



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie cellulaire et
Moléculaire

قسم: البيوكيمياء والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Evaluation in-vitro des activités biologiques de l'espèce Olea europaea

Présenté et soutenue :

Le 06/07/2021

Par :

BEYOUND Yousra et **ZIDANI Ibtissem**

Jury d'évaluation :

Président : Dr KITOUNI Rachid (MCB- UFM Constantine).

Rapporteur : Dr BENSOUICI Chawki (MRB- CRBT Constantine).

Examinatrice : Dr BOUANIMBA Nour (MCA- UFM Constantine).

Année universitaire : 2020 – 2021

Remerciements

Remerciant tout d'abord **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la force de réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements à notre encadrant **Dr. BENSOUICI Chawki**, chef du laboratoire de biochimie au centre de Recherche en Biotechnologie, qui malgré ses nombreuses occupations, a accepté de prendre la direction de ce mémoire et de nous avoir accueilli au sein de son laboratoire, et nous avoir guidé pour mener à bien ce travail.

Nous adressons tous nos remerciements au **Dr. KITOUNI Rachid** d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre projet.

Nous remercions également **Dr. BOUANIBA Nour** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions **Dr. ISSAAD Fatima Zohra** de laboratoire de Synthèse et caractérisation des molécules du Centre de Recherche en Biotechnologie.

Nos remerciements vont également à tous l'équipe des laboratoires de biochimie du Centre de Recherche en Biotechnologie en particulier **M^{elle} Amina, M^{elle} Latifa, M^{elle} Linda Mr Imed, Mr Mehdi, Mr Mourad.**

Merci pour tous ceux qui ont participé à la réussite de ce mémoire.

Dédicaces

Avec la générosité et l'aide d'ALLAH Le majestueux qui m'a donné la patience, le courage et la santé, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

*À celui qui ne cesse de se sacrifier pour moi, à ma fierté et mon bonheur, à mon très cher père **Abdellali**. Merci pour ta patience, tes encouragements et tes orientations durant toutes mes années d'étude. Ce travail, et ce que je suis aujourd'hui sont le fruit de tous les efforts que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Que Dieu te donne une langue et joyeuse vie.*

*À celle qui m'a donné la tendresse, l'amour, le soutien et la confiance, à la source de mes efforts, à ma très chère maman **Fatima Zohra**. Avec un énorme plaisir, et une immense joie, je dédie ce travail à toi maman pour ta permanente présence à mes côtés et ton soutien tout au long de ma vie. Que dieu, le tout puissant, te préserve et t'accorde le bonheur, la santé et une longue vie.*

*À mes chères sœurs **Sarah, Manel, Widad**, et mon frère **Mohamed Mehdi**, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*À mon inoubliable et adorable petite très chère sœur **Chaima**, grande mère **Fatima** et grand père **Saad**. Je prie Allah de lui ouvrir une place au paradis.*

*À ma chère grande mère **Wanasah**.*

*À mes chères tantes **Sofia** et **Hassiba**.*

*À mes neveux **Abd elrahman** et **Abd elrahim**, mes nièces **Alaa hibat elrahman** et **Tasnime**.*

À mes chères cousins et cousines.

*À mon binôme et mon amie **Ibtissem Z**. On a partagé des meilleurs moments durant ces années d'études. Merci énormément pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce projet.*

*À mes chères copines **Sirine, Khouloud, Abir** et **Rima**.*

*À tous qui aime **Yousra** et que j'aime.*

Yousra...

Dédicaces

Je dédie ce travail qui est le fruit des années d'études qui sont pleines de réussite, de joie et de bonheur,

Spécialement à ceux qui m'ont aidé dans toutes les phases de ma vie.

*Et qui s'est sacrifiée pour mon éducation et pour mon bien être ma chère mère **Yasmina**, Et mon cher père **Rachid** pour son soutien tout au long de mon parcours et son encouragement ; toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut, et tous les mots ne seraient exprimer la gratitude.*

*À ma chère sœur **Imen**, et mes frères **Mohamed**, **Ayoub**.*

*À mes chères cousines : **Ghada**, **Nouha**, **Abir**, **Amani**, **Amina**, **Hadeel**, **Manel**, **Rawan**, **Fatma**, **Salsabile**.*

*À mes chères copines : **Anfel**, **Khouloud**, **Abir** Merci pour vos aides, vos soutiens et la motivation que vous m'avez offert durant toute l'année.*

*A ma soeur et ma binôme : **Yusra beyoud** qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail et ces années universitaire.*

A toute ma famille et A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur.

Ibtissem...

Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures	iii
Liste des tableaux	vi
Liste des équations	vii
Introduction générale	1

Chapitre I : Généralités et données bibliographiques

I.1. Présentation botanique de la famille <i>Oleaceae</i>	3
I.1.1 Genre <i>Olea</i>	3
I.1.1.1 Espèce <i>Olea europaea</i>	3
I.1.1.2 Position systématique d' <i>Olea europaea</i>	3
I.1.1.3 Synonymie d' <i>Olea europaea</i>	4
I.1.1.4 Description botanique d' <i>Olea europaea</i>	5
I.1.1.5 Caractéristiques morphologique d' <i>Olea europaea</i>	5
I.1.1.6 La répartition géographique d' <i>Olea europaea</i>	8
I.1.1.6.A. La répartition de la culture d'olivier dans le monde	8
I.1.1.6.B. La répartition de la culture d'olivier dans L'Algérie	8
I.1.1.7 Propriétés pharmacologiques d' <i>Olea europaea</i>	9
I.1.1.8. Les feuilles d'olivier	10
I.1.1.8.A. La biomasse	11
I.1.1.8.B. Les compositions chimiques.	11
I.1.1.8.C. Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier	12
I.2. Activités biologiques	13
I.2.1 Activité antioxydante	13
I.2.1.1 Détermination du total en polyphénols et flavonoïdes	15
I.2.1.1.A Estimation du contenu total en polyphénols (TPC).....	15

I.2.1.1.B	Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC).....	15
I.2.1.2	Mise en évidence de l'activité antiradicalaire	16
I.2.1.2.A	Activité antiradicalaire au DPPH*.....	16
I.2.1.2.B	Activité du piégeage du cation radical ABTS ⁺	17
I.2.1.2.C	Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	18
I.2.1.2.D	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline .	19
I.2.1.2.E	Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)	20
I.2.1.2.F	Activité Nanoparticle d'argent (SNP).	20
I.2.2	Activité enzymatique	21
I.2.2.1	Evaluation de l'activité antidiabétique	21
I.2.2.2	Evaluation de l'activité anticholinestérase	22
I.2.2.3	Evaluation de l'activité anti-uréase	23

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1.	Matériel biologique.....	25
II.2.	Méthodes d'extraction	25
II.3.	Activités biologiques	27
II.3.1	Activité antioxydante	27
II.3.1.1	Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes ..	28
II.3.1.1.A	Estimation du contenu total en polyphénols (TPC).....	28
II.3.1.1.B	Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC)	28
II.3.1.2	Activité antiradicalaire au DPPH	28
II.3.1.3	Activité du piégeage du cation radical ABTS ⁺⁺	29
II.3.1.4	Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	29
II.3.1.5	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² - phénantroline	29
II.3.1.6	Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)	30
II.3.1.7	Activité nanoparticle d'argent (SNP).....	30

II.3.2	Activité enzymatique.....	30
II.3.2.1	Evaluation de l'activité antidiabétique	30
II.3.2.2	Evaluation de l'activité anticholinestérase	31
II.3.2.3	Evaluation de l'activité anti-uréase	31
II.4.	Analyses statistiques.....	32

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1.	Activités biologiques	33
III.1.1	Activité antioxydante	33
III.1.1.1	Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes	33
III.1.1.2	Activité antiradicalaire au DPPH.....	36
III.1.1.3	Activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+}	38
III.1.1.4	Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	40
III.1.1.5	Activité de réduction par la formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline ...	42
III.1.1.6	Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC).....	44
III.1.1.7	Activité nanoparticule d'argent (SNP).....	46
III.1.2	Activité enzymatique.....	49
III.1.2.1	Evaluation de l'activité antidiabétique.....	49
III.1.2.2	Evaluation de l'activité anticholinestérase.....	51
III.1.2.3	Evaluation de l'activité anti-uréase.....	53

Conclusion et perspectives.....	56
--	-----------

Références bibliographiques	57
--	-----------

Annexes	69
----------------------	-----------

Résumés

Liste des abréviations

- A_{0.5}** : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance
- ABTS** : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
- AChE** : Acétylcholinestérase
- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AZR** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Batna
- BAC** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Bejaia
- BChE** : Butyrylcholinestérase
- CHEM BA** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Batna
- CHEM BE** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Bejaia
- CHEM C** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Constantine
- CI₅₀** : Concentration d'inhibition à 50%
- CUPRAC** : Complexe cuivre- néocuproïne
- DPPH** : α,α -diphényl- β -picrylhydrazyl
- EAG** : Équivalent de l'acide gallique
- EQ** : Équivalent de la quercétine
- ERO** : espèces réactives de l'oxygène
- EOA** : espèce oxygénée activée
- FCR** : Folin-Ciocalteu
- FRAP** : Pouvoir réducteur
- Fe+2** : Fer ferreux.
- Fe+3** : Fer ferrique.
- GUTOR** : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Constantine
- g** : Gramme
- Kg** : Kilogramme
- m** : Masse
- M** : Molaire
- mg** : Milligramme
- min** : Minute
- ml** : Millilitre
- mM** : Millimolaire
- MM** : Masse molaire

mmol : Millimole

NBJ : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Constantine

nm : Nanomètre

pH: Potentiel hydrogène

ppm : Partie par million

S : Seconde

SD : Standard de déviation

SGS : Extrait méthanolique de la plante *Olea europaea* de Constantine

SNP : *silver nanoparticles*

TEAC : Capacité antioxydante équivalente Trolox

TFC : Contenu total en flavonoïdes

TPC : Contenu total en polyphénols

Trolox : Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique

U : Unité

UV : Ultraviolet

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µmol : Micromole

Liste des figures

Figure 01 : Arbre d'olivier cultivé.	5
Figure 02 : Arbre d'olivier sauvage.	5
Figure 03 : Photo d'arbre d'olivier avec ses charpentes (<i>Olea europaea</i>).	6
Figure 04 : Feuilles de l'olivier.	6
Figure 05 : Fleurs d'olivier.	7
Figure 06 : Fruits d'olivier.	7
Figure 07 : Répartition de l'olivier dans le monde (Onfaa, 2016).	8
Figure 08 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008).	9
Figure 09 : Transformation du radical DPPH• en DPPHH.	17
Figure 10 : Formation et piégeage du radical ABTS ^{•+} par un antioxydant donneur de H [•]	18
Figure 11 : Mécanisme réactionnel du test FRAP.	19
Figure 12 : Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline.	19
Figure 13 : Réduction du complexe chromogène de Cu ⁺² -Nc.	20
Figure 14 : Réduction d'Ag ⁺ en nanoparticules (SNP).	21
Figure 15 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman.	23
Figure 16 : Formation de NH ₃ et CO ₂ par l'hydrolyse de l'urée.	24
Figure 17 : Schéma de la préparation les extraits d' <i>Olea europaea</i>	26
Figure 18 : Image de l'extraction solide-liquide.	26
Figure 19 : Image de la filtration.	27
Figure 20 : Evaporation a sec par le reta-vapor.	27
Figure 21 : Teneur des polyphénols totaux des extraits de l'espèce <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	34
Figure 22 : Teneur des flavonoïdes totaux des extraits de l'espèce <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions	34
Figure 23 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	36
Figure 24 : Valeurs des CI ₅₀ du test DPPH pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	37
Figure 25 : Les plaques de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS ^{•+} des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	38
Figure 26 : Valeurs des CI ₅₀ du test ABTS pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	39

Figure 27 : Les plaques de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	40
Figure 28 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test pouvoir réducteur par les extraits d' <i>Olea eurpaea</i> récoltée de trois régions.	41
Figure 29 : Les plaques de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	42
Figure 30 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test Fe^{2+} -phénantroline pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	43
Figure 31 : Les plaques de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	44
Figure 32 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test CUPRAC pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	45
Figure 33 : Les plaques de dosage de l'activité de nanoparticle (SNP) des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	46
Figure 34 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test nanoparticle (SNP) pour les extraits de <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	47
Figure 35 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice d'alpha-amylase des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	49
Figure 36 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l' α -amylase pour les extraits des plantes d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	50
Figure 37 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les extraits d' <i>Olea europaea</i>	51
Figure 38 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	52
Figure 39 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	53
Figure 40 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'uréase pour les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.....	54

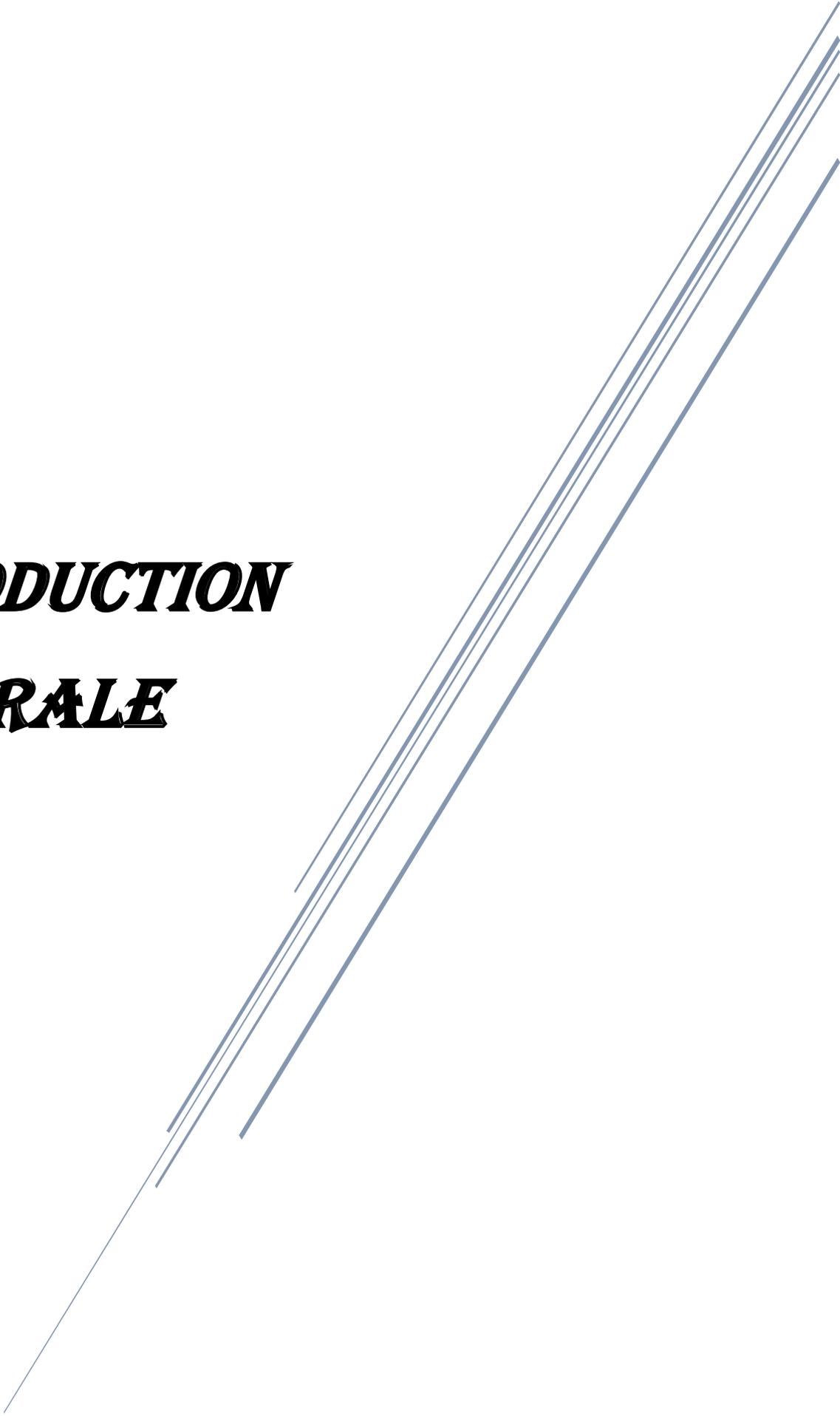
Liste des tableaux

Tableau 1 : Position systématique d' <i>Olea europaea</i>	4
Tableau 2 : Utilisation d' <i>Olea europaea</i> dans la médecine traditionnelle.....	10
Tableau 3 : Compositions chimiques global des feuilles d'olivier.	12
Tableau 4 : Régions de récolte des feuilles d' <i>Olea europaea</i> ..	25
Tableau 5 : Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions	34
Tableau 6 : Inhibition du radical DPPH par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	36
Tableau 7 : Inhibition du cation radical ABTS ^{•+} par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	39
Tableau 8 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits d' <i>Olea eurpaea</i> récoltée de trois régions.	41
Tableau 9 : Absorbance du complexe Fe ⁺² - phénantroline des extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions..	43
Tableau 10 : La capacité antioxydante de réduction du cuivre d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	45
Tableau 11 : Absorbance du Nanoparticule d'argent par les extraits d' <i>Olea eurpaea</i> récoltée de trois régions.	47
Tableau 12 : Inhibition de l'α-amylase par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	50
Tableau 13 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	52
Tableau 14 : Inhibition de l'uréase par les extraits d' <i>Olea europaea</i> récoltée de trois régions.	54

Liste des équations

Équation 1 : Pourcentage d'inhibition du DPPH.....	28
Équation 2 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS.....	29
Équation 3 : Pourcentage d'inhibition de l' α -amylase.	31
Équation 4 : Pourcentage d'inhibition d' AChE.	31
Équation 5 : Pourcentage d'inhibition d'uréase.....	32
Équation 6 : Equation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique.	33
Équation 7 : Equation de la courbe d'étalonnage de la quercétine.	33

INTRODUCTION
GÉNÉRALE



Depuis des siècles l'humanité a utilisé plusieurs plantes trouvées dans son environnement, afin de soigner tous les types de maladies, Ces plantes représentent un réservoir naturel important de métabolite secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large potentiel biologique. Cependant l'évaluation de ce potentiel demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. (Chevallier, 1996).

L'Algérie possède une richesse en espèce d'arbres et d'arbustes et la plupart de ses arbres sont traditionnellement utilisées pour traiter les maladies cardiovasculaires, inflammatoires, en particulier le rhumatisme, le diabète et les maladies gastro-intestinales, etc. Parmi ces arbres se trouve l'arbuste *Olea europaea* L, ce dernier est énormément distribué surtout dans le centre de l'Algérie, tant par le nombre de variétés cultivées que par l'importance sociale et économique de sa culture et de son rôle environnemental (Addab et al., 2020).

L'olivier cet arbre béni de dieu Sourat El Nour :

اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مِثْلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ (٣٥)

Ces dernières années, beaucoup de recherches sont orientées vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sureté et l'efficacité des substances utilisées et d'établir des règles scientifiques afin d'orienter la recherche vers les nouveaux agents thérapeutiques, anti-inflammatoires, antidiabétique, antibactérien qui présentent un minimum d'effets indésirables, c'est la thérapie naturelle basée sur les métabolites secondaires tels que les polyphénols et les flavonoïdes des feuilles et des fruits de nombreuses plantes médicinales (Amane et al., 1999).

Les feuilles d'olivier sont employées en phytothérapie pour leurs propriétés bénéfiques dans la santé humaine, à cause de leurs richesses en principe actifs et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont dotées de propriétés importantes et différentes. Les principales classes de phénols dans l'olive sont des acides phénoliques, des alcools phénoliques, des flavonoïdes et des iridoïdes. Ces composés possèdent des pouvoirs antioxydant, anticancéreux, antimicrobiens qui les rendent très importants pour les domaines de la santé (Aouidi , 2012).

Ce travail a pour objectif principal l'évaluation des activités biologiques antioxydants et enzymatiques *in vitro* et l'étude phytochimique de l'espèce *Olea europaea L.* Ainsi, ce manuscrit est structuré comme suit :

- Le premier chapitre est consacré à des généralités bibliographiques sur la famille des Oleaceae, l'espèce *Olea europaea.L* et des généralités sur les activités antioxydantes, antidiabétiques, anticholinestérasés et anti-uréases.
- Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale comportant la description du matériel biologique, les méthodes d'extraction, des extraits méthanoliques des feuilles d'*Olea europaea L* et les méthodes d'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, anticholinestérasés, antidiabétiques et anti-uréases.
- Le troisième chapitre comprend les résultats et la discussion des activités antioxydantes, antidiabétiques, anticholinestérasés, et anti-uréases *in vitro* des extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions différentes.
- Enfin, une conclusion générale relative à nos travaux résumant ce manuscrit.

CHAPITRE I :

***GÉNÉRALITÉS ET DONNÉES
BIBLIOGRAPHIQUES***

I.1. Présentation botanique de la famille *Oleaceae*

La famille des *Oleaceae* est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 900 espèces réparties en 25 à 26 genres. Ce sont des arbres et des arbustes ou parfois des lianes, à feuilles entières opposées, simples ou composées pennées, sans stipules. L'inflorescence des fleurs de la famille est une cyme bipare, souvent modifiée dans son apparence en grappe ou en panicule (Shimon, 1997).

I.1.1 Genre *Olea*

Le genre *Olea* proposée par (Green, 2002) contient environ 33 espèces différentes et 9 sub-espèces classer dans 3 sub-genre tell que : *Olea*, *Paniculatae* et *Terapilus* (Green 2002; Besnard et al., 2002).

La plupart sont des arbustes ou des arbres, originaires des régions chaudes où les conditions de croissance sont relativement difficiles (Zohary, 1995).

I.1.1.1 Espèce *Olea europaea* L

L'inné celui qui a été nommée l'olivier par le nom scientifique *Olea europaea* L, à cause de son aire géographique, en effet *Olea* désigne l'arbre de l'olivier, tandis que le nom spécifique *europaea*, indique son territoire européen typique de la zone méditerranéenne, d'ailleurs *Olea europaea* est l'unique espèce méditerranéenne représentative du genre *Olea* (Henry, 2003).

Cependant, *Olea europaea* L. est une espèce largement cultivée et la plus importants dans les pays méditerranéens depuis la plus haute antiquité, il représente environ 98% de la récolte du monde et 97% de la production totale d'olives. (Guinda et al., 2004; Tabera et al., 2004).

I.1.1.2 Position systématique d'*Olea europaea* L

La classification botanique de l'olivier, selon Ghedira, (2008) est la suivante :

Tableau 01 : Position systématique d'*Olea europaea*

Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Scrophulariales
Famille	Oleaceae
Genre	<i>Olea L</i>
Especie	<i>Olea europaea L</i>

Selon la taxonomie d'*Olea europaea L*, l'espèce comprend six sous-espèces :

- *Olea europaea* subsp. *Europaea*, représenté par deux variétés botaniques : l'olivier cultivé (var. *sativa*) et l'olivier sauvage (var. *sylvestris*).
- *Olea europaea* subsp. *Laperrinei* : Massifs sahariens.
- *Olea europaea* subsp. *Cerasiformis* : Madère.
- *Olea europaea* subsp. *Guanchica* : Iles canaries.
- *Olea europaea* subsp. *Maroccana* : présent au Sud du Maroc, Massifs du grand atlas.
- *Olea europaea* subsp. *Cuspidata* : présent en Asie, Chine, Inde, Pakistan et Iran, Arabie, Afrique de l'Est et du Sud. (Breton et Bervillé, 2012).

I.1.1.3 Synonymie d'*Olea europaea L*

- *Olea communis* (Steud, 1821)
- *Olea gallica* (Mill, 1768)
- *Olea hispanica* (Mill, 1768)

I.1.1.4 Description botanique d'*Olea europaea* L

L'olivier cultivé est un arbre qui peut atteindre 5 m. L'oléastre ou l'olivier sauvage, est un arbuste de 1-3 m. Ce dernier est épineux par ses vieux rameaux. Dans les deux cas il s'agit de plantes sempervirentes, génétiquement identiques, à feuillage glauque, fleurissent en mai-juin (Zitouni et al., 2019).

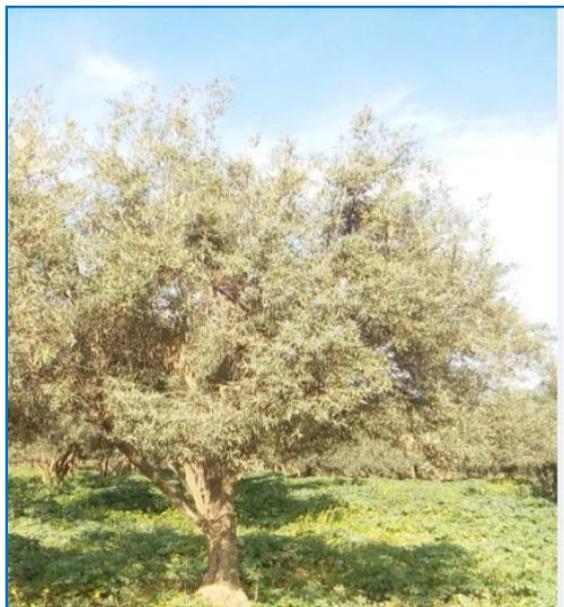


Figure 01 : Arbre d'olivier cultivé



Figure 02 : Arbre d'olivier sauvage

I.1.1.5 Caractéristiques morphologique d'*Olea europaea* L

D'après **Shimon, (1997)** l'olivier est un arbre vigoureux qui peut atteindre non taillé 10 à 15 m de haut. Des branches tortueuses aux nombreux rameaux arrondis à feuilles oblongues, lancéolées. (Figure 03)

L'arbre de l'olivier se compose de deux parties : une partie aérienne et l'autre racinaire.

