

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Blida – Saad Dahleb -Blida**  
**Faculté des Sciences de La Nature et de La Vie**  
**Département de Biologie des Populations et Organismes**

**Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de  
Master Académique En Biologie**

**Option : Phytothérapie et Santé**

## **Thème**

**Etude phytochimique, evaluation des activités,  
antioxydante, hypoglycémiant et  
antimicrobienne des feuilles d'*Olea europea* var.  
*sylvestris* (Olivier sauvage)**

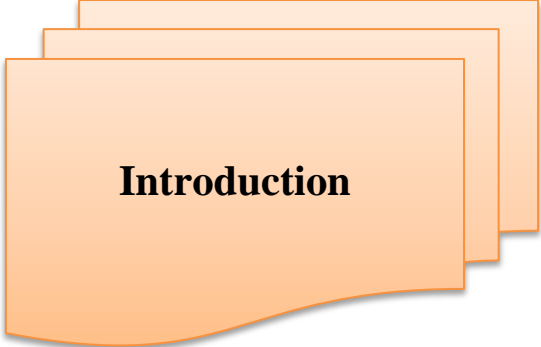
**Présenté par :**

- Baghdad Nesrine
- Bal khadidja

**Devant le jury :**

Mme Mitidji H	MCB	Présidente
Mme Amara N	MAA	Examinatrice
Mme Cherif H	MCB	Promotrice
Mlle Ben Nacer A	Ingénieure	Co-promotrice

**Année universitaire : 2015-2016**



**Introduction**



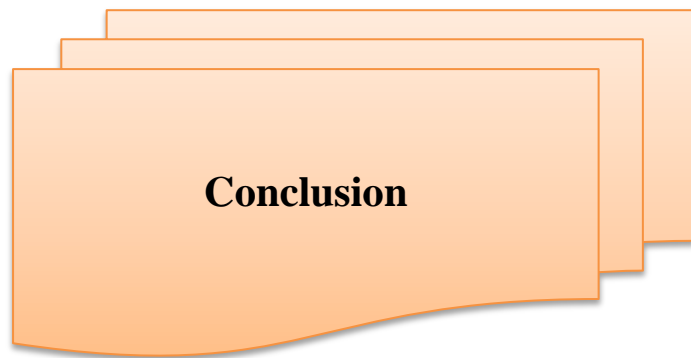
**Chapitre I : Synthèse bibliographique**



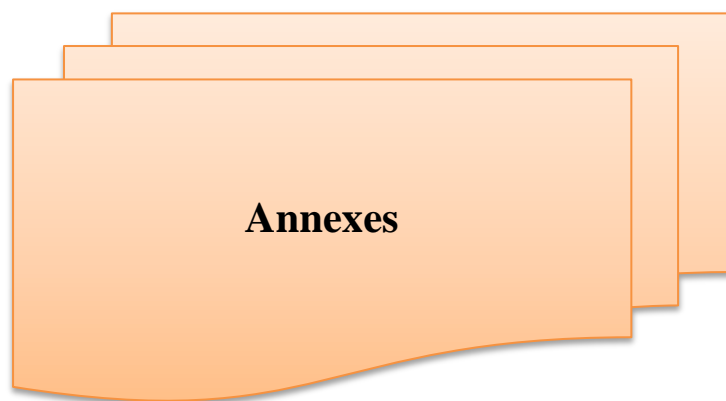
## **Chapitre II : Matériel et Méthodes**



**Chapitre III : Résultats et discussion**



**Conclusion**



**Annexes**



**Références bibliographiques**



## *DEDICACE*

*Je dédie ce travail à mes **Parents** qu'ils trouvent ici toute  
ma gratitude  
Pour leur soutien tout le long de mes études*

*A mes **Soeur** et mon **Frères**  
À mes **Amis***

*A mon cher binôme **Nesrine**  
A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour*

# *Dédicaces*

*A la mémoire de ma mère*

*A la lumière qui a toujours, éclairé mon chemin, mon très cher père Toufik*

*A mes très chères sœurs : Zoubida, Nesma, Yasmina, Maram*

*A ma très chère frère : Amour-Abd El Aziz*

*A mes neveux : Wail, Adam*

*A ma grande famille*

*A la personne qui j'ai l'honneur de partager la réalisation de ce travail, mon  
chère ami Khadija*

*A tous mes amis*

*Nesrine*

# Remerciements

*Au terme de ce modeste mémoire, nous remercions en premier lieu le dieu le tout puissant de nous avoir illuminées et ouvert les portes du savoir et nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude pour notre promotrice **Mme Cherif H.** d'avoir accepté de suivre ce travail, pour ses précieux conseils, ainsi pour son aide.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à **Mme Mitidji H.** qui nous fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à **Mme Amara N.** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Merci pour Mlle Ben Nacer A. notre Co-promotrice pour son aide*

*Merci pour Mr BouKhatem, et tous les travailleurs de SAIDAL, pour leur aide et leur générosité.*

*Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de pré ou de loin à l'élaboration de ce mémoire*

**Grand merci**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Origine et références des souches testées.....	<b>13</b>
<b>Tableau II :</b> Répartition des lots.....	<b>21</b>
<b>Tableau III :</b> Rendement d'extraction par l'éthanol.....	<b>Annexe I</b>
<b>Tableau IV :</b> Résultats du screening phytochimiques sur l'extrait aqueux des feuilles de l'olivier sauvage.....	<b>25</b>
<b>Tableaux V :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanoliques obtenu par macération.....	<b>Annexe IV</b>
<b>Tableaux VI :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanoliques obtenu par soxhlet.....	<b>Annexe IV</b>
<b>Tableaux VII :</b> Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	<b>Annexe IV</b>
<b>Tableau VIII :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> des extraits de l'olivier sauvage.....	<b>30</b>
<b>Tableau IX :</b> Résultat de l'activité hypoglycémiant de l'extrait des feuilles d' <i>Olea europea</i> spp. <i>sylvestris</i> .....	<b>Annexe III</b>
<b>Tableau X :</b> Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne des différents extraits .....	<b>34</b>

