Moulti-Mati F. (2012).** Antioxidant activities of polyphenols extracted from olive (*Olea europaea*) of *Chamlal* variety. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167 :1802–1810.

**Nakbi A ., Dabbou S., Champion S.,FouchierF., Mehri S., Attia N., Claude L., Hammami M . (2011).**Modulation of the superoxide anion production and MMP-9 expression in PMA stimulated THP-1 cells by olive oil minor components : Tyrosol and Hydroxytyrosol .*Food Research International* ,44 :575-581.

## O

**Obied H K. (2013).** Biography of biophenols: past, present and future. *Functional Foods in Health and Disease*, 3 :230–241.

**Ohkawa N.,Onishi N .,Yagi K . (1979).**Assay of lipids peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction .*Anal Biochem*,95 :351-358.

## P

**Paiva-Martins F., Fernandes J., Rocha S., et al. (2009).** Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53 :609–616.

**Paiva-Martins F., Gordon M H. (2001).** Isolation and characterization of the antioxidant component 3,4-dihydroxyphenylethyl 4-formyl-3-formylmethyl-4-hexenoate from olive (*Olea europaea*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 :4214–4219.

**Paiva-Martins F., Pinto M. (2008).** Isolation and characterization of a new hydroxytyrosol derivative from olive (*Olea europaea*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,56 :5582–5588.

**Parras Rosa M. (1996).** La domanda di olii d'oliva. *Olivæ* ,63:24–33.

**Pasban-Aliabadi H., Esmaeili-Mahani S., Sheibani V., Abbasnejad M., Mehdizadeh A., Yaghoobi M M. (2012).** Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Research* ,16 :134–142.

**Peralbo-Molina Á., Priego-Capote F., de Castro M D L. (2012).** Tentative identification of phenolic compounds in olive pomace extracts using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with a quadrupole-quadrupole-time-of-flight mass detector. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,60 :11542–11550.

**Pérez J A., Hernández J M., Trujillo J M., López H. (2005).** Iridoids and secoiridoids from *Oleaceae* . *Studies in Natural Products Chemistry*, 32:303–363.

**Petcu M .(2005).** Étude du rôle des récepteurs des kinines dans la douleur neuropathique chez le rat.thèse se doctorat. Université de Montréal.

**Peter BJ. (1998).** Anti-inflammatory actions of glucocorticoids : molecular mechanisms.

**Pieroni A., Heimler D., Pieters L., van Poel B., Vlietinck A J. (1996).** In vitro anti-complementary activity of flavonoids from olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Pharmazie*, 51:765–768.

**Procopio A., Alcaro S., Nardi M., et al. (2009).** Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of oleuropein and its semisynthetic derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 :11161–11167.

**Procopio A., Alcaro S., Nardi M., Oliverio M., Ortuso .F, Sacchetta P., et al. (2009).** Synthesis, biological evaluation and molecular modelling of oleuropein and its semisynthetic derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *J Agric Food Chem*, 57:11161–11167.

## R

**Raichvarg D. (1981).** Phagocytose et mécanismes bactéricides du polynucléaire neutrophile. *Médecine et Maladies Infectieuses* ,11 :581-587.

**Renshaw AS. , Catherine AL. , Trushell DM., Elworthy S., Philip WI., Moira KBW . (2006).** A transgenic zebrafish model of neutrophilic inflammation. *Blood*, 108:3976-3978 .

**Ribeiro de R A., de Barros F., Margarida M., et al. (1988).** Acute diuretic effects in conscious rats produced by some medicinal plants used in the state of Sao Paulo, Brasil. *Journal of Ethnopharmacology*, 24 :19–29.

**Roitt I., Rabson A. (2002).** Immunologie Médicale. Édition Maloine. Paris, P : 6- 7- 10-11- 143.

## S

**Sahranavard S., Kamalinejad M., Faizi M. (2014)** Evaluation of anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of defatted fruit extract of *Olea europaea* . *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13:119–123.