❖ Partie racinaire

D'après **Maillard, (1975)** le système racinaire s'adapte à la structure des sols et n'émet des racines profondes que si les conditions d'alimentation sont difficiles. Il reste généralement, à une profondeur de 50 à 70 cm. Ce système racinaire de l'olivier forme sous le tronc une souche ligneuse très importante dans laquelle s'accumule des réserves, surtout si les conditions de son alimentation sont difficiles, après 4 à 5 ans, il développe un système racinaire latéral (**Shimon, 1997**).

❖ Partie aérienne

Le tronc

Sur les jeunes arbres, le tronc est droit et circulaire puis il se déforme, au fur et à mesure de leur vieillissement, pour donner naissance à des « cordes » (zones successives de dépressions donnant au tronc un aspect, tourmenté, caractéristique de l'olivier). Ce dernier (figure03) se développe en :

Des charpentières

Composées de charpentières maîtresse et sous-charpentières ; des branches : trois sortes : branches à bois, branches à fruits et branches mixtes (**Loussert et Brousse, 1978**).



Figure 03 : photo d'arbre d'olivier avec ses charpentes (*Olea europaea*)

Les feuilles

Medjani et al., (2018) souligne que les feuilles sont persistantes, opposées, coriaces, ovales oblongues, à bord entiers et un peu enroulés, portées par un court pétiole. Elles ont une couleur vert grisâtre à vert sombre dessus blanchâtre et à une seule nervure dessous (Figure 4).



Figure 04 : Feuilles de l'olivier

La fleur

Selon **Loussert et Brousse, (1978)** les fleurs sont regroupées en petites grappes dressées à l'aisselle des feuilles. La fleur est constituée de 4 sépales, 4 pétales, 2 étamines et 2 carpelles. (Figure 5)



Figure 05 : Fleurs d'olivier

Le Fruit

La période de la mise à fruit s'étale d'octobre à novembre les fruits sont ovoïdes gros (1,5 à 2 cm), longtemps verts, puis noirs à complète maturité, de forme variable suivant les variétés à pulpes charnue huileuse (**Rol et Jacamon, 1968**). (Figure 6)



Figure 06 : fruits d'olivier

I.1.1.6 La répartition géographique d'*Olea europaea* L

I.1.1.6.A La répartition de la culture d'olivier dans le monde

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions du globe se situant entre les Latitudes 30° et 45° des deux hémisphères, des Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine, en passant par le Japon et l'Afrique du Sud.

On compte actuellement plus de 900 millions d'oliviers cultivés à travers le monde, mais le bassin méditerranéen est resté sa terre de prédilection, avec près de 95 % des oliveraies mondiales (Lazzeri et al., 2007).



Figure 07 : Répartition de l'olivier dans le monde (Onfaa, 2016)

I.1.1.6.B La répartition de la culture d'olivier dans L'Algérie

L'olivier est principalement cultivé sur les zones côtières du pays à une distance de 8 à 100 km de la mer où il trouve les conditions favorables pour son développement. Il occupait, en 2009, une superficie de 310 000 hectares (Khoumeri, 2009), qui se répartie sur tout le territoire comme le montre la figure N°08.

La majorité des surfaces oléicoles se localisent dans des régions de montagne et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares (Khoumeri, 2009), ainsi que dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane..) et dans les vallées comme la Soummam.

Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et

sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa...) en vue d'augmenter les productions et de minimiser les importations.

La figure ci-après présente la nouvelle carte oléicole de l'Algérie, on remarque L'expansion des superficies oléicoles vers les zones steppiques, présahariennes et même sahariennes.



Figure 08 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)

I.1.1.7 Propriétés pharmacologie d'*Olea europaea L*

L'*Olea europaea L* 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 02).

Cependant, *Olea europaea L* est utilisé principalement contre l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, la diurétiques et d'autres maladies, En plus elles peuvent être utilisées dans le traitement des affections causées par des virus, des bactéries aussi contre la malaria, la diarrhée sévère, la grippe et le VIH (Tableau 02).

En effet l'espèce a aussi des propriétés, anti-inflammatoires, hypocholestérolémiantes, et elle est indiquée pour le traitement du diabète et du cancer.

Tableau 02 : Utilisation d'*Olea europaea.L* dans la médecine traditionnelle (Kanakis et al., 2013).

Partie/préparation utilisation	Maladie/utilisation	Référence
Fruits et feuilles	Hypoglycémie, Hypotension	(Amel, 2013)
Infusion des fruits et feuilles	Antibiotique	(Sheth et al., 2005)
Décoctions de feuilles séchées et de fruits / usage oral	Diarrhée, infections respiratoires et urinaires	(Sheth et al., 1991)
Huile d'olive / appliquée sur le cuir chevelu	Pour prévenir la perte de cheveux	(Zargari, 1997)
Extrait bouilli de feuilles fraîches / prises par voie orale	Traiter l'asthme	(Lawrendiadis, 1961)
Extrait bouilli de feuilles séchées / prises par voie orale	Traiter l'hypertension	(Ribeiro et al., 1988)
Feuilles extraites dans de l'eau chaude	Diurétique	(Vardanian, 1978)
Huile d'olive	Appliqué sur les membres fracturés	(Ghazanfar et -Al-Sabahi, 1993)
Infusion de feuilles / usage oral	Antipyrétique	(Gastaldo, 1974)
Fruits d'olive	Nettoyant pour la peau	(Fujita et al., 1995)
Infusion de feuilles / usage oral	Anti-inflammatoire, tonique	(Sánchez-González et al., 2013)
Préparation des feuilles	Traiter la goutte	(Flemmig et al., 2011)
Feuilles d'<i>Olea europaea</i>	Antibactérien	(Haloui et al., 2010)
Décoction des feuilles	Antidiabétique, antihypertenseur	(Tahraoui et al., 2007)
Fruits et feuilles	Hémorroïdes, rhumatismes et vasodilatateurs	(Süntar et al., 2010)
Infusions de feuilles	Traitement des infections oculaires	(Hashmi et al., 2015)

I.1.1.8 Les feuilles d'olivier

I.1.1.8.A La biomasse

L'industrie oléicole qui peut être considérée comme la plus ancienne des industries engendre des produits principales tel que l'huile d'olive en plus des sous-produits de type solide comme le grignon d'olive (**Brahim et al., 2012**).

Les feuilles d'olivier (10 % du poids total des olives), et liquide tel que la margine, Les quantités des produits de la taille ont été estimées à 25 kg de feuille et brindilles (**Nefzaoui, 1991**).

La valorisation de ces résidus, engendrés en grande quantité, est devenue une nécessité pour améliorer la rentabilité du secteur oléicole.

I.1.1.8.B Les compositions chimiques

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs (variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, proportion de bois, âge des plantations, etc... Les feuilles d'olivier vertes sont caractérisées par une matière sèche qui se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%. (**Hassina et al., 2020**).

Elles sont constituées de : carbohydrates une matière organique, des lipides, et principalement par des polysaccharides selon (tableau 03).

Tableau 03 : Compositions chimiques global des feuilles d'olivier (exprimé en g/100g)

Composition (en %)	Boudhrioua et al., 2009	(Erbay et Icier, 2009)	(Garcia et al., 2006)	(García-Gómez et al., 2003)	(Fegeros et al., 1995)
Eau	46,2-49,7 a	49,8 a	41,4 a	Nd	44,0 a
Protéines	5,0-7,6 a	5,4 a	7,0 b	Nd	Nd
Lipides	1,0-1,3 a	6,5 a	3,2 b	6,2 b	Nd
Minéraux	2,8-4,4 a	3,6 a	16,2 b	26,6 b	9,2 b
Carbohydrates	37,1-42,5 a	27,5 a	Nd	Nd	Nd
Fibres brutes	Nd	7,0 a	Nd	Nd	18,0 b
Cellulose	Nd	Nd	Nd	19,3 b	11,4 b
Hémicellulose	Nd	Nd	Nd	25,4 b	13,3 b
Lignin	Nd	Nd	Nd	30,4 b	14,2 b
Polyphénolstotaux	1,3-2,3 b	Nd	2,5 b	Nd	Nd
Tannins solubles	Nd	Nd	Nd	Nd	0,3 b
Tannins	Nd	Nd	0,8 b	Nd	1,0 b

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

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

Nd : valeur non déterminée.

I.1.1.8.C Domaines d'utilisations des feuilles d'olivier

- Domaine de l'alimentation animale :

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres (**Delgado-Pertíñez et al., 2000**).

Elles sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes (**Botsoglou et al., 2010**).

- Domaine thérapeutique :

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé (**Giao et al., 2007**).

Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti-inflammatoire, antifongique et antimicrobien (**Talhaoui et al., 2015**).

- Domaine pharmaceutique :

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols et de l'oleuropéine, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol (**De Lucas et al., 2002 ; Bouaziz et al., 2003**).

D'autres substances extraites des feuilles d'oliviers sont également aussi valorisées, tels que les flavonoïdes (**Hassina et Delloula, 2020**), les stérols et les alcools gras (**Orozco-Solano et al., 2010**).

- Domaine cosmétologique :

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tel que les savons, les crèmes (**Cheurfa et Rezgui, 2016**).

I.2. Les activités biologiques

L'olivier et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels et qui peut être utilisé dans l'industrie pharmaceutique (**Savarese et al., 2007**).

Il est mentionné par certains auteurs que l'extrait de feuille d'olivier réduit la pression artérielle et le cholestérol du plasma chez les rats (**Perrinjaquet-Moccetti et al., 2008**).

De plus, les acides gras mono-insaturés disponibles dans les feuilles d'olivier tels que l'acide oléique, diminuent les lipides du plasma dont les LDL et VLDL et préviennent des maladies cardio-vasculaires (**Christina et Bauer, 2008**).

Les feuilles contiennent aussi du cinchonidine, un alcaloïde qui possède des propriétés antipaludiques. Les feuilles, l'écorce et les fruits contiennent l'oleuropéine qui possède des activités antioxydantes, hypotensives, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiennes et antiseptiques (**Ghedira, 2008**).

I.2.1 Activité antioxydante

A l'origine, le terme antioxydant était utilisé pour désigner spécifiquement un produit chimique qui empêche la consommation d'oxygène, et ralentit le phénomène d'oxydation qui est l'un des plus importants processus de production de radicaux libres dans les aliments et les systèmes vivants, ces radicaux libres sont responsables des dommages cellulaires, notamment sur l'ADN, et peuvent favoriser des maladies (**Bubonja- Sonje et al., 2011**).

L'antioxydant, doit être liposolubles, efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et il doit être stable dans le produit fini (**POKNORY et al., 2001**).

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, Ce déséquilibre peut avoir diverses causes tel que : l'augmentation de la production endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou aussi une exposition des facteurs pro-oxydants dans l'environnements parmi ces facteurs : (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques). En effet, l'accumulation des espèces oxygénées réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique (**Smirnoff, 2005**).

Les antioxydants peuvent être classés en fonction de :

➤ Leur activité

Ils peuvent être classés comme enzymatiques et non enzymatiques :

- Les antioxydants enzymatiques : Cela fonctionne en brisant les radicaux libres et en les éliminant. Les enzymes antioxydantes transforment les produits d'oxydation dangereux en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis en eau, selon un procédé en plusieurs étapes en présence de catalyseurs tels que le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer (**Nimse et Pal, 2015**).
- Les antioxydants non enzymatiques : agissent en interrompant les réactions en chaîne des radicaux libres. Parmi ces antioxydants, la vitamine C, la vitamine E, les polyphénols, les caroténoïdes et les glutathion (**Nimse et Pal, 2015**).

➤ Leur solubilité dans l'eau ou les lipides

Les antioxydants peuvent être classés en tant qu'antioxydants solubles dans l'eau et liposolubles. Les antioxydants solubles dans l'eau (ex : vitamine C) se trouvent dans les acides cellulaires tels que le cytosol ou la matrice cytoplasmique. Les antioxydants liposolubles (tels

que la vitamine E, les caroténoïdes et l'acide lipoiique) se trouvent principalement dans les cellules de la membrane (Nimse et Pal, 2015).

➤ **Leur taille**

Les antioxydants peuvent être également classés en petites molécules et en grosses molécules. Les antioxydants à petites molécules neutralisent les ERO dans un processus appelé nettoyage radicalaire. Les principaux antioxydants de cette catégorie sont la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les glutathions (GSH).

Les antioxydants à grandes molécules sont des enzymes (SOD, CAT et GSHPx) et des protéines sacrificielles (albumine) qui absorbent les ERO et les empêchent d'attaquer d'autres protéines essentielles (Nimse et Pal, 2015).

I.2.1.1 Détermination du total en polyphénols et flavonoïdes

I.2.1.1.A Estimation du contenu total en polyphénols (TPC)

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (Boizot et Charpentier, 2006).

On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter, 1993).

Le dosage des polyphénols a été effectué selon la méthode adaptée par Singleton et Ross en 1965 avec le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est une méthode analytique biochimique nécessitant la prise d'échantillon, l'extraction des composés phénoliques à partir de ces échantillons puis d'une mesure spectrophotométrique des extraits (Boizot et Charpentier, 2006).

Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Cependant, la réaction est lente au pH acide et dans ce cas la réduction est peu spécifique pour les fonctions phénols. (Boizot et Charpentier, 2006).

Cette méthode est simple, sensible et précise.

I.2.1.1.B Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC)

Sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes, la dénomination historique des flavonoïdes vient du mot latin flavus qui signifie jaune (Manach et al., 2004).

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments colorés ou incolores quasiment universels des végétaux interviennent dans la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles (**Bruneton, 1999**).

Les propriétés anti-oxydantes des flavonoïdes dans notre alimentation pourraient être liées à un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires et certains cancers, ils sont aussi susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV, ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants (**Maurel et al., 2017**).

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode colorimétrique adaptée par **Topçu et al., 2007**, c'est une méthode qui repose sur le principe du dosage direct par le nitrate de l'aluminium.

Le principe chimique de cette méthode colorimétrique est que les ions Al^{3+} de nitrate d'aluminium forment des complexes acides stables de couleur jaune avec le groupe cétone du C4 et le groupe hydroxyle de C3 ou C5 des flavones et des flavonols. Cette méthode est basée sur la nitration du cycle aromatique portant un groupe catéchol (**Pekal et Pyrzynska, 2014**).

L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à la teneur des flavonoïdes présente dans l'extrait végétal dont l'absorption maximum 415 nm (**Ayoola et al., 2008**).

1.2.1.2 Mise en évidence de l'activité antiradicalaire

Depuis des années les plantes sont une source importante d'antioxydants et ont une capacité innée à biosynthétiser des antioxydants non enzymatiques. Ainsi que l'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation (**Kandi et Charles, 2019**).

Les antioxydants les plus connus sont : la β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), la tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents, comme : les peroxydes ROO^{\bullet} par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux $ABTS^{\bullet}$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH (**Sharma et Bhat, 2009**).

I.2.1.2.A Activité antiradicalaire au DPPH

Le DPPH[•] (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre et stable à température ordinaire et de couleur violette caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons π le long de la molécule. Il est l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydant des composés phénoliques (**Brand-Williams et al., 1995**).

En effet il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure 09). Du fait par cette méthode, on considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale. L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 517 nm.

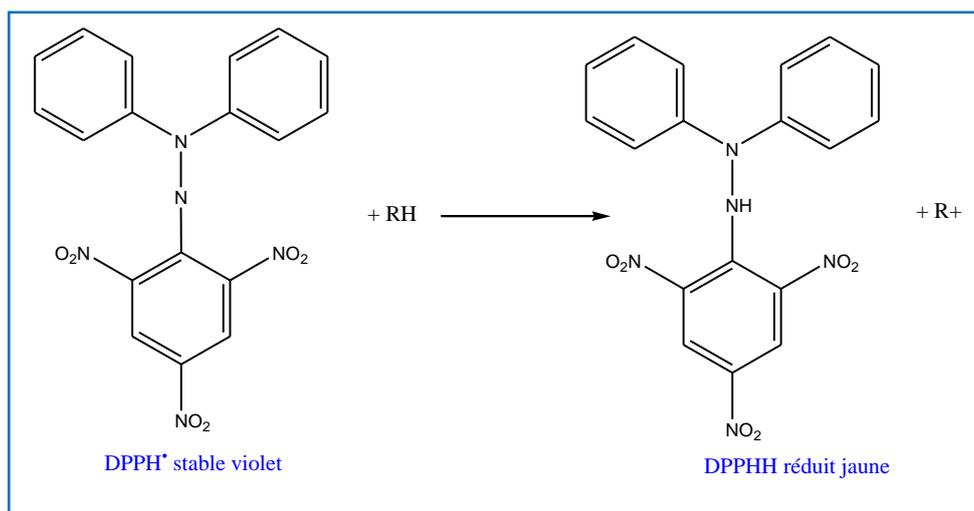


Figure 09 : Transformation du radical DPPH[•] en DPPHH

La concentration de l'antioxydant est proportionnelle au pourcentage du DPPH, la CI_{50} représente la concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50 % du DPPH à l'équilibre.

En effet **SANCHEZ-MORENO' et Larrauri, (1998)** ont proposé un autre paramètre pour mesurer l'efficacité antiradicalaire (EA) où le TC_{50} est le temps nécessaire pour arriver à l'état d'équilibre en utilisant la IC_{50} . La méthode du DPPH a été utilisée par de nombreux auteurs, du fait de sa rapidité et de sa reproductibilité.

I.2.1.2.B Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

En 1999 MILLER & RICE-EVANS a été décrite cette méthode en fait elle consiste en la réduction du radical-cation coloré (2,2'-azobis 3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique acide) plus connu sous le nom de ABTS^{•+} en effet est une méthode colorimétrique basée sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration vert bleu en le transformant en ABTS incolore (ROUANA et al., 2020).

Le radical préformé ABTS^{•+} est généré en utilisant différents réactifs tel que : le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), le dioxyde de manganèse, ou le peroxyde d'hydrogène par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS incolore (Re et al., 1999).

Ce pendant l'addition d'un composé antioxydant provoque la réduction du radical ABTS^{•+} en ABTSH⁺ avec la décoloration de la solution (figure 10), en plus l'activité antioxydante est déterminée par le pourcentage d'inhibition de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical ABTS^{•+} présente une bande d'absorption caractéristique (Sarr et al., 2015).

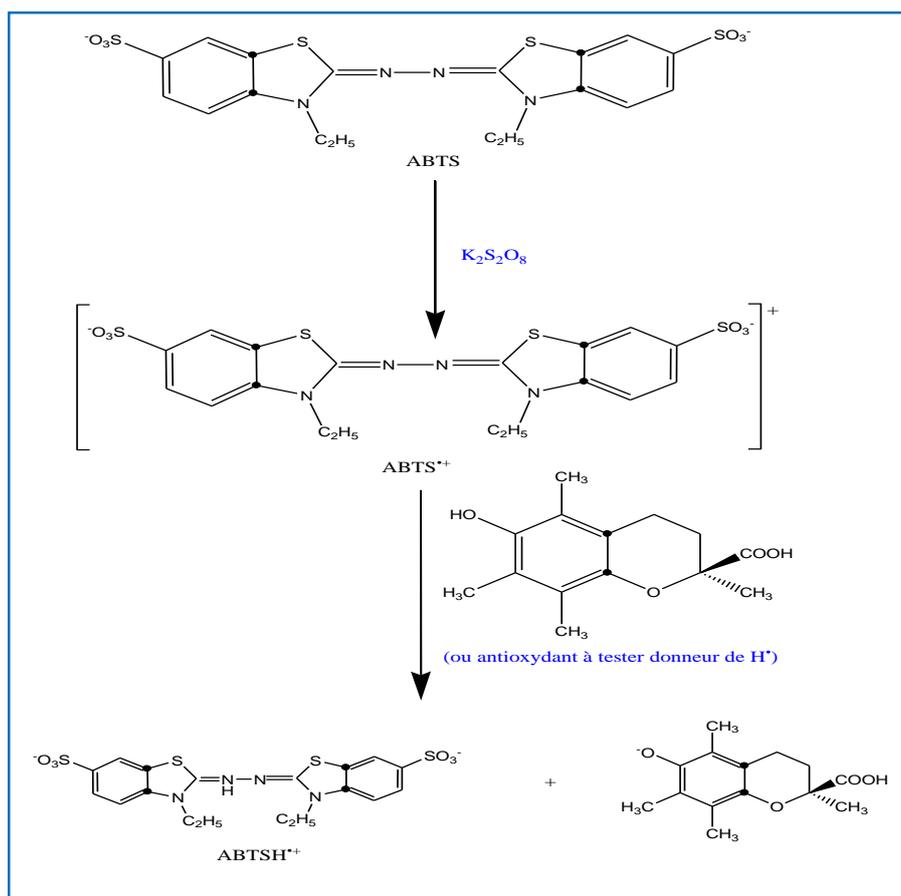


Figure 10 : Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•]

I.2.1.2.C Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

L'évaluation est fondée sur la réduction du (Fe^{+3}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en (Fe^{+2}), Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue/verte (figure 11), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm. (Chou et al., 2003).

Le test FRAP est appliqué à une large gamme d'antioxydants, mais sa vitesse de réaction et son rendement final peuvent varier pour chaque composé antioxydant (Jones et al., 2017).

Ce test est peu coûteux, simple, reproductible et rapide. Toutefois il n'est pas capable d'évaluer l'activité antioxydante des thiols (SH), incluant donc les polypeptides et les protéines à groupement cystéine (Desmier, 2016).

En plus cette méthode a été appliquée à l'origine au plasma mais a été étendue à d'autres fluides biologiques, aliments, extraits de plantes, etc... (Antolovich et al., 2002).

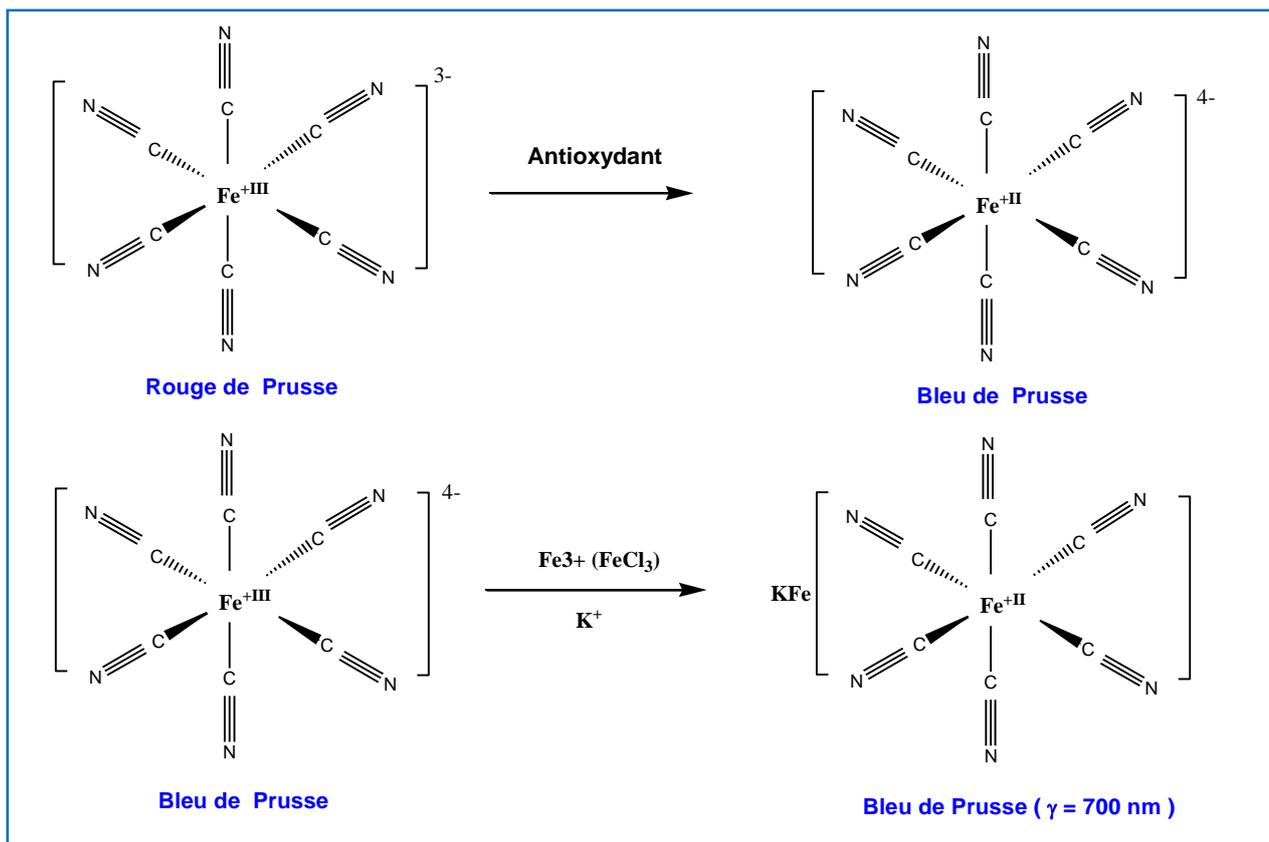


Figure 11 : Mécanisme réactionnel du test FRAP

I.2.1.2.D Activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺²- phénantroline

Cette technique est basée sur la formation du complexe Fe⁺²-phénantroline rouge-orangé (figure 12) suite à une réaction d'oxydoréduction. Ce complexe est soluble à pH basique et peut être mesuré par spectrophotométrie à une absorbance de 510 nm (Adhikamsetty et al., 2008).

