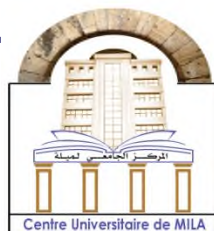


N° Ref :.....



## Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

### Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biologie Appliquée et Environnement  
Option : Biochimie et Microbiologie Appliquées

Thème :

**Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne  
d'*Olea europaea* L, variété chamlal.**

Présenté par :

AMIRA Aicha

TAHRAOUI Ouarda

Devant le jury composé de :

GHOUT Agéna  
BENSERRADG Ouafa  
AMARI Salima

Maitre Assistante. A  
Maitre de Conférence. A  
Maitre Assistante.B

Président  
Examineur  
Promoteur

Année Universitaire: 2015/2016

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿ 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 ﴾

[سورة النور: 35]

## *Remerciements*

*« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »*

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promotrice, M<sup>elle</sup> Amari Salima,*

*Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et Conseils judicieux et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce travail.*

*L'honorable jury composé du docteur BENSERRADJ Ouafa et de M<sup>me</sup> Ghout Agéna .Nous les remercions d'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.*

*Nos gratitudes vont également à toutes ces personnes qui ont contribué de près à la réalisation de ce travail : M<sup>me</sup> Ghout Agéna, M<sup>me</sup> Bakli Sabrina, et M<sup>me</sup> Benserradj Ouafa .Nous les remercions assez pour leurs aides.*

*Nous voudrions remercier le groupe de laboratoire de centre universitaire de Mila, pour leurs aides.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A mes chers parents pour leur amour et support affectif*

*A mes frères et mes sœurs*

*A toute ma famille*

*A tous mes amis*

*AICHA*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour*

*A mes Parents **Abd errahmane et Ghalia***

*Pour leur amour et leur soutien tout le long de mes études*

*A mes sœurs **Ahlem** et son fils **oussama**,*

***Assia ,Mouna***

*A mes Frères **Yacine , Razeki et Adel** et sa femme*

***Kamilya***

*et ses Filles **Loudjeine et Fotoun***

*A toute ma famille*

*A mon binome **Aicha***

*A tous mes enseignants du primaire, du secondaire et du supérieur,*

*A tous mes ami (e)s.*

**OUARDA**

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	La plante <i>Olea europaea</i> L.	<b>7</b>
<b>2</b>	Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen.	<b>8</b>
<b>3</b>	Structure chimique de l'oleuropéine.	<b>9</b>
<b>4</b>	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	<b>18</b>
<b>5</b>	Photographie des feuilles sèches ( <b>A</b> ) et des feuilles après broyage ( <b>B</b> ).	<b>24</b>
<b>6</b>	protocole d'extraction des polyphénols.	<b>26</b>
<b>7</b>	Protocole de Dosage des phénols totaux solubles.	<b>27</b>
<b>8</b>	Activité antioxydante de pouvoir réducteur.	<b>28</b>
<b>9</b>	Rendement en extraits sec	<b>32</b>
<b>10</b>	Teneur en polyphénols totaux.	<b>33</b>
<b>11</b>	Pouvoir réducteur d'acide ascorbique ( <b>A</b> ) et des extraits ( <b>B</b> ).	<b>35</b>
<b>12</b>	Photos représentatives des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis les souches sensibles.	<b>37</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification botanique de l' <i>Olea europaea</i> L.	<b>06</b>
<b>II</b>	Principaux composés phénoliques, secoiridoides et triterpènes, identifiés dans les feuilles d' <i>O.europaea</i> L.	<b>09</b>
<b>III</b>	Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques.	<b>16</b>
<b>IV</b>	Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant <i>in vitro</i> .	<b>21</b>
<b>V</b>	Description et origine des souches.	<b>29</b>
<b>VI</b>	Activité Antibactérienne des extraits d' <i>Olea europaea</i> L.	<b>36</b>

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Adénosine désoxyribonucléique

**BN** : Bouillon nutritif

***B.subtilus***: *Bacillus subtilis*

**°C** : Degrés Celsius

**CAT** : Catalase

**COX-2** : Cyclooxygenase-2

**COX-5** : Cyclooxygenase-5

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

***E.coli*** : *Escherichia coli*

**ERO** : Espèces réactives oxygène

**Fe<sup>2+</sup>** : Ion ferreux

**Fe<sup>3+</sup>** : Ion ferrique

**FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure ferrique

**FRAP**: Ferric reducing antioxidant power

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxyde

**h**: Heure

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

**HOCL** : Acide hypochlorique

**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Phosphotungstique

**K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>** : Ferricyanure de potassium

**LDL**: Low Density Lipoprotein ou lipoprotéine de basse densité

**MG** : Matière grasses

**mg EqAG/g MS**: Milligramme équivalent d'acide gallique par g de matière sèche

**MH** : Mueller Hinton



**Mo<sub>8</sub>O<sub>32</sub>** : molybdène

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**NO<sup>•</sup>** : Monoxyde d'azote

**O<sub>2</sub>**: dioxygène

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Anion superoxyde

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>** : Oxygène singulier

**OH<sup>•</sup>** : Radical hydroxyle

**ONOO<sup>-</sup>** : Peroxynitrite

**ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity

**P<sub>f</sub>** : Poids final

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**P<sub>i</sub>** : Poids initial

**ROH** : Alcool

**rpm**: Rotation par minute

***S.aureus*** : *Staphylococcus aureus*

***SARM*** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

**SOD** : superoxyde dismutases

***S.typhi*** : *Salmonella typhi*

**TCA** : Acide trichloracétique

**TEAC** : Trolox Equivalent Antioxydant Capacity

**Trolox** : Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroma-2-carboxylique

***TSH*** : *thyroid-stimulating hormone*

**Vit C** : Vitamine C

**Vit E** : Vitamine E

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : Oxyde bleus de tungstène

**1/8** : Dilution de 12,5%

**1/4** : Dilution de 25%

**1/2**: Dilution de 50%

**%** : Pourcentage

Liste des figures  
Liste des tableaux  
Liste des abréviations

## ***SOMMAIRE***

**Introduction**.....1

### ***Synthèse bibliographique***

<b>I. Métabolites secondaires des plantes</b> .....	3
<b>I.1. Généralités</b> .....	3
<b>I.2. Classification</b> .....	3
<b>I.2.1. Terpanoïdes</b> .....	3
<b>I.2.2. Alcaloïdes</b> .....	4
<b>I.2.3. Composés phénoliques</b> .....	4
<b>I.3. Intérêt des métabolites secondaires</b> .....	5
<b>II. <i>Olea europaea</i> L.</b> .....	6
<b>II.1. Généralités</b> .....	6
<b>II.2. Classification botanique</b> .....	6
<b>II.3. Caractéristique morphologique et répartition géographique</b> .....	7
<b>II.4. Composition des feuilles d'olivier</b> .....	8
<b>II.5. Intérêt thérapeutique des feuilles</b> .....	10
<b>II.5. 1. Activité antimicrobienne</b> .....	10
<b>II.5. 2. Activité antioxydante</b> .....	12
<b>II.5. 3. Activité vasodilatatrice et hypertensive</b> .....	12
<b>II.5. 4. Activité antidiabétique</b> .....	13
<b>II.5. 5. Activité anti-inflammatoire</b> .....	13
<b>II.5. 6. Activité antiulcérogène</b> .....	14

II.5.7. Activité anticancéreuse.....	14
II.5.8. Autres propriétés.....	15
III. Radicaux libres et pouvoir antioxydant.....	16
III.1. Généralités.....	16
III.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	16
III.3. Origine de production des ERO.....	16
III.4. Dommages oxydatives des radicaux libres.....	17
III.5. Systèmes de défense antioxydants.....	17
III.5.1. Les antioxydants enzymatiques.....	18
III.5.1.1. Super oxyde dismutase (SOD).....	18
III.5.1.2. La catalase (CAT).....	18
III.5.1.3. glutathion peroxydase.....	19
III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	19
III.5.2.1. La vitamine C (Vit C) (acide ascorbique).....	19
III.5.2.2. La vitamine E (Vit E) (tocophérol).....	19
III.5.2.3. Les caroténoïdes.....	19
III.5.2.4. Alumine.....	20
III.5.2.5. Acide lipoïque.....	20
III.5.2.6. Composés phénoliques.....	20
III.6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	21
IV. L'activité antibactérienne.....	22
IV.1. Généralités.....	22
IV.2. Les agents antimicrobiens.....	22
IV.3. Mécanismes d'action des agents antimicrobiens.....	22
IV.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols.....	22
<b><u>Matériel et méthodes</u></b>	
V. Matériels et Méthodes.....	24
V.1. Matériel végétal utilisé.....	24

V.1.1. Préparation du matériel végétal .....	24
V.1.1.1. Collecte des échantillons.....	24
V.1.1.2. Séchage.....	24
V.1.1.3. Broyage et tamisage.....	24
V.2. Produits chimiques et réactifs.....	24
V.3. Matériels du laboratoire.....	25
V.4. Extraction des composés phénoliques.....	25
V.5. Dosage des polyphénols totaux.....	26
V.6. Test du pouvoir antioxydant.....	27
V.7. Test du pouvoir antibactérien.....	29
V.7.1. Souches bactériennes.....	29
V.7.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	30

### *Résultats et discussion*

VI. Résultats et discussion.....	32
VI.1. Extraction des polyphénols : rendement en extrait sec.....	32
VI.2. Dosage des phénols totaux.....	33
VI.3. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant power).....	34
VI.4. Résultats de l'activité antibactérienne.....	36
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

# Introduction

## Introduction

L'étude de la chimie des plantes médicinales est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Ghedira, 2005**).

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouant un rôle très important, principalement, dans la lutte contre diverses maladies, telles que l'hypertension, les cancers, le diabète, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique ; Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent également dans la protection contre les différentes attaques microbiennes (**Brunton, 1999**).

Arbre à utilisation large et originaire du bassin méditerranéen, *Olea europaea* L, a été introduit dans plusieurs pays d'Australie et d'Afrique de sud. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques, qui peut être utilisées comme source utile de composés phénoliques de hautes valeurs ajoutées. En fait, l'extrait de feuilles d'olivier a été utilisé comme antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien contre les bactéries et les champignons (**Djenane et al., 2011**).

Les feuilles d'*Olea europaea* L sont constituées par une large gamme de composés naturels aux effets bénéfiques. Les principaux composants phénoliques actifs dans la feuille d'olivier sont connus être oleuropéine et ses dérivés tels que hydroxytyrosol et tyrosol, ainsi que l'acide caféique, l'acide vanillique, lutéoline, rutine, lutéoline-7-glucoside, apigénine-7-glucoside, et (**Lee et al., 2009**). L'oleuropéine étant le constituant majeur phénolique des extraits de feuilles d'olivier, environ 19% (p/p), doté par leurs multifonctions bioactives exploitées dans tous les domaines, aussi bien en médecine (**Abaza et al., 2015**).

L'objectif de ce travail est de quantifier les composés phénoliques des extraits aqueux et éthanolique de feuilles d'*Olea europaea* L, poussant en Algérie. L'activité antioxydante à été évalué au moyen d'un seul test (réduction de fer) et l'activité antibactérienne à été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Diverses recherches dans le monde mettant l'accent sur le potentiel bioactif de diverses variétés d'*Olea europaea* L .Le principal objectif de ces investigations réside dans l'utilisation des substances naturelles pour la protection contre le stress oxydatif et les infections bactériennes.

Première partie  
Synthèse bibliographique



## **I. Métabolites secondaires des plantes**

### **I.1. Généralités**

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées appelées métabolites secondaires (**Macheix et al., 2005**). Bien connu pour la complexité de leur structure chimique et voies de biosynthèse des produits naturels, ils sont considérés comme biologiquement négligeables et ont historiquement reçu peu d'attention de la plupart des biologistes végétaux. Les chimistes organiques, cependant, ont longtemps été intéressés par ces composés photochimiques et ont étudié leurs propriétés chimiques abondamment depuis les années 1850.

La reconnaissance des propriétés biologiques d'une myriade de produits naturels a favorisé l'orientation actuelle dans ce domaine, à savoir, la recherche de nouveaux antioxydants, médicaments, antibiotiques, insecticides et d'herbicides. L'effet biologique des produits naturels a provoqué une réévaluation des rôles possibles que jouent ces composés dans les plantes, en particulier dans le contexte des interactions écologiques. (**Hynes et O'Coinceanainn, 2004**).

Plusieurs de ces composés ont été démontré pour avoir une grande signification dans la protection contre les herbivores et les infections microbiennes, comme attractifs pour les pollinisateurs et les graines de dispersion des animaux, et comme agents allélopathiques (allélochimiques qui influencent la concurrence entre les espèces végétales) (**Rodney et al., 2000**).

### **I.2. Classification**

Les métabolites secondaires végétaux dépassent actuellement 100 000 substances identifiées et appartiennent à trois classes chimiques principales : les terpanoïdes (groupe de lipides), les alcaloïdes (dérivés des acides aminés) et les composés phénoliques (dérivés de glucides).

#### **I.2.1. Terpènoïdes**

Les terpènoïdes représentent la classe la plus structurellement variée des produits végétaux naturels. Le nom terpènoïdes, ou terpéniques, découle du fait que les premiers membres de la classe ont été isolés à partir de la térébenthine ("terpentin" en allemand). Tous les terpènoïdes sont dérivés par fusion répétitive des unités ramifiée à cinq carbones basées sur le squelette d'isopentane. Ces monomères sont généralement appelées unités

isoprène, car la décomposition thermique de nombreuses substances terpénoïdes produit un alcène qui est un isoprène gazeux et parce que les conditions chimiques appropriées peuvent conduire à une polymérisation de l'isoprène générant de nombreux squelettes terpénoïdes (Dorman et Deans, 2000 ; Burt, 2004 ; Siphailiène et al., 2006 ; Bakkali et al., 2008 ). Les terpénoïdes qui découlent de trois unités d'isoprène contiennent 15 atomes de carbone et sont connus comme les sesquiterpènes (demi-terpènes). Comme les monoterpènes, beaucoup de sesquiterpènes sont présents dans les huiles essentielles (Bagamboula et al., 2004 ; De Billerbeck et al., 2004). En plus, de nombreux sesquiterpénoïdes agissent en tant que phytoalexines, composés antibiotiques produits par des plantes en réponse au défi microbien, et comme antiappétents qui découragent les herbivores opportunistes (Bouaoun et al., 2007 ; Hilan et al., 2009).

### **I.2.2. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont une des classes des métabolites secondaires les plus importants des plantes. Le terme alcaloïdes ou « alkaly-like » (al kaly = la soude ; like = qui a l'apparence) a été proposé pour la première fois par le pharmacien Meissner en 1818. C'est en 1896 que Meyer présenta la première définition explicite des alcaloïdes (Hesse, 2002). Les alcaloïdes sont bien connus pour leur propriétés antibactériennes (Almomani et al., 2007; Elseedi et al., 2007 ; Delso et al., 2010 ; Nenaah, 2010; Yu et al., 2010), mais les mécanismes exactes responsable de leurs actions antibactériennes sont loin d'être entièrement compris (Souza et al., 2004); Généralement les alcaloïdes peuvent inhiber la biosynthèse des protéines et perturbent la stabilité membranaire (Wink , 1998 ; Kim et al., 2004) et peuvent également interagir avec la membrane cytoplasmique bactérienne et avec l'ADN (Jenning et Ridler, 1983; Philipson, 1987; Albayati , 2008 ).

### **I.2.3. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires les plus importants des plantes impliquée dans divers processus, tel que la croissance, la lignification, la pigmentation, la pollinisation et la résistance vis-à-vis des pathogènes, les prédateurs et les stress environnementaux (Duthie et al., 2003). Ils sont exploités en phytothérapie et suscitent beaucoup d'intérêt par leur potentiel antibactérien et antioxydant. ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaires, tels que les acides

phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Chimiquement, ils présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH), libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Leur origine biosynthétique est proche, ils dérivent principalement de l'acide shikimique (**Kakhlon et Cabantchik, 2002 ; Welch et al., 2002**).