## **Liste des figures**

<b>Figure 01</b> : Aspect général de l'olivier sauvage « <i>Olea europea</i> ».....	<b>5</b>
<b>Figure 02</b> : Feuilles de l'olivier sauvage.....	<b>6</b>
<b>Figure 03</b> : Rameaux foliaire d'olivier sauvage.....	<b>6</b>
<b>Figure 04</b> : Fleurs d'olivier sauvage.....	<b>7</b>
<b>Figure 05</b> : Fruit d'olivier sauvage.....	<b>7</b>
<b>Figure 06</b> : Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivé dans le bassin méditerranéen....	<b>8</b>
<b>Figure 07</b> : Plante séché.....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 08</b> : Plante broyée.....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 09</b> : Gavage des lapins à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique.....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 10</b> : Détermination du taux de glycémie.....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 11</b> : Rendement d'extraction par éthanol.....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 12</b> : Résultats du screening phytochimique sur l'extrait aqueux (infusé) des feuilles d' <i>Olea europea</i> spp. <i>sylvestris</i> .....	<b>Annexe I</b>
<b>Figure 13</b> : Dosage des polyphénols totaux.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 14</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 15</b> : Teneurs en polyphénols totaux pour l'extrait éthanolique.....	<b>26</b>
<b>Figure 16</b> : Dosage des flavonoïdes.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 17</b> : Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 18</b> : Teneurs en flavonoïde totaux pour l'extrait éthanoliques.....	<b>27</b>
<b>Figure 19</b> : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (obtenu par soxhlet, et le macéré) et l'acide ascorbique.....	<b>29</b>

<b>Figure 20:</b> Variation de la glycémie des différents lots de lapins en fonction du temps.....	<b>32</b>
<b>Figure 21 :</b> Effet inhibiteur de l'extrait aqueux à 20% sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>37</b>
<b>Figure 22:</b> Effet inhibiteur des extraits sur des souches bactériennes.....	<b>37</b>
<b>Figure 23:</b> Effet inhibiteur des extraits sur des souches bactériennes.....	<b>38</b>
<b>Figure 24 :</b> Effet inhibiteur de deux extraits ethanologique sur deux souches fongiques.....	<b>38</b>



Figure 13 : Dosage des polyphénols totaux



Figure 16 : Dosage des flavonoïdes

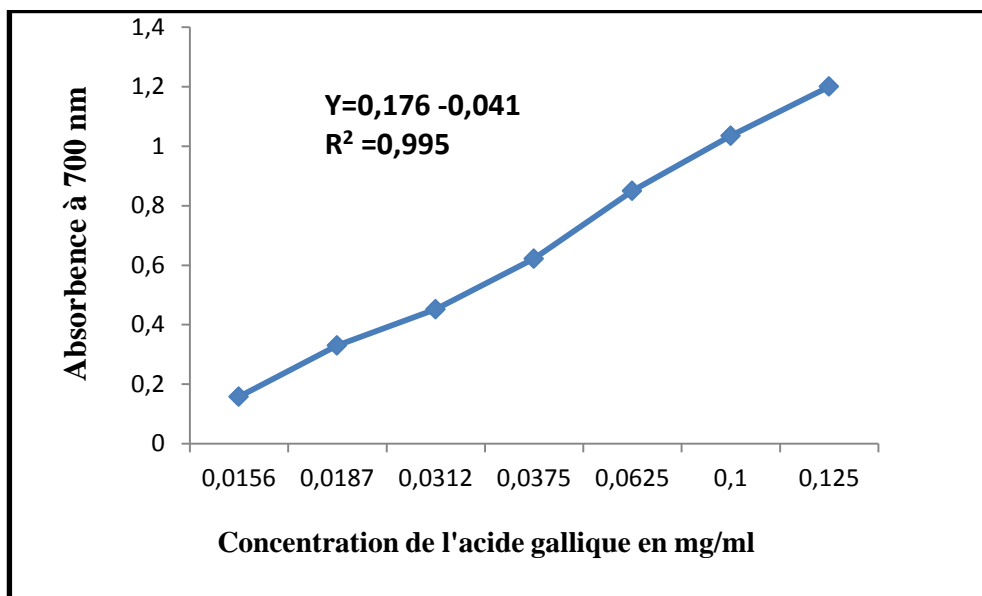
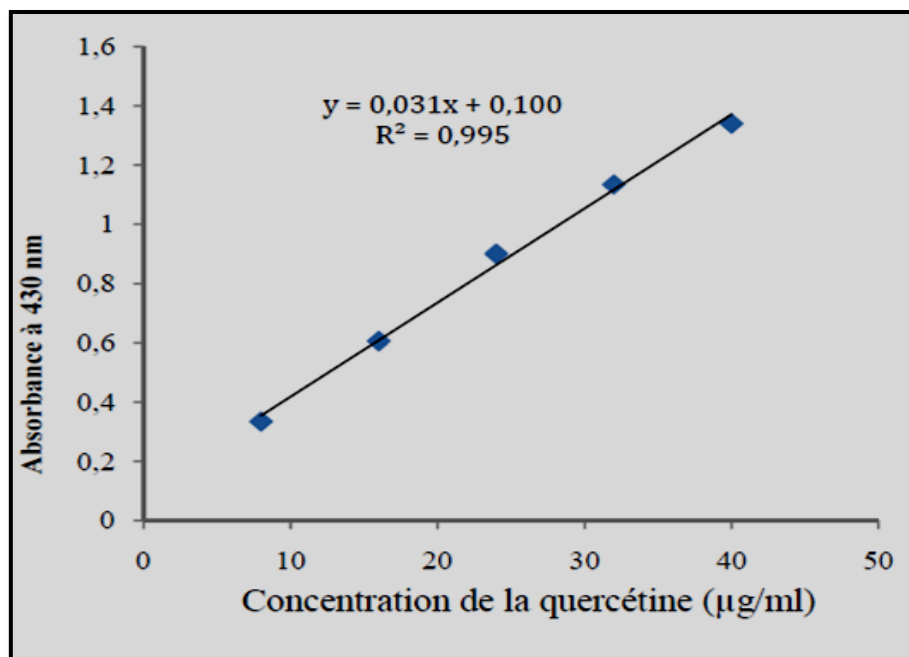


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux



**Figure 17 :** Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux



# Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

. **ATCC** : American type culture collection = Collection américaine des cultures type.