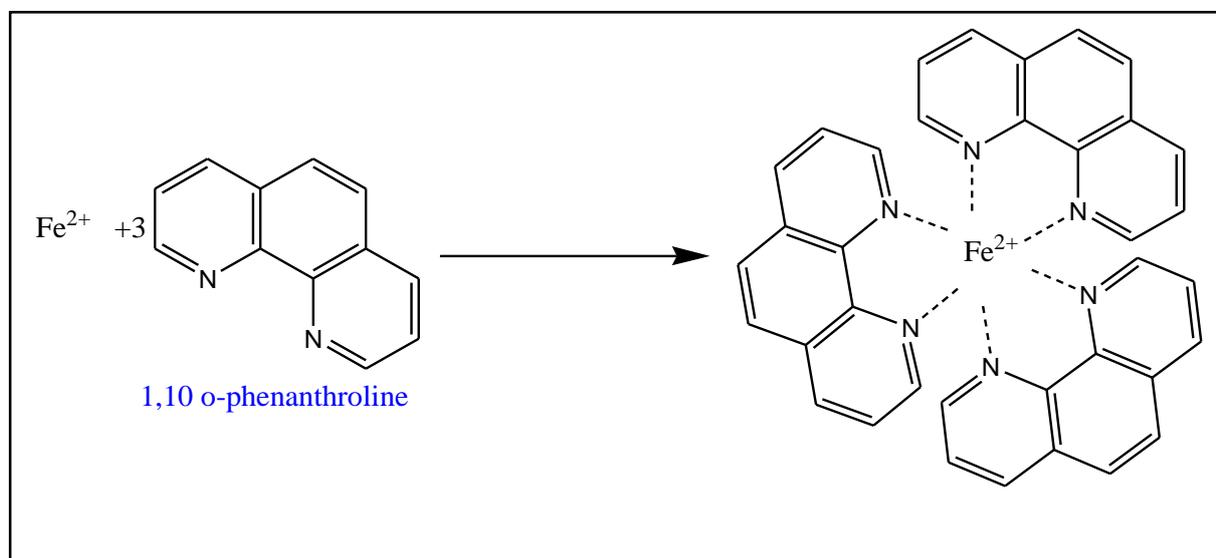


Figure 12 : Formation du complexe Fe+2-phenanthroline

I.2.1.2.E Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC)

Ce test est basé sur la mesure de l'absorbance du complexe de Cu (I) - neocuproïne (Nc) formé à la suite de la réaction d'oxydoréduction des antioxydants briseurs de chaîne avec le réactif CUPRAC, Cu (II) –Nc (figure 13), où l'absorbance est enregistrée à la longueur d'onde de 450 nm. (Özyürek et al., 2011).

Le réactif CUPRAC est beaucoup plus stable et facilement accessible que les réactifs radicalaires chromogènes (par exemple, ABTS et DPPH). L'espèce colorée produisant la réaction redox est réalisée à un pH presque physiologique (PH =7 du tampon d'acétate d'ammonium), Dans des conditions plus acides que le pH physiologique, la capacité de réduction peut être supprimée du fait de la protonation sur des composés antioxydants, alors que dans des conditions plus alcalines, la dissociation des phénols par des protons augmenterait la capacité de réduction de l'échantillon (Apak et al., 2004).

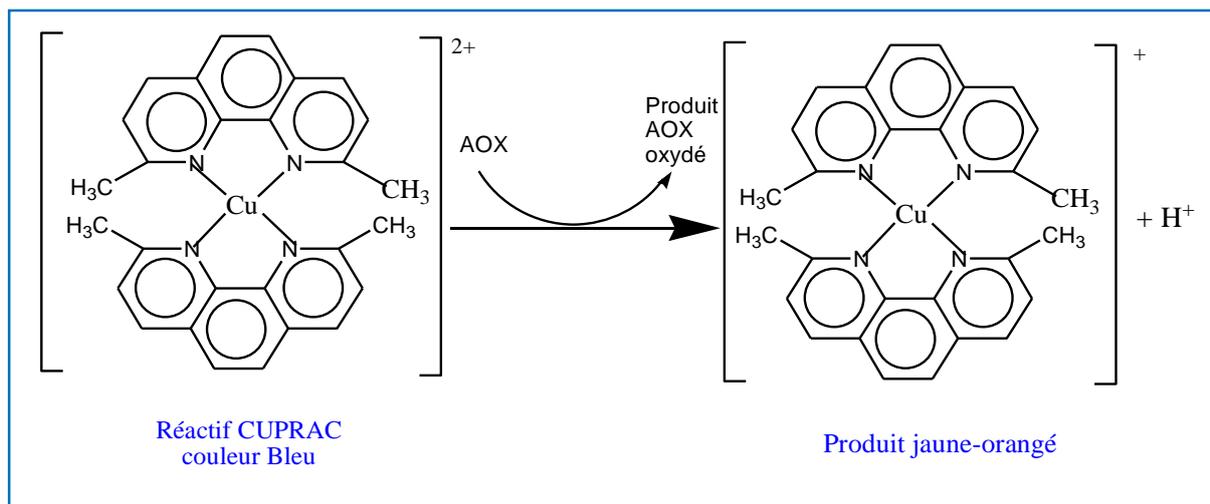


Figure 13 : Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc

I.2.1.2.F Activité Nanoparticules d'argent SNP

Une méthode colorimétrique sensible basée sur la réduction d' Ag^+ en nanoparticules d'argent (figure 14) sphériques (SNP) par les polyphénols en présence de citrate trisodique et de grains d'argent a produit une bande d'absorption de résonance plasmonique de surface très intense des SNP à 423 nm. L'absorption plasmonique des SNP permet la détection spectrophotométrie quantitative des polyphénols. (Özyürek et al., 2012).

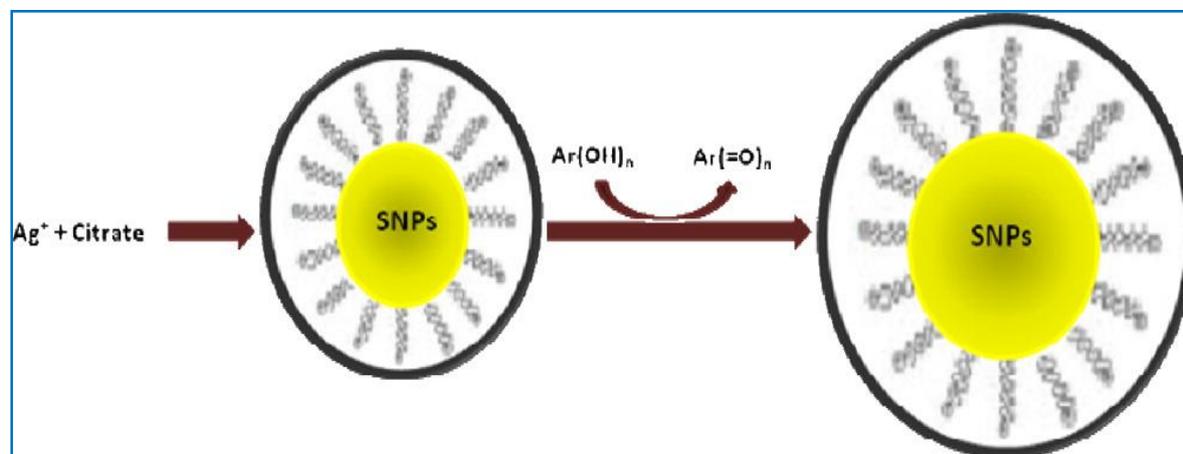


Figure 14 : Réduction d' Ag^+ en nanoparticules (SNP)

I.2.2 Les activités enzymatiques

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle important dans les réactions biochimiques nécessaires pour la croissance, la maturation et la reproduction des êtres vivants. Leur quantification par mesure de l'activité catalytique dans les échantillons biologiques est importante dans divers domaines (Glatz, 2006).

I.2.2.1 Evaluation de l'activité antidiabétique

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été le principal, voire l'unique recours de la médecine. En Algérie comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement, le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu, et plusieurs remèdes à base des plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés pour soigner le diabète sucré (**Marles et Farnsworth, 1995**).

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est plus capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie). Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de nombreuses complications touchant le cœur, les reins ou les yeux (**Scheen et Luyckx, 2010**).

Les inhibiteurs antidiabétiques synthétiques actuellement utilisés causent des effets secondaires gastro-intestinaux tels que la diarrhée, la flatulence, le boursoufflement abdominal etc. Par conséquent, des inhibiteurs naturels de l'alpha-amylase peuvent être employés en thérapie pour le traitement de l'hyperglycémie postprandiale avec un minimum d'effets secondaires (**Nair et al., 2013**).

➤ Inhibition d'alpha amylase

L'alpha-amylase (1,4-glucan-4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1) est une enzyme clé du système digestif sécrétée par les glandes pancréatiques et salivaires chez les mammifères. C'est une macromolécule appartenant à la classe des hydrolases qui catalyse l'étape initiale d'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques dans l'amidon en maltose et finalement en glucose (**Kato et al., 2017**).

La dégradation de cet amidon alimentaire se fait rapidement et conduit à une hyperglycémie postprandiale élevée. Il a été démontré que l'activité de l'alpha-amylase pancréatique humaine dans l'intestin grêle est corrélée à une augmentation des taux de glucose postprandial, dont le contrôle est donc un aspect important dans le traitement du diabète type 2 (**Eichler et al., 1984**).

Les alpha-amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation avec des cellules microbiennes (**Ikram-ul-Haq et al., 2003**).

L'acarbose est un médicament bien connu, utilisé comme inhibiteur de l'enzyme α -amylase. Il retarde la digestion d'hydrate de carbone, et diminue le niveau postprandial de glucose plasmatique. Cependant, il possède des effets indésirables tels que la diarrhée, les hernies, l'ulcération...

Des inhibiteurs de l' α -amylase d'origine naturelle tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont suggérés comme une approche alternative pour la prévention et le traitement de la maladie du diabète type 2 avec sans ou peu de risque d'effets secondaires (**Khan et al., 2018**).

I.2.2.2 Evaluation de l'activité anticholinestérase

La maladie d'Alzheimer est un trouble neurologique chronique caractérisé par des troubles de la mémoire, des dysfonctionnements cognitifs, des troubles du comportement et des déficits dans les activités de la vie quotidienne. On a constaté que la maladie d'Alzheimer est associée à un déficit cholinergique dans le cerveau, caractérisé par une diminution significative de la quantité d'acétylcholine (**Orhan et al., 2004**).

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) sont devenus les alternatives remarquables dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Cependant, les médicaments actuels (tacrine, rivastigmine et donépézil) ayant une activité inhibitrice de l'AChE possèdent certains effets secondaires et ne sont efficaces que contre les formes légères de la maladie d'Alzheimer. Par conséquent, il est obligatoire de développer de nouveaux médicaments afin de combattre la maladie d'Alzheimer. L'histoire de la découverte de médicaments a montré que les plantes sont sources très riches dans la recherche de nouveaux composés actifs. Et elles sont devenues un défi pour l'industrie pharmaceutique moderne. De nombreux médicaments synthétiques doivent leur origine à médecine complémentaire à base de plantes (**Orhan et al., 2004**).

➤ Inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholine est un neurotransmetteur principalement inhibé par l'acétylcholinestérase (AChE) et ensuite par la butyrylcholinestérase (BChE), considérée comme jouant un rôle dans la pathologie de la maladie d'Alzheimer. Les deux enzymes sont présentes dans le cerveau et sont détectées parmi les enchevêtrements et les plaques neuritiques. Malgré l'étiologie inconnue de la maladie d'Alzheimer, l'augmentation de la quantité d'acétylcholine par l'inhibition de l'enzyme AChE est considérée comme la stratégie de traitement la plus efficace contre la maladie d'Alzheimer (**Orhan et al., 2004**).

Cette inhibition peut être évaluée *in vitro* selon la méthode d'Ellman et al., 1961 (Figure 15)

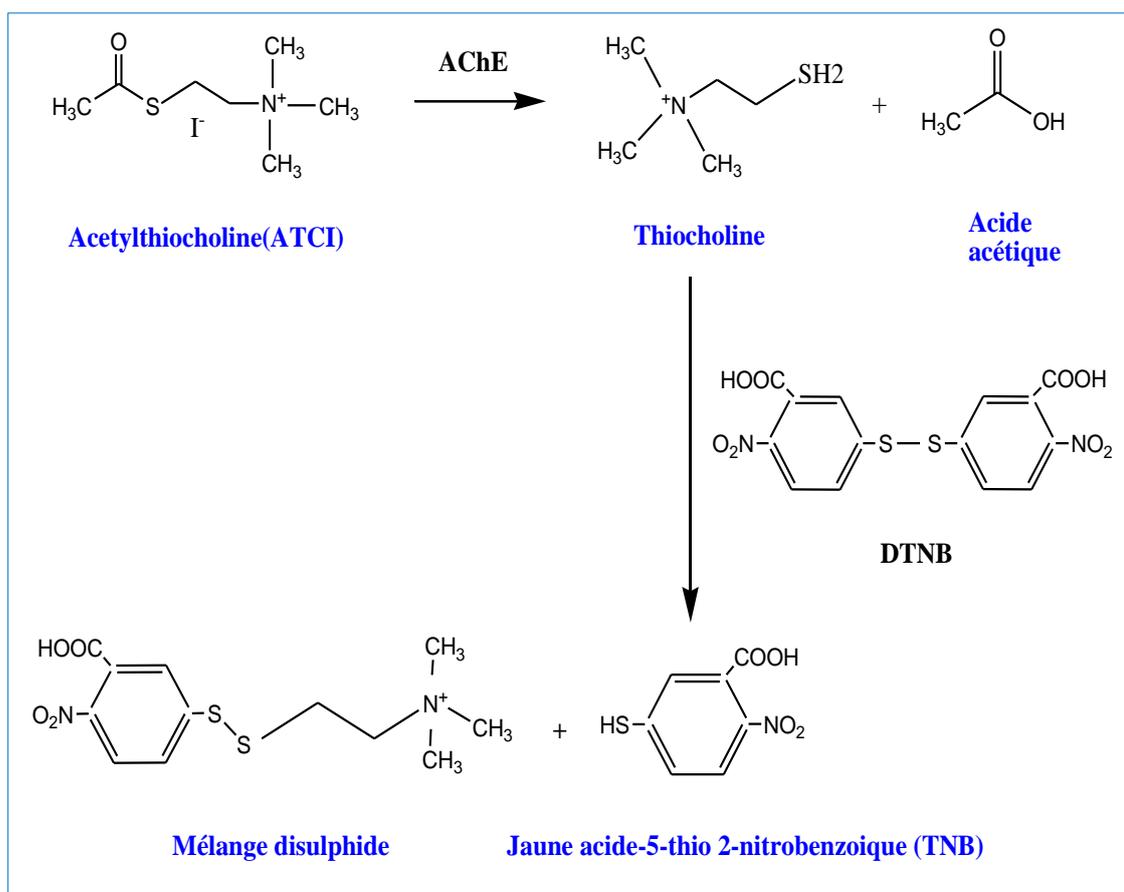


Figure 15 : Mécanisme chimique de la méthode d'Ellman et al., 1961

I.2.2.3 Evaluation de l'activité anti-uréase

La recherche des inhibiteurs de l'uréase est une cible importante dans le contrôle des infections causées par les bactéries productrices d'uréase. Ces inhibiteurs jouent un rôle important dans le contrôle des micro-organismes uréolytiques, et aident également à explorer et à comprendre de nouveaux aspects du mécanisme d'action des uréases. L'acide anthranilique a une histoire ancienne en tant que précurseur chimique de nombreux composés organiques bioactifs par exemple, des diurétiques, des antioxydants, des agents antiprolifératifs et antiallergiques (El-Zahabi et al., 2019).

➤ Inhibition de l'uréase

L'uréase (urée amidohydrolases, EC (3.5.1.5) est une métalloenzyme à base de nickel qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac. Les uréases sont largement présentes dans divers organismes, notamment les bactéries, les champignons et les plantes. Bien qu'ayant des origines différentes, toutes les uréases connues partagent au moins 50% d'identité,

possèdent des séquences d'acides aminés communes dans le site actif et présentent donc le même mécanisme catalytique. La production d'ammoniac par l'uréase est responsable de complications néfastes dans les domaines de la santé. La pathogénie de nombreux états cliniques, tels que l'ulcère gastroduodéal causé par *Helicobacter pylori*, le coma hépatique, la pyélonéphrite et les calculs urinaires d'origine infectieuse, est liée à l'activité uréolytique des enzymes microbiennes (El-Zahabi et al., 2019).

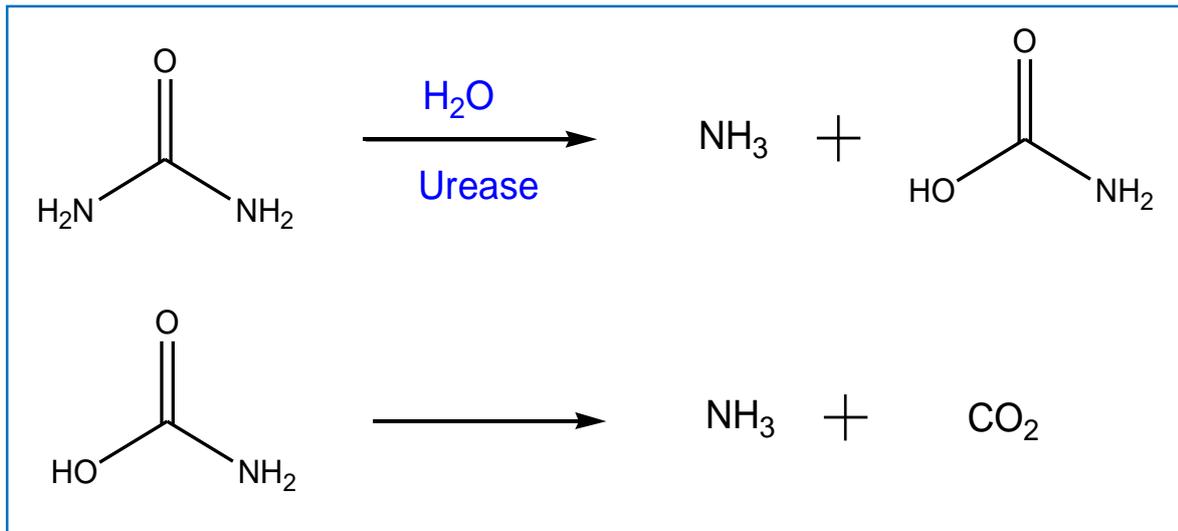


Figure 16 : Formation de NH₃ et CO₂ par l'hydrolyse de l'urée

CHAPITRE II :

MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Matériel biologique

❖ Matériel végétal

Dans notre étude nous avons utilisées les feuilles de l'espèce *Olea europaea* récoltées dans différentes régions d'Algérie (Tableau 04), l'identification de l'espèce a été faite au niveau du laboratoire de Synthèse et caractérisation des molécules C.R.Bt Constantine.

Les feuilles ont été séchés aux microondes pendant deux minutes à une puissance maximale de 800 W (2450 mhz). Les feuilles séchées étaient broyées et conservées à 4 C dans L'obscurité jusqu'à utilisation. (Aouidi et al., 2013).

Tableau 04 : Régions de récolte des feuilles d'*Olea europaea.L.*

Les régions de récolte	Plantes	Période de récolte
Constantine	Nebjmel Chemlel Gulb tour Sigoise	2019
Batna	Azeradj Chemlel	2018
Bejaia	Bacara Chemlel	2019

II.2. Méthode de Macération et Extraction

❖ Préparation de l'extrait d'*Olea europaea*

Les extraits utilisés dans cette étude sont préparés suivant la méthode d'extraction solide-liquide décrite par (Mompon et al., 1998), et le solvant utilisé était le méthanol.

Une masse d'environ 2,5 g de chaque échantillon a été mise à une extraction par macération avec 50 ml de Méthanol. Après 12 h, les mélanges sont filtrés à l'aide d'un papier-filtre. Les filtrats obtenus sont concentrés. Les extraits sont filtrés puis évaporés à sec sous pression réduite à l'aide d'un rota-vapeur, enfin chaque extrait est récupère des parois du ballon d'évaporation. (Nicoli et al., 2019).

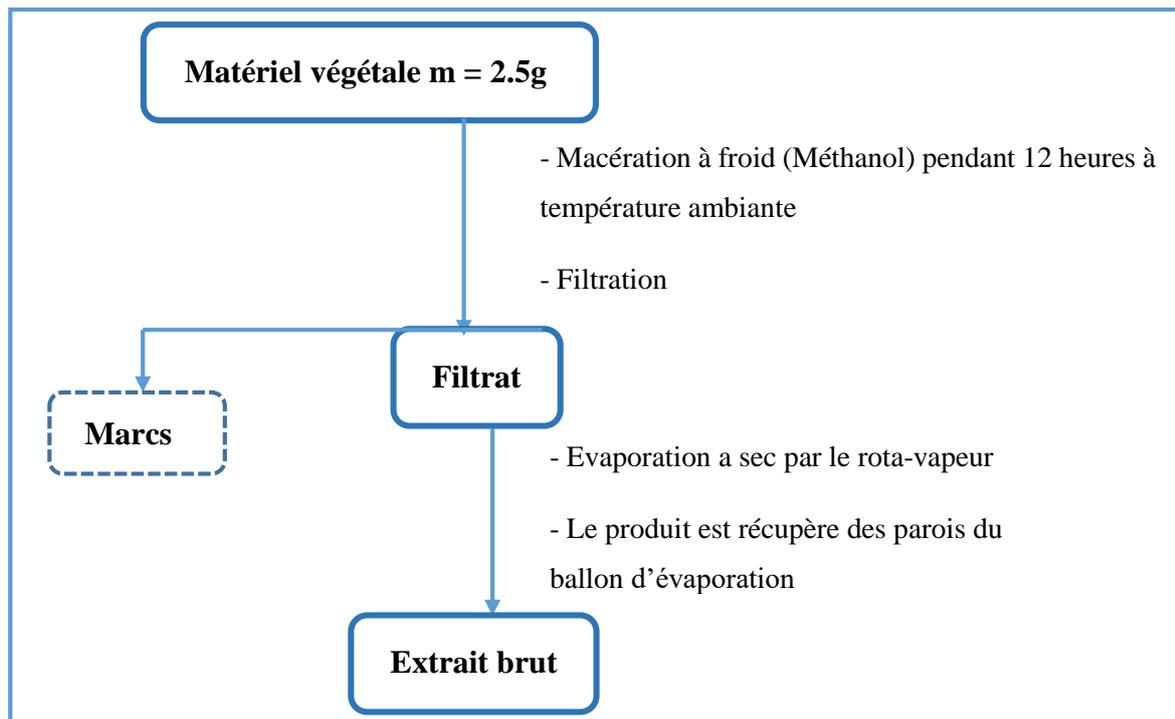


Figure 17 : Schéma de la préparation les extraits d'*Olea europaea*



Figure 18 : Image de l'extraction solide-liquide

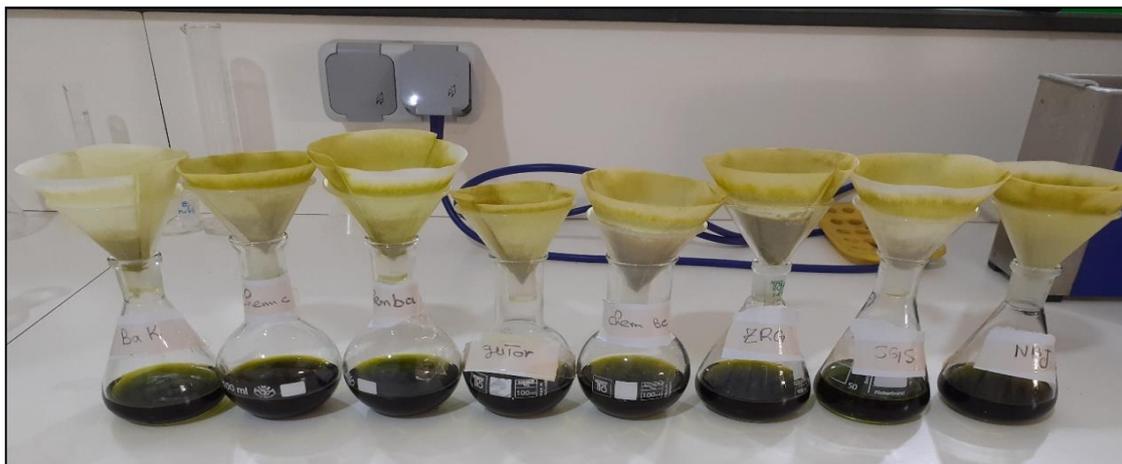


Figure 19 : Image de la filtration



Figure 20 : Evaporation à sec par le rota-vapeur

II.3. Activités biologiques

Les mesures des absorbances des activités biologiques ont été faites à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits de marque PerkinElmer (USA) avec son logiciel EnSpire au niveau du laboratoire de Biochimie au C.R.Bt de Constantine.