### **I.3. Intérêt des métabolites secondaires**

Comme les bactéries possèdent des stratégies communes pour la colonisation et l'infection des végétaux, les plantes peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes qui n'interviennent pas dans le métabolisme énergétique et carboné.

Ces substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermatopharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Bahorun, 1997**).

Ces substances peuvent être également utilisées comme régulateurs du fonctionnement cellulaire et développent des mécanismes de défense pour lutter contre les infections par différents agents phytopathogènes, ou en réponse aux éliciteurs abiotiques (**Hammerschmidt, 1999 ; Macheix et al., 2005**). Il s'en suit une stimulation de la synthèse de *novo* d'un mélange complexe des métabolites secondaires ou les phytoalexines (**Harbone et Willims, 2000**); en induisant l'activation et l'expression des gènes codant pour les enzymes impliquées dans leur biosynthèse (**Hoffmann, 2003**).

Nombreux chercheurs ont testé l'activité antibactérienne des extraits bruts de plantes ainsi que de leurs substances pures sur de nombreuses souches bactériennes pathogènes (**Simoès et al., 2009**). Ces études ont montré que l'activité antibactérienne des métabolites secondaires est liée à la diversité de leur structure chimique (**Gibbon, 2004**). En effet, le niveau de synthèse des composés phytochimiques de défense augmente fortement après les infections de plante (**Tegos et al., 2002**).

Vu la diversité et la variabilité des métabolites secondaires issus de plantes, une étude détaillée sera consacrée uniquement pour l'Olivier qui fera l'objet de notre étude.

## II. *Olea europaea* L

### II.1. Généralités

L'olivier est un arbre de la famille des oléacées cultivé dans les régions de climat méditerranéen pour produire des fruits comestibles, qui donne une huile recherchée « l'huile d'olive » (**Rubio de Casas et al., 2006 ; Vossen et al., 2007**). Elle est cultivée depuis près de 3500 ans, le nom scientifique de l'arbre *Olea* vient d'un mot grec qui signifie «huile».

L'olivier est une plante qui a accompagné le développement de la civilisation méditerranéenne, il est connu pour sa longue durée de vie (en moyenne 500 ans), cet arbre caractéristique des pays tempérés et tropicaux fait partie des arbres les plus anciennement cultivés (**Ryan et al., 2002**).

L'olivier constitue dans la plupart des pays du bassin méditerranéen la principale essence fruitière, tant par le nombre d'arbres cultivés que par l'importance sociale et économique de sa culture et son rôle environnemental rapporté par (**Brhadha et al., 2003**).

Les marqueurs moléculaires rendent possibles l'étude de la structure génétique des cultivars, des flux géniques et des relations entre la forme cultivée et sauvage. L'analyse de la diversité actuelle de la sous espèce «europaea » d'*Olea europaea* permet de déterminer les mécanismes qui ont conduit à cette diversité.

### II.2. Classification botanique

**Tableau I :** Classification botanique de l'*Olea europaea* L (**Cronquist, 1981**).

<b>Règne</b>	Plante
<b>Sous Règne</b>	Tracheobionate
<b>Division</b>	Magnoliophytes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	Astériales
<b>Ordre</b>	Scrophulariales
<b>Famille</b>	<i>Oleaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Olea</i>
<b>Espèce</b>	<i>europaea</i>

### II.3. Caractéristique morphologique et répartition géographique

Olivier est un arbre vivace au feuilles persistantes, dur, gris-vert et ayant une forme allongée, elles sont utilisées pour l'alimentation de bétail (**Metzidatis, 1997**). Les fleurs sont déposées en grappes sur une longue tige, l'olivier produit deux sortes de fleurs, une parfaite qui contient les deux sexes male et femelle et une staminée (**Bernie et al., 2006**). Le tronc est gris-vert et lisse jusqu'à sa dixième année, (**Rugini et al., 1998**). Pour le système racinaire, il s'adapte à la structure des sols, le système racinaire reste à une profondeur de 500 à 700 cm et se localise principalement sous le tronc, mais ces racines forment une souche ligneuse très importante, dans laquelle s'accumulent des réserves, dans les mêmes conditions d'alimentation (**Maillard, 1975 ; Loussert et Brousse, 1978**).



**Figure 01** : La plante *Olea europaea* L (**Wirtz, 2008**).

Pour les botanistes, l'aire de répartition de l'olivier est synonyme de "région méditerranéenne". L'olivier (*Olea europaea* L.) est cultivé depuis très longtemps autour de la méditerranée et de la mer noire surtout en : Espagne, Italie, Grèce, Turquie, France, Tunisie, Algérie et Croatie (**figure 02**). Aujourd'hui si l'on trouve des plantations en Californie, Australie, Afrique du Sud. Cette répartition géographique est influencée par des facteurs climatiques et pédologiques (**Gaussorgues, 2009 ; Carrion, et al., 2010**).



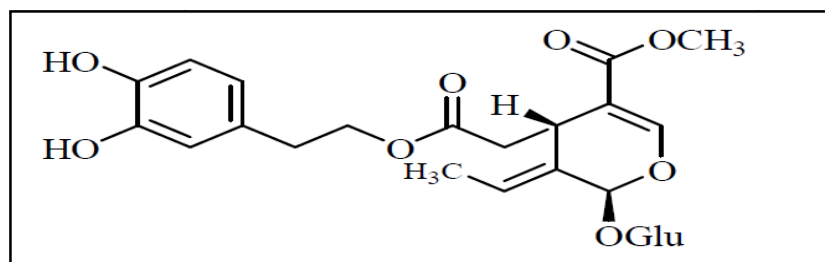
**Figure 02:** Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivée dans le bassin méditerranéen (Carrion, et al., 2010).

#### II.4. Composition des feuilles d'olivier

La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs (variété, condition climatiques, époque et prélèvement). Généralement, la matière sèche des feuilles vertes se situe autour de 50 à 58%, celle des feuilles sèches autour de 90%. La teneur en matières azotées totales des feuilles varie de 9 à 13%, elles ont moins de cellulose et hémicellulose et plus de lignine (Nefzaoui, 1987). Généralement elles contiennent des quantités remarquables en arginine, leucine et de la valine. Mais des teneurs faibles en tyrosine et cystéine. La teneur en matière grasses (MG) oscille autour de 5 à 7% (Garcia et al., 2003).

Le tableau II résume les principaux métabolites secondaires présent dans les feuilles d'olivier, parmi lesquels : les flavonoïdes (lutéoline, quercétine...), les secoiridoïdes (oleuropeine, lugstroside...) et les acides phénols tels que l'acide caféique, les acides p-coumarique et chlorogénique ( Ryan et al., 2002 ; Yaseen-Khan et al., 2007).

Le composé le plus abondant dans les extraits méthanoliques et éthanoliques des feuilles d'olivier est l'oleuropéine, qui en représente jusqu'un 19% du poids sec dont la structure est présentée dans la figure 03 (Winkhausen et al., 2005). Ce dernier est un groupe spécifique de coumarine, produit par le métabolisme secondaire des terpènes, il est considéré comme un précurseur de la synthèse des alcaloïdes indoliques (Solar-Rivas et al., 2000 ; Tripoli et al., 2005).



**Figure 03:** Structure chimique de l'oleuropéine.

D'autres constituants ont été aussi identifiés dans les feuilles d'olivier, il s'agit des glycosides de l'apigénol et de lutéolol (**Bruneton, 1999**), des lignines et des tannins (Martin-Garcia et *al.*, 2003 ; Chebbi et *al.*, 2011). Les tannins condensés sont présents avec un pourcentage de 1% alors que les tannins solubles possèdent une teneur de 0,3% et celle de lignine varie de 14,2% à 30,4% par rapport à la matière sèche (**Fegeros et al., 1995**).

**Tableau II :** Principaux composés phénoliques, secoiridoïdes et triterpènes, identifiés dans les feuilles d'*O.europaea* L.

Classe	Composés	Référence
<b>Acides Phénoliques</b>	Acide caféique, Acide p-coumarique, Acide chlorogénique, Acide gallique, Acide vanilique, Acide gallique, Verbascoside, vanilline	Rayan et Roberds, 1998; Mc donald et <i>al.</i> , 2001 ; El-Etre, 2007 . Ghedira, 2008 ;Dekanski et <i>al.</i> , 2009.
<b>Flavonoïdes hétérosidiques</b>	Lutéoline 7-O glucoside, lutéoline 4'-O-glucoside, Lutéoline 7-O-rutinoside, Apignine 7-O-glucoside, Hespéridine, Rutine, Anthocyanidine, Cyanidine 3-O-Glucoside, diosmétine-7-glucoside	Benavenete-Garcia et <i>al.</i> , 2000 ;Ryan et <i>al.</i> , 2000.
<b>Flavonoïdes aglycones</b>	Apigénine, Lutéoline, Quercétine, Kaempferol, Hesperitine, Anthocyanine (Cyanidine), Chalcone, Myricétine, Diosmétine, Catéchine	
<b>Triterpènes</b>	Acide oleanolique, acide maslinique, Acide hydroxy-oleanolique	Bisignano et <i>al.</i> , 2001 Somova et <i>al.</i> , 2003.
<b>Sécoiridoïdes Ou iridoïdes</b>	Oleuropeine, Acide élénolique, demethyloleuropeines hydroxytyrosol, 11-diméthyle-oleuropéoside, Ligustroside, oleuroside, oleacine	Briante et <i>al.</i> , 2002 ; Briante et <i>al.</i> , 2004 ; Ghedira, 2008.

## **II.5. Intérêt thérapeutique des feuilles**

Dans l'antiquité les feuilles étaient déjà utilisées pour soigner les blessures cutanées, l'ancienne médecine grecque à l'origine de la médecine occidentale connaissait déjà ses vertus antiseptiques et anti-infectieuse. Avec l'avènement de la médecine clinique moderne, cet extraordinaire remède naturel tomba malheureusement en désuétude comme la plupart des traitements d'origine naturelle ; Depuis quelques dizaines d'années ces derniers sont utilisés de nouveau car les antibiotiques ne sont plus considérés comme les tous puissants remèdes qu'ils étaient censés être. Les principales études menées sur les feuilles d'olivier concernent principalement les propriétés d'un de leurs constituants : oleuropéine. Ces essais confirment les effets d'extrait d'olivier sur les infections virales, fongiques, et bactériennes (**Baycin et al., 2007**).

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Ils contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (**Wainstein et al., 2013**). Des évidences suggèrent que boire une infusion de feuilles d'olivier a été une méthode employée depuis plusieurs siècles par les cultures des moyens orient pour traiter les troubles tels que la toux, les gorges sensibles, les cystites et les fièvres (**Yasseen Khan et al., 2007**).

De plus, les feuilles d'olivier étaient utilisées en cataplasme pour traiter les brûlures, les éruptions, et les autres problèmes de peau. Elles sont employées pour désinfecter les blessures cutanées. Les Anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toutes sortes d'infections (**Micol et al., 2005**).

En 1854, Handbury publie un article relatant les vertus d'une décoction des feuilles d'olivier qui réduisait la fièvre due aux maladies sévères (**Petkov et Manolov, 1972**). Les feuilles aussi, ont été largement utilisées en tant que remède pour le traitement de la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme (**Benavente-Garcia et al., 2000 ; Bouaziz et al., 2008**).

### **II.5. 1. Activité antimicrobienne**

Les essais in vitro ont montré que les extraits des feuilles d'*O.europaea* L sont très efficaces contre un grand nombre de bactéries qui parasitent le système digestif, les voies



respiratoires et divers organes incluant, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, et *Escherichia coli* et *Bacillus cereus* (Bisignano et al., 1999 ; Caturla et al., 2005). Plusieurs sécoiridoïdes de cette espèce, semblent contribuer à l'activité antimicrobienne ; l'hydroxytyrosol et l'oleuropeine par exemple, se sont révélés efficaces contre les bactéries (Juven et Henys, 1972 ; Bisignano et al., 1999 ; Saavedra et al., 2010).

L'extrait des feuilles d'olivier peut avoir un rôle de régulation, de la composition, de la flore gastrique en réduisant sélectivement les niveaux des *Helicobacter pylori* et *C.jejuni*, les métabolites de bisphénols peuvent avoir une meilleure activité antibactérienne que les composants non métabolisés, signifiant que les essais *in vitro* peuvent sous-estimer l'activité totale (Sudjana et al., 2009).

En 1968, des recherches publiées par la société américaine de microbiologie indiquent que les composants actifs de l'oleuropeine, l'acide élénol et l'enolate de calcium inhibent la croissance des différentes virus (Zaher et al., 2007 ; Micol et al., 2005 ; Bao et al., 2007 ; Yamada et al., 2009). D'autres études ont montré que l'extrait de feuille d'olivier a un potentiel d'activité antivirale contre les virus d'hépatite, rotavirus, les rhinovirus bovine et les paravovirus canine (Fredreckson, 2000). En outre ce deux composés majoritaires des feuilles d'olivier agissent en inhibant aussi bien la fusion entre les deux membranes, la membrane cellulaire et celui du virus HIV-1, comme ils peuvent inhiber également l'activité de l'intégrase de ce virus (Lee-Huang et al., 2003 ; Lee-Huang et al., 2007 a et b).

L'activité antifongique *in vitro* a été mise en évidence en présence de composés phénoliques, aglycone de quercétine et de lutéoline, rutine, oleuropéine, et tyrosine par simple observation microscopique. En effet, ces composés phénoliques affectent la croissance, morphologie et l'ultrastructure des mycètes : tels que *Phytophthora megasperma*, *drechsler* et *cylindrocarpon destructans* (Baidez, 2007). D'autres études ont montrés que ces composés peuvent réduire la production de tixines d'*Aspergillus flavus* (Delrio et al., 2000). Par ailleurs les travaux menés par Korukluoglu et al, (2007) avec les extraits aqueux de feuille d'olivier et 7 composés phénoliques ( l'acide 4-hydroxybenzoïque, acide vanillique, acide p-coumarique, tyrosol, acide caféïque, acide syringique et oleuropéine) montré un effet spectaculaire sur 10 souches fongiques.

## **II.5. 2. Activité antioxydante**

Les extraits des feuilles d'olivier, jouent un rôle important dans la prévention des maladies cardiovasculaires, particulièrement l'artériosclérose et l'hypocholestérolémie, comme ils diminuent le mauvais cholestérol (LDL) et en inhibent la peroxydation des lipides plasmatiques (**Cherif et al., 1996**., **Bennani-Kabchi et al., 1999** ; **Andreadou et al., 2006**).

Ces effets, sont dus aux propriétés antioxydantes d'oleuropéine et d'hydroxytyrosol, qui possèdent une forte activité antioxydante, et une excellente activité scavenger de l'oxygène actif (**Andrikopoulos et al., 2002** ; **Bouaziz et al., 2008** ; **Jamaia et al., 2008** ; **Lee et al., 2009** ; **Hayes et al., 2009** ; **Bulotta et al., 2011** ; **Fleming et al., 2011**).

Les flavonoïdes des feuilles d'olivier exercent leur activité anti-oxydante via leur groupe hydroxyle. Cette action est également due à la présence de triterpènes (**Benavente-Garcia et al., 2000**).

L'acide caféique a été également rapporté pour avoir une activité scavenger de l'anion superoxide (**Chimi et al., 1995**). Des recherches montrent que les composants polyphénoliques du régime méditerranéen empêchent les événements biochimiques qui sont mis en cause dans la maladie athérogène, de ce fait proposant un nouveau lien entre le régime méditerranéen et la prévention de la maladie coronarienne (**Visioli et Galli, 1998**).