**AlCl<sub>3</sub>**: Trichlorure d'aluminium.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice 50 %.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**ENSA** : Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie

**EQ** : Equivalent en quercétine.

**FVT** : Flavonoïdes totaux.

**GAE**: Equivalent en acide gallique.

**MF** : Matière fraîche.

**MH** : Gélose Muller-Hinton.

**ONAB** : Office Nationale Alimentation du Bétail.

**PPT** : Polyphénols totaux.

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de corrélation.

**SAB** : Sabouraud.

**UV** : Ultraviolet.

**V/V** : Volume par volume.

## Glossaire

- ❖ **Anti -oxydant** : Molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques (**Wolfgang, 2008**).
- ❖ **Anti-inflammatoire** : Est une substance destinée à traité une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales, les fractures, stomatites (inflammation de la muqueuse buccale) et les lésions génitales et urinaires (**Kernbaum, 2008**).
- ❖ **Anti-microbienne** : Terme antimicrobien désigne les différents agents et substances qui tuent (microbicide), ou arrêtent (microbiostatique) la croissance des microorganismes, telles les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes ou les champignons (activité antimycosique ou antifongique), les virus (activité antivirale) et les parasites (activité antiparasitaire) (**Frobisher et Fuerst. 1976 ; Prescott et al., 2003**).
- ❖ **Astringente** : Se dit d'une substance qui diminue la sécrétion intestinale et la transpiration (**Domar, 1990**).
- ❖ **Diurétique** : Se dit d'un médicament, d'une substance qui a la propriété d'accroitre, de faciliter la sécrétion urinaire (**Domar, 1990**).
- ❖ **Hypoglycémiant** : Produit qui fait baisser le taux de glycémie dans le sang (**Chevallier, 2001**).
- ❖ **Ostéoporose** : C'est une maladie diffuse du squelette. Caractérisée par une masse osseuse faible et des altérations des tissus osseux qui entraînent une augmentation de la fragilité des os et une facilité à se faire des fractures (**Vladimir, 2008**).

## Abstract

The objective set for our work is to evaluate the antioxidant, hypoglycemic and antimicrobial aqueous ethanol and wild olive leaf extract (*Olea europea* spp *sylvestris*).

The extracts of leaves were obtained by maceration and soxhlet it using ethanol as solvent, the yield of maceration is much better than Soxhlet.

Phytochemical tests on the infused leaves of the wild olive tree, allowed to highlight the presence of flavonoids, catechin tannins, free and reducing quinones composed, terpenoids and saponins.

The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu, it is 43.67 and 16.09 mg gallic acid equivalent per g of dry matter in the ethanolic extract obtained by Soxhlet extraction, and the macerated respectively.

Flavonoids have been evaluated using the method  $AlCl_3$ , their content is 8.42 to 2.32 mg equivalent of quercetin per gram of dry matter in the ethanolic extract obtained by Soxhlet extraction, and the macerated respectively.

The antioxidant capacity was evaluated by trapping technique of free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was relatively good for both ethanolic extracted compared with that of ascorbic acid.

The results of biological activities showed the hypoglycemic effect of the aqueous extract (10% and 20%) with a percentage of 47.84% glucose reduction, 52.15% respectively, compared to the reference drug (Glibenclamide), with a percentage of 54.78% discount.

In addition, the antimicrobial activity was determined on 10 bacterial strains and 20 fungal strains by disc diffusion method, two ethanolic extracts and infused to 20%, showed an inhibitory effect on four bacterial strains: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and two fungal strains *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*. The degree of this efficiency varies from one sample to the other, the sensitivity was shown by inhibition zones of between 12-15mm for the 20% aqueous extract and 11-13mm for the extract ethanol by maceration and for the ethanol extract soxhlet an interval between 11-16mm.

Keywords: *Olea europea* spp. *sylvestris* extract ethanol, aqueous extract, antioxidant power, the hypoglycemic effect, Antimicrobial activity.

## Résumé

L'objectif assigné à notre travail consiste à évaluer les activités antioxydantes, hypoglycémiantes et antimicrobiennes d'extrait aqueux et éthanolique des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europea* spp *sylvestris*).

Les extraits des feuilles ont été obtenus par macération et par soxhlet, on utilisant l'éthanol comme solvant, dont le rendement de macération est bien meilleur que celle par soxhlet.

Les tests phytochimiques réalisés sur l'infusé du feuilles de l'olivier sauvage, ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, les quinones libres et des composée réducteurs, des terpénoïdes et des saponosides.

La teneur totale en composés phénolique a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, elle est de 43,67et 16,09 mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche dans l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet, et le macéré respectivement.

Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode  $AlCl_3$ , leur teneur est de 8,42 et 2,32 mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche dans l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet, et le macéré respectivement.

Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle), est révélée relativement bonne pour les deux extraites éthanoliques comparativement avec celle de l'acide ascorbique.

Les résultats des activités biologiques ont montré l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux (10% et 20%) avec un pourcentage de réduction de la glycémie de 47,84%, 52,15% respectivement, comparativement au médicament de référence (Glibenclamide), avec un pourcentage de réduction de 54,78%.

On outre, l'activité antimicrobienne a été déterminée sur 10 souches bactériennes et 20 souches fongiques selon la méthode de diffusion de disque, les deux extraits éthanolique et l'infusé à 20%, ont manifesté un effet inhibiteur sur quatre souches bactériennes : *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et les deux souches fongique : *Candida albicans*, *Saccharomyces cervisiae*. Le degré de cette efficacité est variable d'un extrait à l'autre, la sensibilité s'est traduite par des zones d'inhibition compris entre 12-15mm pour l'extrait aqueux à 20% et de 11-13mm pour l'extrait éthanolique par macération, ainsi pour l'extrait éthanolique par soxhlet d'un 'intervalle entre 11-16mm.

**Mots clés :** *Olea europea* spp. *sylvestris*, Extrait éthanolique, Extrait aqueux, Pouvoir antioxydant, L'effet hypoglycémiant, L'activité antimicrobienne.

الهدف المحدد لعلنا هو تقييم للأوكسدة، وسكر الدم ومضادات الميكروبات الإيثانول المائي والزيتون البري استخراج أوراق (*Olea europea spp sylvestris*).

تم الحصول على مستخلصات الأوراق عن طريق النقع و سوكلتي (soxhlet) و ذلك باستخدام الإيثانول كمذيب فكان المرودود النقع هو أفضل بكثير من سوكلتي.