II.3.1 Activité anti-oxydante

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

II.3.1.1 Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes

II.3.1.1.A Estimation du contenu total en polyphénols (TPC)

Selon la méthode décrite par **Muller et al., (2010)** et sur une microplaque à 96 puits, un volume de 20 µl d'extrait (1 mg d'extrait dissoute dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 µl de FCR dilué (**Annexe V**), ensuite un volume de 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) (**Annexe V**) est additionné, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). L'acide gallique (**Annexe IV**) est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie. (**Annexe VI**).

II.3.1.1.B Estimation du contenu total en flavonoïdes (TFC)

Selon le protocole de **Khelifi et al., (2013)**, et sur une microplaque à 96 puits un volume de 1 ml de chaque extrait a été mélangée avec un volume égal de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (**Annexe V**) dans le méthanol (2%). (On a divisé les volumes par 10), le mélange est laissé à l'obscurité pendant 15min à température ambiante. L'absorbance a été lue à 415 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). La quercétine (**Annexe IV**) est utilisé comme contrôle positif, à partir de lequel une courbe d'étalonnage a été établie (**Annexe VI**).

II.3.1.2 Activité piégeage du radical libre DPPH

Le test a été réalisé selon la méthode décrite par **Blois, (1958)**, sur une microplaque à 96 puits, une solution de 160 µl du DPPH (**Annexe II**) a été mélangé avec 40 µl de l'échantillon à différentes concentrations,. Le mélange a été maintenu à une température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Équation 01 : Pourcentage d'inhibition du DPPH

Où **A_{contrôle}** est l'absorbance du contrôle négatif, et **A_{extrait}** l'absorbance de l'extrait/standard.

II.3.1.3 Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

Cette activité est déterminée selon la méthode de **Re et al., (1999)**, un volume de 160 µl d'ABTS (**Annexe II**) a été ajouté à 40 µl de l'extrait dilué dans le méthanol à plusieurs concentrations, la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 734 nm après 10 min d'incubation. L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Équation 02 : Pourcentage d'inhibition d'ABTS

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

II.3.1.4 Activité Reducing power (FRAP)

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**, en effet la méthode est basée sur la réduction des ions ferrique (Fe^{3+}) en complexe en ions ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants qui donnent une couleur bleu.

Un volume de 10 µl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 40 µl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) (**Annexe V**) et 50 µl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%) (**Annexe V**). L'ensemble est incubé à l'étuve à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 50 µl d'acide tri-chloroacétique (TCA) 10% (**Annexe V**) sont ajoutés pour stopper la réaction. Enfin, un volume de 40 µl d'eau distillée et 10 µl d'une solution de chlorure de fer (0,1%) (**Annexe V**) sont ajoutés.

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 700 nm. L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

II.3.1.5 Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline

L'activité est déterminée par la méthode de **Szydłowska-Czerniak et al., (2008)**. Cette méthode est basée sur la formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline rouge-orangé suite à une réaction de réduction. Un volume de 10 µl de l'extrait à différentes concentrations ont été ajoutés à une solution de 50 µl FeCl_3 (0.2%) (**Annexe V**), avec 30 µl Phénanthroline (0.5%) (**Annexe V**) et 110 µl de méthanol. Le mélange obtenu est incubé dans l'étuve à 30°C pendant

20 min. L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons, l'absorbance est mesurée à 510 nm Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0.5}$ ($\mu\text{g/ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

II.3.1.6 Activité de réduction du complexe cuivre-neocuproïne (CUPRAC)

La méthode CUPRAC est basée sur la réduction du complexe Cuivre-Néocuproïne en présence d'un antioxydant et elle est déterminé selon la méthode de **Apak et al., (2014)**.

Dans une microplaque à 96 puits, 40 μl de l'échantillon ont été ajoutés à 60 μl de tampon acétate d'ammonium (**Annexe V**), 50 μl de Néocuproïne (**Annexe V**), et 50 μl de chlorure de cuivre (CuCl_2) (**Annexe V**), Après une heure d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450 nm.

L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,50}$ ($\mu\text{g/ml}$).

II.3.1.7 Activité nanoparticule d'argent (SNP)

L'activité métal chélate est déterminée selon la méthode de **Özyürek et al., (2012)**, cette méthode basée sur la réduction de la nanoparticule d'argent (Ag^+) en nanoparticule d'argent sphérique (Ag^0). Un volume de 20 μl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 130 μl d'une solution SNP (**Annexe V**), et 50 μl d' H_2O . L'ensemble est incubé à l'étuve à 30°C pendant 20 min, La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 423 nm. L'acide ascorbique et le trolox (**Annexe IV**) sont utilisés comme standards dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

II.3.2 Activité enzymatique

II.3.2.1 Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité antidiabétique des extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions a été testée par la méthode d'inhibition de l'enzyme l'alpha-amylase.

➤ Inhibition de l'alpha amylase

L'activité inhibitrice de l'alpha -amylase a été déterminée par la méthode de **Zengin et al., (2014)** avec quelques modifications. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 25 μl d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 50 μl d'une solution d' α -amylase (1U/ml) (**Annexe III**), puis incubé pendant 10 min à 37°C. Ensuite, 50 μl d'amidon (0,1%) (**Annexe III**) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 10 minutes à 37°C.

Après incubation, 25 µl d'acide hypochlorique (1M) (**Annexe V**) et 100 µl d'iodure de potassium iode (**Annexe V**) sont ajoutés. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. L'acarbose (**Annexe IV**) est utilisée comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l' α-amylase a été calculé par la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = 1 - \left[\frac{(A_c - A_e) - (A_s - A_b)}{(A_c - A_e)} \right]$$

Équation 3 : Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase

A_c=Absorbance [Amidon+IKI+HCl+Vol de solvant d'extrait+Vol tampon Enzyme]

A_e=Absorbance [Enzyme+Amidon+IKI+HCL+ Vol de solvant d'extrait]

A_s=Absorbance [Enzyme+Extrait+Amidon+IKI+HCl]

A_b=Absorbance [Extrait+IKI+125 µl de tampon]

II.3.2.2 Evaluation de l'activité anticholinestérase

L'activité anticholinestérase des extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions est réalisée par la méthode d'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase.

➤ Inibition de l'acétylcholinesterase

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (AChE) a été déterminée par la méthode de **Ellman et al., 1961**. Un volume de 150 µl de tampon phosphate de sodium à (pH 8) (100 mM) (**Annexe V**) est ajouté à 10 µl d'une solution d'extrait dissoute dans le méthanol à différentes concentrations et à 20 µl de AChE (5,32 x10⁻³ U) solution (**Annexe III**). Le mélange est incubé pendant 15 minutes à 25°C, puis 10 µl de DTNB (acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)) (0,5 mM) (**Annexe V**) ont été ajoutés. Ensuite, la réaction a été initiée par l'addition de 20 µl l'iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM) (**Annexe III**). La galantamine (**Annexe IV**) a été utilisé comme composé de référence.

Le pourcentage d'inhibition d'AChE a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$(\%) \text{ d'inhibition de AChE} = \frac{E - S}{E} \times 100$$

Équation 4 : Pourcentage d'inhibition d'AChE

Où 'E' est l'activité de l'enzyme sans extrait, et 'S', est l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

II.3.2.3 Evaluation de l'activité anti-uréase

L'activité inhibitrice de l'uréase des divers extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions est réalisée par la méthode d'inhibition de l'enzyme uréase.

➤ Inhibition de l'uréase

Les extraits ont été testés pour l'inhibition de l'uréase par la spectrophotométrie modifiée. Selon **Nabati et al., 2012**. Sur une microplaque de 96 puits, un volume de 10 µl d'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 25 µl d'une solution d'uréase (**Annexe III**) et 50 µl d'urée (**Annexe III**), puis incubé pendant 15 min. et on fait la lecture. Ensuite, 45 µl réactif phénolique (**Annexe V**) et 70 µl réactif basique (**Annexe V**) sont additionnés. Le mélange est incubé une autre fois pendant 50 minutes. La lecture de l'absorbance est réalisée à 630 nm. Thiourea (**Annexe IV**) est utilisée comme standard.

Le pourcentage d'inhibition de l'uréase a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Équation 05 : Pourcentage d'inhibition de l'uréase

Où $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif, et A_{extrait} l'absorbance de l'extrait/standard.

II.4. Analyses statistiques

Les résultats des tests *in vitro* effectués sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI_{50} (Concentration d'inhibition à 50%) et de $A_{0,50}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)]

Pour la CI_{50} et [Absorbance = f (concentrations)] pour la $A_{0,50}$, les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification sont faites par " test DSH (différence significative honnête) de Tukey" et le test ANOVA univarié. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0,05.

CHAPITRE III :

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Activités biologiques

L'activité biologique de *Olea europaea* récoltée de trois régions différentes : Constantine, Batna et Bejaia a été réalisé par l'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, antidiabétique, anticholinestérase et anti-uréase.

III.1.1 Activité antioxydants

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits : NBJ, CHEM C, GUTOR, SGS, AZR, CHEM BA, BAC, et CHEM BE a été réalisée par l'utilisation de huit méthodes complémentaire.

III.1.1.1 Détermination du contenu total en polyphénols et le teneur des flavonoïdes

➤ Méthode de Folin-Ciocalteu

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de l'espèce *Olea europaea* a été réalisé par la méthode spectrophotométrique de Folin-ciocalteu (FCR). La teneur en polyphénols totaux est exprimée en μg équivalent d'acide gallique (**Annexe VI**), par mg d'extrait, en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

$$y = 0,0034x + 0,1044 \quad \text{avec } R^2 = 0,9972$$

Équation 6 : Equation de la courbe d'étalonnage d'acide gallique

La quantité des polyphénols a été rapportée en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme du poids de l'extrait (μg EAG / mg d'extrait).

➤ Méthode de trichlorure d'aluminium AlCl_3

Cette méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour le dosage des flavonoïdes. La quercétine a été utilisée comme standard. L'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde de 415 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (**Annexe VI**), ayant l'équation suivante :

$$y = 0,0071x + 0,0274 \quad \text{avec } R^2 = 0,9985$$

Équation 7 : Equation de la courbe d'étalonnage de la quercétine

La teneur des flavonoïdes a été rapportée en microgramme d'équivalent de la quercétine par milligramme du poids de l'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$) Les résultats de ces deux méthodes sont regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Le contenu total en polyphénols et la teneur des flavonoïdes des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions.

Extraits	Contenu total de composés phénoliques ($\mu\text{g EAG} / \text{mg d'extrait}$)	Teneur des flavonoïdes ($\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait}$)
CHEM C	223.31±19.90	164.37±8.83
NBJ	217.43±21.98	158.19±4.27
AZR	140.96±6.47	115.27±1.62
CHEM BE	256.54±4.78	98.75±0.44
BAC	188.80±7.20	138.12±8.39
CHEM BA	196.64±7.78	128.54±1.76
GUTOR	137.33±11.22	107.43±3.68
SGS	262.03±11.60	94.51±1.47

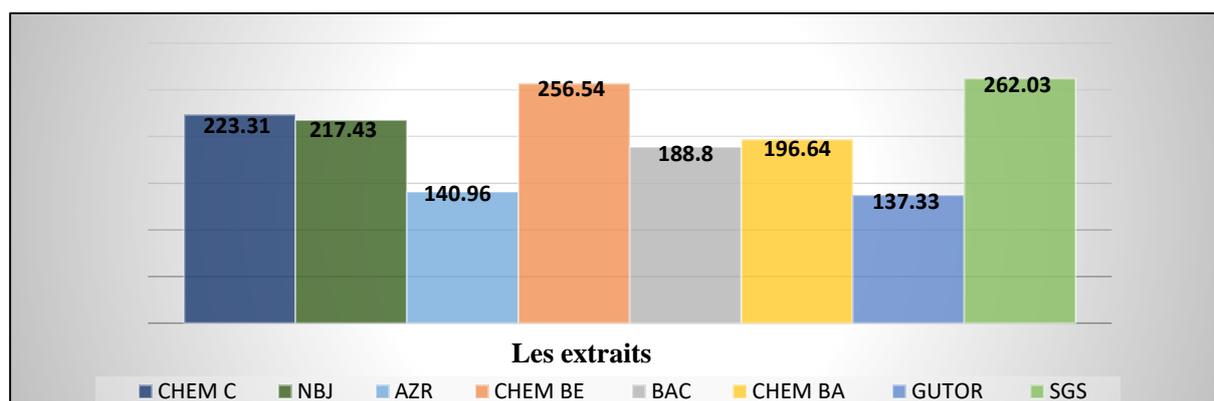


Figure 21 : Teneur des polyphénols totaux des extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions

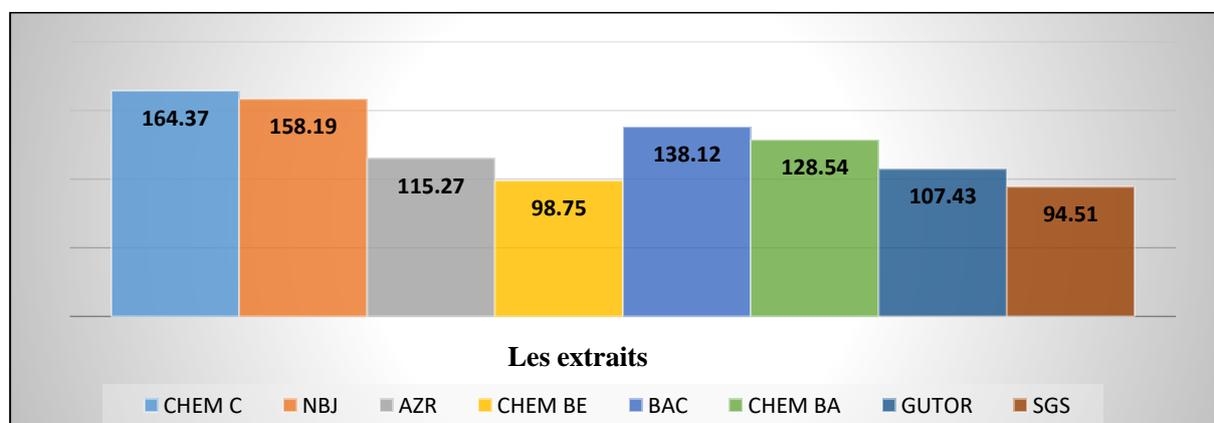


Figure 22 : Teneur des flavonoïdes totaux des extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions

Les résultats du dosage colorimétrique des composés phénoliques et flavonoïdes sont présentés dans les figures 21, 22 et le tableau 5.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux ont été obtenus par extrapolation de l'absorbance des extraits sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats montrent que SGS et CHEM BE sont les extraits les plus riches en polyphénols avec une teneur de ($262.03 \pm 11.60 \mu\text{g EAG/mg}$ et de $256.54 \pm 4.78 \mu\text{g EAG/mg}$), suivi par les extraits CHEM C et NBJ (223.31 ± 19.90 et $217.43 \pm 21.98 \mu\text{g EAG/mg}$ respectivement), cependant l'AZR et GUTOR ont les plus faibles teneurs en polyphénols avec (140.96 ± 6.47 et $137.33 \pm 11.22 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait).

D'après la figure 22 et le tableau 5, les extraits CHEM C et NBJ sont les plus riches en flavonoïdes avec une quantité égale à ($164,37 \pm 8,83$ et $158,19 \pm 4,27 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement). Ensuite les extraits BAC CHEM BA et AZR avec une teneur de flavonoïde (138.12 ± 8.39 , 128.54 ± 1.76 et $115.27 \pm 1.62 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement), suivi par les extraits GUTOR, CHEM BE et SGS qui ont montré les teneurs les plus faibles (107.43 ± 3.68 , 98.75 ± 0.44 et $94.51 \pm 1.47 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait, respectivement).

La différence de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits bruts le temps de la température d'extraction, le rapport solide-liquide d'extraction ainsi que la nature chimique et les caractéristiques physiques des échantillons (**Dai et Mumper, 2010**).

En effet les extraits de l'espèce *Olea europaea* de la région de Constantine renferme plus de polyphénols et de flavonoïdes que les autres extraits. Cette variabilité des teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits est due probablement à la composition phénolique des extraits, la nature du sol et le type du microclimat, et aussi des étages bioclimatiques où pousse cette plante (**Tahar et al., 2015**).

Une étude réalisée par **Goldsmith et al., 2015** a montré que l'extrait méthanolique de l'espèce *Olea europaea* comporte une teneur élevée de ($231.05 \pm 11.15 \text{ mg EAG/g}$ d'extrait) en polyphénols et de ($539.53 \pm 18.16 \text{ mg EQ/g}$ d'extrait) en flavonoïdes. Ces résultats sont en total accord avec les résultats obtenus.

III.1.1.2 Activité antiradicalaire au DPPH :

L'activité antiradicalaire des extraits a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par changement de la couleur violette à la couleur jaune. Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport à l'acide ascorbique et le Trolox Les résultats sont présentés au-dessous :

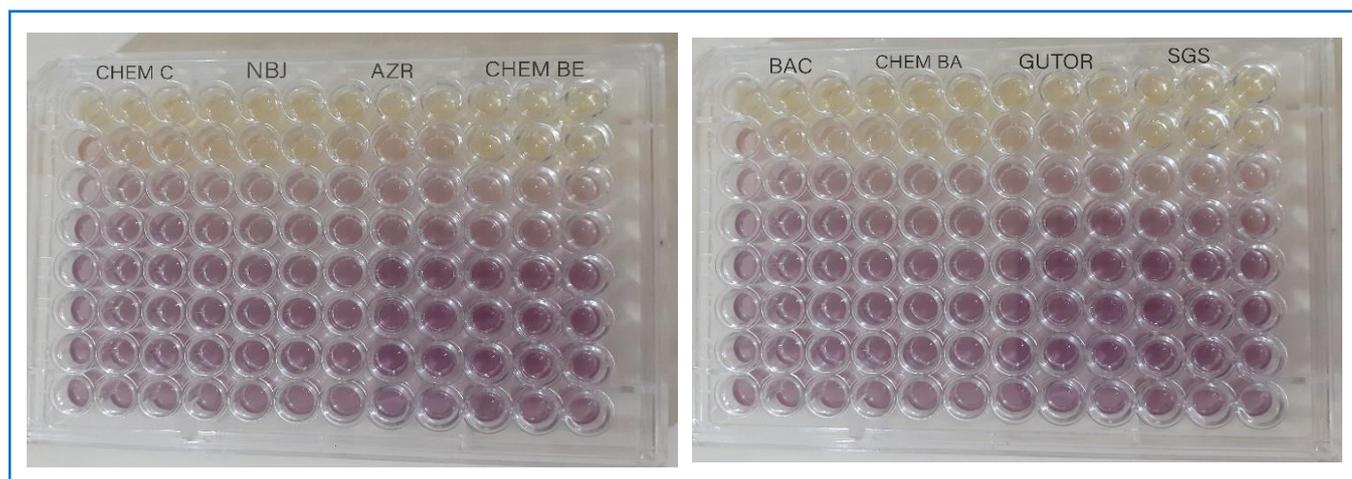


Figure 23 : Les plaques de dosage de l'activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 6 : Inhibition du radical DPPH par les extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards	% d'inhibition							CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	
CHEM C	NA	NA	NA	NA	24,45 \pm 5,06	75,10 \pm 2,07	85,00 \pm 0,41	37,54 \pm 1,65
NBJ	NA	NA	NA	14,95 \pm 2,99	35,34 \pm 1,28	80,81 \pm 2,54	85,13 \pm 1,13	33,08 \pm 0,94
AZR	NA	NA	NA	12,23 \pm 2,49	30,29 \pm 3,07	65,28 \pm 2,82	85,86 \pm 0,53	39,10 \pm 0,40
CHEM BE	NA	NA	7,52 \pm 3,84	21,33 \pm 1,44	50,47 \pm 0,11	86,39 \pm 1,17	85,53 \pm 1,62	24,80 \pm 0,04
BAC	4,62 \pm 1,42	4,75 \pm 2,17	4,96 \pm 4,47	8,34 \pm 2,08	20,92 \pm 3,83	41,76 \pm 0,70	66,58 \pm 3,81	70,20 \pm 2,46
CHEM BA	NA	NA	NA	NA	29,38 \pm 5,68	82,21 \pm 0,51	Sat	34,64 \pm 1,70
GUTOR	9,69 \pm 1,61	12,94 \pm 1,22	11,52 \pm 3,22	15,58 \pm 3,47	58,19 \pm 0,70	81,33 \pm 1,07	Sat	22,59 \pm 0,26
SGS	NA	NA	NA	15,03 \pm 1,29	53,93 \pm 3,16	82,48 \pm 3,19	Sat	23,77 \pm 0,98
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	6.42 \pm 0.91	13.33 \pm 2.14	30.19 \pm 0.67	61.48 \pm 2.98	87.16 \pm 0.28	88.46 \pm 0.11	87.72 \pm 0.47	5.12 \pm 0.21
Acide ascorbique	0.31 \pm 1.02	12.90 \pm 0.28	29.69 \pm 0.39	76.67 \pm 0.37	84.94 \pm 0.84	87.78 \pm 0.49	86.36 \pm 0.21	4.39 \pm 0.01

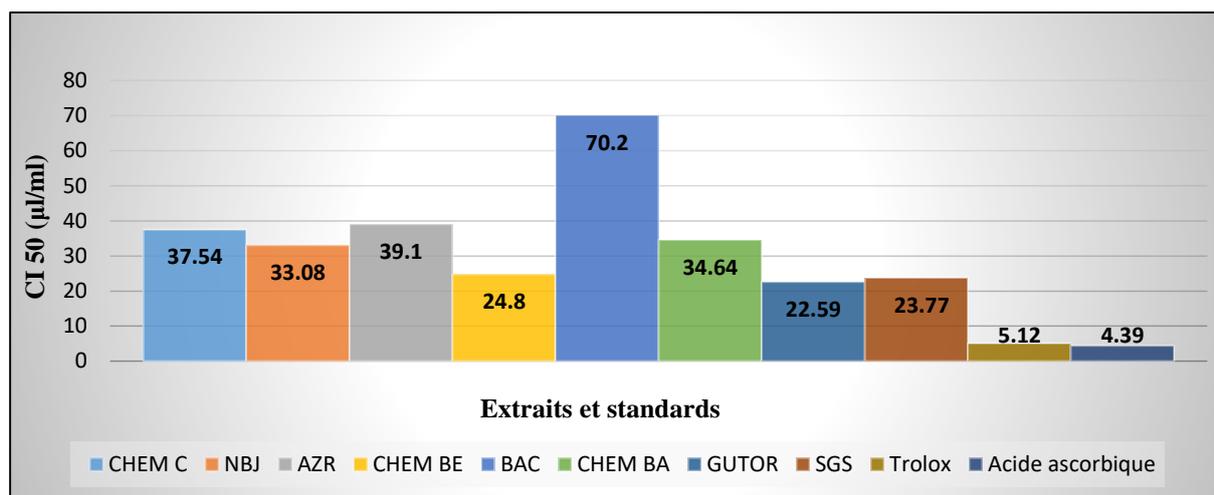


Figure 24 : Valeurs des IC₅₀ du test DPPH pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Dans ce test, on remarque que la capacité de piégeage des radicaux libres présentée par GUTOR (IC₅₀= 22,59±0,26 µg/ml) est quatre fois plus faible que le standard Trolox (IC₅₀= 5.12±0.21 µg/ml) et cinq fois plus faible que l'acide ascorbique (IC₅₀= 4.39±0.01 µg/ml). Cette activité est suivie par les extraits SGS , CHEM Be et NBJ (IC₅₀= 23,77±0,98µg/ml et IC₅₀= 24.80±0.04 µg/ml, 33,08±0,94 µg/ml respectivement), ces résultats montre que les trois extraits présentent une activité presque cinq fois moins faible que le standard Trolox (IC₅₀=5.21±0.27µg/ml) et sept fois moins faible que le standard l'acide ascorbique (IC₅₀=3.62±0.29µg/ml), donc on peut dire que les extraits, SGS, CHEM Be et NBJ ont présenté une bonne activité antioxydante.