## **II.5. 3. Activité vasodilatatrice et hypertensive**

Il a été démontré sur des rats (per os), qu'une décoction de feuilles d'olivier, augmente le débit sanguin au niveau coronarien, et inhibe ainsi l'enzyme de conversion de l'angiotensine (**Hansen et al., 1996**) ; Cette activité est attribuée essentiellement à l'oleuropeine, aux triterpènes (acide oleanolique ) et aux produits d'hydrolyse enzymatiques des secoiridoides (**Zarzuelo et al., 1991** ; **Khayyal et al., 2002** ; **Perrinjaquet-Moccetti et al., 2008**). Des études cliniques ont montrées qu'un traitement par des infusions de feuilles d'olivier entraîne une stabilisation de la tension artérielle chez des sujets présentant une hypertension modérée (**Haris, 2010**).

Les études cliniques récentes ont montrées que une dose 500g de l'extrait des feuilles d'olivier, deux fois par jours, peut remplacer une dose de 12.5-25 mg en Captopril, dans l'abaissement des tensions artérielles systoliques chez les patientes hypertendus (**Sausalit et al., 2010**).

#### **II.5. 4. Activité antidiabétique**

L'activité hypoglycémique des feuilles d'olivier a été mise en évidence chez des lapins diabétiques. En effet, l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier administré à ces lapins induit la diminution du taux de glucose du sang (**Al-Azzawie et Alhamdani, 2006**).

L'effet hypoglycémiant est du à la présence d'oleuropéine, qui pourrait agir soit en stimulant l'utilisation périphérique du glucose soit en favorisant la libération d'insuline induit par les cellules  $\beta$  (**Fahri et al., 1994**).

Un autre composé, l'acide olealonique possède également une action antidiabétiques puissante, il agit sur l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase, cette enzyme hydrolyse les disaccharides et oligosaccharides en glucose. Les inhibiteurs de cette enzyme retarderaient la digestion d'hydrate de carbone et entraîneraient une réduction du taux d'adsorption du glucose et par conséquent la glycémie. L'inhibition de alpha-glycosidase est de ce fait considérée importante dans la gestion du diabète non insulino dépendant (**Shaiq ali et al., 2002**). L'administration d'un extrait des feuilles d'olivier riche en oleuropéine (8mg /kg), pendant 4 semaines, montre une diminution significative de glucose. Ses résultats met en évidence l'effet antidiabétique de l'oleuropéine (**Al-Azzawie et al., 2006 ; Jemai et al., 2008**).

Les propriétés hypoglycémiantes de l'extrait de feuille d'olivier peuvent être expliquées par deux mécanismes d'action de l'oleuropéine. L'oleuropéine augmenterait la libération d'insuline induite par un pic de glucose sanguin. L'oleuropéine favoriserait l'utilisation périphérique du glucose (**AL-Azzawie et Alhamadani, 2006**).

#### **II.5. 5. Activité anti-inflammatoire**

L'oleuropéine et l'un de ses dérivés des catéchol hydroxytyrosol, empêchent la génération du leukotriene B4 impliqué dans un éventail de voies pro-inflammatoire aussi bien que la production d'eicosanoïde (**Petroni et al., 1995**).

La lutéoline est également un composé clé, qui a montré l'activité anti-inflammatoire chez certains types d'animaux, et des effets antiallergiques. L'apigénine présente aussi dans les feuilles empêche les médiateurs inflammatoires ; tels que l'oxyde nitrique et la prostaglandine E2 (**Braun, 2005**).

Les tritérpènes (acide ursolique et acide oléanolique) sont des puissants agents anti-inflammatoires capables d'inhiber l'élastase leucocytaire humaine ainsi que l'activité de la COX-2 et LOX-5 (**Honda et al., 2000**).

#### **II.5.6. Activité antiulcérogène**

Les flavonoïdes présents dans les feuilles d'olivier jouent un rôle protecteur de la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes. Une activité anti-ulcérogène de la quercétine a été également mise en évidence chez un rat dont l'ulcère gastrique a été induit par l'éthanol. Les effets cytoprotecteurs de la quercétine sont dus à un complexe impliquant la stimulation de la prostaglandine et l'inhibition de la production de leukotènes via la production du mucus (**Ghedira, 2005**).

#### **II.5.7. Activité anticancéreuse**

L'activité anticancéreuse des extraits de feuilles d'olivier est due à la présence de quercétine qui inhiberait la croissance cellulaire en inhibant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones. La multiplication cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres (**Marfak, 2003**). Menendez et al. (2007), ont prouvé que l'aglycone d'oleuropéine est le plus efficace contre la viabilité des cellules de cancer du sein chez la femme.

D'autres études ont montré que l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique possèdent également une activité anticancéreuse efficace, directement en perturbant les filaments d'actine. L'oleuropéine empêche la prolifération, la migration des cellules tumorales, leur réplication, leur mobilité et leur invasion (**Hamdi et Castellon, 2005 ; Fernando et al., 2009 ; Bouallaoui et al., 2011**). Alors que l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique peuvent bloquer la nitrosation des amines soit par réduction du nitrite en oxyde nitrique, soit par formation de

dérivés C-nitroso en agissant non seulement *in vitro*, mais également *in vivo*. ces composés possèdent des activités antioxydantes et antiradicalaires (**Bossokpi, 2003**).

#### **II.5.8. Autres propriétés**

D'autres vertus ont été démontrées pour cette espèce. Les feuilles d'olivier améliorent tout particulièrement le système immunitaire grâce à ses puissants constituants qui neutralise sans endommager les bactéries non pathogènes. Elles ont une activité sur la thyroïde. Une étude récente a montré que l'extrait de feuilles d'olivier diminue le taux de TSH sanguin avec une augmentation de la T3 probablement due à une stimulation de la 5'-diodinase qui convertit la T4 en T3 (**Al-Quarawie et al., 2002**).

L'olivier fait partie de plusieurs pharmacopées locales (**Dekanski et al., 2009**). Il joue également un rôle important au niveau nutritionnel. Les utilisations thérapeutiques des différents organes d'*Olea europaea* L sont répertoriées dans (**Annexe I**).

Les feuilles d'olivier sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle modérée. L'extrait de feuilles est utilisé comme adjuvant dans les formes légères de diabète (au cours de la grossesse ou en cas d'obésité) (**Ghedira, 2008**).

### III. Radicaux libres et pouvoir antioxydant

#### III.1. Généralités

Le dioxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une faible partie d'O<sub>2</sub> en métabolites potentiellement toxiques : les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Ribéreau-gayon, 1968**).

#### III.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Un radical libre est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) capable d'exister sous forme indépendante, contenant au moins un électron libre sur sa couche externe, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation (**Finaud et al., 2006 ; Mac Laren, 2007**).

Les principales ERO sont résumés dans le **tableau III** :

**Tableau III:** Les principales espèces oxygénées réactives générées dans les systèmes biologiques (**Bartosz, 2003**).

Nom	Symbole
<b>Espèce radicalaires</b>	
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>
Radical hydroxyle	OH <sup>•</sup>
Monoxyde d'azote	NO <sup>•</sup>
<b>Espèce non radicalaires</b>	
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Acide hypochlorique	HOCL
Oxygène singulier	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
Peroxynitrite	ONOO <sup>-</sup>

#### III.3. Origine de production des ERO

Les ERO peuvent être produites par des agents physiques comme les rayonnements, des réactions chimiques et surtout enzymatiques. C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante d'ERO, mais dont l'intensité demeure controversée. D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des ERO, notamment les NADPH

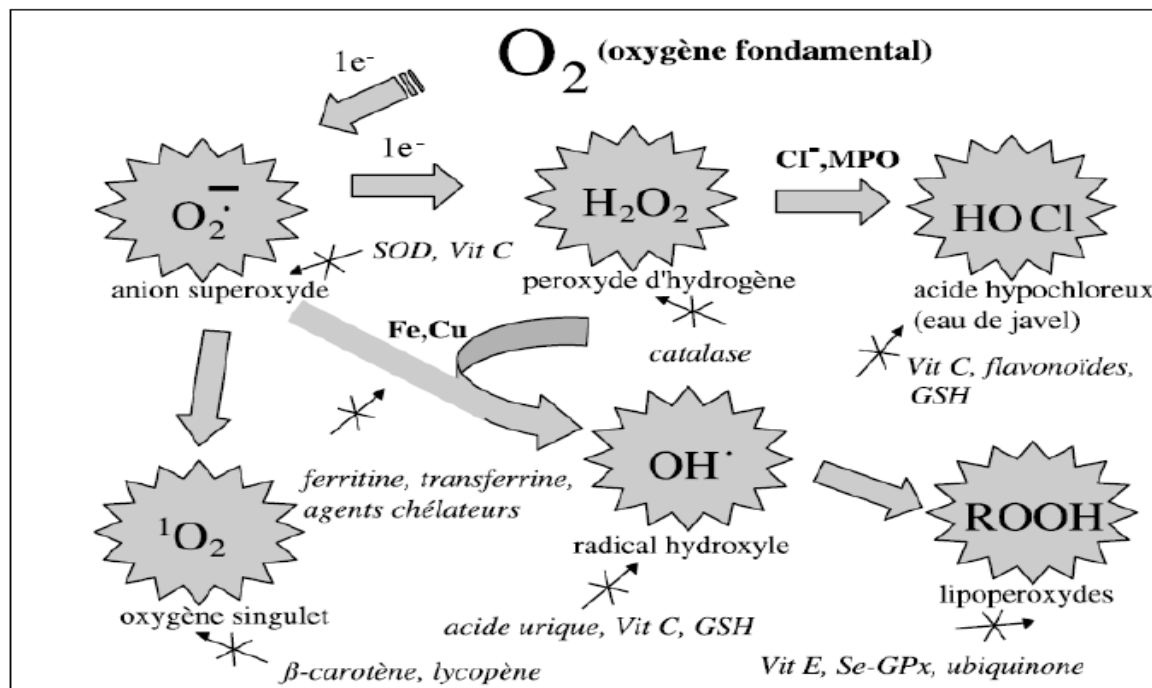
oxydases au cours de l'inflammation et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (**Barouki et Morel, 2001**).

#### **III.4. Dommages oxydatives des radicaux libres**

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines (**Jacob, 2007**) etc. En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes (**Pincemail et al., 2002**) allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète. Le rôle du stress oxydant à été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement (**Martinez-Cayuela, 1995 ; Lehucher-Michel et al., 2001 ; Sorg, 2004 ; Valko et al., 2007**).

#### **III.5. Systèmes de défense antioxydants**

Pour contourner les dommages causés par les ERO, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (**Halliwell et Gutteridge, 2007**).



**Figure 04:** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Pincemail et al., 2002).

Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques : superoxyde dismutases SOD, catalases et glutathion peroxydases ; et non enzymatiques comme les vitamines C et E, les polyphénols,...etc (Leverve, 2009).

### III.5.1. Les antioxydants enzymatiques

#### III.5.1.1. Super oxyde dismutase (SOD)

Cette métalloprotéine est classée en trois catégories, la SOD cytosolique (Cu- et Zn-dépendant), la SOD mitochondriale (Mn-dépendante), et la SOD extracellulaire (Cominacini et al., 1997).

la superoxyde dismutase (EC. 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman, 2007). C'est une enzyme qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Pelmont, 1995).

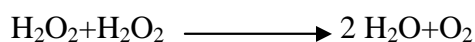


#### III.5.1.2. La catalase (CAT)

La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci (Yoshimoto et al., 2007 ; Nicholls, 2012).

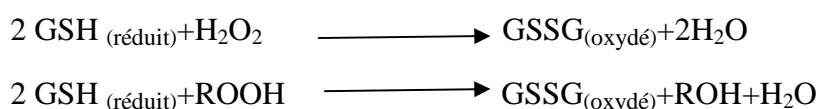


Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex ; érythrocytes) (**Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993**).



### III.5.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase (EC. 1.11.10.19) est une enzyme dépendante du sélénium (Akbas et *al.*, 2005). L'activité du glutathion peroxydase, ou GPx, est de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur (**Delattre et al., 2005**).



## III.5.2. Les antioxydants non enzymatiques

### III.5.2.1. La vitamine C (Vit C) (acide ascorbique)

Il s'agit d'un important et puissant antioxydant hydrosoluble qui ainsi fonctionne dans les milieux aqueux de l'organisme (**Sugiyama, 1992 ; Deaton et Marlin, 2003**). Une vaste gamme de ROS (hydroxyles, radicaux peroxydes, anions superoxydes, acides hypochloreux), les espèces réactives du nitrogène (peroxynitrite) et les radicaux dérivés des antioxydants (radicaux  $\alpha$ -tocophéroxyl et l'urate) sont éliminés par l'acide ascorbique (**Deaton et Marlin, 2003**).

### III.5.2.2. La vitamine E (Vit E) (tocophérol)

Elle est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (**Pryor, 2000 ; Valko et al., 2006**). Elle est retrouvée dans les huiles végétales, dans les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (**Aouissa, 2002**).

### III.5.2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction

essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante (**Causse, 2005**).

Ce sont d'excellents piègeurs d'espèces radicalaires particulièrement vis-à-vis de la lipoperoxydation des phospholipides membranaires grâce à leurs structures (**Packer et al., 1981**).

#### **III.5.2.4. Alumine**

Il se trouve en grande quantité dans le plasma possède une fonction thiol qui lui permet de jouer un antioxydant puissant à fixer les différents métaux ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ...) et de prévenir leur effets oxydants (**Halliwell et Gutteridg, 1990**).

#### **III.5.2.5. Acide lipoïque**

L'acide lipoïque autre composé appartenant aux thiols, présentent des propriétés antioxydantes *in vitro* en piégeant les  $\text{HO}^{\bullet}$ ,  $\text{RO}_2^{\bullet}$ ,  $\text{l}'\text{HOCl}$  et  $\text{l}'^1\text{O}_2$ . En se liant à des métaux comme le fer et le cuivre, il permet de les désactiver d'un point de vue catalytique, et a la capacité de régénérer certains antioxydants endogènes et exogènes (**Packer et al., 2001; Panfili et al., 2003; Smith et al., 2004**).

#### **III.5.2.6. Composés phénoliques**

Polyphénols se sont révélés être de puissants antioxydants qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un atome d'électrons ou d'hydrogène. Le système hautement conjugué et certains modèles d'hydroxylation tels que le groupe 3-hydroxy en flavonoïdes sont considérés comme importants dans les activités antioxydants. Polyphenols supprimer la génération de radicaux libres, ce qui réduit le taux d'oxydation en inhibant la formation ou la désactivation de l'espèce active et de précurseurs de radicaux libres. Le plus souvent, ils agissent comme des piègeurs de radicaux directs des réactions en chaîne de peroxydation lipidique (les disjoncteurs de la chaîne). Chaîne-disjoncteurs don d'un électron au radical libre, neutralisant les radicaux et devenir eux-mêmes des radicaux stables (moins réactifs), arrêtant ainsi les réactions en chaîne (**Tsao, 2010**).

En plus de piégeage des radicaux libres, les polyphénols sont également connus comme des chélateurs de métaux. Chélation des métaux de transition tels que  $\text{Fe}^{2+}$  peut

réduire directement la vitesse de réaction de Fenton, empêchant ainsi l'oxydation provoquée par les radicaux hydroxyles hautement réactifs (Perron *et al.*, 2009).

### III.6.Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques (Ali *et al.*, 2008 ; Scherer et Godoy, 2009). Tableau IV représente les principales méthodes.

**Tableau IV** : Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant *in vitro*.

Tests	DPPH	TEAC	FRAP	ORAC
<b>Mécanismes réactionnels</b>	Transfert d'électron majoritaire	Transfert d'électron et de proton	Transfert d'électron	Transfert de proton
<b>Nature des molécules testées</b>	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles	Hydrophiles et lipophiles
<b>Avantages</b>	Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux	Très facile à mettre en œuvre cinétique de réaction très rapide , peu coûteux	Très facile à mettre en œuvre, peu coûteux	Facile à mettre en œuvre, couteux (nécessité d'un fluorimètre), Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO*)
<b>Inconvénients</b>	Forte dépendance au pH et au solvant, radical inexistant <i>in vivo</i>	Produits de dégradation antioxydants, radical inexistant <i>in vivo</i>	pH utilisé non physiologique	Mécanismes de génération des ROO, non physiologique, interférences possibles des protéines
<b>Références</b>	(Pinelo <i>et al.</i> , 2004).	(Osman <i>et al.</i> , 2006).	(Ou <i>et al.</i> , 2002).	(Lopez <i>et al.</i> , 2003).