سمح اختبار الكيمياء النباتي للمستخلص المائي لأوراق شجرة الزيتون البرية، بتسليط الضوء على وجود الفلافونويد 'قلويدات' دبغ كاتشين 'كينونات حرة' ومركب مخفض للتأكسد و الصابونين وتربانويد.

تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي في المستخلصات باستعمال طريقة كاشف Folin-Ciocalteu كانت النتائج كما يلي: 43,67 و 16,09mg ما يعادل حمض gallique لكل g من المادة الجافة في المستخلص الإيثانولي المتحصل عليه عن طريق سوكلتي (soxhlet) والمنقوع على التوالي .

تم تقدير الفلافونويدات باستعمال طريقة  $AlCl_3$  قد كان تركيز هذه الأخيرة كما يلي: 8,42 و 2,32mg ما يعادل quercétine لكل g من المادة الجافة في المستخلص الإيثانولي المتحصل عليه عن طريق سوكلتي (soxhlet) والمنقوع على التوالي.

تمت دراسة النشاط المضاد للأوكسدة من خلال طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH اظهرت نتائج جيدة بالنسبة للمستخلصين الإيثانوليين مقارنة بـ حمض الأسكوربيك .

أظهرت نتائج الأنشطة البيولوجية تأثير المستخلص المائي ( بتركيز 10 % و 20%) كخافض لسكر الدم بنسبة إرجاع تقدر بـ 52,15% , 47,84% على التوالي بعد 150 دقيقة من العلاج ' و قد ثبت أن للمستخلص أثر مشابه للدواء المرجعي (Glibenclamide) ( ذو نسبة الإرجاع المقدر بـ 54,78%).

بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد نشاط مضاد للميكروبات لعشرة سلالات بكتيرية (إيجابية الجرام وسالبة الجرام) واثنين من السلالات الفطرية باستخدام طريقة الانتشار في وسط صلب ، المستخلصين الإيثانوليين والمنقوع 20% ، أظهر وجود تأثير مثبت على أربع سلالات بكتيرية : *Klebsiella pneumoniae* ' *Pseudomonas aeruginosa* '

*Bacillus subtilis* ' *Staphylococcus aureus* واثنين من سلالات فطرية : *Candida albicans* ' *Saccharomyces cerevisiae*.

درجة هذه الفعالية متفاوتة من مستخلص إلى آخر ' الحساسية الناتجة ترجمت بمناطق تثبيط متراوحة بين 12-15 mm للمستخلص المائي و 11-13 mm للمستخلص الإيثانولي المتحصل عليه عن طريق النقع وبالنسبة للمستخلص الإيثانولي المتحصل عليه عن طريق سوكلتي (soxhlet) تتراوح بين 11-16 mm .

**الكلمات المفتاحية :** *Olea europea var. sylvestris* ' المستخلص الإيثانولي ' المستخلص المائي 'النشاط المضاد للأوكسدة' النشاط الخافض لسكر الدم 'النشاط المضاد للمكروبات.

## Introduction

Les plantes sont particulièrement intéressantes car elles peuvent être utilisées en phytothérapie pour prévenir les maladies métaboliques par exemple, mais aussi pour compléter un traitement en cours. Ainsi, environ 45% des médicaments en vente sur le marché sont issus de végétaux. Les plantes constituent donc une source importante pour les recherches pharmaceutique (**Newman et al., 2007**)

L'Algérie dispose d'un ensemble d'espèces naturelles et cultivées a gamme importante et variée. Cette richesse naturelle reste insuffisamment connue. Une bonne partie des ressources végétales à intérêt économique, social et sanitaire n'est pas connu du grand public, ceci concerne soit les espèces aromatiques ou médicinales.

L'olivier (*Olea europaea* L.) est l'une des espèces les plus répondu en Algérie et largement utilisé par les populations locales. Les propriétés médicinales de l'olivier sont surtout attribuées aux feuilles. Leur utilisation en phytothérapie remonte très loin dans l'histoire pour combattre la fièvre et d'autres maladies, telles que le malaria, mais cet usage fut abandonné (**PDR, 1998**). Les feuilles sont utilisées pour leur effet hypoglycémiant et hypotenseur, antiseptique et diurétique (**Bruneton et Iridoides, 1993 ; Hellemont, 1986**), également ils sont une source de plusieurs antioxydant (**Savournin et al., 2001 ; Briante et al., 2002, Ranalli et al., 2006**).

Dans le cadre d'attribuer les effets biologiques à l'olivier, la majorité des études sont faites sur les propriétés pharmacologiques de l'huile d'olive (**Owen et al., 2000 ; Covas et al., 2006**). Concernant les feuilles, elles font actuellement l'objet des recherches dans le vaste domaine de la médecine et de la pharmacologie (**Scimeca et tetau, 2005 ; Chebaibi et al., 2007**)

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'exploitation des plantes utilisées en médecine traditionnelle Algérienne et leur mise en valeur. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité hyperglycémiantes des tisanes, ainsi que le pouvoir antioxydant et antimicrobien des polyphénols totaux extraits des feuilles de l'olivier sauvage *Olea europae* spp. *sylvestris*.

Les objectifs de ce présent travail sont fixés dans les deux volets suivant :

- ❖ Etude phytochimique de la plante par :
  - Un screening phytochimique de l'extrait aqueux.
  - Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits bruts
  
- ❖ Etude de quelques effets thérapeutiques à savoir :
  - L'estimation, *in vitro*, de pouvoir antioxydant.
  - L'évaluation, *in vivo*, de l'activité hypoglycémiant de l'extrait aqueux de l'olivier sauvage sur un modèle animal.
  - L'estimation, *in vitro*, de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique et aqueux par la méthode de diffusion sur gélose.

### I. Les plantes médicinales

#### I.1 Définition des plantes médicinales

Les plantes sont dites médicinales, lorsqu'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, de soulager ou de guérir des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation (**Schauenburg, 1977**).

#### I.2 La phytothérapie

En étymologie, la **phytothérapie** provient du grec dont « **phyton** » signifie *plantes* et « **thérapie** » qui veut dire *soin* et *cure*.

##### Définition de la phytothérapie

La phytothérapie : c'est le traitement des maladies par les plantes, qui est transformée depuis le XIX<sup>ème</sup> siècle par l'emploi des extraits de plantes, puis par celui des substances actives isolées de celles-ci (**Domar et Bourneuf, 1990**).