D'après ces résultats obtenus on peut dire que les extraits GUTOR et SGS de la région de Constantine qui ont été récoltés en 2009 ont présenté la meilleure activité antiradicalaire par rapport aux autres extraits.

L'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Olea europaea* pourrait être due à la présence des composés phénoliques contenant des groupements hydroxyle dans leur structure comme l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et l'acide lutéoline-7-O-glucoside (**Sapakal et al., 2018**).

L'activité anti-radicalaire dépend généralement du nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels. La structure des composés phénoliques est un facteur déterminant de leur piégeage des radicaux libres qui sont des pathogènes dans de nombreuses maladies.

Cependant, le plus important c'est que l'effet antioxydant produit par les extraits de feuilles de l'olivier est toujours le plus fort grâce à la synergie des flavonoïdes, des phénols et de la richesse en Oleuropéine (Rauwald et al., 1994).

L'étude réalisée par (ADDAB et al., 2020) sur l'activité antioxydante de l'espèce *Olea europaea* collectée en décembre 2018 à des différentes régions : Batna, Mila, Skikda et Biskra a enregistré un meilleur pouvoir réducteur avec une valeur de CI_{50} de $(58.28 \pm 1.22 \%)$ inférieure a ceux obtenues dans cette étude.

III.1.1.3 Activité du piégeage du cation radical $ABTS^{•+}$:

Dans ce test, l'antioxydant réagit avec l' $ABTS^{•+}$ de couleur bleu/vert par transfert d'électrons pour redonner l' $ABTSH^{•+}$ incolore. Cette transformation a été suivie par la mesure de l'absorbance et la détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits d'*Olea europaea* en comparaison avec les standards, le Trolox et l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont illustrés ci-dessous :

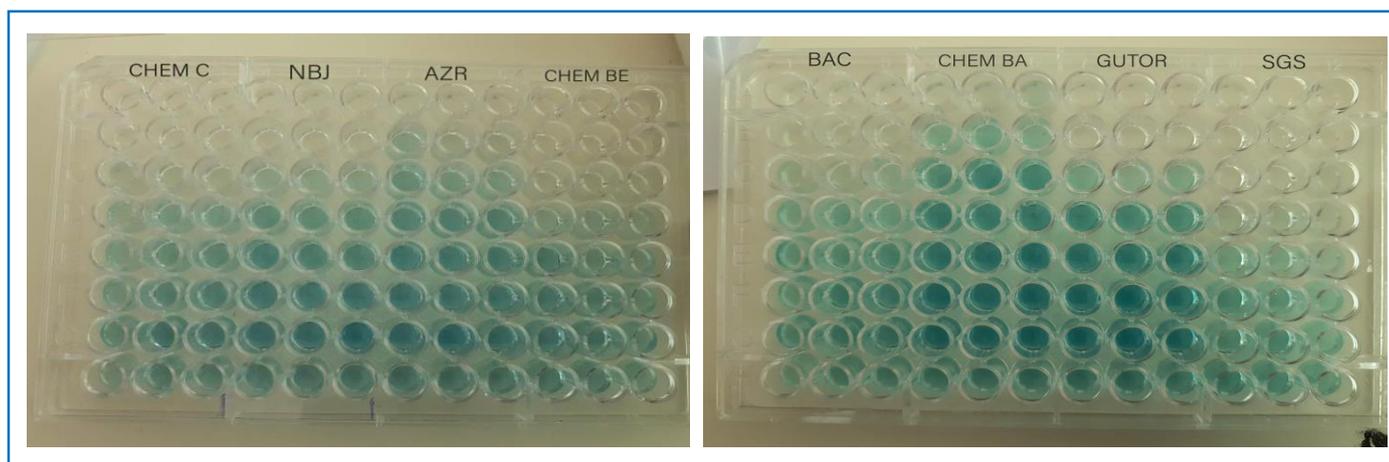


Figure 25 : Les plaques de dosage de l'activité du piégeage du cation radical $ABTS^{•+}$ des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 7 : Inhibition du cation radical ABTS⁺ par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration	% d'inhibition							CI ₅₀ (µg/ml)
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	
Extraits et standards								
CHEM C	6.97±5.35	14.63±1.00	18.33±1.27	16.32±2.70	39.93±0,56	80.28±0,56	89.23±0,30	31.24±0.31
NBJ	5.55±8.56	7.82±4.46	12.68±5.83	16.96±4.09	29.68±1.47	70.48±3.99	89.56±0,59	37.52±0.82
AZR	4.90±4.95	11.90±0,98	10.22±1.87	11.71±3.43	23.91±0,00	37.59±0,22	59.00±2.25	79.21±3.16
CHEM BE	8.21±2.40	13.66±1.07	13.20±8.60	25.79±2.76	43.89±4.37	73.14±1.35	87.35±1.73	29.89±2.73
BAC	7,05±4,35	10,54±5,35	14,31±5,07	17,24±5,52	28,28±4,15	43,87±2,20	75,17±3,22	59,79±2,82
CHEM BA	NA	NA	NA	NA	NA	20,62±3,33	34,41±4,58	>100
GUTOR	NA	NA	7,73±4,15	9,92±5,24	24,79±5,86	48,37±2,80	82,55±4,09	51,11±3,38
SGS	8,68±6,51	9,47±1,05	24,22±0,87	34,75±2,25	64,31±1,95	89,64±0,78	91,50±0,59	18,71±0,74
	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	CI₅₀ (µg/ml)
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1.19	3.21±0.06
Acide ascorbique	13.43±0.82	28.76±0.67	52.94±0.94	93.21±0.11	93.08±0.19	92.40±0.88	92.96±0.11	3.04±0.05

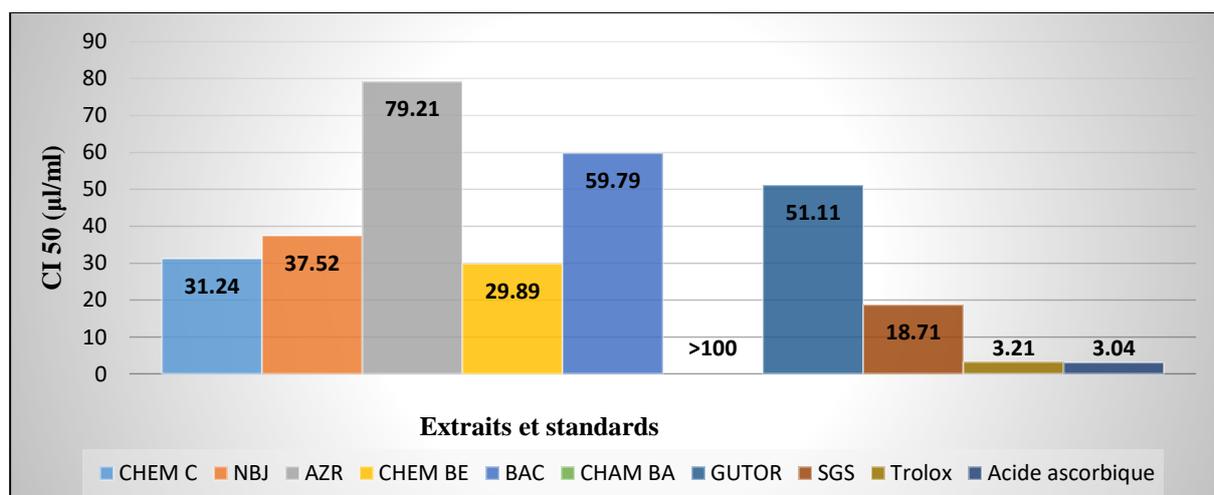


Figure 26 : Valeurs des CI₅₀ du test ABTS pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Dans ce test, on remarque que la meilleure capacité de piégeage du radical ABTS⁺ est manifesté par l'extrait SGS (CI₅₀= 18,71±0,74 µg/ml) par rapports aux autres extraits, ce dernier est six fois plus faible que les standards Trolox (CI₅₀= 3,21±0.06 µg/ml) et l'acide ascorbique (CI₅₀= 3,04±0,05 µg/ml) respectivement et quatre fois plus élevé que l'extrait AZR (CI₅₀= 79,21±3,16 µg/ml). Cette capacité est suivie par les extraits CHEM BE et CHEM C (CI₅₀= 29,89±2,73 µg/ml et 31,24±0,31 µg/ml, respectivement), Ces deux extraits presentes une activité presque dix fois moins faible que les standards trolox et acide ascorbique, puis NBJ, GUTOR

et BAC ($CI_{50} = 37.52 \pm 0.82 \mu\text{g/ml}$, $51,11 \pm 3,38 \mu\text{g/ml}$, $59,79 \pm 2,82 \mu\text{g/ml}$, respectivement) alors que l'extrait CHEM BA ($CI_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$) a manifesté la plus faible activité par rapport aux standards et aux autres extraits. (Tableau 7, Figure 26).

D'après ces résultats du piégeage du radical $ABTS^{+}$, On peut dire que l'extrait SGS de la région de Constantine qui a manifesté la meilleure capacité antioxydante par rapport aux autres extraits, pourrait être considéré comme une source alimentaire d'antioxydant.

Dans cette activité, les extraits ont manifesté un pouvoir de piégeage des radicaux libres mieux que dans l'activité antiradicalaire au DPPH ceci peut être justifié par la capacité du radical cation ABTS d'être plus polyvalent que le DPPH parce qu'il est soluble dans l'eau et les solvants organiques, ce qui permet une évaluation d'activité antiradicalaire pour les composés hydrophiles et lipophiles (Gülçin, 2010).

Une étude de l'activité antioxydante sur les extraits d'*Olea europaea* récoltée au Brésil réalisé par la méthode du piégeage du radical ABTS a montré une valeur de CI_{50} égale à $16,1 \pm 1,02 \mu\text{g/mL}$ (Lins et al., 2018), ce résultat est similaire au résultat obtenus.

III.1.1.4 Activité du pouvoir réducteur (FRAP) :

Le suivi de cette activité est basé sur l'aptitude des extraits testés à réduire dans le complexe le fer ferrique (Fe^{+3}) de couleur jaune en fer ferreux (Fe^{+2}) de couleur bleu verte. En mesurant les valeurs de $A_{0,50}$ et par comparaison avec les standards l'acide ascorbique et le Trolox, le test nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

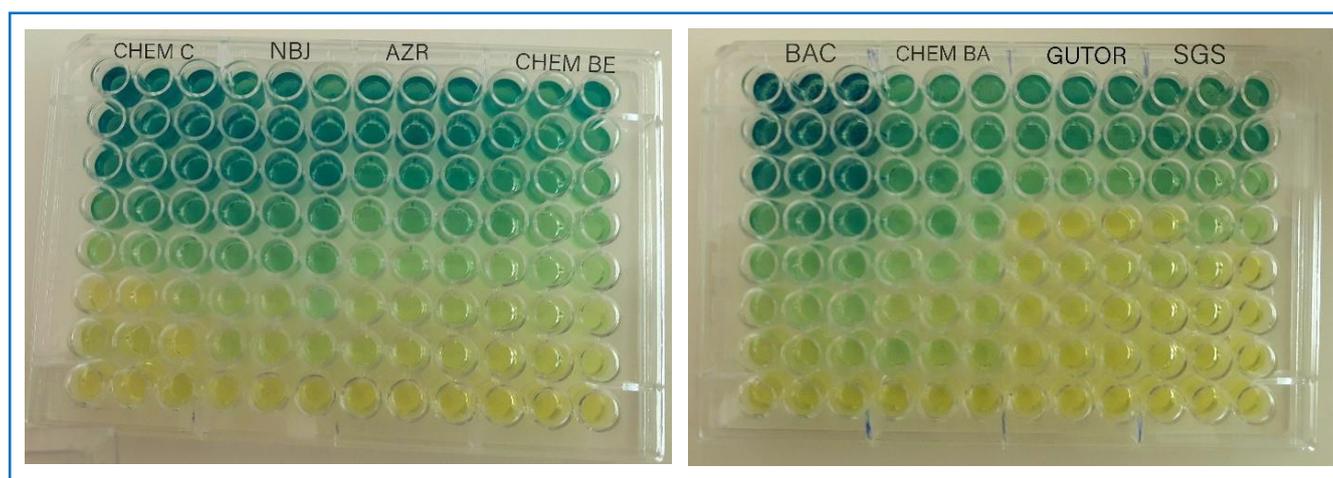


Figure 27 : Les plaques de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (FRAP) des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 8 : Absorbance du pouvoir réducteur par les extraits d'*Olea eurpaea* récoltée de trois régions

Concentration ($\mu\text{g/ml}$) Extraits et standards	Absorbance							$A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
CHEM C	0,09 \pm 0,04	0,09 \pm 0,07	0,25 \pm 0,03	0,48 \pm 0,07	0,76 \pm 0,06	0,86 \pm 0,03	1,22 \pm 0,08	28,15 \pm 2,90
NBJ	0,14 \pm 0,04	0,16 \pm 0,05	0,30 \pm 0,02	0,42 \pm 0,06	0,66 \pm 0,07	0,85 \pm 0,12	0,90 \pm 0,09	29,57 \pm 1,59
AZR	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,19 \pm 0,19	0,27 \pm 0,08	0,45 \pm 0,08	0,81 \pm 0,14	0,96 \pm 0,05	61,01 \pm 7,48
CHEM BE	0,09 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02	0,29 \pm 0,06	0,35 \pm 0,07	0,53 \pm 0,04	0,81 \pm 0,17	98,27 \pm 0,47
BAC	0,19 \pm 0,03	0,25 \pm 0,01	0,36 \pm 0,36	0,64 \pm 0,01	1,00 \pm 0,03	1,19 \pm 0,13	1,48 \pm 0,24	18,71 \pm 0,27
CHEM BA	0,21 \pm 0,04	0,11 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02	0,30 \pm 0,05	0,41 \pm 0,06	0,42 \pm 0,04	0,49 \pm 0,10	>200
GUTOR	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,05 \pm 0,00	0,26 \pm 0,04	0,43 \pm 0,10	0,63 \pm 0,11	163,21 \pm 0,62
SGS	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,09 \pm 0,03	0,15 \pm 0,15	0,30 \pm 0,10	0,48 \pm 0,03	0,66 \pm 0,12	198,38 \pm 3,79
	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	$A_{0,5}$ ($\mu\text{g/ml}$)
Trolox	0,07 \pm 0,00	0,08 \pm 0,00	0,09 \pm 0,01	0,13 \pm 0,00	0,19 \pm 0,02	0,28 \pm 0,05	0,60 \pm 0,04	5,25 \pm 0,20
Acide ascorbique	0,07 \pm 0,00	0,09 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,47 \pm 0,03	0,79 \pm 0,09	3,62 \pm 0,29

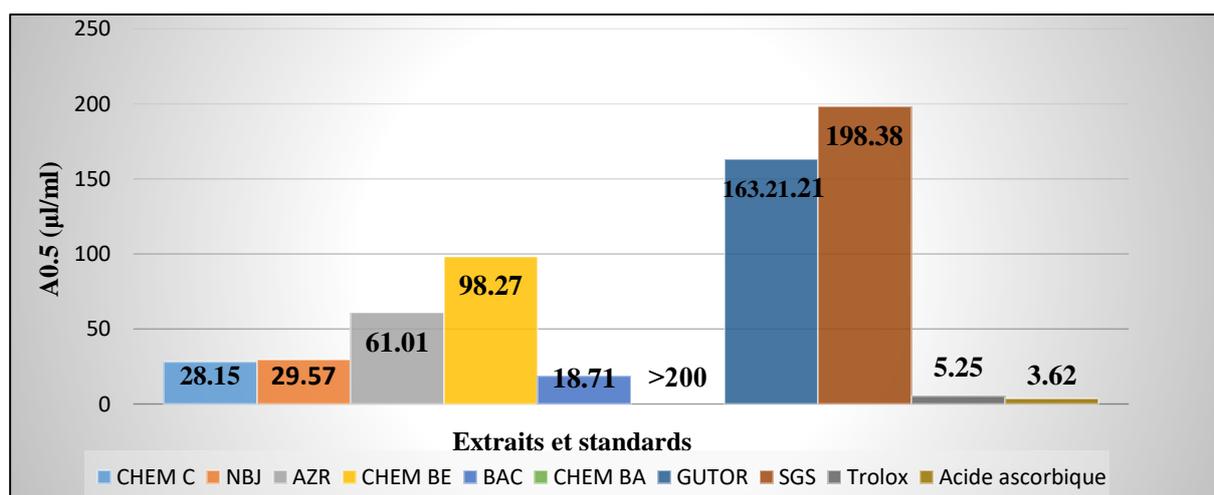


Figure 28 : Valeurs des $A_{0,50}$ du test pouvoir réducteur par les extraits d'*Olea eurpaea* récoltée de trois régions

Les résultats obtenus par cette activité montrent que l'extrait BAC a le pouvoir réducteur le plus important ($A_{0,50}=18,71\pm 0,27 \mu\text{g/ml}$) par rapport aux autres extraits. Ce dernier est trois fois plus faible que le Trolox ($A_{0,50}=5,21\pm 0,27\mu\text{g/ml}$) et cinq fois plus faible que l'acide ascorbique ($A_{0,50}=3,62\pm 0,29\mu\text{g/ml}$).

Cette activité est suivie par les extraits CHEM C et NBJ ($A_{0,50}=28,15\pm 2,90$ et $29,57\pm 1,59 \mu\text{g/ml}$ respectivement), les deux derniers extraits présentent une activité presque cinq fois moins faible que le Trolox ($A_{0,50}=5,21\pm 0,27\mu\text{g/ml}$) et huit fois moins faible que le standard l'acide ascorbique ($A_{0,50}=3,62\pm 0,29\mu\text{g/ml}$).

Alors que les extraits CHEM Be ($A_{0,50}=98,27\pm 0,47\mu\text{g/ml}$), GUTOR ($A_{0,50}=163,21\pm 0,62\mu\text{g/ml}$), SGS ($A_{0,50}=198,38\pm 3,79\mu\text{g/ml}$) et CHEM Ba ($A_{0,50}>200\mu\text{g/ml}$) ont montré le pouvoir réducteur le plus faible par rapport au standards et aux autres extraits.

Ces résultats montrent la forte activité antioxydante de l'espèce *Olea europaea* de la région Constantine.

Le pouvoir réducteur de l'espèce *Olea europaea* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques essentiellement l'oleuropeine et l'hydroxytyrosol qui peuvent servir comme donneur d'électron.

L'olivier est une source importante des composés phénoliques, comme l'oléuropeine qui possède une bonne activité antioxydante et un pouvoir réducteur fort.

Comparativement à l'étude faite par (ADDAB et al., 2020) sur les extraits de l'espèce *Olea europaea* récoltée en décembre 2018 à des différentes régions : Batna, Mila, Biskra, Skikda où elle a enregistré un meilleur pouvoir réducteur avec une valeur de PI de ($58.28\pm 1.22\%$), proche à celle obtenue dans la présent travail.

III.1.1.5 Activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline :

Suite à une réaction d'oxydoréduction, un complexe Fe^{+2} - phénantroline de couleur rouge-orangé est formé. Cette réduction est déterminée par la mesure de valeurs de $A_{0,50}$ des extraits d'*Olea europaea* et celles des standards Trolox et l'acide ascorbique ce qui a permis d'obtenir les résultats suivants :



Figure 29 : les plaques de dosage de l'activité de réduction par la formation du complexe Fe^{+2} - phénantroline par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 9 : Absorbance du complexe Fe²⁺- phénantroline des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration (µg/ml)	Absorbance							
	0.390625	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	A _{0,5} (µg/ml)
Extraits et standards								
CHEM C	0.28±0,00	0.29±0,01	0.30±0,00	0.30±0,01	0.33±0,00	0.38±0,02	0.50±0,02	24.15±0.93
NBJ	0,28±0,01	0,29±0,01	0,30±0,01	0,28±0,01	0,30±0,00	0,45±0,04	0,68±0,00	15.14±1.49
AZR	0,26±0,02	0,28±0,01	0,27±0,01	0,30±0,03	0,30±0,01	0,31±0,01	0,39±0,02	>25
CHEM BE	0,26±0,01	0,28±0,01	0,28±0,00	0,29±0,01	0,34±0,01	0,40±0,03	0,60±0,02	18.77±1.54
BAC	0,27±0,01	0,27±0,02	0,31±0,03	0,32±0,04	0,38±0,03	0,39±0,01	0,55±0,03	21.39±2.03
CHEM BA	0,27±0,00	0,27±0,01	0,26±0,01	0,26±0,01	0,31±0,06	0,27±0,01	0,31±0,01	>25
GUTOR	0.26±0,03	0,26±0,01	0,27±0,01	0,27±0,01	0,28±0,03	0,33±0,00	0,44±0,01	>25
SGS	0,29±0,02	0,27±0,01	0,29±0,01	0,33±0,02	0,36±0,02	0,45±0,03	0,66±0,04	15.68±1.83
	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	A_{0,5} (µg/ml)
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Acide ascorbique	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

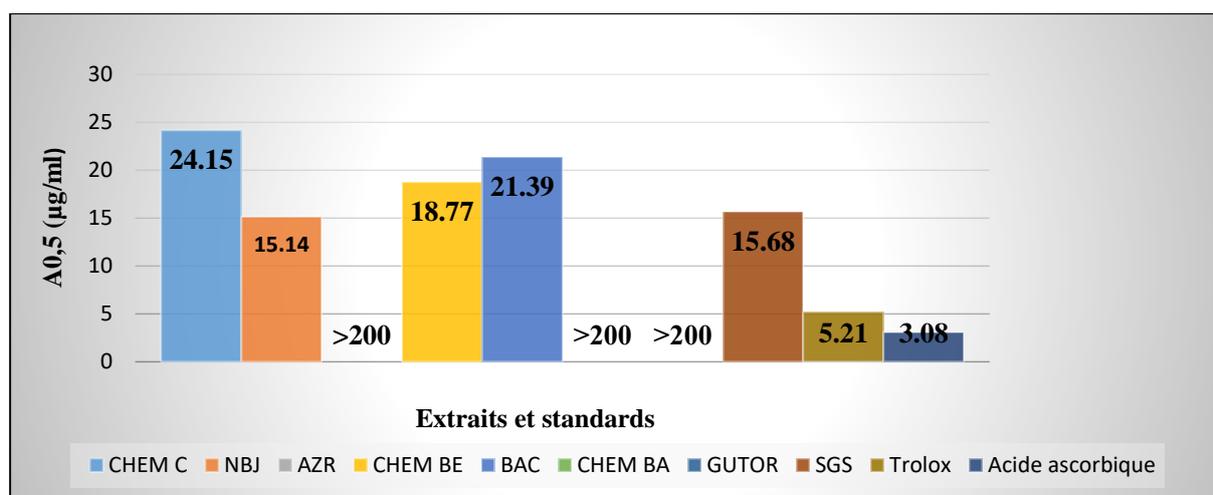


Figure 30 : Valeurs des A_{0,50} du test Fe²⁺-phénantroline pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

A partir du Tableau 9 et la Figure 30, on peut déduire que les extraits NBJ et SGS ont le pouvoir réducteur le plus important (A_{0,50}= 15.14±1.49 µg/ml, 15.68±1.83 µg/ml, respectivement) par rapport aux autres extraits. Ces derniers sont trois fois plus faible que le Trolox (A_{0,50}= 5.21±0.27µg/ml) et quatre fois plus faible que l'acide ascorbique (A_{0,50}= 3.08±0.02µg/ml).

Cette activité est suivie par les extraits CHEM BE, BAC et CHEM C (A_{0,50}=18.77±1.54, 21.39±2.03, 24.15±0.93 µg/ml respectivement), avec un pouvoir réducteur presque quatre fois

moins faible que le trolox ($A_{0,50}=5.21\pm 0.27 \mu\text{g/ml}$) et six fois moins faible que l'acide ascorbique ($A_{0,50}=3.08\pm 0.02 \mu\text{g/ml}$). Alors que les extraits AZR, CHAM BA et GUTOR ($A_{0,50} > 25 \mu\text{g/ml}$) ont montré le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux standards et aux autres extraits.

Cette différence du pouvoir réducteur vis-à-vis du complexe Fe^{+2} - phénantroline est due à la capacité réductrice des polyphénols en tant qu'antioxydants qui dépend du degré d'hydroxylation et du degré de conjugaison des composés phénoliques. Spécifiquement pour les flavonoïdes.

Notre étude de l'activité de réduction du fer par la formation du complexe Fe^{+2} -phénantroline est la première réalisée sur l'espèce *Olea europaea*.