## **IV. Activité antibactérienne**

### **IV.1. Généralité**

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (**Billing et Sherman, 1998**).

### **IV.2. Les agents antimicrobiens**

Sur base de l'étymologie du mot « antimicrobien» (du grec *anti* : contre, *mikros* : petit et *bios* : vie), on définit un composé de ce type comme toute substance capable d'agir contre la vie des microorganismes. Un agent antimicrobien désigne une substance naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui, aux concentrations observées *in vivo*, possède une activité antimicrobienne (**Muylaert et Mainil, 2012**).

### **IV.3. Mécanismes d'action des agents antimicrobiens**

Les agents antimicrobiens ont une grande variété de structures chimiques. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer leur protection contre une infection, y compris des effets sur le système immunitaire, des dommages à la membrane cytoplasmique des bactéries, la liaison à l'ADN ou à l'inhibition de processus métaboliques bactériens spécifiques. Ces agents ne sont pas une spécificité élevée (**Eband et Eband, 2009**). Les différents mécanismes d'actions des agents antimicrobiens sont répertoriés dans (**Annexe II**).

### **IV.4. Activités antimicrobiennes des polyphénols**

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la résistance aux maladies, protection contre les ravageurs et la diffusion d'espèces bactériennes. Ces substances ont une action pharmacologique remarquable et une faible toxicité (**Silva et al., 2006**).

Le mécanisme d'action des polyphénols sur ces agents pathogènes n'est pas bien connu, les études exploitées par Domineco et *al* (2005) ont mené à conclure que l'effet antimicrobien des composés phénoliques est dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des microorganismes, qui en résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte de ses organites intracellulaires.

En plus, les composés phénoliques sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales (**Domineco et al., 2005**). Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**). De même, Les caractéristiques physicochimiques des composés polyphénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophilie) peuvent influencer cet effet antibactérien.

# Matériels et Méthodes

## **V. Matériels et Méthodes**

### **V.1. Matériel végétal**

#### **V.1.1. Préparation du matériel végétale**

##### **V.1.1.1. Collecte des échantillons**

Les feuilles d'*Olea europaea* L ont été récoltées au début de mars 2014 dans la ferme Pilote Abderrahmane Mira (Tazmalt), wilaya de Bejaia (**figure -A**).

##### **I.1.1.2. Séchage**

Les feuilles d'*O. europaea* L préalablement nettoyés (élimination la poussière et autres particules indésirables), ont subit un séchage à l'air libre, dans un endroit sec, ventilé et ombragé.

##### **1.1.1.3. Broyage et tamisage**

Les feuilles ont été broyées à l'aide d'un moulin à café électrique pour obtenir une poudre dont la taille des particules est de 0,5 mm (**figure -B**). Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des bocaux en verre, fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière.



**Figure 05:** Photographie des feuilles sèches (**A**) et des feuilles après broyage (**B**).

### **V.2. Produits chimiques et réactifs**

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Éthanol, Folin-Ciocalteu, carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 7.5%), l'acide gallique, Ferricyanure de potassium

( $K_3Fe(CN)_6$ ), Acide trichloracétique(TCA), Chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ), Tampon phosphate (0,2M, pH 7), Eau distillée, Eau physiologique, bouillon nutritif, Muller Hinton.

### **V.3. Matériel du laboratoire**

Balance, Spectrophotomètre, Rotavapeur, Centrifugeuse, bain marie, Etuve, Bec benzène, Agitateur, autoclavage, vortex.

### **V.4. Extraction des composés phénoliques**

Au cours de ce travail, l'extraction solide/liquide a été choisie comme moyenne pour la récupération des composés phénoliques à partir d'une matrice végétale constituée de feuilles d'olivier broyées.

L'extraction des composés phénoliques est faite par macération selon la méthode d'Oomah *et al.* (2006) par l'eau distillée et l'éthanol à une concentration de 70%.

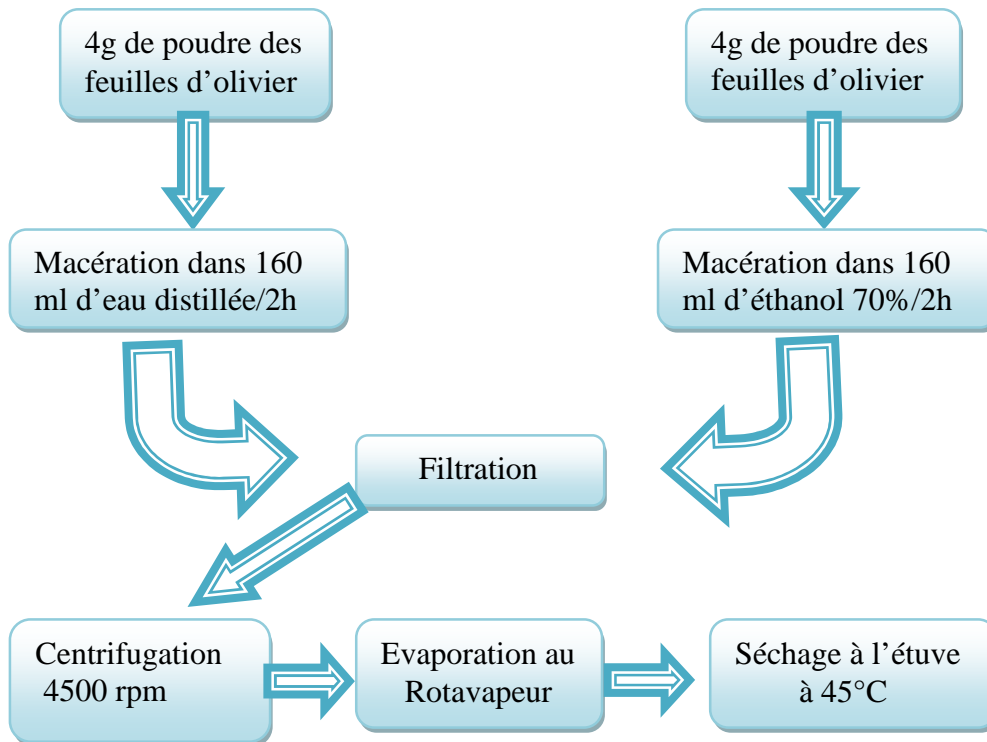
#### **❖ Principe**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales, le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (**Llaneza Coalla *et al.*, 2009**).

#### **❖ Mode opératoire**

4 g de poudre de feuilles d'olivier est additionné à 160 ml d'eau distillée ou de l'éthanol 70%. Les mélanges sont soumis à une agitation magnétique pendant 2 h à l'obscurité et à température ambiante, puis ils sont filtrés sur un papier filtre. Les filtrats obtenus sont centrifugés, évaporés presque à sec au moyen d'un évaporateur rotatif, puis séchés dans une étuve à une température de 40 à 45°C (**figure 06**).





**Figure 06:** protocole d'extraction des polyphénols (Oomah *et al.*, 2006).

Les extraits ont pesés et conservés à sec jusqu'à utilisation et le rendement d'extraction de chaque extrait est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_f)/P_i]$$

**P<sub>f</sub>** : Poids de l'extrait après (g).

**P<sub>i</sub>**: Poids de l'échantillon initial(g).

### V.5. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de Skerget *et al.* (2005).

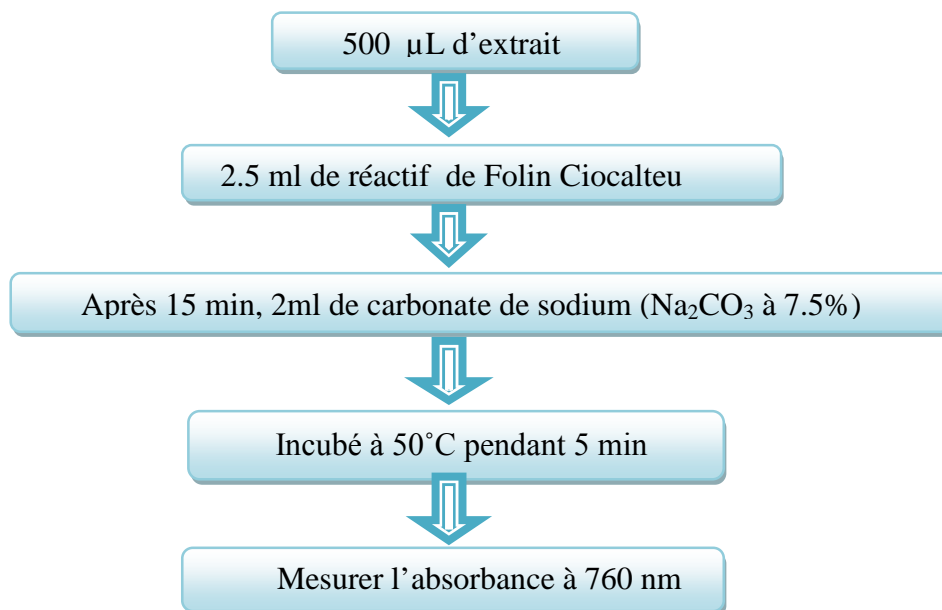
#### ❖ Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>32</sub>).

La coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm (**Ribéreau- Gayon, 1968**).

❖ **Mode opératoire**

Un volume de 500 µl des solutions d'extraits à différentes concentrations sont ajoutées à 2.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 15 min, 2 ml de carbonates de sodium (7,5 %) sont additionnés. Le mélange est incubé à une température de 50°C pendant 5 min, puis la lecture de l'absorbance est lue à 760 nm (**figure 07**).



**Figure 07** : Protocole de dosage des phénols totaux solubles (**Škerget et al., 2005**).

Les concentrations en composés phénoliques sont déterminées par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec de l'acide gallique utilisé comme standard (**Annexe V**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (Eq AG) par g de matière sèche (mg Eq AG/g d'échantillon).

**V.6. Test du pouvoir antioxydant**

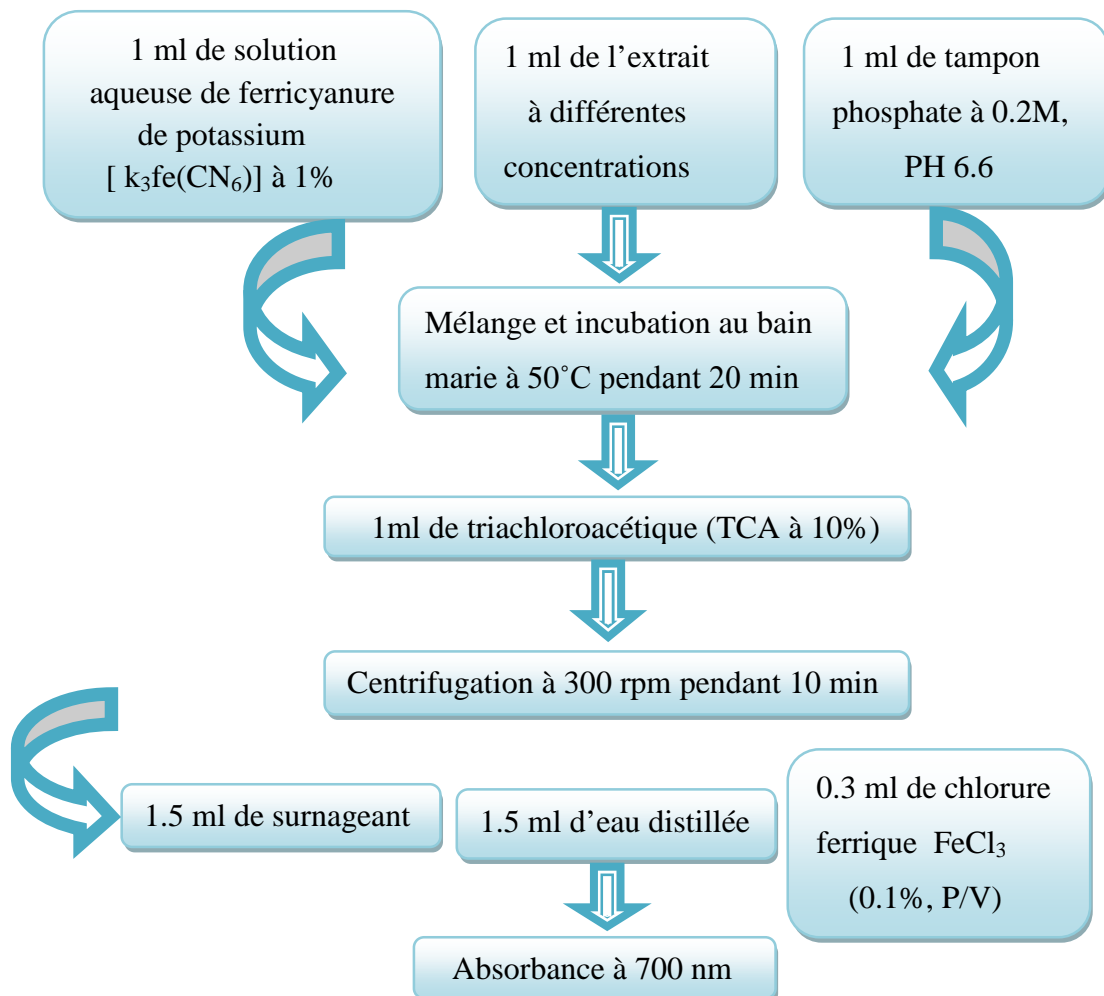
➤ **Réduction du fer : FRAP (ferric reducing antioxidant power)**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). En effet le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du

milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

❖ **Mode opératoire**

1ml de l'extrait à différentes concentrations (de 20 à 2000 mg/ml) est mélangé avec 1 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6.6) et 1 ml d'une solution de ferricyanure de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] (1%). L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 1 ml de TCA (10%) est additionné pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 300 rpm pendant 10 min. 1,5 ml de surnageant est combiné avec 1,5 ml d'eau distillée et 0,3 ml de  $FeCl_3$  (0,1%). la lecture de l'absorbance est lue à 700 nm (figure 08).



**Figure 08:** Activité antioxydante de pouvoir réducteur (Oyaizu, 1986).

Le blanc contient tous les réactifs à l'exception de l'extrait à tester qui est remplacé par un volume égal de méthanol (solvant de reconstitution). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

### V.7. Test du pouvoir antibactérien

Pour une éventuelle activité antibactérienne des extraits des feuilles d'olivier étudiés et afin de comparer entre l'aptitude de chaque extrait à inhiber certaines bactéries pathogènes, la technique des disques en papier a été choisie pour évaluer cette activité, cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse et de s'appliquer sur un grand nombre d'espèces bactériennes.

#### V.7.1. Souches bactériennes

Le nombre de bactéries à tester est de 5. Les caractéristiques et l'origine des souches sont citées dans le **tableau V**.

**Tableau V** : Description et origine des souches bactériennes.

Souches	Origine	Description
<i>E.coli</i>	ATCC25922	Bactérie à Gram négatif ( <b>Kaper et al., 2004</b> ). de forme non sporulée, de type aérobie facultative, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm ( <b>Percival, 2004</b> ).
<i>S.aureus</i>	ATCC25923	Des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 µm, de forme non sporulée, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives ( <b>Dworkin et Falkow, 2006</b> ).
<i>S.typhi</i>	ATCC14028	Bacilles Gram négatifs, sans ramifications ni spores, non capsulés, de 2 à 3 µm de long sur 0,5 µm de large ( <b>Pardon et Sanchis, 1988</b> ) sont anaérobies facultatifs ( <b>Le minor, 1989</b> ).
<i>B.subtilus</i>	ATCC6633	Bactérie a une forme de bâtonnet, de gram-positif est aérobie ( <b>Kunst et al., 1999</b> ).
<i>SARM</i>	ATCC43300	Des cocci Gram positif, d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre ( <b>Dworkin et al., 2006</b> ).