Selon **Lamnaouar (2000)**, on envisage deux pratiques thérapeutiques en phytothérapie :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes réputées médicinales, encore massivement utilisées.
- Une pratique basée sur les avancées scientifiques et la recherche des principes actifs des plantes. Cette pratique est assimilée aux médicaments. C'est la pharmacognosie.

#### I.3 Place de la phytothérapie en Algérie

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif (**Belouad, 1998**).

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été le principal, voire l'unique recours de la médecine. En Algérie, les plantes médicinales et les remèdes n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (**Hamza, 2011**).

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète, mais ce traitement traditionnel n'est pas mis en place au niveau des hôpitaux et reste limité aux patients, tradi-thérapeutes et herboristes.

Dans le Hoggar et en l'absence de médecine, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils.

De même, en Kabylie, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner.

De nos jours, la phytothérapie est officiellement considérée comme une médecine douce et traitée comme telle par l'assurance-maladie et la plupart des mutuelles, elle trouve un accueil favorable auprès des populations qui sont hélas parfois à un charlatanisme ignorant et dangereux pour les maladies (**Ali-Delille, 2010**).

### **I.4 Avantages de la phytothérapie**

Ces dix dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité. Non seulement les populations des pays en développement y ont accès mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans les systèmes de santé (**OMS, 2003**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Face à l'insatisfaction constatée des remèdes modernes, les pistes phytothérapeutiques traditionnelles semblent renforcer un potentiel intéressant, dont le processus de mise en valeur, de la plante au phytomédicament, à travers des procédés scientifiques adéquats, pourrait offrir une alternative crédible, en faveur des communautés (**Koane et al., 2012**).

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin et al., 2001**).



### I.5 Généralité sur l'espèce *Olea europea L*

L'olivier appartient à la famille des oléacées ; son genre *Olea* comprend lui-même une 30<sup>ème</sup> d'espèce répandue dans le monde entier, l'espèce cultivée en méditerranée est "*Olea europaea*", dans laquelle on trouve l'oléastre ou l'olivier sauvage, et l'olivier cultivé.

L'espèce *Olea europea L*, comporte deux variétés : *Olea europea L.spp. sylvestris* c'est la variété spontanée (l'olivier sauvage ou oléastre), qui pousse naturellement sur le pourtour de la méditerranée et participe à la constitution de la forêt littorale et *Olea europea L. spp. sativa*, c'est la variété cultivée (greffée) (**Aït Youssef, 2006**).

L'olivier cultivé (*O. europaea L. spp. Sativa*) dérive de la domestication de l'olivier sauvage ou l'oléastre (*O. europaea L. subsp. sylvestris*), car ils sont semblables à la forme sauvage (**Zohary, 1973**), ainsi l'olivier peut s'échapper des cultures et revenir à un état apparemment sauvage (**Breton et al., 2008**).

L'oléastre diffère de l'olivier cultivé par la présence des pousses courtes et épineuses, des fruits de petite taille avec moins de mésocarpe, une faible teneur en huile et plus amer (**Terral et Arnold-Simard, 1996**). Avec son feuillage argenté et sa silhouette noueuse, cet arbre souvent âgé de plusieurs centaines d'année, fait partie des arbres caractéristique de la méditerranée. Son habitat géographique coïncide avec les limites de méditerranée (**Bartels, 1998**).

### I.6 Nomenclatures

#### I.6.1 Etymologie

*Olea europea spp. sylvestris* ou l'oléastre c'est le nom de l'olivier sauvage qui provient

Du latin **Oleum** : huile et **europaeus** : d'Europe et **sylvestris** : forestier ou sauvage (**Rameau et al., 2008**).

✚ **Noms vernaculaires** : selon **AIT YOUSSEF (2006)** ; **BABA AISSA (2011)**, l'oléastre est connue sous différentes appellations :

- Nom arabe populaire : Zebbouj.
- Nom berbère : Azemmur, ahachad.
- Nom français : Olivier sauvage, Oléastre.
- Nom scientifique : *Olea europea L spp. oléaster* (= *Olea europea spp sylvestris Mill*).

**I.6.2 Systématique : APG III**, en 2009 proposait une nouvelle classification.

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Super-ordre</b>	Asteranae
<b>Ordre</b>	Scrophulariales
<b>Famille</b>	Oleaceae
<b>Genre</b>	<i>Olea</i>
<b>Espèces</b>	<i>Olea europaea</i>
<b>Variété</b>	<i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i> var. <i>silvestris</i>

**I.7 Description botanique de la plante**

Il s'agit d'un arbrisseau ou d'un arbuste buissonnant épineux, toujours vert, et vivace (Paris et Moyse, 1971).

L'olivier est sempervirent, c'est-à-dire qu'il est toujours vert, ses feuilles sont lancéolées, vert grisâtres. Hermaphrodite, la floraison a lieu entre avril et juin, ses fleurs s'épanouissent en petites grappes blanches, chaque grappe donnera plusieurs fruits (fructification de septembre à novembre). Son fruit ovoïde (drupe), a un noyau fusiforme. Son bois très dur est imputrescible et est utilisé en ébénisterie (Artaud, 2008 ; Rameau et al., 2008) (Figure 01).



**Figure 01** : Aspect général de l'olivier sauvage « *Olea europaea* » (Originale, 2016)

➤ **Les feuilles**

Les feuilles sont opposées, persistantes, coriaces, simples, entières, de forme ovale ou ovale lancéolée, un peu étroites (mesurent de 3 à 4 cm de long sur 1,5 à 2 cm de large), porté par un court pétiole, elles sont lisses et de couleur verte à la facesupérieur, de couleur vert-gris clair et argenté à la face inférieur, couverte de poils. Elle sont persistantes et se renouvellent tous les trois ans, leur saveur est amère (**Paris et Moyse, 1971 ; Amouritti et Comet, 1985 ; Argenson et al., 1999** ).

Les rameaux, sont plus au moins épineux, les jeunes pousses ont une écorce claire avec une section quadrangulaire, mais elles s'arrondissent en vieillissant et leur couleur passe au vert gris puis au gris brun. Elles donnent ensuite un bois très dur, compact, de couleur jaune fauve marbrée de brun (**Maillard, 1975 ; Rameau et al., 2008**) (**Figure 02**).