**Sakouhi F., Absalon C., Kallel H., Boukhchina S. (2010).** Comparative analysis of triacylglycerols from *Olea europaea* L. fruits using HPLC and MALDI-TOFMS. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112 :574–579.

**Sánchez-González M., Lozano-Mena G., Juan M E., García-Granados A., Planas J M. (2013).** Assessment of the safety of maslinic acid, a bioactive compound from *Olea europaea* L. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57:339–346.

**Sayah S., Leon P., Chan P., Fontaine M. (1998).** Les récepteurs des anaphylatoxines C3a(C3aR) et C5a (C5aR). *médecine/sciences*, 14 : 291-299.

**Schumacher B., Scholle S., Hölzl J., Khudeir N., Hess S., Müller C. E. (2002).** Lignans isolated from *Valerian*: identification and characterization of a new olivil derivative with partial agonistic activity at A1 adenosine receptors. *Journal of Natural Products*, 65 :1479–1485.

**Şener G., Sehirli Ö., Tozan A., Velioglu - Övünç A., Gedik W., Omurtag Z G. (2007).** *Ginkgo biloba* extract protects against mercury (II) - induced oxidative tissue damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* ,45: 543 - 550.

**Serafini MR., Barreto E O . , Brito FA. , oão aulo lmeida dos Santos J P.A. , runo os antos LimaB S ., ristiani sabel anderó Walker C IB., SilvaFA. , ucindo osé Quintans-Junior L J., Gelain D P ., Souza Araújo A A. (2015)** .Anti-inflammatory property and redox profile of the leaves extract from *Morinda citrifolia* L. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 9: 693-701.

**Serteyn D., Grulke S., Franck T., Mouithys-Mickalad A., Deby-Dupont G. (2003).** La myéloperoxydase des neutrophiles une enzyme de défense aux capacités oxydantes. *Ann. Méd. Vét*, 147 : 79-93.

**Sheth A., Mitaliya K., Joshi S.(2005).** *The Herbs of Ayurveda*. Shet . of neutrophil oxidant production. *Redox Rep*, 3:3–15.

**Shu M X L. (1996).** *Olea. Flora of China* ,15:295–298.

**Sibbett G S., Ferguson L., Lindstrand M. (2005).** *Olive Production Manual*. University of California, Department of Agriculture and Natural Resources.

**Sibbett G S., Ferguson L., Lindstrand M. (2005).** *Olive Production Manual*. University of California, Department of Agriculture and Natural Resources.

**Sijtsema NM ., Otto C., Segers-Nolten GMJ., Verhoeven Greve AJ. , Greve J. (1998).** Resonance Raman Microspectroscopy of Myeloperoxidase and Cytochrome b558 in Human Neutrophilic Granulocytes. *Cell press* , 74 : 3250–3255.

**Sijtsema NM., Otto C., Segers-Nolten GMJ., Verhoeven Greve AJ ., Greve J . (1998).** Resonance Raman Microspectroscopy of Myeloperoxidase and Cytochrome b558 in Human Neutrophilic Granulocytes. *Cell press* , 74 : 3250–3255.

**Soler-Rivas C., Espin J C., Wichers H J. (2000).** Oleuropein and related compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 :1013–1023.

**Souza G E., Ferreira S H. (1985).** Blockade by antimacrophage serum of the migration of PMN neutrophils into the inflamed peritoneal cavity. *Agents and Actions*, 17:1-5.

**Speroni E., Guerra MC., Minghetti A., et al. (1998).** Oleuropein evaluated *in vitro* and *in vivo* as an antioxidant. *Phytotherapy Research*, 12:S98–S100.

**Stasia MJ . (2007).** La granulomatose septique chronique X+ Un fabuleux modèle d'étude de l'activation du complexe NADPH oxydase .*MEDECINE/SCIENCES*, 23 : 526-532.