### V.7.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### ❖ Principe

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

#### ❖ Description de la méthode

L'activité antibactérienne des extraits des feuilles d'olivier a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque décrite par Keskin et ses collaborateurs 2012.

Les souches bactériennes utilisées sont réactivées dans le Bouillon nutritif (BN) et incubées pendant 24 heures à 37°C.

La suspension bactérienne a été préparée à partir des cultures jeunes de 18 à 24 h repiquées au préalable par la méthode de la strie sur milieu Muller Hinton (MH). Quelques colonies bien isolées (1 à 3 colonies) ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et mises en suspension dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne est ajustée (ajout de la culture bactérienne ou ajout de l'eau physiologique) jusqu'à l'obtention d'une densité optique de 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625 nm (**Bendahou et al., 2007**).

Les extraits des feuilles d'olivier (éthanolique et aqueux) ont été dissous dans l'eau distillé stérile pour préparer les différentes concentrations avec trois dilutions successives au demi (1/2 ,1/4 ,1/8). Sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 400 mg/ml.

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes Pétri, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé la surface entière de la gélose (MH) à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose.

Les disques stériles imprégnés des concentrations croissantes d'extraits, ont été déposés stérilement à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose.

Des témoins imbibés seulement par l'eau distillée stérile ont été réalisés. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différentes concentrations des deux extraits autour des disques. Tous les tests ont été répétés deux fois.

# Résultats et Discussion

## VI. Résultats et Discussion

### VI.1. Extraction des polyphénols : rendement en extrait sec

Il y a beaucoup de démarches pour obtenir les composés phytochimiques des plantes telles que le broyage, l'homogénéisation et l'extraction. Parmi ces étapes, l'extraction est l'étape principale pour la récupération et l'isolement des composés phytochimiques à partir de matières végétales.

Le choix du solvant pour l'extraction des composés phénoliques, à partir du matériel végétal, dépend de la nature et du type de ces composés. Généralement les solvants organiques sont les plus utilisés pour l'extraction des différents constituants des plantes (Velickovic *et al.*, 2006).

Les extraits éthanolique et aqueux récupérés après évaporation à l'étuve ont été pesés pour déterminer le poids sec résultant. Le rendement en extrait sec est exprimé en pourcentage (figure 09).

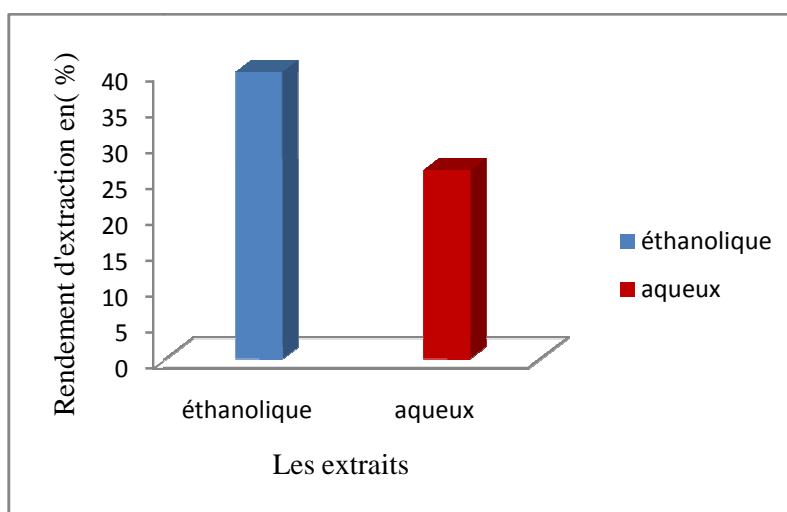


Figure 09: Rendement en extraits sec.

Le rendement d'extraction obtenu dans l'extrait éthanolique (40%) est proche à celui obtenu par EL Kateb *et al.* (2015) (43,7%) pour la même espèce végétale. Pareillement pour l'extrait aqueux ; le rendement trouvé (26.25) est nettement supérieur à celui obtenu par Sheikh et Gabr. (2016) qui est de 17.8 %. Ceci peut être expliqué par la différence de la période de récolte et la méthode d'extraction.



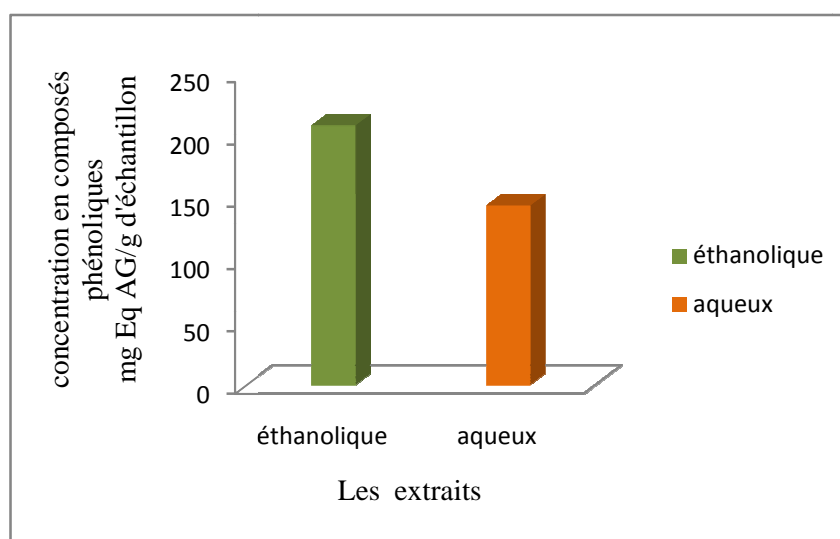
Les différences observées entre l'éthanol-eau et eau traduisent une sélectivité d'extraction pour ces deux solvants. Le solvant utilisé est en effet reconnu comme des principaux facteurs affectant la quantité et le taux des polyphénols dans ce dernier (**Abaza et al., 2015**). La polarité du solvant participe à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques (**Mekinic et al., 2014**).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement d'extraction est affectée par d'autres facteurs : le procédé d'extraction utilisé, la granulométrie, la température, le temps de macération, le nombre des étapes d'extraction ainsi que la présence de substances interférentes (**Nacz et Shahidi, 2004 ; Rodriguez Meizoso et al., 2006 ; Diem Do et al., 2014**).

## VI.2. Dosage des phénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Le dosage Folin-Ciocalteu colorimétrique est la technique la plus utilisée quantitative et rapide pour la détermination du nombre total de composés phénoliques polaires dans des feuilles d'olivier (**Abaza et al., 2015**).

Les teneurs en composés phénoliques totaux dans les extraits des feuilles d'olivier sont illustrées dans la **figure 10**.



**Figure 10:** Teneur en polyphénols totaux.

Les teneurs en phénols totaux varient de 143,89 mg Eq AG/g d'échantillon (extrait aqueux) à 208,28 mg Eq AG/g d'échantillon (extrait éthanolique 70 %). Nos résultats sont supérieurs à ceux rapporté par Abaza et *al.* (2011), ils rapportent des teneurs varient de 9,07 mg Eq AG /g à 13,68 mg Eq AG/g pour les divers extraits de feuilles d'*O.europaea* L.

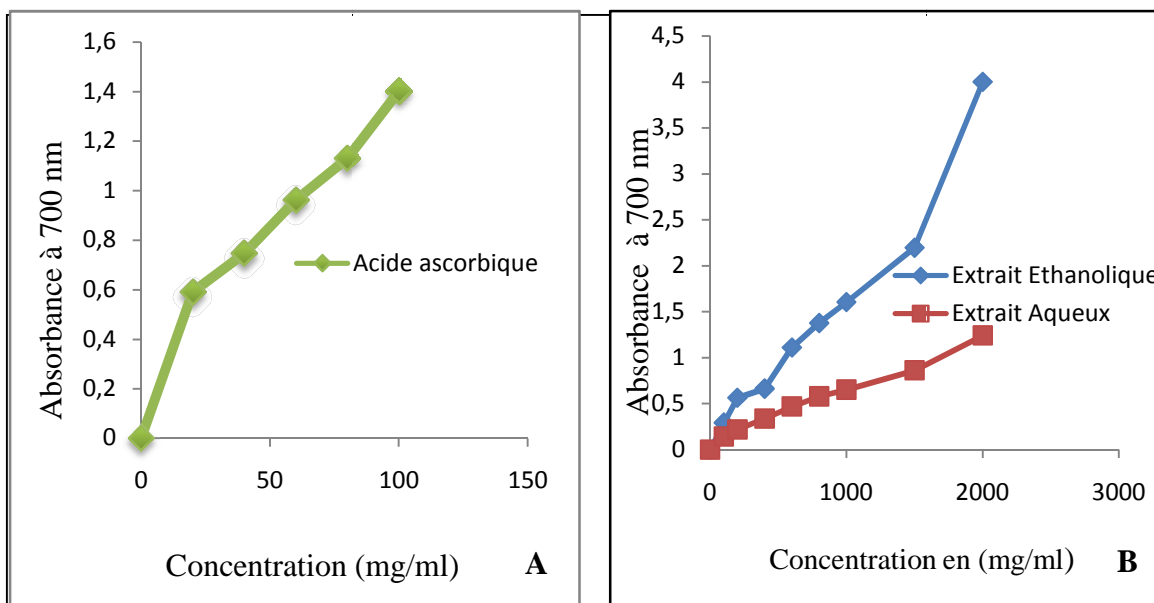
La teneur la plus importante de polyphénols totaux est retrouvée dans l'extrait éthanolique. Nos données analytiques pour les feuilles d'*O.europaea* L s'accordent avec les travaux de Mekinić et ses collègues (2014), où les teneures en phénols totaux sont plus élevées dans l'extrait éthanolique.

Le dosage réalisé dans notre étude confirme la présence des composés phénoliques. La mise en évidence de divers classes de composés phénoliques est en accord avec les données de nombreux auteurs (**Martin Garcia et al., 2003 ; Furneri et al., 2004 ; Keskin et al., 2012**).

### **VI.3. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxydant power)**

Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants.

Nos résultats (**figure11**) montrent que tous les extraits issus des feuilles d'*O.europaea* L manifestent un pouvoir réducteur inférieur à celui de l'acide ascorbique pris comme témoin dans une concentration de 100 mg/ml.



**Figure 11:** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique (A) et de deux extraits (B).

Comparativement à l'extrait aqueux, le pouvoir réducteur des extraits est augmenté par la présence de l'éthanol dans le solvant. Cette hypothèse est en accord avec les observations de Siddhuraju et Becker, (2003).

En plus, les extraits éthanoliques 70% manifestent une augmentation brusque de pouvoir réducteur de fer ferreux avec l'élévation de la concentration de l'extrait. Nous notons par contre une augmentation progressive du pouvoir réducteur pour l'extrait aqueux. Des observations similaires sont notées par Goldsmith et al. (2015) pour les extraits éthanolique 50% de deux variétés *Corregiola* et *Frantoio* de feuilles d'olivier, avec des pouvoirs réducteurs supérieurs à celui des extraits aqueux.

Cette différence d'activité antioxydante des composés phénoliques dépend de la quantité de molécules spécifiques présentes dans la matrice, de facteur structural, tel que le nombre et la position des groupements hydroxyles dans la molécule (Xie et al ; 2015).

#### VI.4. Activité antibactérienne

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des extraits de feuilles d'*O.europaea* L par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton .Cette méthode est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et les extraits de plantes. (Gülçin et al., 2004).

La taille de l'inoculum est un paramètre déterminant de la fiabilité et de la reproductibilité du résultat. Un inoculum trop dense peut masquer un effet antibactérien et conduire à des résultats faussement négatifs. Un inoculum trop faible peut être à l'origine de tapis irrégulier rendant la lecture ambiguë et peut mener à des résultats faussement positifs. Nous avons donc choisi un inoculum d'environ  $10^8$  bactéries/ml, cette charge nous a permis d'avoir un tapis de colonies suffisamment denses.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre des zones d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester. Leurs valeurs obtenues sont données dans, le **tableau V** et leurs aspects sont montrés dans la **figure 12**.

**Tableau V:** Activité antibactérienne des extraits d'*O.europaea* L.

Concentration (mg/ ml) Souches	Φ (mm)							
	Extrait éthanolique				Extrait aqueux			
	400	200	100	50	400	200	100	50
<i>B.subtilus</i>	21± 0	17±0.7	16±1.4	15±1.4	15±0.7	13±0.7	9±1.4	11±0
<i>SARM</i>	19± 1.4	17± 0.7	15± 1.4	14± 1.4	15± 1.4	12± 0.7	8± 0	-
<i>S.aureus</i>	19± 0	16± 0.7	13± 0	11± 0	11± 0.7	11± 0	7± 0	-
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

Φ zone d'inhibition. Le diamètre (6 mm) du disque est inclus dans les calculs.

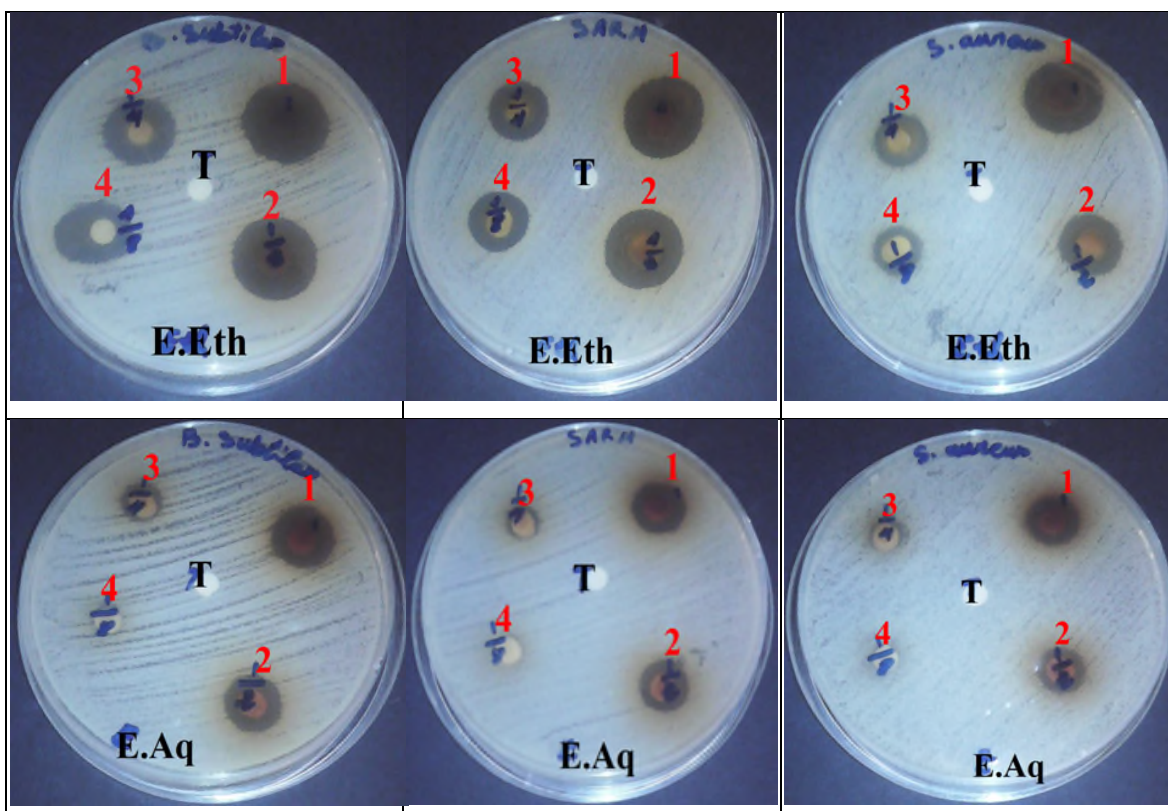
Les valeurs indiquées sont des moyennes de deux mesures (Moyenne ± écart type). - pas d'activité.