**Figure 02 : Feuilles de l'olivier sauvage (Originale 2016)**

➤ **L'inflorescence**

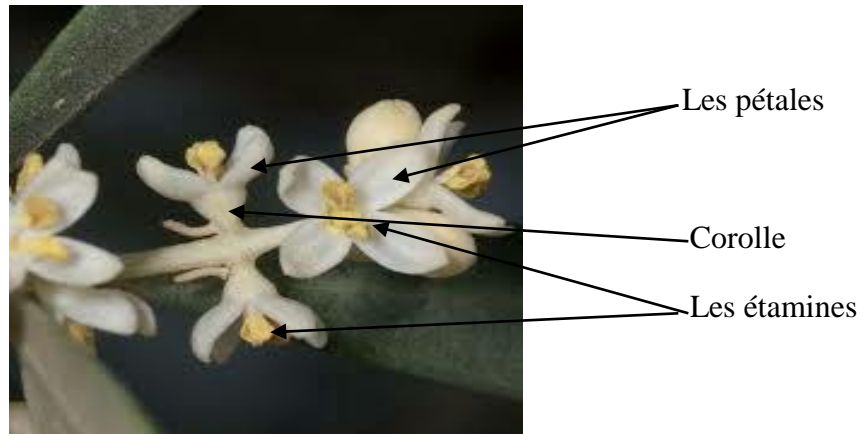
L'inflorescence est en petites grappes denses axillaires au sommet des rameaux, ces grappes sont formées de fleurs subsessiles (à pédoncule très court). La floraison a lieu au printemps à partir du mois de Avril, en même temps que les feuilles et se prolonge jusqu'au mois de Juin (**Maillard, 1975**) (**Figure 03**).



**Figure 03 : Rameaux foliaire d'olivier sauvage (Originale 2016)**

➤ **Les fleurs**

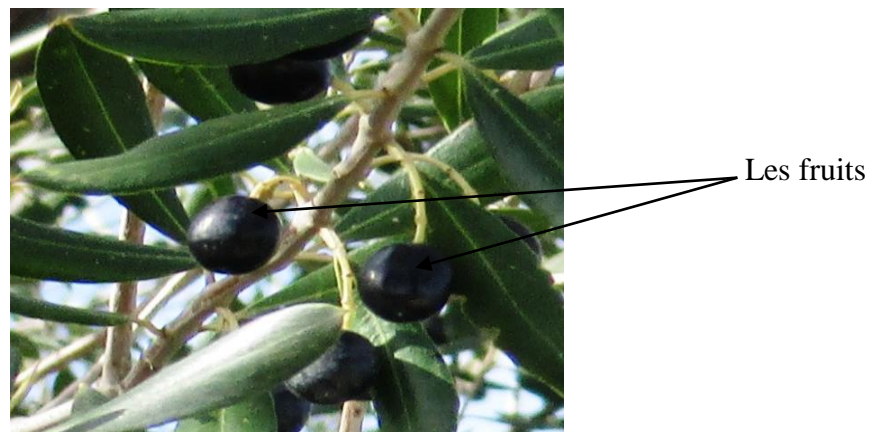
Les fleurs sont petites, de couleur jaune verdâtre, un calice à quatre lobes, une corolle à quatre pétales et deux étamines et deux carpelles, le pistil donne un fruit peu huileux. La pollinisation est assurée par les insectes (Argenson *et al.*, 1999 ; Harzig et Elias, 1999) (Figure 04).



**Figure 04 : Fleur d'olivier sauvage (Originale 2016)**

➤ **Les fruits**

Les fruits ou les olives c'est une drupe charnue, ellipsoïde, à noyaux de forme très variable suivant la variété (Argenson *et al.*, 1999). Dans la variété spontanée (oléastre), il est petit drupiforme (fait seulement 5 à 10 mm de long) et il est très amer (Moysse et Paris, 1971) (Figure 05).



**Figure 05 : le fruit d'olivier sauvage (Original 2016)**



## I.8 Distribution géographique

L'oléastre est considéré comme l'ancêtre de l'Olivier cultivé. L'oléastre est surtout rencontré dans les régions méditerranéennes. En Europe : l'Espagne, le Portugal, l'Italie, la Grèce et la France, au proche orient (Syrie, Liban, Palestine, Jordanie), de même que l'Afrique du nord : Algérie, Maroc, et la Tunisie (**Ait Hatrit, 2002**).

Cette répartition géographique est influencée par des facteurs climatiques et pédologiques. (**Carrion et al., 2010**) (**Figure 06**).



**Figure 06:** Aire de répartition de l'olivier sauvage et l'olivier cultivé dans le bassin méditerranéen (**Carrion et al., 2010**).

## I.9 Composition chimiques des feuilles

Les feuilles de l'arbre d'olivier sauvage contiennent des quantités variables d'oligo-éléments en fonction de plusieurs facteurs: de la variété d'olivier, les conditions environnementales (principalement, les éléments disponibles dans le sol) et l'âge de la feuille (**Lee et al., 2007 ; Perrinjaquet-Moccetti et al., 2008**).

Les feuilles séchées renferment 8 à 10 % d'eau, 4 à 5% de matière minérale, une cire, du mannitol jusqu'à 3%. Elle est caractérisée par la présence de plusieurs secoiridoïdes tel que :

- Oleuropeoside qui est majoritaire 60-90 mg/g.
- 11-déméthyloléuropeoside.
- Diester méthylique (7,11) de l'oléoside.
- Ligustroside.
- Oléoside et d'autres aldéhydes secoiridoïdiques non hétérosidiques. On note également la présence de drogues (principe actif): des triterpènes et flavonoïdes, rutoside et glucoside de l'apigénol et du lutéolol (**Paris et Moïse, 1971 ; Bruneton, 1999**).

Elles produisent entre autre des saponosides triterpéniques comme l'acide oléonique de l'oléine, les tanins, de la choline et de l'œstrone (**Lois, 1980**).

### I.10 Propriétés thérapeutiques

L'olivier possède des facultés thérapeutiques exceptionnelles. Depuis les siècles, elle fait partie des matières premières médicinales utilisées par les égyptiens depuis 1500 ans avant J-C. Dans l'antiquité grecque les feuilles d'oliviers étaient déjà utilisées comme des remèdes pour combattre les fièvres et l'utilisation de la tisane de feuilles devinrent un habituel anti-fièvres (**Bardoulat, 2005**).