**Stevens A., Lowe J., Barbara Y. (2004).** Anatomie pathologique générale et spéciale. Édition De Boeck .4<sup>e</sup> Édition. Bruxelles, P 25.

**Süntar I P., Akkol E K., Baykal T. (2010).** Assessment of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Olea europaea* L. *Journal of Medicinal Food*, 13 :352–356.

## T

**Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z H., Lyoussi B. (2007).** Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*, 110 :105–117.

**Trichopoulou A., Lagiou P., Kuper H., Trichopoulos D . (2000).** Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* ,9 :869–873.

## U

**USDA. (2003).** National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network—(GRIN).

## V

**Vardanian S. A. (1978).** Phytotherapy of bronchial asthma in medieval Armenian medicine. *Terapevticheskiĭ Arkhiv*, 50:133–136.

**Visioli F., Bellosto S., Galli C. (1998).** Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages .*Life sciences* ,62:541-546.

**Vlahov G., Rinaldi G., del Re P., Giuliani A A. (2008).** <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the different components of epicuticular waxes of olive fruit (*Olea europaea*) Dritta cultivar. *Analytica Chimica Acta*, 624:184–194.

**Vlahov G., Schiavone C., Simone N. (1999).** Triacylglycerols of the olive fruit (*Olea europaea* L.): characterization of mesocarp and seed triacylglycerols in different cultivars by liquid chromatography and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Fett-Lipid*, 101 :146–150.

## W

**Weill B., Btteux F. (2003).** Immunopathologie et réaction inflammatoire. Édition De Boeck. 1ère Édition .Bruxelle,P :18-19.

**Wise W E. (1967).** *Fray Junípero Serra and the California Conquest.* New York, NY, USA: Scribner.

## Z

**Zargari A. (1997).** Iranian medicinal plants. *Tehran University Publications*, 3: 392.

**Zhang X., Cao J., Jiang L., Zhong L. (2009)** .Suppressive effects of hydroxytyrosol on oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation in THP-1 cells. *Biol Pharm Bull*, 32:578–582.

**Zohary D., Hopf M., Weiss E. (2012).** *Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Domesticated Plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin.* Oxford, UK: Oxford University Press.

## Titre : Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de l'extrait des feuilles d'*Olea europaea .L*

Nature du diplôme : Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Option : Toxicologie et santé

Les activités antioxydante et anti-inflammatoire des feuilles de la plante *Olea Europaea.L* ont été étudiés *in vivo* par le modèle d'inflammation aiguë, engendrée par la carragénine chez la souris. L'administration de 200 mg/kg de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* induit une baisse significative ( $0.02 \text{ nmol /mL} \pm 0.01$ ) du MDA , une augmentation significative ( $p < 0.05$ ) sur l'activité de la catalase dans l'exsudat ( $2.63 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min/ml} \pm 0.7$ ), et une réduction significative ( $p < 0.05$ ) dans le développement de la péritonite chez les souris . En effet, le traitement des souris avec cette dose a également engendré une inhibition significative du nombre des neutrophiles recrutés au niveau de la cavité péritonéale des souris  $42.28\% \pm 4.62$  . Il est possible de conclure que l'extrait méthanolique des feuilles de *Olea europaea* englobant les flavonoïdes ,l'hydroxytyrosol et l'oleuropeine posséderait des propriétés anti oxydantes et activités anti-inflammatoires au moins par l'inhibition de recrutement des neutrophiles vers le foyer inflammatoire .

**Mots clés :** Inflammation aiguë ,neutrophiles, *Olea europaea*, MDA, catalase.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de biologie et d'environnement, faculté des sciences de la nature et de la vie. université des Frères Mentouri, Constantine.

### Jury d'évaluation :

**Président du jury :** Mme AMEDAH Souad (Pr- UFM Constantine).

**Rapporteur :** Mme DEKDOUK Nadia (MCB- UAB Batna).

**Examineurs :** Mr BENRABAI Mouad (MCA- UFM Constantine).

Mr BOULDJADJ Redouane (MAA- UFM

Constantine).