L'analyse des données expérimentales consignées dans le tableau V traduit une activité antibactérienne des extraits testés vis-à-vis les souches bactériennes Gram positif

SARM, *S.aureus* et *B.subtilis*. Ainsi, La souche *B.subtilis* se présente comme la plus sensible à l'extrait éthanolique avec une zone d'inhibition de 21 mm à une concentration de 400 mg/ml. Pour chacune des souches, le diamètre des zones d'inhibition augmente relativement avec l'augmentation de la dose de l'extrait utilisé, dont les diamètres d'inhibition varient entre (21-11) mm pour *B.subtilis*, de (19-8) mm pour SARM et de (19-7) mm pour *S.aureus* (**figure 12**).

La sensibilité de *B.subtilis*, de SARM et de *S.aureus* traduit l'action antibactérienne des extraits testés d'*O. europaea* L. L'expression d'une telle activité antibactérienne de ces derniers s'accorde avec les données de nombreux auteurs (**Pereira et al., 2007; Aliabadi et al., 2012; Keskin et al., 2012; Gökmen et al., 2014; Gumgumjee et Hajar, 2014**).

En outre, nous avons eu la résistance des souches Gram négatif *E.coli* et *S.typhi*; Cette insensibilité pourrait être expliquée par la présence des lipopolysaccharides dans leur membrane externe (**Malik, 2015**).



**E.Eth** : extrait éthanolique, **E.Aq** : extrait aqueux.; **1** : 400mg/ml ; **2** : 200mg/ml ; **3** : 100mg/ml ; **4** : 50mg/ml; **T** : témoin négatif.

**Figure 12** : Photos représentatives des zones d'inhibition obtenues vis-à-vis des souches sensibles.

De plus, l'analyse du pouvoir antibactérien a révélé également une variation selon la nature de l'extrait utilisé. En effet, l'extrait éthanolique affiche l'effet inhibiteur le plus marqué vis-à-vis *B.subtilis*, *S. aureus* et *SARM* avec des zones d'inhibition allant de 15 à 21mm. Une telle sensibilité variable a été révélée par Khattab et ses collègues (2015) vis-à-vis des souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp* et *Candida spp*.

Nous notons également que l'activité antibactérienne de nos extraits est d'autant plus prononcée que leurs teneurs en composés phénoliques est plus élevées. En fait, de nombreux auteurs attribuent ce potentiel bioactif des feuilles d'*O.europaea* L aux composés phénoliques (**Khattab et al., 2015**).

La toxicité des composés phénoliques vis-à-vis des microorganismes peut être du aux dommages au niveau de la membrane des cellules bactériennes (**Javen et al, 1972**), inhibition du métabolisme bactérien, la chélation des ions métalliques, la séquestration des substances nécessaires à la croissance des bactéries et les interactions avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes (**Cowan, 1999**).

La nature des composés phénoliques présents dans les extraits pourraient également influencer l'activité antibactérienne de ces derniers (**Khattab et al., 2015**). Nous rappelons que les feuilles d'*O.europaea* contient les alcools phénoliques, comme l'hydroxytyrosol et tyrosol, les dérivés de l'acide hydroxycinnamique comme verbascoside et l'acides caféique et secoiridoïdes comme l'oleuropéine ; composés phénoliques ayant des propriétés antimicrobiennes connus (**Ilias et al., 2011**) et leur présence pourraient expliquer l'activité antimicrobienne observée.

Il difficile de comparer nos données à celle de la bibliographie. L'activité antibactérienne des substances végétales peuvent dépendre de plusieurs autres facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principe actif (**Erdohan et Turhan, 2011**).

Ces résultats témoignent de l'efficacité des extraits d'*O.europaea* , qui est probablement due à leur richesse en composés phénolique.

# Conclusion

## Conclusion

Les plantes restent toujours une source de principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques et phytosanitaires . Le présent travail à porté sur l'évaluation du pouvoir antibactérien et antioxydant des extraits aqueux et éthanolique des feuilles d'*Olea europaea* L.

La prédominance du rendement en termes d'extrait brut est enregistrée dans l'extrait éthanolique (40%) par rapport à celui de l'extrait aqueux (26.25%).

L'évaluation du contenu en phénols totaux du substrat végétal utilisé montre que leurs teneurs varient en fonction du solvant utilisé (de 143,89 à 208,28 mg Eq AG/g d'échantillon) avec une présence en quantité appréciable dans l'extrait éthanolique 70%.

Dans la deuxième partie, nous somme intéressé par l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de nos extraits bruts. Les résultats de l'activité antibactérienne enregistrés de cette étude révèlent la sensibilité variable des agents pathogènes aux extraits testés. L'effet le plus prononcé est observé avec l'extrait éthanolique vis-à-vis des souches Gram positif *B.subtilus*, *S.aureus* et *SARM*.

De même, cet extrait brut éthanolique des feuilles se caractérise par un fort pouvoir antioxydant de la réduction de fer, qui est supérieur à l'extrait aqueux et inférieur à l'acide ascorbique à 100 mg/ml.

Les résultats obtenus sont encourageants pour l'utilisation des feuilles d'olivier comme une source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique. La recherche de nouvelles substances bioactives mérite également une investigation pour une valorisation optimale de cette plante.

En perspective, il est nécessaire de poursuivre et approfondir ce modeste travail de recherche par :

- Fractionnement et isolement des fractions bioactives.
- Identification et caractérisation approfondie des fractions bioactives isolées
- Approfondir le potentiel bioactif de cette plante.



# Références bibliographiques

*A*

- **Abaza L., Taamalli A., Nsir H et Zarrouk M. (2015).** Olive Tree (*Olea europaea* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds. *Antioxidants*. 4: 682-698.
- **Abaza L., Ben Youssef N. Manai H., Mahjoub Haddada F., Methenni K et Zarrouk M. (2011).** Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. 62 (1) : 96-104.
- **Akbas SH., Yegin A et Ozben T. (2005).** Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. *Clin Biochem*. 38(11): 1009-14.
- **Al-Azzawie H F et Alhamdani M S. (2006).** Hypoglycémie and antioxidant effect of oleuropein alloxan-diabetic rabbit. *Life science*. 78: 1371-1377.
- **Ali S S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A et Bora U. (2008).** Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*.41: 1–15.
- **Aliabadi MA ., Darsanaki R K., Rokhi M L., Nourbakhsh M., Raeisi G.(2012).** Antimicrobial activity of olive leaf aqueous extract. *Biological Res*. 3 (8):4189-4191.
- **Al-Momani W., Abu-Basha E., Janakat S., Nicholas R A J et Ayling R D.(2007).** In vitro antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three Mycoplasma species. *Trop Anim Health Prod* 39: 515-519.
- **Al-Quarawie A A., Al-Damegh M A et El-Moughy S A. (2002).** Effect of freeze dried extract of *olea europaea* on the pituitary thyroid axis-in the rats. *Phytothérapie Research* 16: 286-287.
- **Andreadou I., Iliodromitis E K et Micros E. (2006).** The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J. Nutr* 136: 2213-2219.

● **Andrikopoulos N K., Anttonopoulou S et Kaliora A C. (2002).** Oleuropein inhibits LDL oxidation induced by cooking by-products and platelet aggregation induced by platelet-activating factor. *Lbensm Wiss Technol* 35:479-484.

● **Aouissa I. W-R. (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse Pharmacie, Bamako . p: 130.

## **B**

● **Bagamboula C F., FUyttendaele M et Debevere J. (2004).** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards shigella sonnei and S.flexneri. *Food Microbiology.* 21: 33-42.

● **Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research, Conseil Mauritus, Amas.

● **Baidez A G., Gomez P., Del Rio J A et Ortuno A. (2007).** Dysfunctionality of the xylem in *Olea europaea* L. plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism *J. Agric. Food Chem.*55 : 3373–3377.

● **Bakkali F., Averbeck B S., Averbeck D et Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils:A review. *Food and Chemical Toxicology.* 46:446-475.

● **Bao J., Zhang D W., Zhang J Z H., Lee Huang P., Lin Huang P et Lee-Huang S. (2007).** Computational study of bindings of olive leaf extract (OLE) to HIV-1 fusion protein gp41. *Federation of European Biochemical Societies Letters.* 581:2737-2742.

● **Barouki R et Morel Y. (2001).** Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. 61(5):511-6.

- **Bartosz G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9: 5-21.
- **Baycin D., Altiok E., Ulku S et Bayraktar O. (2007).** Adsorption of olive leaf (*Olea europaea L.*) antioxidants on silk fibroin. *J. of Agricultural and Food Chemistry*. 55:1227-1236.
- **Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A et Del Rio J A. (2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea L.* leaves. *Food Chemistry*. 68: 457-462.
- **Bendahau M., Nenyouchef M., benkhada D et Elissacosta J. (2007).** Influence of the processes extraction on essential oils of *origanum gl and ulosum* .*J. of applied sciences*. 8: 1152-1157.
- **Bennani-Kabchi N., Fdhil H., Cherrah Y., Kehel., El-Bouayadi F., Amarti A., Saidi M et Marquie G. (1999).** Effects of *Olea europaea* var. oleaster leaf in hypercholesterolemic insulin resistant sand rats .*Therapie*. 54(6): 717-723.
- **Bernie G., Forrester S et Grey D. (2006).** Botanica. Encyclopedie de botanique et d'horticulture plus de 1000 plants de monde entière .édition place victores . P: 1020 .
- **Billing J et Sherman P W. (1998).** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* 73: 3-49.
- **Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Ucella N et Saija A. (1999).** On the *in-vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydropein and hydroxytyrosol. *J. of Pharmacy and Pharmacology*. 31: 971-974.
- **Bisignano G., Lagana M G., Trombetta D., Arena S., Nostro A., Uccella N., Mazzanti G et Saija A (2001).** In vitro antibacterial activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea L.* *FEMS Microbiology Letters*. 198:9-13.

- **Bosgiraud C. (2003).** Microbiologie generale et sante. Paris: ESKA. P: 278.
  
- **Bossokpi I P L. (2003).** Etude des activités biologiques de fagara zonthoxyloides Lam (*Rutaceae*). Thèse doctorat. Université de Bamako. P: 180.
  
- **Bouallagui ., Han J., Isoda H et Sayadi S. (2011).** Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. 49:179-184.
  
- **Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F., Sfeir R. (2007).** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie*. 5 : 129-134.
  
- **Bouaziz M., Fki I., Jemai A., Ayadi M et 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: 253-262.
  
- **Breton C., Medial F., Pinatel C et Berville A. (2006).** De l'olivier à l'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europea* L.dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers agricultures* 15: 329-335.
  
- **Brhadda N., Abousalim A., Waladi loudiyi D E et Benali D. (2003).** Effet du milieu de culture sur le microbouturage de l'olivier (*olea europaea* L) CV. Picholine marocaine. *Biotechnology of Agronomy Society Environement*. 7 :177-182.
  
- **Briante R., Francesco L C., Ferdinando F., Maurizio P et Roberto N. (2002).** Bioactive derivatives from oleuropien by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts. *J. of Biotechnology*. 93:109-119.
  
- **Briante R., Patumib M., Febbrioa F et Nuccia R. (2004).** Production of highly purified hydroxytyrosol from *olea europaea* leaf extracts biotransformed hyperthermophilie B-glucosidase. *J. of biotechnology*. 111:67-77.

●**Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie Phytochimie. Plantes médicinales. *Ed Tec et Doc.* P: 1095.

●**Bulotta S., Corradino R., Celano M., D'Agostino M., Maiuolo J., Oliverio M., Procopio M., Iannone M., Rotiroti D et Russo D. (2011).** Antiproliferative and antioxidant effects on breast cancer cells of oleuropein and its semisynthetic peracetylated derivatives. *Food Chemistry.* 127:1609-1614.

●**Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiology* .94: 223-253.

## C

●**Carrion Y., Ntinou M et Badal E. (2010).** *Olea europaea* L. in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews.* 29 : 952–968.

●**Causse C. (2005).** Les secrets de santé des antioxydants : C'est naturel, c'est ma santé. *Alpen éditions s.a.m.* P: 30.

●**Chebbi R M., Khemiss M., Dhidah M., Dellaï A., Bouraoui A et Khemiss F. (2011).** Chloroformic and Methanolic Extracts of *Olea europaea* L Leaves Present Anti-Inflammatory and Analgesic Activities. *International Scholarly Research Network Pharmacology.* 1-5.

●**Cherif S., Rahal N., Haouala M., Hizaoui B., Dargouth F., Gueddiche M., Kallel Z., Balansard G., Boukef K. (1996).** A clinical trial of a titrated *Olea* extract in the treatment of essential arterial hypertension. 51(2):69-71.

●**Chimi H., Morel G., Lescoat N., Padeloup P., Cillard J et Cillard d. (1995).** Inhibition of iron toxicity in rat hepatocyte culture by natural phenolic compounds. *Toxicology In Vitro.* 9:695-702.

- **Cominacini L., Garbin U., Pasini AF., Davoli A., Campagnola M., Contessi GB., Pastorino AM., et Lo Cascio V. (1997).** Antioxidants inhibit the expression of intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 induced by oxidized LDL on human umbilical vein endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 22: 117–127.
  
- **Cordeiro A I., Sanchez-Sevilla J F., Alvarez-Tinaut M C et Gomez-Jimenez M C. (2008).** Genetic diversity assessment in Portugal accessions of *Olea europaea* by RAPD markers. *Biologia Plantarum.* 52(4): 642-647.
  
- **Cowan M M. (1999).** Plant Products as antimicrobialagents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12: 564-582.
  
- **Cronquist A. (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univesity Press.
  
- **Cturla N., Perez-Fons L., Estepa A et Micol V. (2005).** Différentia effects of oleuropein, a biophenol from *Olea europaea* , on anionic and zwiterionic phospholipid model membranes . *Chemistry and Physics of lipids.* 137: 2-17.

**D**

- **Deaton CHM et Marlin DJ. (2003).** Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract,* 2(3) : 278-91.
  
- **Dekanski D., Ristic S et Mitrovic D M. (2009).** Antioxidant effect of dry olive (*Olea europaea L.*) leaf extract on ethanol-induced gastric lesions in rats. *Mediterr J Nutr Metab* 2:205-211.
  
- **Delattre J., Beaudeau J L et Bonnefont D- Rousselot. (2005).** "Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 1- 23.

- **Delso I., Tejero T., Goti A et Merino P. (2010).** Synthesis of D-arabinose-derived polyhydroxylated pyrrolidine, indolizidine and pyrrolizidine alkaloids. Total synthesis of hyacinthacine. *Tetrahedron*. 66: 1220-1227.
  
- **Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L et Roncales P. (2012).** Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Revue Nature & Technologie*. 53-61.
  
- **Diem Do Q., Angkawijaya A E., Tran-Nguyen P L., Huynh L H ., Soetaredjo F E ., Ismadji S et Yi-Hsu J. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. food and drug analysis .22 :296 -302.
  
- **Domenico T., Francesco C., Maria G S., Vincenza V., Mariateresa C D., Antonella S., Gabriela M., et Giuseppe B. (2005).** Mechanisms of antibacterial action of Three Monoterpenes. *Antimicrobial Ag .Chemotherapy*. 49: 2474-2478.
  
- **Dorman H J D et Deans S G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J . of Applied Microbiology*. 88: 308-316.
  
- **Doublet B. (2004).** Caracterisation des éléments genetiques mobiles du gene de résistance au florfenicol Flor R chez *Salmonella entérica* et *Escherichia coli*. These de Doctorat. Discipline des sciences de la vie et de la sante. Universite de Tours.
  
- **Duthie G G., Gardner P T et Kyle J A M. (2003).** Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*. 62: 599-603.
  
- **Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schkeufer K H., Stackebrandt E. (2006).** The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3<sup>eme</sup> éd. ;Springer, New-York,.Vol 4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. 4-75.