III.1.1.6 Activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC) :

C'est une réaction de réduction du complexe cuivre-néocuproïne [$\text{Nc}_2\text{-Cu}^{2+}$], le dosage de cette réaction est mesuré à titre de valeurs $A_{0,50}$ des extraits d'*Olea europaea* et des standards Trolox et l'acide ascorbique mentionnées ci-dessous :

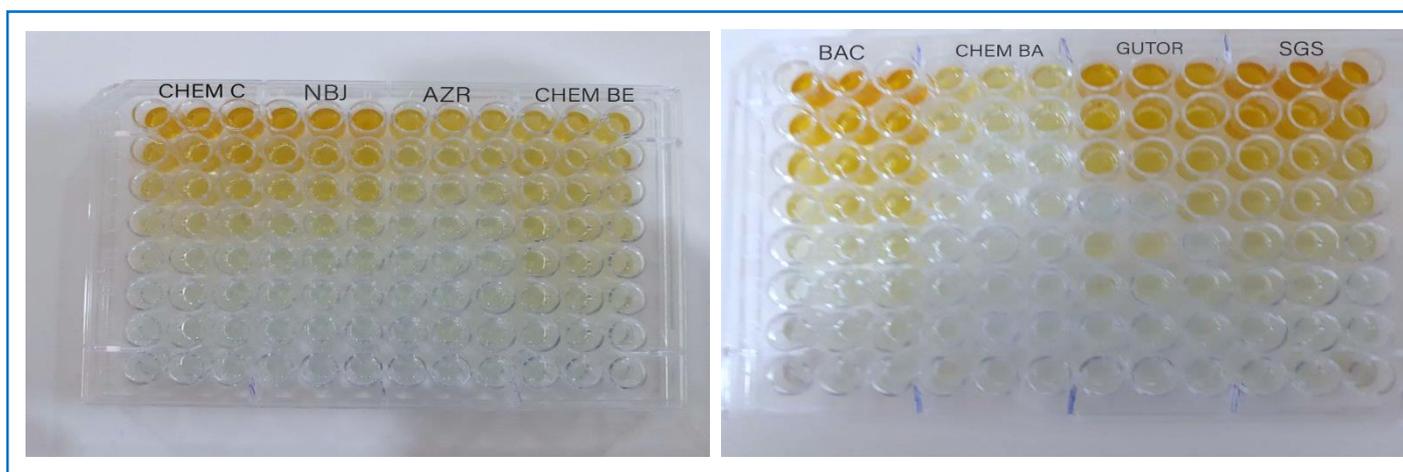


Figure 31 : Les plaques de dosage de l'activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 10 : La capacité antioxydante de réduction du cuivre d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration (µg/ml)	Absorbance							A _{0,5} (µg/ml)
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	
Extraits et standards								
CHEM C	0,11±0,01	0,13±0,01	0,16±0,01	0,28±0,01	0,52±0,03	0,91±0,08	1,86±0,17	24.11±1.47
NBJ	0,09±0,00	0,12±0,01	0,15±0,01	0,20±0,02	0,44±0,04	0,70±0,05	1,65±0,08	30.63±2.13
AZR	0,12±0,03	0,11±0,01	0,10±0,00	0,14±0,01	0,24±0,03	0,42±0,01	0,96±0,09	57.65±1.22
CHEM BE	0,13±0,00	0,18±0,01	0,24±0,01	0,33±0,04	0,39±0,05	0,56±0,08	0,84±0,11	40.55±4.37
BAC	0,17±0,02	0,22±0,01	0,31±0,01	0,62±0,04	1,03±0,02	1,56±0,12	2,73±0,11	10.05±0.48
CHEM BA	0,10±0,03	0,12±0,01	0,13±0,01	0,16±0,01	0,22±0,02	0,36±0,02	0,58±0,06	87.76±4.41
GUTOR	0,14±0,01	0,22±0,02	0,22±0,14	0,38±0,00	0,56±0,03	0,98±0,10	1,60±0,15	21.10±1.75
SGS	0,15±0,02	0,16±0,06	0,27±0,02	0,39±0,02	0,69±0,03	1,31±0,05	2,38±0,11	17.03±0.88
	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	12.5	25	A_{0,5}(µg/ml)
Trolox	0.12±0.01	0.14±0.00	0.18±0.01	0.25±0.00	0.40±0.01	0.67±0.02	1.34±0.13	8.69±0.14
Acide ascorbique	0.11±0.01	0.12±0.01	0.18±0.03	0.24±0.01	0.41±0.01	0.71±0.02	1.38±0.11	8.31±0.15

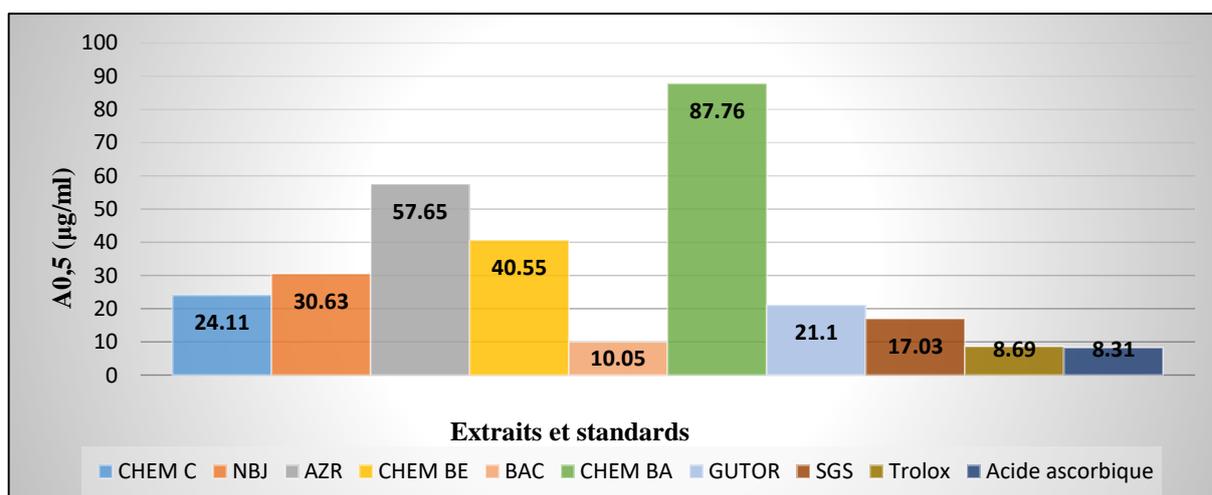


Figure 32 : Valeurs des A_{0,50} du test CUPRAC pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

La présente étude a montré que l'extrait BAC ($A_{0,50}=10.05\pm 0.48 \mu\text{g/ml}$) possède une excellente activité de réduction du complexe cuivre-néocuproïne par rapport au standards Trolox ($A_{0,50}=8.69\pm 0.14\mu\text{g/ml}$) et l'acide ascorbique ($A_{0,50}=8.31\pm 0.15\mu\text{g/ml}$). Cet extrait est six fois plus actif que celui de AZR ($A_{0,50}=57.65\pm 1.22 \mu\text{g/ml}$). Et cette activité est moins efficace pour les extraits SGS ($A_{0,50} = 17.03\pm 0.88 \mu\text{g/ml}$), GUTOR ($A_{0,50}= 21.10\pm 1.75 \mu\text{g/ml}$) CHEM C ($A_{0,50}=24.11\pm 1.47\mu\text{g/ml}$), NBJ ($A_{0,50}= 30.63\pm 2.13\mu\text{g/ml}$) et CHEM BE ($A_{0,50}=40.55\pm 4.37\mu\text{g/ml}$), Alors que NBJ et CHEM BE sont quatre fois moins faible que les standards trolox et l'acide ascorbique.

Par contre, l'extraits CHEM BA ($A_{0,50}=87.76\pm 4.41$ $\mu\text{g/ml}$) a présenté une faible activité de réduction par rapport aux standards aux standards et l'autres extraits.(Tableau 10, Figure 32).

Cette différence d'activité vis-à-vis au complexe cuivre-néocuproïne est due à plusieurs critères que possède les polyphénols tels que le nombre et la position (positions 3', 4' et 5') de groupes d'hydroxyle aussi bien que le degré de conjugaison de la molécule entière (double liaison C2-C3). (Apak et al., 2004).

Une étude de l'activité antioxydante sur les extraits d'*Olea europaea* récoltée en Espagne et réalisé par la méthode de réduction du complexe cuivre- néocuproïne a donné une activité de réduction égale à (302.54 ± 6.75 mg d'équivalent trolox (TRE)/g extrait), cette activité est faible par rapport à nos résultats (Goldsmith et al., 2015).

III.1.1.7 Activité nanoparticule d'argent SNP :

L'activité nanoparticule des extraits a été évaluée par spectrophotométrie à 423 nm, en suivant la réduction de l' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphérique. Dans ce test les résultats ont été comparés par rapport a l'acide ascorbique et le Trolox. Les résultats sont présentés au-dessous :

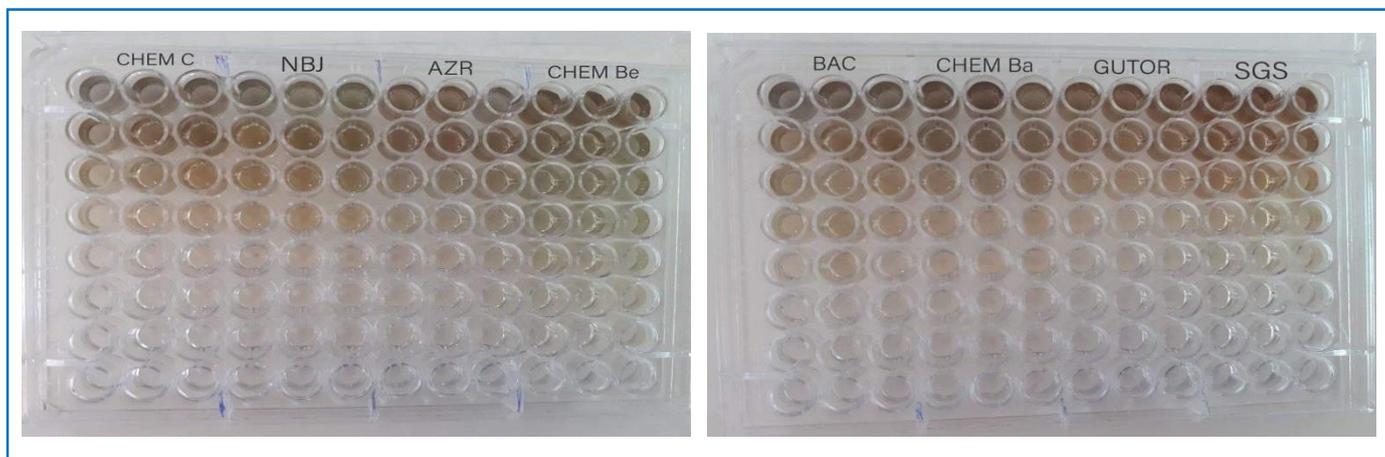


Figure 33 : Les plaques de dosage de l'activité de nanoparticule (SNP) des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 11 : Absorbance du nanoparticule d'argent par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration (µg/ml) Extraits et standards	Absorbance							A _{0,5} (µg/ml)
	3.125	6.25	25	50	100	200	400	
1	0.11±0.03	0.10±0.00	0.11±0.00	0.18±0.01	0.29±0,02	0.43±0,06	0.49±0,01	>400
2	0.09±0.00	0.12±0.01	0.15±0.01	0.27±0.01	0.41±0.02	0.56±0.07	0.63±0.04	144.99±3.17
3	0.09±0.00	0.11±0,00	0.15±0.01	0.24±0.02	0.36±0,07	0.47±0,00	0.55±0.06	252.44±7.31
4	0.11±0.01	0.13±0.01	0.18±0.00	0.26±0.02	0.34±0.02	0.43±0.02	0.61±0.00	267.92±3.74
5	0.13±0.01	0.14±0.00	0.22±0.06	0.32±0.04	0.40±0,05	0.59±0,08	0.60±0,02	164.92±7.15
6	0.11±0.00	0.12±0.01	0.16±0.00	0.23±0.02	0.34±0.02	0.53±0.03	0.68±0,13	191.67±1.74
7	0.09±0.00	0.10±0,00	0.11±0.00	0.16±0.01	0.28±0,02	0.50±0,00	0.69±0.08	197.82±2.23
8	0.11±0.01	0.12±0.02	0.17±0,00	0.26±0.06	0.40±0.03	0.60±0.04	0.90±0.01	142.76±2.61
	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	100	A_{0,5} (µg/ml)
Acide ascorbique	0.24±0.00	0.32±0.01	0.45±0.01	0.75±0.01	1.22±0.02	1.90±0.03	2.35±0.01	7.14±0.05
Trolox	0.17±0.00	0.20±0.01	0.23±0.00	0.30±0.01	0.43±0.01	0.64±0.03	1.04±0.01	34.17±1.23

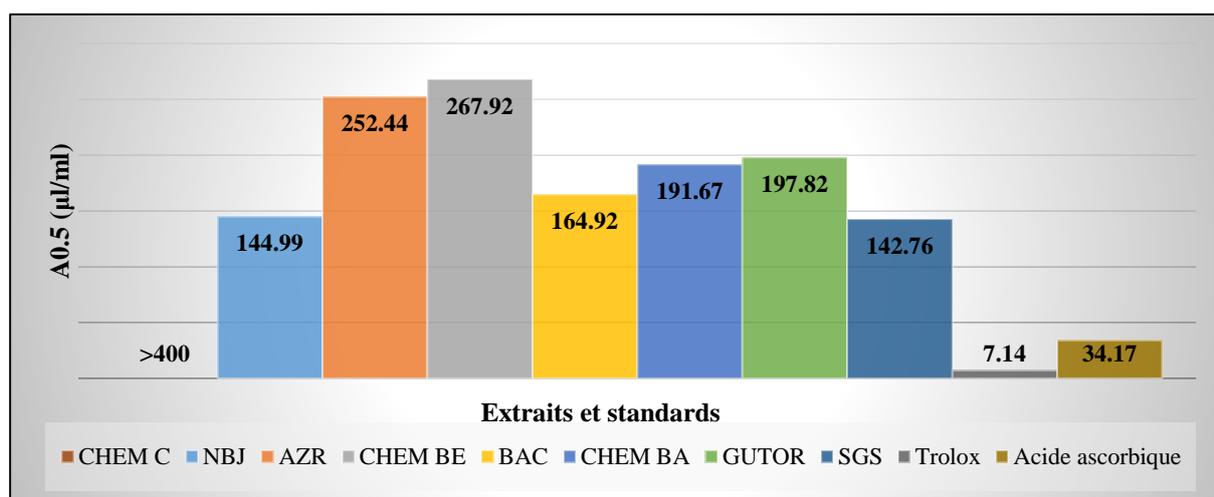


Figure 34 : Valeurs des A_{0,50} du test nanoparticule (SNP) pour les extraits de *Olea europaea* récoltée de trois régions

Les résultats obtenus par cette activité montrent que l'extrait SGS a présenté la meilleure activité avec une valeur (A_{0,50}= 142.76±2.61 µg/ml) par rapport aux autres extraits, Ce dernier est quatre fois plus faible que le Trolox (A_{0,50}=34.17±1.23µg/ml) et vingt fois plus faible que l'acide ascorbique (A_{0,50}=7.14±0.05µg/ml).

Cette activité est suivie par les extraits NBJ et BAC (A_{0,50}=144.99±3.17 et 164.92±7.15 µg/ml respectivement), les deux extraits présentent une activité presque quatre fois moins faible que Trolox et vingt fois moins faible que l'acide ascorbique. Cependant, les autres extraits ont présentés une faible activité et sont classés respectivement comme suite, CHEM Ba

($A_{0,50}=191.67\pm 1.74\mu\text{g/ml}$), GUTOR ($A_{0,50}= 197\pm 2.23\mu\text{g/ml}$), AZR($A_{0,50}=252.44\pm 7.31\mu\text{g/ml}$), $A_{0,50}=252.44\pm 7.31\mu\text{g/ml}$), CHEM Be ($A_{0,50}=267.92\pm 3.74\mu\text{g/ml}$), CHEM C ($A_{0,50}= >400\mu\text{g/ml}$).

Ces valeurs sont largement supérieures par rapport au Trolox ($A_{0,50}=34.17\pm 1.23\mu\text{g/ml}$) et l'acide ascorbique ($A_{0,50}=7.14\pm 0.05\mu\text{g/ml}$).

D'après ces résultats obtenus on peut dire que les extraits NBJ et SGS de la région de Constantine qui a été récolté en 2019 a présenté la meilleure activité de réduction de la nanoparticule d'argent.

En effet, la formation des nanoparticules pourrait être due à la présence des polyphénols dans les extraits du fait que l'extrait de l'espèce *Olea europaea* est très riche en polyphénols.

III.1.2 Evaluation les activités enzymatiques

III.1.2.1 Evaluation de l'activité antidiabétique

L'activité enzymatique de l'espèce *Olea europaea* a été évaluée en mesurant leurs capacités à inhiber l'enzyme alpha-amylase.

➤ Inhibition de l'alpha amylase

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme alpha-amylase des différents extraits d'*Olea europaea* a été évaluée par la détermination de la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme et en la comparant au standard l'acarbose.

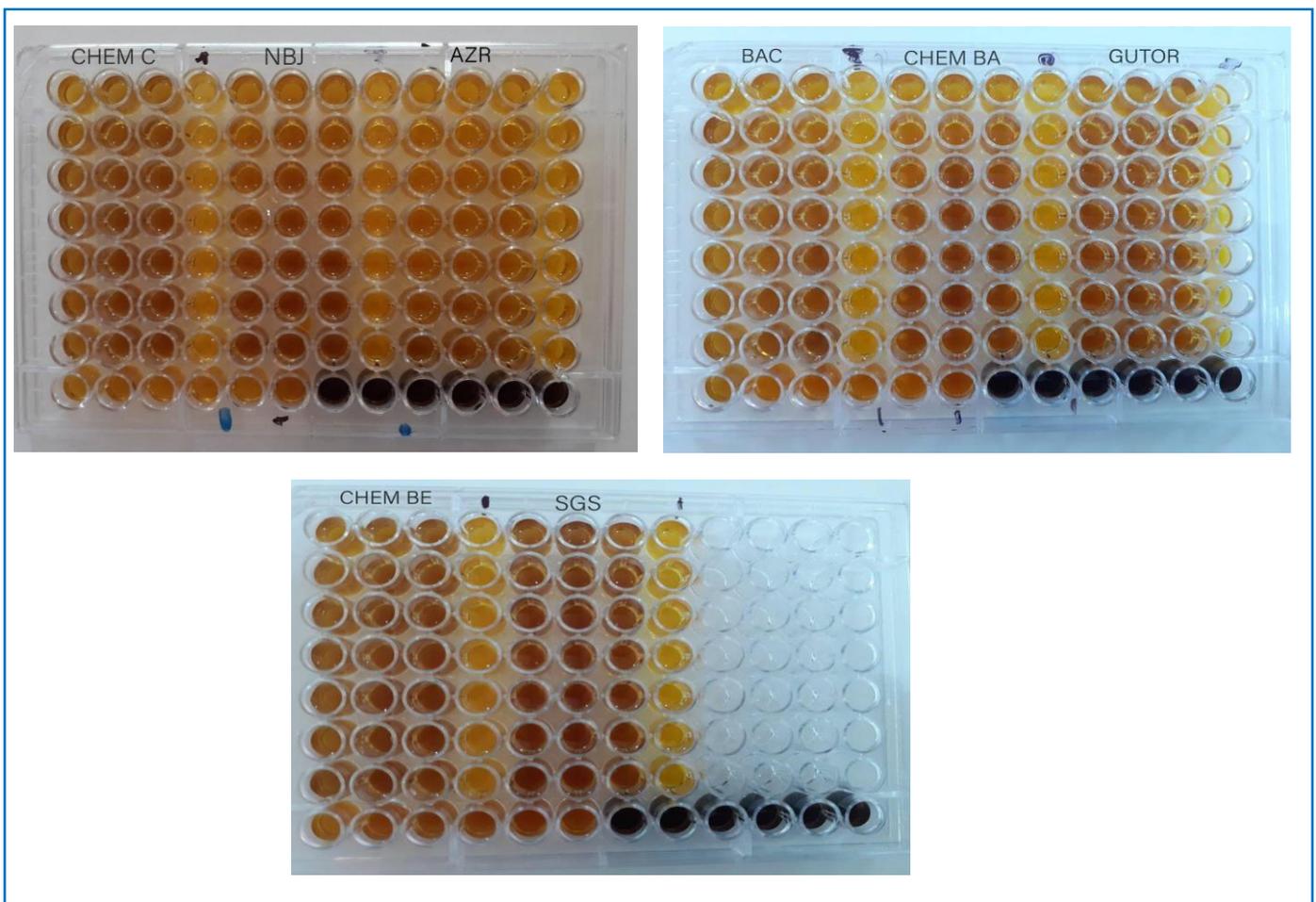


Figure 35 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice d'alpha-amylase des extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 12 : Inhibition de l' α -amylase par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	% d'inhibition							IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
Extraits et standards								
CHEM C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9,00 \pm 1,97	>400
NBJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5,35 \pm 0,26	>400
AZR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
CHEM BE	NA	NA	NA	NA	NA	7,41 \pm 2,41	9,83 \pm 0,10	>400
BAC	NA	NA	NA	NA	NA	5,18 \pm 0,00	5,46 \pm 0,24	>400
CHEM BA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
GUTOR	NA	NA	NA	NA	NA	16,37 \pm 2,87	17,52 \pm 2,29	>400
SGS	NA	NA	NA	NA	NA	19,64 \pm 2,11	21,22 \pm 3,20	>400
	62,5	125	250	500	1000	2000	4000	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Acarbose	7,76 \pm 0,17	8,08 \pm 0,30	9,46 \pm 0,11	10,70 \pm 0,96	31,81 \pm 2,89	37,21 \pm 3,54	53,05 \pm 1,59	3650,93 \pm 10,70

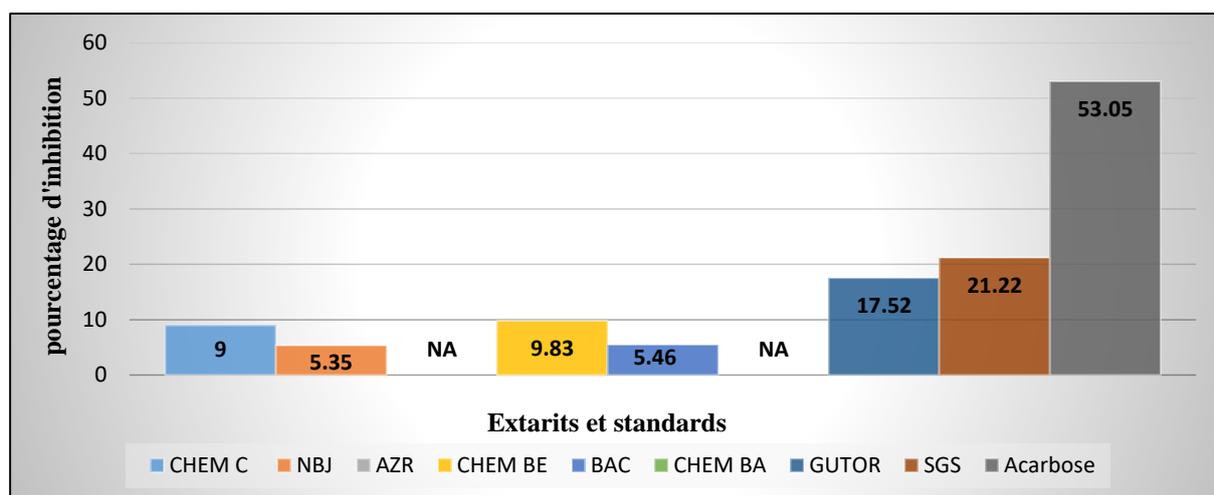


Figure 36 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l' α -amylase pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

D'après les résultats obtenus (Tableau 12, Figure 36), on remarque que les extraits d'*Olea europaea* ont montré une faible activité de l' α -amylase.

Les extraits SGS et GUTOR ont manifesté à la concentration 400 $\mu\text{g/ml}$ des pourcentages d'inhibitions égal à (21,22 \pm 3,20%, et 17,52 \pm 2,29% respectivement), sont presque trois fois plus faible que l'acarbose (53,05 \pm 1,59%), ce dernier réagit *in vivo* mieux que dans l'*in vitro*. Alors que les extraits CHEM BE, CHEM C, BAC, NBJ (9,83 \pm 0,10%, 9,00 \pm 1,97%, 5,46 \pm 0,24% et 5,35 \pm 0,26%) ont exhibé une faible activité loin d'être comparé avec l'acarbose. Par contre les extraits AZR, CHEM BA étaient inactif pour les différentes concentrations.

Par comparaison, on peut constater que les extraits d'*Olea europaea* montrent une faible activité antidiabétique par rapport au standard l'acarbose.

La faible activité inhibitrice de l'alpha-amylase malgré que les extraits sont riche en flavonoïdes, peut être justifiée par la présence dans les extraits d'*Olea europaea* d'une classe autre que les flavonoïdes car ces derniers ne représentent que 24,62% du contenu total en polyphénols. Cette classe est probablement les tanins, une des principales classes de composés phénoliques caractérisée par la présence des molécules inhibitrices non spécifiques de diverses enzymes hydrolytiques telles que les α -amylases, les α -glucosidases et les lipases. Cette inhibition est peut-être associée à leur capacité à se lier fortement aux protéines et aux glucides dont l'interaction entre les tanins et les protéines est le résultat de multiples liaisons hydrogènes et d'associations hydrophobes. À la suite de cette interaction, il se produit un blocage des sites catalytiques des enzymes et leur activité est donc inhibée (Aparecida Braga et al., 2019).