Les feuilles ont été largement utilisées dans les remèdes traditionnels dans les pays européens et méditerranéens comme des extraits, des tisanes, et des poudres. Les feuilles contiennent plusieurs composés potentiellement bioactifs (**Karakaya, 2009 ; Wainstein et al., 2013**), elle exercent des activités antioxydantes, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, anti inflammatoires, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elles sont utilisées sous forme de spécialité phytothérapeutiques (**Ghedira, 2008**).

Des études cliniques ont par ailleurs montré que les feuilles, étaient capables de diminuer la fonction plaquettaire chez des diabétiques et d'accroître le cholestérol-HDL plasmatique chez des sujets sains, ce qui est clairement en faveur d'une diminution du risque athéro-thrombotique. Des modèles cellulaires ont permis de mettre en évidence des propriétés anti-prolifératives et pro-apoptotiques, ce qui pourrait suggérer un rôle préventif dans certains cancers comme le colorectal et le cancer du sein (**Fki et al., 2005**).

Les feuilles possèdent également des propriétés antimicrobiennes contre certains micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et mycoplasmes (**Ghanbari et al., 2012**). En outre, de nombreuses activités ont été attribuées à la plus part des composants phénoliques de l'olivier ; ils agissent comme des agents antioxydants, anti-inflammatoires, anti-viraux et anti-cancérogènes (**Visioli et al., 2002**). Cependant, seule les extraits de feuilles d'olivier et l'huile d'olive extra vierge (acidité <1%) sont considérés comme une source importante de ces composants (**Visioli et Galli., 2002**).

Les polyphénols de l'olivier ont une énorme capacité à piéger les radicaux libres et montrent un comportement synergique lorsqu'ils sont combinés, ce qui se déroule naturellement dans les feuilles d'olivier et donc dans leurs extraits (**Polzonetti et al., 2004**). Parmi ces polyphénols, l'hydroxytyrosol et tyrosol qui contribuent au goût amer, astringence, et à la résistance à l'oxydation (**Visioli et Galli., 2002**). Les feuilles d'olivier possèdent la plus forte capacité à piéger les radicaux libres par rapport aux différentes parties de l'olivier, elles présentent aussi une concentration importante en composants à haute valeur (**Savournin et al., 2001**).

Il est mentionné par certains auteurs que l'extrait de feuille d'olivier réduit la pression artérielle et le cholestérol du plasma chez les rats (**Perrinjaquet-Moccetti et al., 2008**). De plus, les acides gras mono-insaturés disponibles dans les feuilles d'olivier tels que l'acide oléique, diminuent les lipides du plasma dont les LDL et VLDL et préviennent des maladies cardio-vasculaires (**Huang et al., 2010**).

L'extrait de feuilles d'olivier peut contenir des traces d'éléments vitaux tels que le sélénium, le fer, le zinc, la vitamine C, la  $\beta$ -carotène et une grande partie d'acides aminées (**Polzonetti et al., 2004**).

Les feuilles, l'écorce et les fruits contiennent l'oleuropéine qui possède des activités antioxydantes, hypotensives, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques (**Ghedira, 2008**).

Les chercheurs s'intéressent aussi aux propriétés hypoglycémiantes et antioxydantes de l'extrait de feuille d'olivier et de l'oleuropéine (**Stevenson et al., 2007 ; Busjahn et al., 2008**), mais on ne dispose pour le moment que d'essais *in vitro* ou sur des animaux.

En plus, les chercheurs ont également démontré chez l'animal des propriétés ostéoprotectrices de l'oleuropéine, polyphénol majeur des produits de l'olivier, en condition d'ostéoporose sénile, via ses propriétés anti-inflammatoires. En effet, la consommation d'oleuropéine à la dose de 0,015% dans le régime permet de protéger le squelette humain du processus de vieillissement provoqué par une émasculatation couplée à un processus inflammatoire. Ces polyphénols aux propriétés spécifiques ouvrent des perspectives très intéressantes pour la prévention de l'ostéoporose, tant post ménopausique (**Salehe, 2011**).

Une autre recherche a été menée pour connaître l'effet de l'acide oléanolique isolé des feuilles d'olivier sur le VIH. L'acide oléanolique a été testé *in vitro* sur des cellules provenant de patients infectés. Le mécanisme utilisé est le même qu'une classe médicamenteuse déjà très connue dans le combat du SIDA : les inhibiteurs de la protéase. Cette enzyme virale permet le clivage et l'assemblage des protéines virales. Processus indispensable à l'obtention d'un virus infectieux. (**Mengoni et al., 2002**)

### **I.11 Les voies de valorisation des feuilles d'olivier**

Les feuilles d'olivier, biomasse produite en grande quantité dans les pays méditerranéens et en particulier en Algérie, ne doivent pas être considérées comme un déchet encombrant, mais comme une richesse qu'on doit utiliser.

De nombreux travaux ont été réalisés pour essayer d'utiliser ce sous-produit et ainsi améliorer la rentabilité du secteur oléicole. Historiquement, les feuilles d'olivier étaient totalement orientées vers l'alimentation animale (**Fegeros et al., 1995**).

Toutefois, ils sont aussi utilisés en phytothérapie traditionnelle pour le traitement de certaines maladies tel que la malaria et l'hypertension. Dans cette application, les feuilles d'olivier sont consommées sous forme de tisane (**Giao et al., 2007**).

Dans le cadre de la phytothérapie moderne, des compléments alimentaires à base de feuilles d'olivier sont apparus sur le marché. Ces produits sont disponibles en forme de feuilles séchées complètes ou en poudres, d'extrait, de gélules ou d'ampoules buvables (**Bardoulat, 2005**).

Actuellement, et avec l'évolution de la technologie et l'amélioration des connaissances, les domaines d'utilisation des feuilles d'olivier ont été élargis et diversifiés. Les feuilles

d'olivier sont utilisées pour l'extraction des composés d'intérêt tel que le mannitol, les stérols, les alcools gras, les composés phénoliques, principalement l'oleuropéine, les flavonoïdes et les composés triterpéniques (**Japan-Lujian et al., 2006 ; Lee et al., 2009 ; Altiok et al., 2008; Mylonaki et al., 2008; Haoyuan, 2006**).