## E

- **Edrah S et Kumar A. (2012).** Preliminary Phytochemical and Antibacterial Studies of *Olea europaea* and *Polygonum maritimum* Libyan Plants. *Inter. J. of Science and Research* :2319-7064.
- **El-Etre AY. (2007).** Inhibition of acid corrosion of carbon steel using aqueous extract of olive leaves. *J. Colloid Interface Sci.* 314: 578–583.
- **EL Kateb M., Snoussi A., Hcini K et Bouzouita N. (2015).** Antioxidant activities of ethanolic extracts of four Tunisian olive varieties. *Mediterranean Chemistry.* 4(6) :297-308.
- **El-Seedi H R., Zahra M H., Goransson U et Verpoorte R. (2007).** Cyclopeptide alkaloids. *Phytochem Rev.* 6:143-165.
- **Epand R M et Epand R F. (2009).** Lipid domains in bacterial membranes and the action of antimicrobial agents. 289–294.

## F

- **Fehri B., Mrad S., Aiache J M et Lamaison J L. (1994).** Effects of *Olea europaea* L. extract on the rat isolated ileum and trachea. *Phytotherapy Research.* 9: 435-439.
- **Fernando J., Reyes-Zurita., Eva E., Rufino-Palomares., José A., Lupianez et Cascante M. (2009).** Maslinic acid, a natural triterpene from *Olea europaea* L., induces apoptosis in HT29 human colon-cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *Cancer Letters.* 273:44-54.
- **Flemming J., Kuchtab K., Arnholda J et Rauwald H W. (2011).** *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase . *Phytomedicine.* 18: 561-566.

●**Fredrickson W R. (2000).** Methode and Composition for Antiviral Therapy with olive leaves. U.S. *Patent.* 6: 117-844.

●**Furneri PM., Piperno A., Sajia A et Bisignano G. (2004).** Antimycoplasmal activity of hydroxytyrosol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 48: 4892-4894.

## G

●**Garcia-Gomez A., Roig A et 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 : 59-64.

●**Gaussorgues R. (2009).** L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. Un risque allergique ? *Revue française d'allergologie.* 49 : 2–6.

●**Ghedira K. (2005).** Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 162-169.

●**Ghedir K. (2008).** L'oliver. *Phytothérapie.* 6: 83-89.

●**Gibbons S. (2004).** Anti-staphylococcal plant natural products. *Natural Product Rep.* 21: 263-277.

●**Gökmen M., Kara R., Akkaya L., Torlak E et Önen A.(2014).** Evaluation of Antimicrobial Activity In Olive(*Olea Europaea*) Leaf Extract. *Microbiology.* 5 (2): 37-40.

●**Goldsmith CD., Vuong QV., Sadeqzadeh E ., Stathopoulos CE ., Roach PD et Scarlett CJ.(2015).** Phytochemical Properties and Anti-Proliferative Activity of *Olea europaea* L. Leaf Extracts against Pancreatic Cancer Cells. *Molecules.* 20 : 12992-13004.

●**Gülçin I., Kufreviöglu O.I., Oktay M et Buyukokuroglu M.E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacology.* 90:205–215.

●Gumgumjee NM et Hajar AS. (2014). Antimicrobial Activities and phytochemical properties of Saudi *Olea europaea subsp. Cuspidata*. *Life Science*. 11(6).

## H

●Halliwell B et Gutteridge J M C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*. 186: 1-85.

●Halliwell B et Gutteridge J M C. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford (fourth edition).

●Hamdi K et Castellon R. (2005). Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 334:769-778.

●Hammerschmidt R. (1999). Phytoalexins: What have learned after 60 years? Annual Review of phytopathology. 37: 285-306.

●Hansen K., Adersen A., Brogger Christensen S., Rosendal Jensen., Nyman U et Wagner S.(1996). Isolation of an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor from *Olea europaea* and *Olea lancea* . *Phytomedicine*. 2: 319-325.

●Haris S A. (2010). Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. *Scientia pharmaceutica*. 78:133-154.

●Hayes S E., Janda M et Cornish B. (2009). Lymphedema following breast cancer. *J Clin Oncol*. 27:2890.

●Hesse M. (2002). Alkaloids, nature's curse or blessing ? Verlag Helvetica Chimica Acta and Wiley. P: 239.

●Hilan C., Bouaoun D., Aoun D., Aoun J., Sfeir R et Garabeth F. (2009). Propriétés antimicrobiennes et toxicité par détermination de la DL50 de l'huile essentielle de *Prangos asperula* Boissier. *Phytothérapie*. 7 :8-14.

● **Hoffman L. (2003).** Etude du metabolism phenylpropanoïdes : analyse de l'interaction de la caféoyl-CoenzymeA 3-O méthyltransférase(CCOAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltrnsférase, l'hydroxycinnamoyl-CoAshikimate /quinat hydroxycinnamoyl transférase (HCT).Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur-Strasbourg. P: 143.

● **Honda T., round B V., Bore L., Finlay H J., Favaloro F G., Wang Y., Sporn M B et Gribble G W. (2000).** Synthétic oléanne and ursane triterpenoids with modified rings A and C: a serie of highly active inhibitors of nitric oxide production in mouse macrophages. *J Medical chemistry.* 43: 4233-4246.

● **Hubert A J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bio ingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments. P: 174.

● **Hussain A., Qarshi I A., Liaqat R., Akhtar S., Aziz I., Ullah I et Shinwari Z K. (2014).** Antimicrobial Potential of Leaf and Fruit Extracts and Oils of Wild and Cultivated Edible Olive. *J. Bot.* 46(4): 1463-1468.

● **Hynes MJ et O'Coinceanainn M. (2004).** The kinetics and mechanisms of reactions of iron(III) with caffeic acid, chlorogenic acid, sinapic acid, ferulic acid and naringin. *J Inorg Biochem.* 98: 1457–1464.

## *I*

● **Ilias F., Kholkhal W., Gaouar N., Bekhechi C et Bekkara F A. (2011).** Antibacterial and antifungal Activities of olive (*Olea europaea* L.) from Algeria. *Microbio Biotech Res.* 1 (2): 69-73.

J

- **Jacob L. (2007).** L'insuffisance rénale aiguë. *Edition Springer*. P: 88.
- **Jemai H., El Feki A et Saydi S. (2008).** Antidiabetic and Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol and Oleuropein from Olive Leaves in Alloxan-Diabetic Rats. *J.Agric. Food Chem.* 3-6.
- **Jenning B R et Ridler P J . (1999).** Interaction of chromosomal stains with DNA an electrofluorescence study . *Biophysic structure mechanism.* 10:71-79.
- **Juven B et Henys Y. (1972).** Studies on the mechanisme of the antimicrobial action of oleuropein. *J. of Applied Bacteriology.* 35: 559-567.

K

- **Kaper J B., Nataro J P., Mobley H L. (2004).** Pathogenic Escherichia coli .*Nat Rev Microbiol.* 2: 123–140.
- **Kakhlon O et Cabantchik ZI. (2002).** The labileiron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes. *FreeRadic Biol Med.* 33: 1037–46.
- **Keskin D., Ceyhan N., Uğur A et Dbeys A D. (2012).** Antimicrobial activity and chemical constitutions of West Anatolian olive (*Olea europaea* L.) leaves. *J. Food, Agriculture Environment.* 10 (2): 99-102.
- **Khattab OKH., El-Nasr AAA., Haggag M et Samir W.(2015).** Biological Activity of Extracts from Olive and Basil Leaves against Pathogenic Microbial Isolates. *Medical Microbiology* .24 (2) :1-9.
- **Khayyal M T., El-Ghazaly M A., Abdallah D M., Nassar N N., Okpanyi S N et Kreuter M H. (2002).** Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME Hypertension in rats. *Arzneimittel forschung.* 52: 797-802.

•Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini M., Alloni G., Azevedo V., Bertero M G Bessières P., Bolotin a., Borchert S., Borriss R., Boursier L., Brans a., Braun M ., SBrignell S C., Bron S., Brouillet., Bruschi CV., Caldwell B., Capuano V., Carter N M., Choi S K., Codani J J., Connerton I F., et Danchin a. (1999). The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*. 390(6657) :249–56.

## *L*

•Lavigne J P. (2007). Effet des antibiotiques et mecanismes de resistance. cours de bacteriologie. Faculte de Medecine Montpellier-Nimes.

•Lee- O H., Boo-Yong L., Junsoo L., Hee-Bong Lee., Jong-Youn Son ., Cheon-Seok P., Kalidas S et Young-Cheul K. (2009). Assessment of Phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activites *Bioresource Technology*. 100: 6107-6113.

•Lee-Huang S., Lin Huang P., Zhang D., Lee J W., Bao J., Sun Y., Chang YT., Zhang J et Huang P L. (2007a). Dsccovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol: Part I. Integrase inhibition. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 354: 872-878.

•Lee-Huang S., Lin Huang P., Zhang D., Lee JW., Sun Y., Chang YT., Zhang J et Huang PL.(2007 b). Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitions oleuropein and hydroxytyrosol:Part II. Integrase inhibition. *Bbiochemical and Biophysical Research Communication*. 354:879-884.

•Lee-Huang., Zhang SL., Huang PL., Chang Y et Huang PL. (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys*. 307: 1029-1037.

•Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F et Delubac O. (2001). Oxidative stress and human disease : Current Knowledge and perspectives for prevention, *Presse Med*. 30 (10) :76-81.

● **LE Minor L. (1989).** Salmonella. In : LE MINOR, L., VERON, M. Bactériologie médicale, 2<sup>e</sup> édition .Paris : Flammarion Médecine Sciences . 411-427.

● **Leverve Xavier. (2009).** Stress oxydant et antioxydants. Cahiers de Nutrition et de Diététique Volume. 44:219–224.

● **Lindau-Sehpard B et Shaffer J. (1993).** Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med.* 15:581 - 8.

● **Llaneza Coalla H., Blanco J M., Fernández., Morís Morán M A., et López Bobo M R. (2009).** Biogas generation apple pulp. *Bioresource technology.* 100(17): 3843-3847.

● **Lopez M., Martinez F., Del Valle C., Ferrit M et Luque R. (2003).** Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. *Talanta.* 60 (2-3): 609-616.

● **Loussert R et Brousse G. (1978).** L'olivier .Ed . Maisoneuvre et Larose , Paris . P : 447.

## *M*

● **Macheix J J., Fleriet A et Christian A. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Lausanne, P : 192.

● **Macheix J J., Fleuriet A et Jay-Allemand C. (2005).** Nature et diversité des composés phénoliques. IN : les composés phénoliques des végétaux, un complexe de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, CH-105 Lausanne.1-31.

● **Malik S N. (2015).** Antibacterial Activity of Olive (*Olea europaea* ) Leaves and Arugula (*Eruca sativa*) Seeds Extract. *Int. J. Pharm Phytochem Res.* 7(2) : 307-310.

● **Maillard R. (1975).** L'olivier .Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec . Paris. P: 147.

- **Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. P : 180.
  
- **Martin-Garcia A I., Moumen A., Yanez-Ruiz D R et Molina-Alcaide E. ( 2003).** Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves. *Animl Feed scienceand Technology.* 107: 61-74
  
- **Martínez-Cayuela M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. 77(3):147-61.
  
- **Mc Donald S., Prenzler P D., Antolovich M et Robards K. (2001).** Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry.* 73: 73-82.
  
- **Mekinić IG., Gotovac M., Skroza D., Ljubenkov I., Burčul F et Katalinić V. (2014).**Effect of the extraction solvent on the oleuropein content and antioxidant properties of olive leaf (cv. *Oblica, Lastovka* and *Levantinka*) extracts. *Croat. Food Sci. Technol.* 6 (1): 7-14.
  
- **Menendez J A., Vazquez-Martin A., Colomer R., Brunet J., Carrasco-Pancorbo A., Garcia-Villalba R., Fernandez-Gutierrez A et Segura-Carretero A. (2007).** Olive oil's bitter principale reverses acquired autoresistance to trastuzumab (Herceptin™ ) in HER2-over expressing breast cancer cells. *J. of BMC Cancer.*7.p: 80.
  
- **Metzidatis I T. (1997).** Proceedings of the third international symposium on Olive growing. 1.
  
- **Micol V., Caturla N., Perez-Fons L., Mas V et Perez L. (2005).** Espeta A. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research.* 66:129-136.
  
- **Muylaert A et Mainil J.G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques :les mécanismes et leur « contagiosité ». 156 : 109- 123.



## N

- **Naczki M et Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Chromatography A*. 1054 (1-2): 95-111.
- **Nefzaoui A. (1987).** Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits. *CIHEAM-option méditerranéennes*. 1 : 153-165.
- **Nenaah G. (2010).** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* xxx:xxx-xxx. (Article in press).
- **Nicholls P. (2012).** Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 525: 95–101.

## O

- **Oomah B D., Tiger N., Olson M et Balasubramanian P. (2006).** Phenolic and oxidative activities in Narrow-Leafed Lupins (*Lupinus angustifolius* L). *Plant foods for Human Nutrition* 61: 91-97.
- **Osman A M., Wong K K Y., Hill S J et Fernyhough A. (2006).** Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS-derived radicals formed upon reaction with polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 340 (2): 597-603.
- **Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J A et Deemer E K. (2002).** Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. of Agricultural and Food Chemistry*. 50(11): 3122-3128.
- **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44 : 307–315.

*P*

- **Packer J E., Mahood J S., Mora-Arellano V O., Slater T F., Willson R L et Wolfenden B S. (1981).** Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and 1,4-diazobicyclo (2,2,2)-octane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 98: 901-906.
  
- **Packer L., K Kraemer et G Rimbach. (2001).** Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition.* 17(10): 888-895.
  
- **Panfili G., A Fratianni et M Irano. (2003).** Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *J. of Agricultural and Food Chemistry.* 51(14): 3940-3944.
  
- **Pardon P et Sanchis R. (1988).** Les salmonelloses. In: FASSI-FEHRI, M. Les maladies infectieuses du mouton. Tome I. Actes Editions. 162-194.
  
- **Pelmont J. (1995).** Enzymes. Catalyseurs du monde vivant. *Presses universitaires de Grenoble.*
  
- **Percival S L. (2004).** Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston. P: 480.
  
- **Pereira AP., Ferreira I., Marcelino F., Valentão P., Andrade PB., Seabra R., Estevinho L., Bento A and Pereira AJ. (2007).** Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules.* 12 : 1153-1162.
  
- **Perrinjaquet-Moccetti T., Busjahn A., Schmidlin C., Schmidt A., Bradl B et Aydogant 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.

- **Perron N R., Brumaghim J L. (2009).** A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys* .53: 75-100.
- **Petkov V et Monolov P. (1972).** Pharmacological analysis of the iridoid oleuropeine-*Arzneim-Forsch.* 22(9): 1476-1486.
- **Petroni A., Blasevich M., Papini N., Salami M., Sala A et Galli C. (1995).** Inhibition of leukocyte leukotriene B4 production by an olive-oil derived phenol identified by mass-spectrometry. *Thrombo Rec.* 87:315-22.
- **Phillipson J et O'Neill M. (1987).** New leads to the treatment of protozoal infections based on natural product molecules. *Acta Pharm Nord.* 1: 131-144.
- **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K et Defraigne J O. (2002).** Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 16: 233-239.
- **Pryor WA. (2000).** Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, *Free Rad. Biol. Med.* 28: 141–164.
- **Pinelo M., Manzocco L., Nunez M J et Nicoli M C. (2004).** Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. *Food Chemistry.* 88(2).

**R**

- **Rahman K. (2007).** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging.* 2(2) : 219–36.
- **Ribèreau-Gayon P. (1968).** Notions générales sur les composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod* . 12-27.
- **Rodney C., Toni M K et Norman G L. (2000).** Natural products (Secondary metabolites) In: *Biochemistry & Molecular Biology of plants*; B. Buchanan, W. Grissem, R.Jones, Eds. American Society of plant physiologists.p.1250-1318.

●Rodriguez-Meizoso I., Marin F R., Herrero M., Senorans F J., Reglero G., Cifuentes A. et Ibanez E. (2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41: 1560–1565.

●Rubio de Cassa R., Besnard G., Schoenswetter P., Balguer L et Vargas P. (2006). Expensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europea* L. *Theoretical and Applied Genetics*. 113: 575-583.