Les résultats obtenue par (Dekdouk et al., 2015) sur les extrait d'*Olea europaea* avec une concentration d'inhibition égal a ($CI_{50} = 36.09 \pm 1.99 \mu\text{g/ml}$).

III.1.2.2 Evaluation de l'activité anticholinestérase :

L'activité anticholinestérase des extraits d'*Olea europaea* est testée par la méthode d'inhibition de l'acétylcholinestérase selon la méthode d'Ellman.

➤ Inhibition de l'acétylcholinestérase :

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme acétylcholinestérase des différents extraits d'*Olea europaea* a été évaluée par la détermination des concentrations inhibitrices CI_{50} par rapport au standard la galantamine en se basant sur la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme. Les résultats sont présentés au-dessous :



Figure 37 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les extraits d'*Olea europaea*

Tableau 13 : Inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition							
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ (µg/mL)
Extraits et standards								
CHEM C	NA	NA	NA	NA	NA	NA	20.50±2.32	>200
NBJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.87±6.03	>200
AZR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
CHEM BE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
BAC	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
CHEM BA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
GUTOR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SGS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC ₅₀ (µg/mL)
Galantamine	35,93 ±2,28	43,77±0.00	68,50 ±0,31	80,69 ± 0,41	85,78 ± 1,63	91,80 ± 0,20	94,77 ± 0,34	6.27±1.15

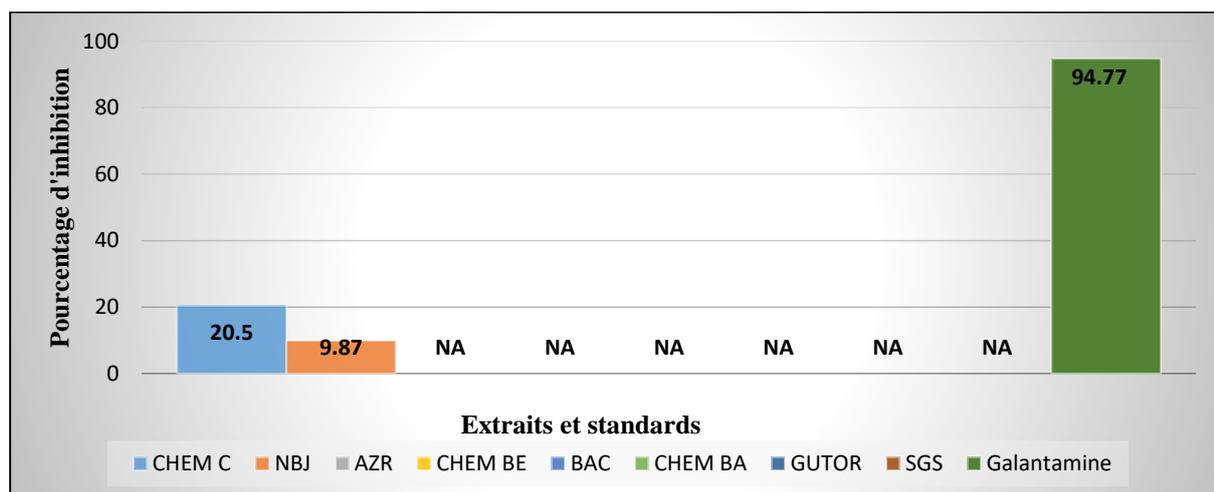


Figure 38 : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'acétylcholinestérase pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

D'après les résultats de la Figure 38, qui présente le pourcentage d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les extraits d' *Olea europaea* , dans la concentration 200 µg/L on remarque que l'extrait CHEM C a faiblement inhibé l'activité de l'AChE, avec un pourcentage d'inhibition de (20.5±2.32%) qui est quatre fois plus faible que la galantamine (94.77±0,34%). Cependant l'extrait NBJ avec un pourcentage d'inhibition (9.87±6.03%) est faible dix fois plus faible que la galantamine (94.77± 0,34%) donc il est loin d'être comparé avec la galantamine.

Par contre les extraits AZR, CHEM BE, BAC, CHEM BA, GUTOR, SGS étaient inactif pour les différentes concentrations.

D'après ces résultats, on peut dire que les extraits CHEM C et NBJ de la région de Constantine ont présenté une faible activité d'inhibition de l'acétylcholinestérase par rapport au standard. Alors que les autres extraits n'ont pas montré d'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase. La faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase de l'espèce *Olea europaea* pourrait être due au type de composés présent dans l'espèce.

Cependant, Bien que le pouvoir antioxydant des différents extraits de l'espèce *Olea europaea* est due à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes et ce faible résultat peut être due à, l'interaction synergique et antagoniste entre les composants majeurs et mineurs de l'espèce En outre, d'autres études ont montré que la présence des fonctions oxygénées dans les monoterpènes bicycliques diminue l'activité inhibitrice de l'AChE (**Tundis et al., 2009**).

Une autre étude sur la même espèce a révélé l'inactivité des extraits a inhibé l'acétylcholinestérase, De plus le travail réalisé par Sarikurkcu a montré une faible activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase (**Sarikurkcu et al., 2020**). Nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés dans cette étude.

III.1.2.3 Evaluation de l'activité anti-uréase :

Dans cette étude, l'activité inhibitrice de l'enzyme uréase des différents extraits d'*Olea europaea* a été évaluée par rapport au standard le Thiourée en se basant sur la capacité d'une substance à inhiber cette enzyme. Les résultats sont présentés au-dessous :

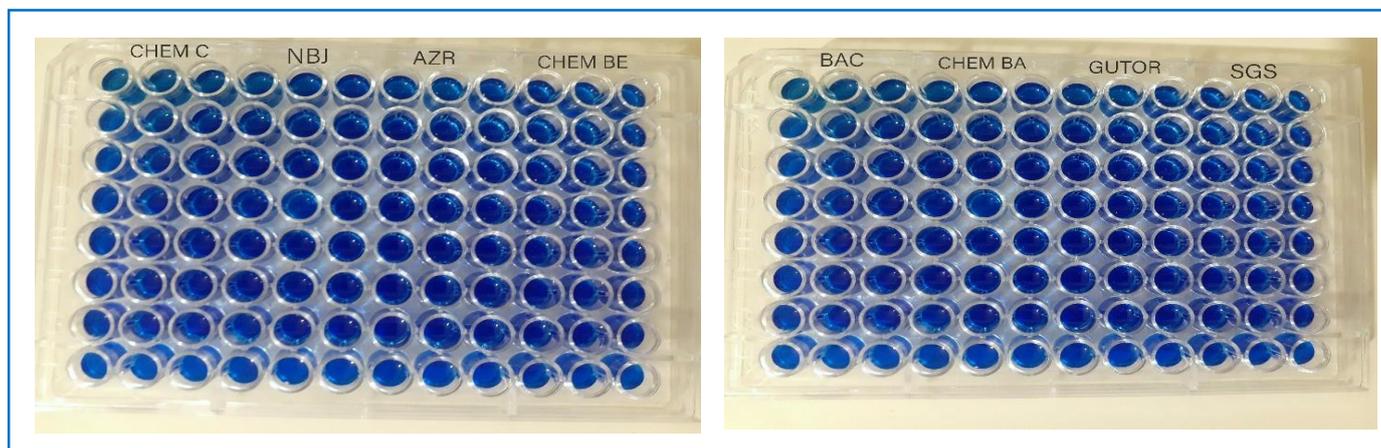
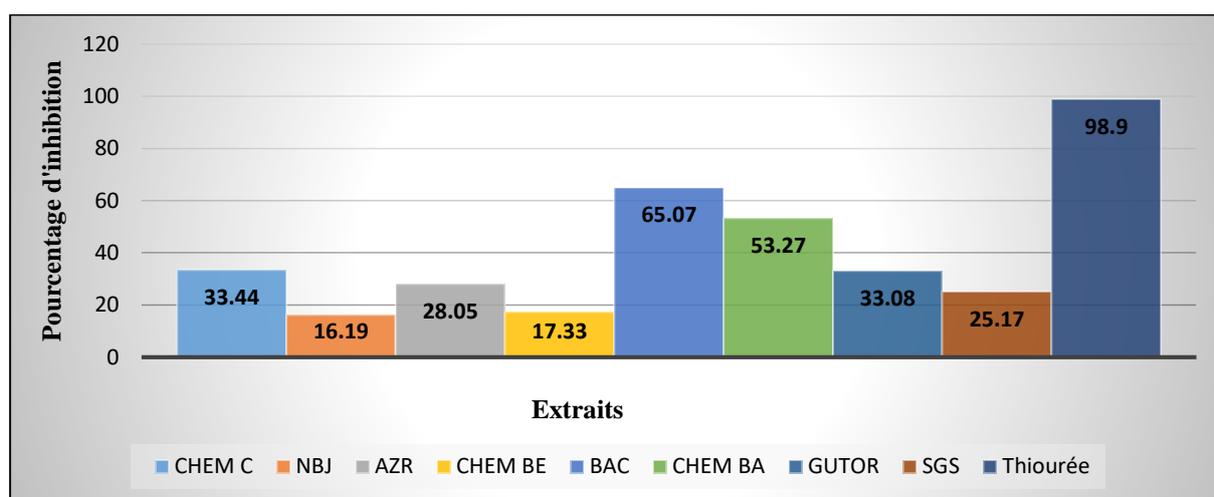


Figure 39 : Les plaques de dosage de l'activité inhibitrice de l'uréase par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Tableau 14 : Inhibition de l'uréase par les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

Concentration (µg/ml)	% d'inhibition							IC ₅₀ µg/mL
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	
Extraits et standards								
CHEM C	NA	NA	NA	NA	NA	9,52±6,68	33,44±4,12	>200
NBJ	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16,19±0,00	>200
AZR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	28,05±0,00	>200
CHEM BE	NA	NA	NA	NA	NA	9,70±3,15	17,33±1,94	>200
BAC	NA	NA	NA	NA	37,84±4,58	52,73±7,09	65,07±3,24	ND
CHEM BA	NA	NA	NA	NA	NA	51,88±1,07	53,27±6,33	ND
GUTOR	NA	NA	NA	NA	NA	28,51±3,55	33,08±8,73	>200
SGS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	25,17±2,13	>200
	3.125	6.25	12.5	25	50	100	200	IC₅₀ µg/mL
Thiourée	4,49±0,78	19,85±2,74	55,64±4,24	94,17±0,15	98,42±0,19	98,49±0,41	98,90±0,05	11.57±0.68

**Figure 40** : Valeurs des pourcentages d'inhibition du test d'inhibition de l'uréase pour les extraits d'*Olea europaea* récoltée de trois régions

D'après les résultats de la Figure 40, qui présente le pourcentage d'inhibition de l'uréase par les extraits de l'espèce *Olea europaea*, et à la concentration 200 µg/L on remarque que l'extrait BAC a inhibé l'uréase, avec un pourcentage d'inhibition de (65,07±3,24%) qui est modéré par rapport au faible standard le Thiourée (98,90±0,05%). De plus l'extrait CHEM BA a manifesté une activité modéré inhibitrice de l'uréase avec un pourcentage d'inhibition égal à (53,27±6,33%), deux fois plus faible que le Thiourée (98,90±0,05%).

Par contre les extraits AZR, CHEM BE, NBJ, CHEM C, GUTOR, SGS ont présenté une faible activité par rapport aux autres extraits.

D'après ces résultats, on peut dire que les extraits de l'espèce *Olea europaea* ont présenté une faible activité d'inhibition de l'uréase par rapport au standard.

Une étude réalisée par **Nabati et al., 2012** a montré que l'espèce *Olea europaea* a exercé une activité inhibitrice de l'urease avec un pourcentage d'inhibition de $(72.30 \pm 0.01 \%)$. Ces résultats sont presque égal à ceux enregistrés dans notre étude.

CONCLUSION ET
PERSPECTIVES



Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des milliers d'années à des fins thérapeutiques pour traiter naturellement toute une variété de maladies. Cette propriété a été confirmée par des recherches scientifiques modernes qui ont assuré l'efficacité de ces plantes grâce à leur richesse en métabolites secondaires qui leur confèrent des propriétés biologiques diverses.

Dans ce contexte de recherche de nouvelles molécules naturelles, nous nous sommes intéressés à effectuer des travaux d'étude de l'espèce *Olea europaea* appartenant à la famille des *Oleaceae*, ainsi une évaluation *in-vitro* des activités biologiques antioxydantes, anticholinestérases, antidiabétique et anti-urease.

L'extraction d'*Olea europaea* par le méthanol a permis d'obtenir une bonne teneur en composés phénoliques, flavonoïdes qui diffèrent d'un extrait à un autre.

L'évaluation des activités biologiques de l'espèce *Olea europaea* récoltée de trois régions a montré un potentiel antioxydant *in-vitro* intéressant. Ces résultats indiquent que les feuilles de l'olivier pourraient être considérées comme un réservoir d'antioxydant susceptible d'être utilisé dans la lutte contre les radicaux libres.

Nous avons constaté que les différents extraits bruts testés présentaient des activités antioxydantes intéressantes, dépendantes du contenu en polyphénols totaux, alors que pour les activités enzymatiques, ont montré une faible activité antidiabétique, anticholinestérase et anti-uréase. Cette activité biologique est probablement liée à la richesse de l'espèce en particulier celle de Constantine en métabolites secondaires notamment en flavonoïdes.

Comme perspectives, nous envisageons d'utiliser ces résultats comme première étape de recherche de nouvelles molécules biologiquement actives. L'évaluation biologique approfondie de cette espèce afin d'isoler les substances responsables aux activités biologiques étudiées, la validation de nos résultats *in vitro*, et l'étude d'autres activités biologiques complémentaires (cytotoxicité, anti-inflammatoire et anti fongique, etc...), sont aussi envisagées pour pouvoir confirmer les résultats obtenus.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **ADDAB, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A., & Mahloul, K. (2020).** Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien : Comparative evaluation of antioxidant activity of ethanolic extracts from leaves of *Olea europaea* L. from Eastern Algeria. *Journal of the Faculty of Medicine of Oran* 1, 4(2).
- **Adhikamsetty, R. K., Gollapalli, N. R., & Jonnalagadda, S. B. (2008).** Complexation kinetics of Fe²⁺ with 1, 10-phenanthroline forming ferriin in acidic solutions. *International Journal of Chemical Kinetics*, 40(8), 515-523.
- **Amane, M., Lumaret, R., Hany, V., Ouazzani, N., Debain, C., Vivier, G., & Deguilloux, M. F. (1999).** Chloroplast-DNA variation in cultivated and wild olive (*Olea europaea* L.): Theoretical and Applied Genetics, 99(1-2), 133-139.
- **Amel, B. (2013).** Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. 9
- **Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- **Aouidi, F. (2012).** Etude de la valorisation des feuilles d'Olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-Alimentaire. thèse e doctorat, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie).
- **Aouidi, F., Dupuy, N., Artaud, J., Roussos, S., Msallem, M., Gaime, I., & Hamdi, M. (2013).** Rapid quantitative determination of oleuropein in olive leaves (*Olea europaea*) using mid-infrared spectroscopy combined with chemometric analyses.
- **Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004).** Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine : CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- **Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Bekdeşer, B., & Bener, M. (2014).** The CUPRAC methods of antioxidant measurement for beverages. In *Processing and impact on antioxidants in beverages* (p. 235-244). Elsevier.
- **Aparecida Braga, M., Silva de Abreu, T., Cardoso Trento, M. V., Henrique Andrade Machado, G., Lopes Silva Pereira, L., Assaid Simão, A., & Marcussi, S. (2019).** Prospection of Enzyme Modulators in Aqueous and Ethanolic Extracts of *Lippia sidoides*

Leaves: Genotoxicity, Digestion, Inflammation, and Hemostasis. *Chemistry & biodiversity*, 16(3), e1800558.

- **Ayoola, G. A., Coker, H. A., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008).** Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024.

B

- **Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996).** The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- **Besnard, G., Khadari, B., Baradat, P., & Bervillé, A. (2002).** Combination of chloroplast and mitochondrial DNA polymorphisms to study cytoplasm genetic differentiation in the olive complex (*Olea europaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105(1), 139-144.
- **Bianchi, G. (1999).** Extraction systems and olive oil. *OCL. Oléagineux, corps gras, lipides*, 6(1), 49-55.
- **Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- **Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. 5.
- **Botsoglou, E., Govaris, A., Christaki, E., & Botsoglou, N. (2010).** Effect of dietary olive leaves and/or α -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 121(1), 17-22.
- **Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S. (2008).** Effect of storage on refined and husk olive oils composition : Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1), 253-262.
- **Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B., & Kechaou, N. (2009).** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products*, 29(2-3), 412-419.
- **Brahmi, F., Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M., & Hammami, M. (2012).** The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*, 38, 146-152.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

- **Breton, C. & André Bervillé. (2012).** Histoire de l'olivier : L'arbre des temps. Éd. Quæ.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie—plantes médicinales—3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp, 227-310.
- **Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011).** Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127(4), 1821-1827.

C

- **Chevallier, A. (1996).** The encyclopedia of medicinal plants. Dorling Kindersley.
- **Chou, S.-T., Chao, W.-W., & Chung, Y.-C. (2003).** Antioxidative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolus radiatus* L. var. Aurea). *Journal of food science*, 68(1), 21-25.
- **Christina L. Huang & Bauer E. Sumpio. (2008).** Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health—*Journal of the American College of Surgeons*.

D

- **Dai, J., & Mumper, R. J. (2010).** Plant phenolics : Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- **De Lucas, A. de, de la Ossa, E. M., Rincón, J., Blanco, M. A., & Gracia, I. (2002).** Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*, 22(3), 221-228.
- **Dekdouk, N., Malafronte, N., Russo, D., Faraone, I., De Tommasi, N., Ameddah, S., Severino, L., & Milella, L. (2015).** Phenolic compounds from *Olea europaea* L. possess antioxidant activity and inhibit carbohydrate metabolizing enzymes in vitro. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- **Delgado-Pertíñez, M., Gómez-Cabrera, A., & Garrido, A. (2000).** Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*) : Digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Animal feed science and technology*, 87(3-4), 187-201.
- **Desmier, T. (2016).** *Les Antioxydants de nos jours : Définition et application*

E

- **Eichler, H. G., Korn, A., Gasic, S., Pirson, W., & Businger, J. (1984).** The effect of a new specific α -amylase inhibitor on post-prandial glucose and insulin excursions in normal subjects and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*, 26(4), 278-281.

- **Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95.
- **El-Zahabi, H. S., Abdulwahab, H. G., Edrees, M. M., & Hegab, A. M. (2019).** Utility of anthranilic acid and diethylacetylenedicarboxylate for the synthesis of nitrogenous organo/organometallic compounds as urease inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 352(7), 1800314.
- **Erbay, Z., & Icier, F. (2009).** Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 91(4), 533-541.

F

- **Fegeros, K., Zervas, G., Apsokardos, F., Vastardis, J., & Apostolaki, E. (1995).** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17(1), 9-15.
- **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(7), 561-566.
- **Fujita, T., Sezik, E., Tabata, M., Yesilada, E., Honda, G., Takeda, Y., Tanaka, T., & Takaishi, Y. (1995).** Traditional medicine in Turkey VII. Folk medicine in middle and west Black Sea regions. *Economic Botany*, 49(4), 406-422.

G

- **García-Gómez, A., Roig, A., & Bernal, M. P. (2003).** Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves : Organic matter degradation and biological activity. *Bioresource Technology*, 86(1), 59-64.
- **García, I. M., Ruiz, D. Y., Moumen, A., & Alcaide, E. M. (2006).** Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *Europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. *Small Ruminant Research*, 61(1), 53-61.
- **Gastaldo, P. (1974).** Guide to Italian drug plants. XIV. Fitoterapia.
- **Ghazanfar, S. A., & Al-Sabahi, A. M. (1993).** Medicinal plants of Northern and Central Oman (Arabia). *Economic Botany*, 47(1), 89-98.
- **Ghedira, K. (2008).** L'olivier. *Phytothérapie*, 6(2), 83-89.

- **Gião, M. S., González-Sanjosé, M. L., Rivero-Pérez, M. D., Pereira, C. I., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2007).** Infusions of Portuguese medicinal plants : Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(14), 2638-2647.
- **Glatz, Z. (2006).** Determination of enzymatic activity by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 841(1), 23-37.
- **Goldsmith, C. D., Vuong, Q. V., Sadeqzadeh, E., Stathopoulos, C. E., Roach, P. D., & Scarlett, C. J. (2015).** Phytochemical properties and anti-proliferative activity of *Olea europaea* L. leaf extracts against pancreatic cancer cells. *Molecules*, 20(7), 12992-13004.
- **Green, P. S. (2002).** A Revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bulletin*, 57(1), 91-140.
- **Guinda, Á., Pérez-Camino, M. C., & Lanzón, A. (2004).** Supplementation of oils with oleanolic acid from the olive leaf (*olea europaea*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(1), 22-26.
- **Gülçin, İ. (2010).** Antioxidant properties of resveratrol : A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210-218.

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. *J. Food Agric. Environ.*, 8.
- **Hashmi, M. A., Khan, A., Hanif, M., Farooq, U., & Perveen, S. (2015).** Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-29.
- **Hassina, B., & Delloula, N. (2020).** Evaluation de l'activité antioxydant de l'extrait des feuilles d'olivier.
- **Henry, S. (2003).** L'huile d'olive : Son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. 128.

I

- **Ikram-ul-Haq, Ashraf, H., Iqbal, J., & Qadeer, M. A. (2003).** Production of alpha amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium. *Bioresource Technology*, 87(1), 57-61.
- **ITAFV, (2008).** L'oléiculture en Algérie – Situation actuelle de l'oléiculture en Algérie.

J

- **Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017).** Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. *Analytica chimica acta*, 967, 93-101.

K

- **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.
- **Kandi, S., & Charles, A. L. (2019).** Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer : Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food Chemistry*, 287, 338-345.
- **Kato, C. G., Gonçalves, G. de A., Peralta, R. A., Seixas, F. A. V., de Sá-Nakanishi, A. B., Bracht, L., Comar, J. F., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2017).** Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins : Focus on kinetics and hypoglycemic actions. *Enzyme research*, 2017.
- **Khan, M., Alam, A., Khan, K. M., Salar, U., Chigurupati, S., Wadood, A., Ali, F., Mohammad, J. I., Riaz, M., & Perveen, S. (2018).** Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors : Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 81, 157-167.
- **Khelifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013).** Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and chemical toxicology*, 55, 202-208.
- **Khoumeri, L. (2009).** Influence de la photopériode, des milieux de culture et des hormones de croissance sur le développement in-vitro des embryons et des microboutures de l'olivier (*Olea europaea* L.) Var Chemlal [PhD Thesis]. Thèse. Ing. 100p.

L

- **Lawrendiadis, G. (1961).** Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta medica*, 9(02), 164-169.

- **Lazzeri, Y., & Gilbert, B. (2007).** L'olivier en Méditerranée : Du symbole à l'économie. Maurel, C., Moreau, F., Prat, R., Sentenac, H., & Morot-Gaudry, J.-F. (2017). *Biologie végétale : Nutrition et métabolisme.*
- **Lins, P. G., Pugine, S. M. P., Scatolini, A. M., & de Melo, M. P. (2018).** In vitro antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4(9), e00805.
- **Loussert, R., & Brousse, G. (1978).** Amélioration du matériel végétal et description variétale. l'olivier : Techniques agricoles et production méditerranéenne, ed. *GP Maison neuve et Larose, Paris*, 79-122.

M

- **Maillard, R. (1975).** L'olivier. Maison des agriculteurs. *Invuflec. Paris.*
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004).** Polyphenols : Food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- **Marles, R. J., & Farnsworth, N. R. (1995).** Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2(2), 137-189.
- **Maurel, C., Moreau, F., Prat, R., Sentenac, H., & Morot-Gaudry, J.-F. (2017).** *Biologie végétale : Nutrition et métabolisme.*
- **Medjani, T., Chaibi, N., & Hamlat, M. E. (2018).** Contribution à l'étude de la biologie florale de l'olivier (*Olea europea*).
- **Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., & Surbled, M. (1998).** Extraction des polyphénols : Du laboratoire à la production industrielle. *COLLOQUES-INRA*, 31-44.
- **Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010).** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

N

- **Nabati, F., Mojab, F., Habibi-Rezaei, M., Bagherzadeh, K., Amanlou, M., & Yousefi, B. (2012).** Large scale screening of commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease activity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 1-9.

- **Nair, S. S., Kavrekar, V., & Mishra, A. (2013).** In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *European Journal of Experimental Biology*, 3(1), 128-132.
- **Nefzaoui, A. (1991).** Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes*, 16, 101-108.
- **Nicoli, F., Negro, C., Vergine, M., Aprile, A., Nutricati, E., Sabella, E., Miceli, A., Luvisi, A., & De Bellis, L. (2019).** Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of 15 Italian *Olea europaea* L. cultivar leaves. *Molecules*, 24(10), 1998.