●Rugini E., R. Biasi M et Rosario. (1998). Olive (*Olea europaea* var *sativa*) transformation .In Proceeding seminar on Molecular biology of woody plants. Editors jain; S.M, S.C. Minocha. 245-279.

●Ryan D et Robards K. (1998). Phenolic compounds in olives. *The Analyst* 123: 31R-44R.

●Ryan R M et Deci E L. (2000). Self-determination theory and the facilitation of intrinsic motivation, social development, and well-being. *American Psychologist*. 55: 68-78.

●Ryan D., Antholovich M., Prenzler P D., Robard K et Lavee S. (2002). Biotrasformation of phenolic compound in *olea europaea* L. *Scienta Horticulturae*. 92:147-176.

## S

●Saavedra M J., Borges A., Dias C., Aires A., Bennett R A., Eduardo S R et Simoes M.(2010). Antimicrobial Activity of Phenolics and Glucosinolate Hydrolysis Products and their Synergy with Streptomycin against Pathogenic Bacteria. *Medicinal Chemistry*. 6: 174-183.

●Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.  
Scherer, R., Godoy, H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem*. 112: 654–658.

- **Shaiq A M., Jahangir M., UI Hussan S S et Iqbal Chondhary M. (2002).** Inhibition of *α-Glycosidase* by oleanolic acid and its synthetic derivatives. *Phytochemistry*. 60: 295-299.
- **Sheikh BY et Gabr S. (2016).** Influence of Extraction Solvents and Phytochemical Analysis in the Evaluation of in-vitro Antioxidant Activity of Saudi Arabian Olive Leaves Extract. *American Chemistry and Application*. 3(2): 6-12.
- **Siddhuraju P et Becker K. (2003).** Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *agricultural and food chemistry*. 51 (8): 2144-2155.
- **Silva S., Gomes L., Leitão F., Coelho A.V., and Vilas Boas L. (2006).** Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Olea europaea* L. Fruits and Leaves. 12(5):385–396.
- **Simoes M., Richard N., Bennett B et Eduardo A S R. (2009).** Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. *Natural Product Reports*. 26:746-757.
- **Siphaliene A., Venskutonis P R., Baranauskiene R et Sarkinas A. (2006).** Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and majoram oils. *J. of essential Oil Research* 18: 698-703.
- **Skergat M., Kotnik P., Hadolin M Rizner- Hras A., Simonic M et Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.
- **Smith A R., Shenvi S V., Widlansky M., Suh J H et Hagen T M (2004).** Lipic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*. 11(9): 1135-1146.
- **Soler-Rivas C., Carlos-Espin J et Wichers H J. (2000).** Oleuropein and related compounds. *J. Science Of Food and Agriculture*. 80: 1013-1023.

- **Somova L I., Shode F O., Ramnanan P et Nadara., (2003).** Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxydant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, substances Africana leaver. *J Ethmopharmacol.* 1-7.
  
- **Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. 327 (7): 649–662.
  
- **Sudjana A N., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley T Vet Hammer K A. (2009).** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *In of Antimicrobial Agents.* (33): 461–463.
  
- **Sugiyama M. (1992).** Role of physiological antioxidants in chromium (VI) induced cellular injury. *Free Radic Biol Med.* 12 : 397–407.
  
- **Susalit E., Agus N., Effendi I., Tjandrawinata R R., Nofiarny D., Perrinjaquet-Mocetti T et Verbruggen M. (2010).** Extrakt listů olivovníku evropského (*Olea europaea*) je účinnýu pacientů s hypertenzí stadia 1: srovnání s kaptopilem. *Phytomedicine xxx. xxx-xxx : 1-8.*

## *T*

- **Tegos G., Stermitz F R., Lomovskaya O et Lewis K.(2002).** Multidrug pump inhibitors uncover Remarkable Activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents Chemotherapy.* 46: 3133-3141.
  
- **Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G., Dimajo D., Giammanoc S et LaGuardia M. (2005).** The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity, and beneficial effects on human health. *Nutr Res Rev.* 18:98-112.
  
- **Tsao R. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients.* 2 : 1231-1246.

V

- **Valko M., Rhodes C J., Moncol J., Izakovic M et Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol Interac.* 160: 1–40.
- **Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MT., Mazur M et Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. 39(1):44-84.
- **Velickovic M., Velickovic Z et Dunckley H. (2006).** Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Pacific Islands populations. *Immunogenetics.* 58:523–532.
- **Visioli F., Bellosta S et Gallio C. (1998).** Oleuropein, the bitter principal of olive enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sciences.* 62:541-546.

W

- **Wainstein J., Ganz T., Boaz M., Bar Dayan Y., Dolev E., Kerem Z et Madar Z. (2013).** Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural medicine.* 01-477.
- **Welch C., Marschan-Piekkari R., Penttinen H., et Tahvanainen M. (2002).** Corporate elites as informants in qualitative international business research. *International Business Review.* 11(5): 611 - 628.
- **Winkelhausen E., Pospeich R et Laufenberg G. (2005).** Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia.* 24: 41-46.
- **Wirtz A. (2008).** Oleaeuropaea. *International homeopathy internet.* 46(10): 3-665.

X

- **Xie P J., Huang L X., Zhang C H., Zhang Y L. (2015).** Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea L.*) extracts and their structure–activity relationships. *J. functiona foods*. 16: 460 – 471.

Y

- **Yamadaa K., Ogawaa H., Haraa A., Yoshidaa Y., Yonezawaa Y., Karibea K., Nghiaa V B., Yoshimurab H., Yamamotoc Y., Yamadac M., Nakamurac K et Kunitoshi I. (2009).** Mechanism of the antiviral effect of hydroxytyrosol on influenza virus appears to involve morphological change of the virus. *Antiviral Research*. 83: 35-44.

- **Yasseen Khan M d., Panchal S., Vyas N., Butani A et Kumar V.(2007).** *Olea europaea: A phyto-pharmacological Review. Pharmacognosy Reviews*. 1: 114-118.

- **Yoshimoto M., Sakamoto H., Yoshimoto N., Kuboi R et Nakao K. (2007).** Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology*. 41: 849–858.

- **Yu H ., Zhang L., Li L ., Zheng C ., Guo L., Li W ., Sun P., et Qin L(2010).** Recent developpements and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes . *Microbiological Research*, xxx:xxx-xxx(Article in press).

Z

- **Zaher K S. (2007).** In vitro studies on the antiviral effet of olive leaf against infections laryngotracheitis virus. *Global Veterinairia*. 1:24-30.

- **Zarzuelo A., Duarte J., Jime nez J., Gonzalez M et Utrillab M P. (1991).** Vasodilator effect of olive leaf. *Planta Med*. 57: 417-419.



# Annexes

**Annexe I:**Principales utilisations d'*O.europaea* L en médecine traditionnelle (Ross, 2005).

Organe	Propriétés/Utilisations traditionnelles	Préparation et/ou mode d'administration	pays
Feuilles	Hypertension, laxative	Décoction Orale	Iran
	Hypertension, diurétique, hyperglycémie	Orale	Brazil
	Traitement des dysenteries gastro-intestinales, diabète, analgésique	Orale	Espegne
	Hypotensive, inflammatoire	Infusion (Fe/ sèches)	Italie
	Traitement des hémorroïdes Antiulcéreux	Rectale, en association avec les feuilles de thé <i>Foeniculum vulgare</i> , Cataplasme	Iles de canari Oman
	Constipation, les douleurs du foie, oblitérations intestinales, tonique	Usage interne	Maroc
	Les formes légères de diabète, hypotensive	Orale	Tunisie
Fruit	Cholagogue, diurétique, hypotensive laxative, traitement des lithiases rénale et des obstructions intestinales	Usage externe	Oman Italy
	Adoucir les membres des écorchures irritées, rhumatisme		
Fruit Graine	Les foulures ou les entorses au pied	Usage externe, poudre	Turquie
	Otalgie, Emollient, adoucissant, prophylaxie pour les irritations causées par le bronzage et les	Huiles, Usage externe	Iran

**Annexe II:** Principales classes des composés antimicrobiens des végétaux.

<b>Classe</b>	<b>Sous classe</b>	<b>Exemple</b>	<b>Mécanisme</b>
Phénoliques	Phénols simples	Catéchol Epicatechine	-Privation de Substrat. -Perturbation de la membrane.
	Quinones	Hypericine	-Complexation avec la paroi cellulaire -Inactivation les enzymes.
	Flavonoïdes	Chrycine	-Liaison aux adhésines.
	Flavones	Abyssinone	-Complexation avec paroi cellulaire, -Inhibition transcriptase inverse du VIH.
	Tanins	ellagitanins	-Liaison aux protéines, -Inhibition de l'enzyme, -Complexation aux ions de métaux.
	Coumarines	Warfarine	-Interaction avec l'ADN eucaryote (Activité antivirale).
Terpènes, Huiles essentielles		Capsaïcine	-Perturbation de la membrane.
Alcaloïdes		Berbérine	-Intercalation dans la paroi cellulaire et / ou de l'ADN.
Lectines Polypeptides		Agglutinine	-Blocage la fusion ou l'adsorption virale -Formation ponts disulfure

### Annexe III : Préparation des solutions pour l'analyse biochimique.

#### ➤ Ethanol 70%

Ethanol .....	70ml
Eau distillée.....	30ml

#### ➤ Eau physiologique

Chlorure de sodium.....	9g
Eau distillée.....	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

#### ➤ Folin Ciocalteu

Folin Ciocalteu.....	1ml
Eau distillée.....	9ml

#### ➤ Carbonate de sodium

Carbonate de sodium.....	7.5g
Eau distillée.....	100ml

#### ➤ Solution aqueuse de ferricyanure de potassium

Ferricyanure de potassium.....	1g
Eau distillée.....	100ml

#### ➤ Acide trichloracétique

Trichloracétique .....	10g
Eau distillée.....	100ml

#### ➤ Chlorure ferrique

Chlorure ferrique.....	0.1g
Eau distillée.....	100ml

#### ➤ Tampon phosphate

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	3.58g
Eau distillée .....	50ml
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	10.8g
Eau distillée .....	50ml

## Annexe IV : Composition des milieux de culture.

### Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	3000cm <sup>3</sup>
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	17g
Eau distillée.....	1000ml

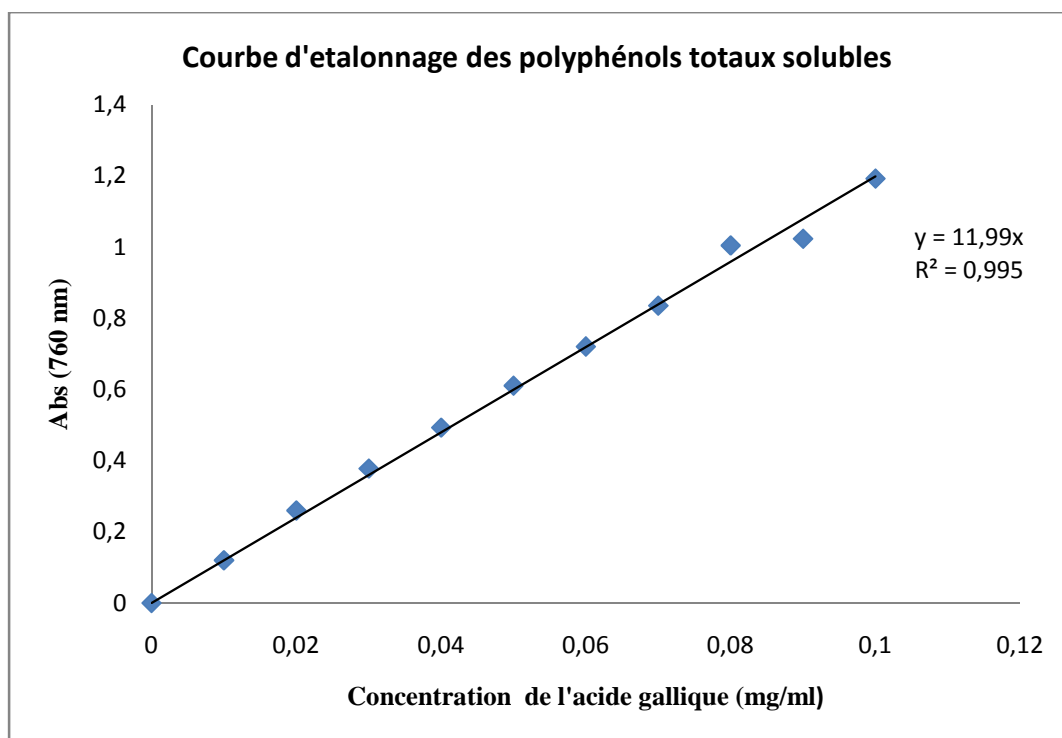
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

#### ➤ Bouillon nutritif (pH 7,2)

Peptone.....	5 g
Extrait de viande .....	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

### Annexe V : Courbe d'étalonnage



## Résumé :

*Olea europaea* L est une plante largement utilisée dans la pharmacopée, pour le traitement de diverses affections ou maladies de l'homme (Eczéma, Diabète) et la protection phytosanitaire (traitement pesticides). Elle est utilisée en Algérie comme hypotensive et diurétique.

La première partie de cette étude concerne l'extraction et quantification des composés phénoliques. La deuxième partie porte sur l'étude des activités biologiques. Les résultats obtenus montrent la richesse des extraits en polyphénols avec des teneurs de 143,89 à 208,28 mg Eq AG/g d'échantillon ; la teneur élevée a été obtenue par l'éthanol (70%). Le test de l'activité antioxydante montre que tous les extraits présentent des propriétés antioxydantes ; l'extrait éthanolique (70%) possède une meilleure capacité réductrice. Les extraits aqueux et éthanolique du substrat utilisés sont montrés son activité antibactérienne contre les bactéries Gram positif et cette inhibition varie selon la souche testée et la nature d'extrait utilisé.

**Mots clés :** *Olea europaea* L, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, extrait.

## Summary :

*Olea europaea* L is a plant widely used in pharmacopoeia, for the treatment of various conditions or diseases of humans (eczema and diabetes) and plant protection (pesticide treatment). It is used in Algeria as hypertensive and diuretic.

The first part of this study concerning the extraction and quantification of compound phenolic. The second part focuses on the study on the biological activities. Results show the richness of polyphenols that assayed extract from 143,89 to 208,28 mg Eq AG/g sample; the height content was obtained by ethanol (70%) antioxidant activity test show that all extracts exhibit antioxidant properties; the ethanolic extracts (70%) has a better reductive capacity. The ethanolic and aqueous extracts of the substrate used. Are shown antibacterial activity against bacteria Gram positive and this inhibition varies depending to the tested bacteria and the nature of the extract used.

**Keywords:** *Olea europaea* L, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, extract.

## ملخص:

*Olea europaea* L نبتة تستعمل كثيرا في ميدان الصيدلة وذلك لعلاج أمراض مختلفة للإنسان (الإكزيما و مرض السكري) و في حماية النبات (مبيدات الحشرات). تستعمل في الجزائر كمخفض للضغط الدموي و مدر للبول.

الجزء الأول من هذه الدراسة يتعلق باستخلاص و تقدير المركبات الفينولية و الجزء الثاني ندرس فيه الأنشطة البيولوجية.

النتائج تظهر غنى النبتة بالمستخلصات الفينولية بمقادير تتراوح بين 143,89 و 208,28 مع ما يعادل AG/g من المادة ; تم الحصول على أعلى نسبة من قبل الإيثانول (70%).

اختبار مضاد الأكسدة يظهر أن مستخلص الإيثانول (70%) يحتوي على خاصية الإرجاع عالية. أظهرت المستخلصات الإيثانولية والمائية لهذه النبتة نشاطها المضاد للبكتيريا إيجابية الغرام وهذا يختلف تبعا للبكتيريا المختبرة و طبيعة المستخلص المستخدم.

**الكلمات المفتاحية :** *Olea europaea* L, البوليفينول, مضاد الأكسدة, مضاد البكتيريا, مستخلص.