O

- **Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M. I., & Khalid, A. (2004).** Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 91(1), 57-60.
- **Orozco-Solano, M., Ruiz-Jiménez, J., & De Castro, M. L. (2010).** Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1217(8), 1227-1235.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44, 307–315.
- **Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., & Apak, R. (2012).** Development of a silver nanoparticle-based method for the antioxidant capacity measurement of polyphenols. *Analytical chemistry*, 84(18), 8052-8059.

P

- **Pekal, A., & Pyrzynska, K. (2014).** Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782.
- **Perrinjaquet-Moccetti, T., Busjahn, A., Schmidlin, C., Schmidt, A., Bradl, B., & Aydogan, C. (2008).** Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. *Phytotherapy Research* 22, 1239–1242.

- **POKORNY J., YANISHLIEVA N. & GORDON H. (2001).** Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angleterre.

R

- **Ramakrishna, A., Rao, G., & Jonnalagadda, S. (2008).** Complexation kinetics of Fe²⁺ with 1,10-phenanthroline forming ferriin in acidic solutions. *International Journal of Chemical Kinetics*, 40, 515-523.
- **Rauwald, H.W., Brehm, O., & Odenthal, K.P. (1994).** Screening of nine vasoactive medicinal plants for their possible calcium antagonistic activity. Strategy of selection and isolation for the active principles of *Olea europaea* and *Peucedanum ostruthium*. *Phytotherapy Research* 8, 135–140.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved AB7TS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-123.
- **Ribeiro, R. de A., de Barros, F., de Melo, M.M.R.F., Muniz, C., Chieia, S., das Graças Wanderley, M., Gomes, C., & Trolin, G. (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.
- **Richter, G. (1993).** Les composés phénoliques métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie). Editions Dunod 331–339.
- **Role, R., & Jacamon, M. (1968).** Flore des arbres arbustes et arbrisseaux. 3. *Région méditerranéenne. La Maison Rustique, Pariz.*
- **ROUANA, S., & BOUDOUR, H. (2020).** Etude de l'activité antioxydante de quelques composés de synthèse organique. University of Jijel.

S

- **Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndiaye, B., & Diop, Y. M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
- **Sánchez-Moreno', C., & Larrauri, J. A. (1998).** Principales métodos para la determinación de la oxidación lipídica Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Science and Technology International*, 4(6), 391-399.

- **Sapakal, V. D., Shikalgar, T. S., Ghadge, R. V., Adnaik, R. S., Naikwade, N. S., & Magdum, C. S. (2008).** In vivo screening of antioxidant profile : A review. *J. Herbal Med. Toxicol*, 2(2), 1-8.
- **Savarese, T. M., Strohsnitter, W. C., Low, H. P., Liu, Q., Baik, I., Okulicz, W., Chelmow, D. P., Lagiou, P., Quesenberry, P. J., & Noller, K. L. (2007).** Correlation of umbilical cord blood hormones and growth factors with stem cell potential : Implications for the prenatal origin of breast cancer hypothesis. *Breast Cancer Research*, 9(3), 1-10.
- **Scheen, A., & Luyckx, F. (2010).** L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) revisitée 1re partie : Tolérance au glucose, diabète gestationnel et hypoglycémie réactive. *Médecine des maladies Métaboliques*, 4(5), 569-574.
- **Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- **Sheth, A., Mitaliya, K., & Joshi, S. (1991).** The Herbs of Ayurveda. Shet .of neutrophil oxidant production. *Redox Rep*, 5 :12-50.
- **Shimon, L. (1997) :** Biologie et physiologie de l'olivier. *Encyclopédie mondiale de l'olivier* pp: 61-105.
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- **Smirnoff, N. (2008).** *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*. John Wiley & Sons.
- **Süntar, İ. P., Akkol, E. K., & Baykal, T. (2010).** Assessment of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Olea europaea* L. *Journal of medicinal food*, 13(2), 352-356.
- **Sarikurkcü, C., Locatelli, M., Tartaglia, A., Ferrone, V., Juszczak, A. M., Ozer, M. S., Tepe, B., & Tomczyk, M. (2020).** Enzyme and biological activities of the water extracts from the plants *Aesculus hippocastanum*, *Olea europaea* and *Hypericum perforatum* that are used as folk remedies in Turkey. *Molecules*, 25(5), 1202.

T

- **Tabera, J., Guinda, Á., Ruiz-Rodríguez, A., Señoráns, F. J., Ibáñez, E., Albi, T., & Reglero, G. (2004).** Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), 4774-4779.

- **TAHAR, S. B., Mahfoud, H.-M., & YOUSFI, M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits phénoliques de l'*Atriplex halimus* L et de l'*Haloxylon scoparium* pomel du Sahara septentrional. *Annals of Science and Technology*, 7(1), 8-8.
- **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(1), 105-117.
- **Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A. M., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015).** Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International*, 77, 92-108.
- **Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food chemistry*, 103(3), 816-822.
- **Tundis, R., Menichini, F., Conforti, F., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Statti, G., & Menichini, F. (2009).** A potential role of alkaloid extracts from *Salsola* species (Chenopodiaceae) in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 24(3), 818-824.

V

- **Vardanian, S. A. (1978).** Phytotherapy of bronchial asthma in medieval Armenian medicine. *Terapevticheskii arkhiv*, 50(4), 133-136.

W

- **Wallander, E., & Albert, V. A. (2000).** Phylogeny and classification of Oleaceae based on rps16 and trnL-F sequence data. *American journal of botany*, 87(12), 1827-1841.

Z

- **Zargari, A. (1997).** *Medicinal plants*. Tehran University of Medical Sciences.
- **Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014).** A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. Endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

- **ZITOUNI Fifi, A. H. (2019).** Caractérisation morphologique et étude phytochimique de l'extrait des feuilles de trois variétés d'olivier *olea europaea* L. dans la région de Biskra.
- **Zohary, D. (1995).** Olive. *Olea europaea* (oleaceae). *Evolution of crop plants, ed, 2*, 379-382.

ANNEXES



Annexes

Annexe I : matériels et instruments utilisés**1. Matériel du laboratoire**

Ampoule à décanter, tubes eppendorf, micropipettes de volumes différents, microplaques, ballons, béchers, erlenmeyers, éprouvettes, flacons, spatules, portoirs, verres de montre.

2. Instruments

- Rotavap (BUCHI).
- Balance de précision (KERN).
- Lecteur de microplaque (PerkinElmer).
- Etuve (Mettler).
- pH mètre (METTLER TOLEDO).

Annexe II : Réactifs des activités antioxydantes

Réactifs	Compositions	Quantités
DPPH[•]	DPPH	6 mg
	Méthanol	100 ml
ABTS^{•+} (7 mM)	ABTS	19,2 mg
	H ₂ O	5 ml
	K ₂ S ₂ O ₈ (2.45 mM)	3,3 mg
	H ₂ O	5 ml
Phénantroline (0.5%)	1,10- Phénantroline monohydraté	0,05g
	Méthanol	q.s.p 10 ml
Néocuproïne	Néocuproïne	0,039 g
	Ethanol	25 mL
Nitrate (10mM Silver)	AgNO ₃	0,170 g
	H ₂ O	100 ml
	Trisodium Citrate	1 g
	H ₂ O	100 ml

Annexe III : Solutions enzymatiques et substrat

Solutions	Compositions	Quantités
Enzyme α-amylase (1U)	Enzyme α -amylase	1 mg
	Tampon phosphate (pH 6,9)	9 ml
Amidon (0.1%)	Amidon	0,1 g
	H ₂ O	q.s.p 100 ml
AChE	AChE	1 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	22,6 ml
Iodure d'acétylthiocholine (0,71 mM)	Iodure d'acétylthiocholine	16 mg
	H ₂ O	4 ml
	Tampon phosphate (pH 8)	4 ml
Enzyme urease	Enzyme urease	1 mg
	Tompon phosphat (Ph 8,2)	1ml
Urée	Urée	0.2553 g
	Tampon phosphate (Ph 8,2)	25 ml

Annexe IV : Standards

standards	Compositions	Quantités
Acide gallique	Acide gallique	0,5 mg
	Méthanol	5 ml
Quercétine	Quercétine	1 mg
	Méthanol	5 ml
Trolox	Trolox	0,5 g
	Méthanol	1 ml
Acide ascorbique	Acide Ascorbique	4 mg
	Méthanol	1 ml
Acarbose	Acarbose	4 mg
	Méthanol	1 ml

Galantamine	Galantamine	4 mg
	Méthanol	1 ml
Thiourea	Thiourea	4 mg
	Méthanol	1 mg

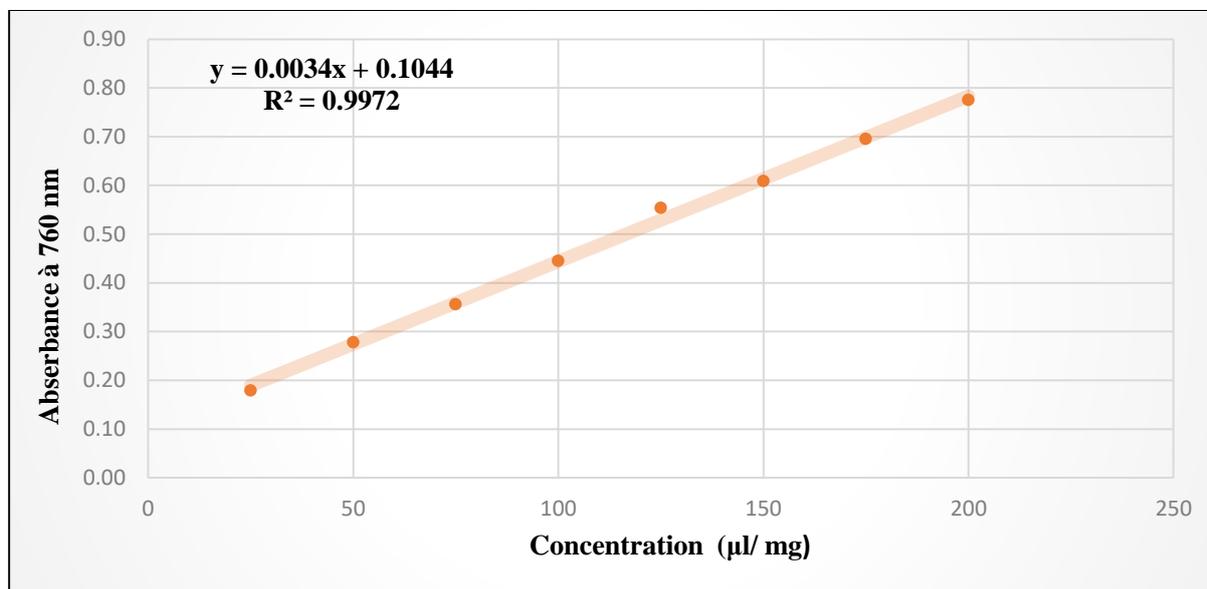
Annexe V : Solutions chimiques

Solutions chimiques	Compositions	Quantités
Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois	FCR concentré (2M)	1 ml
	H ₂ O	q.s.p 10 ml
Carbonate de sodium anhydre (7,5%)	Na ₂ CO ₃	7,5 g
	H ₂ O	q.s.p 100 ml
trichlorure d'aluminium	AlCl ₃	0,12 g
	Méthanol	6 ml
Tampon phosphate pH 6,6	NaH ₂ PO ₄	62,5 ml
	Na ₂ HPO ₄	37,5 ml
Ferricyanide de potassium (1%)	K ₃ Fe(CN) ₆	1 g
	H ₂ O	q.s.p 100 ml
Acide trichloracétique (10%)	TCA	1 g
	H ₂ O	q.s.p 10 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.1%)	FeCl ₃	0,1 g
	H ₂ O	q.s.p 100 ml
Chlorure de fer III anhydre (0.2%)	FeCl ₃	0,02 g
	H ₂ O	q.s.p 10 ml
Acétate d'ammonium	CH ₃ COONH ₄	1,927 g
	H ₂ O	25 ml
Chlorure de cuivre II dihydraté	CuCl ₂	0,042625 g
	H ₂ O	25 ml
Tampon phosphate (pH 6.9) (0.2 M)	NaH ₂ PO ₄	51 ml
	Na ₂ HPO ₄	49 ml

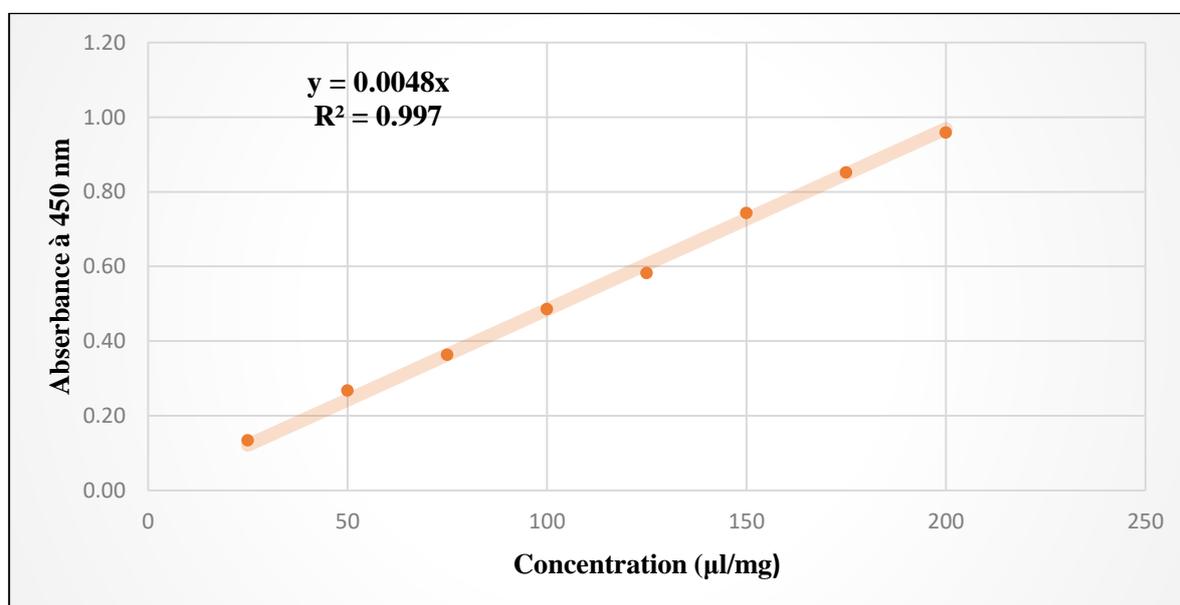
Acide hydrochlorique (1M)	HCl	4.17 ml
	H ₂ O	45.83 ml
Iodure de potassium iode (IKI)	KI	3 g
	H ₂ O	100 ml
	Iodine (5mM)	127 mg
Tampon phosphate (pH 8) (100 mM)	NaH ₂ PO ₄	5,3
	Na ₂ HPO ₄	94,5
DTNB	DTNB	16 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	4 ml
	NaHCO ₃	7,5 mg
	Tampon phosphate (pH 8)	4 ml
Tompon phosphate (ph8.2)	NaH ₂ PO ₄	0,078g
	H ₂ O	50 ml
	Na ₂ HPO ₄	0.1780 g
	H ₂ O	100 ml
Réactif phénolique	C ₆ H ₅ OH	2 g
	H ₂ O	25 ml
	Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO],2H ₂ O	25 mg
	H ₂ O	25 ml
Réactif basique	NaOH	0,7125 g
	H ₂ O	25 ml
	NaOCL (liq)	1,175 ml
	H ₂ O	25 ml

Annexe VI : Courbes d'étalonnage

1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



2. Courbe d'étalonnage de la quercétine



Résumé

Ce travail est consacré à l'étude de l'activité biologique de l'espèce *Olea europaea*, par l'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, antidiabétique, anticholinestérase et anti-uréase. Les différents extraits d'*Olea europaea* ont été obtenus par macération en utilisant le méthanol.

L'analyse quantitative en phénols totaux et flavonoïdes des extraits d'*Olea europaea* a montré une richesse observé pour les extraits SGS et CHEM BE (262.03 ± 11.60 et 256.54 ± 4.78 μg EAG/ mg d'extrait, respectivement) en polyphénols totaux et CHEM C NBJ (164.37 ± 8.83 et 158.19 ± 4.27 μg EQ/ mg d'extrait, respectivement) pour les flavonoïdes.

Les résultats des activités biologiques observées pour les meilleures valeurs d' CI_{50} d'*Olea europaea* récoltée dans trois régions différentes Constantine, Batna, Bejaia sont comme suit :

- GUTOR et SGS : (CI_{50} : $22,59 \pm 0,26$ $\mu\text{g}/\text{ml}$, $CI_{50} = 23,77 \pm 0,98$ $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement) Piégeage des radicaux libres DPPH.
- SGS : (CI_{50} : $18,71 \pm 0,74$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Piégeage du cation radicale ABTS.
- BAC : ($A_{0,50}$: $18,71 \pm 0,27$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Pouvoir réducteur FRAP.
- NBJ et SGS : ($A_{0,50}$: 15.14 ± 1.49 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 15.68 ± 1.83 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement) Réduction par la formation du complexe Fe+2- phenanthroline.
- BAC : ($A_{0,50} = 10.05 \pm 0.48$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC).
- SGS : ($A_{0,50}$: 142.76 ± 2.61 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Nanoparticle d'argent (SNP).
- SGS et GUTOR : ($PI = 21,22 \pm 3,20\%$, et $17,52 \pm 2,29\%$) d'inhibition de alpha amylase.
- CHEM C : ($PI = 20.5 \pm 2.32\%$) d'inhibition de l'acétylcholinestérase.
- BAC : ($PI = 65,07 \pm 3,24\%$) d'inhibition de l'uréase.

Mots clés : *Olea europaea*, antioxydante, antidiabétique, anticholinestérase, anti-uréase.

Abstract

This work is devoted to the biological study of the species: *Olea europaea*, belonging to the Oleaceae family by the in vitro evaluation of antioxidant, antidiabetic, anticholinesterase and anti-uréase activities. The different extracts of *Olea europaea* were obtained by maceration using a single organic solvent: methanol.

The quantitative analysis of total phenols and flavonoids in the extracts of *Olea europaea* showed a richness observed for the extracts SGS and CHEM BE (262.03 ± 11.60 and 256.54 ± 4.78 $\mu\text{g EAG/ mg extract}$, respectively) of total polyphenols and CHEM C NBJ (164.37 ± 8.83 and 158.19 ± 4.27 $\mu\text{g EQ/ mg extract}$, respectively) of total flavonoids.

The results of the biological activities observed for the best values of IC_{50} of *Olea europaea* collected in three different regions Constantine, Batna, Bejaia are as follows:

- GUTOR et SGS : (CI_{50} : $22,59 \pm 0,26$ $\mu\text{g/ml}$, $\text{CI}_{50} = 23,77 \pm 0,98$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement) Scavenging of the DPPH.
- SGS : (CI_{50} : $18,71 \pm 0,74$ $\mu\text{g/ml}$) Scavenging of the ABTS.
- BAC : ($A_{0,50}$: $18,71 \pm 0,27$ $\mu\text{g/ml}$) Reducing power (FRAP).
- NBJ et SGS : ($A_{0,50}$: 15.14 ± 1.49 $\mu\text{g/ml}$, 15.68 ± 1.83 $\mu\text{g/ml}$, respectivement) Reduction by formation of Fe+2-phenanthroline complex.
- BAC : ($A_{0,50} = 10.05 \pm 0.48$ $\mu\text{g/ml}$) CUPRAC.
- SGS : ($A_{0,50}$: 142.76 ± 2.61 $\mu\text{g/ml}$) Nanoparticle d'argent (SNP).
- SGS et GUTOR : ($\text{PI} = 21,22 \pm 3,20\%$, et $17,52 \pm 2,29\%$) alpha amylase inhibition.
- CHEM C : ($\text{PI} = 20.5 \pm 2.32\%$) acetylcholinesterase inhibition.
- BAC : ($\text{PI} = 65,07 \pm 3,24\%$) urease inhibition.

Keywords : *Olea europaea*, antioxidant, antidiabetic, anticholinesterase , anti-urease.

الملخص

يكرس هذا العمل للدراسة النباتية البيولوجية ل: *Olea europaea*، من خلال التقييم المختبري من أنشطة مضادات الأكسدة، مضاد السكري، مضاد الكولين ومضاد اليورياز. تم الحصول على مقتطفات مختلفة من *Olea europaea* عن طريق التكسير باستخدام الميثانول.

التحليل الكمي الفينولات والفلافونويدات الإجمالية في مقتطفات من *Olea europaea* تظهر ثراء هذا النبات في هذه المكونات، وتقدم أكبر كمية من مقتطفات SGS و CHEM BE (11.60±262.03 و 4.78±256.54 ميكروغرام EAG / ملغ استخراج، على التوالي) من البوليفينول الكلي و CHEM C NBJ (8.83±164.37 و 4.27±158.19 ميكروغرام مكافئ / ملغ استخراج، على التوالي) من الفلافونويدات.

نتائج الأنشطة البيولوجية لوحظ لأفضل قيم لـ IC₅₀ لأوراق *Olea europaea* التي تم حصادها في ثلاث مناطق مختلفة قسنطينة، باتنة، بجاية هي على النحو التالي:

- أظهر مستخلصان SGS و GUTOR (CI₅₀ : 23,77±0,98µg/ml, CI₅₀ : 22,59±0,26 µg/ml في اختبار DPPH.
- أظهر مستخلص SGS (CI₅₀ : 18,71±0,74 µg/ml) مع اختبار ABTS.
- أظهر مستخلص BAC (A_{0,50}:18,71±0,27 µg/ml) مع اختبار FRAP.
- أظهر مستخلص (A_{0,50} : 15.14±1.49 µg/ml, 15.68±1.83 µg/ml) مع اختبار Réduction par la phenanthroline.
- أظهر مستخلص BAC (A_{0,50} : 10.05±0.48 µg/ml) مع اختبار CUPRAC.
- أظهر مستخلص SGS (A_{0,50} : 142.76±2.61 µg/ml) مع اختبار SNP.
- أظهر مستخلص SGS و GUTOR (PI=21,22±3,20%, et 17,52±2,29%) مع اختبار تثبيط الأنزيم α-amylase.
- أظهر مستخلص CHEM C (PI=20.5±2.32%) مع اختبار تثبيط acétylcholinestérase.
- أظهر مستخلص BAC (PI=65,07±3,24%) مع اختبار تثبيط Uréase.

الكلمات المفتاحية : *Olea europaea*، مضاد للأكسدة، مضاد السكري، مضادة الكولين، مضاد اليورياز.

Evaluation in vitro des activités biologiques de l'espèce olea europaea

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude de l'activité biologique de l'espèce : *Olea europaea*, par l'évaluation *in vitro* des activités antioxydantes, antidiabétique, anticholinestérase et anti-uréase. Les différents extraits d'*Olea europaea* ont été obtenus par macération en utilisant le méthanol.

L'analyse quantitative en phénols totaux et flavonoïdes des extraits d'*Olea europaea* a montré une richesse observé pour les extraits SGS et CHEM BE (262.03 ± 11.60 et 256.54 ± 4.78 μg EAG/ mg d'extrait, respectivement) en polyphénols totaux et CHEM C NBJ (164.37 ± 8.83 et 158.19 ± 4.27 μg EQ/ mg d'extrait, respectivement) pour les flavonoïdes.

Les résultats des activités biologiques observées pour les trois meilleures valeurs d' CI_{50} d'*Olea europaea* récoltée dans trois régions différentes Constantine, Batna, Bejaia sont comme suit :

GUTOR et SGS : ($CI_{50} : 22,59 \pm 0,26$ $\mu\text{g}/\text{ml}$, $CI_{50} = 23,77 \pm 0,98$ $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement) Piégeage des radicaux libres DPPH.

SGS : ($CI_{50} : 18,71 \pm 0,74$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Piégeage du cation radicale ABTS.

BAC : ($A_{0,50} : 18,71 \pm 0,27$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Pouvoir réducteur FRAP.

NBJ et SGS : ($A_{0,50} : 15.14 \pm 1.49$ $\mu\text{g}/\text{ml}$, 15.68 ± 1.83 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivement) Réduction par la formation du complexe Fe^{+2} - phenanthroline.

BAC: ($A_{0,50} = 10.05 \pm 0.48$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Réduction du complexe cuivre-néocuproïne (CUPRAC)

SGS : ($A_{0,50} : 142.76 \pm 2.61$ $\mu\text{g}/\text{ml}$) Nanoparticle d'argent (SNP).

SGS et GUTOR : ($PI = 21,22 \pm 3,20\%$, et $17,52 \pm 2,29\%$) d'inhibition de alpha amylase

CHEM C : ($PI = 20.5 \pm 2.32\%$) d'inhibition de l'acétylcholinestérase.

BAC : ($PI = 65,07 \pm 3,24\%$) d'inhibition de l'uréase

Mots clés : *Olea europaea*, antioxydante, antidiabétique, anticholinestérase, anti-uréase.