Outre, les propriétés radio-protectrice et antiviellissement, qui caractérisent les feuilles d'olivier, les ont prédestinées à des utilisations dans l'industrie cosmétique. Dans ce domaine, les feuilles d'olivier sont utilisées comme ingrédient dans la formulation d'énormément de produits cosmétiques et diététiques, tel que les savons, les crèmes (**Coll et al., 2000 ; Akemi et al., 2001 ; Tadashi, 2006 ; Thomas et al., 2006** ).

Les feuilles d'olivier ont aussi trouvées des applications dans l'industrie alimentaire. Elles sont principalement utilisées pour l'amélioration de la qualité et la conservation des aliments tels que les viandes, l'olive de table, les huiles (**Farag et al., 2007 ; Hayes et al., 2009 ; Lalas et al., 2011 ; Jimenez et al., 2010** ).

D'autres voies de valorisation des feuilles d'olivier, récemment démontrées, concernent le domaine de la dépollution, de la sidérurgie et de la synthèse biochimique (**Ben Akacha et Gargouri, 2009 ; Hamdaoui, 2009 ; Khalil et al., 2010**).



L'objectif de la présente étude est l'évaluation des effets hypoglycémiant, antimicrobien et antioxydant de deux extraits (éthanoliques, aqueux) des feuilles de l'olivier sauvage, ou l'oléastre.

Dans ce contexte, notre étude s'est étalée sur une période de 4 mois allant du mois de février jusqu'au mois de Mai, l'étude expérimentale a été réalisée au niveau des structures suivantes :

- ✚ Laboratoire PFE du département de chimie industrielle (Université de Blida - Saâd Dahlab) pour la préparation des extraits.
- ✚ Complexe Antibiotical SAIDL de Médéa :
  - ❖ Laboratoire physico-chimique pour la détermination des paramètres physico-chimiques de deux extraits.
  - ❖ Laboratoire de microbiologie de l'unité Antibiotical pour l'étude de l'activité antimicrobienne de deux extraits *in vitro*.
  - ❖ Laboratoire de pharmacotoxicologie de la même unité pour l'évaluation de l'activité hypoglycémiante de l'extrait aqueux *in vivo*.
- ✚ Laboratoire d'hygiène de Blida pour l'étude de la sensibilité des souches bactérienne et fongique, isolées cliniquement, vis-à-vis de nos extraits.

## II.1 Matériel

### II.1.1 Matériel biologique

#### II.1.1.1 Matériel végétal

##### ✚ Récolte

Pour cette étude nous avons utilisé les feuilles de l'olivier sauvage «*Olea europea* spp. *sylvestris*» récoltées au niveau de sidi zeghmie (El Affroun wilaya de Blida), au mois de Décembre 2015. La quantité de la matière récoltée est environ de 4Kg.

##### ✚ Identification

L'identification de la plante a été faite au niveau :

- de l'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques (ENSA) d'El Harrach, Département de Botanique.
- du département de Biologie des Population et Organismes, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saâd Dahlab (Blida).

##### ✚ Conservation

La plante, fraîchement récoltée a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Puis conservée dans des sacs en papier propres. (**Figure 07, Annexe I**).

Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur mécanique, une poudre fine a été obtenus, et cette dernière a été conservées dans une boîte en verre hermétiquement fermée. (**Figure 08, Annexe I**).

### II.1.1.2 Matériel Animal

Les animaux utilisés pour les besoins de l'expérimentation sont des lapins (16 lapins) de race Néozélandaise, des deux sexes (mâles et femelles) de poids moyen d'environ  $3,420 \pm 0,11$ kg, provenant de l'animalerie du complexe Antibiotical SAIDL de Médéa.

L'élevage des animaux est fait au niveau de cette animalerie où ils sont acclimatés aux conditions suivantes :

- Une température moyenne variante entre 20-25°C.
  - Un cycle photopériodique de 10 heures de lumière/obscurité
  - Une humidité relative de 50%.
- \* Les lapins sont hébergés dans des cages solides en aluminium. Ils disposent d'eau du robinet ad libitum et d'une alimentation granulée « O.N.A.B » (49.80% de glucides, 23.5% de protéines, 5% de lipides et 5.7 % de complexe minéral vitaminé).

### II.1.1.3 Matériel microbiologique

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de nos extraits, nous avons utilisé 10 souches bactériennes et 2 souches fongiques (**Tableau I**). Certaines souches sont de référence (ATCC) et d'autres ont été isolées cliniquement.

**Tableau I:** Origine et références des souches testées.

	Les souches microbiennes	Origine	Gram	Provenance
<b>Souches Bactériennes</b>	<i>Proteus vulgaris</i>	ECBU	-	ECBU et les germes hospitalier
	<i>Citrobacter freundii</i>	ECBU	-	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ECBU	-	
	<i>Serratia spp.</i>	Eau	-	
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+	laboratoire d'hygiène (Blida).
	<i>Sarcina lutea</i>	ATCC	+	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	+	laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire (Frantz Fanon)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-	
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 51299	+	
<b>Souches Fongiques</b>	<i>Candida albicans</i>	ATCC2091		laboratoire d'hygiène (Blida).
	<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	-		

ATCC : American Type Culture Collection ; ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

### II.1.2 matériel non biologiques

Le matériel utilisé au laboratoire « appareillage, verrerie, et Réactifs » est énuméré en **Annexe I**.

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Préparation des extraits végétaux

#### \* Préparation de l'extrait aqueux (Infusé)

Elle consiste à mettre 10 g de poudre végétale dans une fiole contenant 100 ml d'eau distillée bouillante, filtrer après 10 minutes (**Majhenic et al., 2007**).

#### \* Extraction par solvant (extraction éthanoliques)

Les extractions sont réalisées par épuisement de la poudre végétale à l'aide d'un solvant, à froid ou à chaud. Le solvant utilisé étant l'éthanol, nous optons pour deux méthodes d'extraction différentes :

- à froid par macération
- à chaud par soxhlet

#### ❖ Extraction à chaud par soxhlet à l'éthanol

L'extracteur de soxhlet est un appareil spécifique conçu pour l'extraction continue solide-liquide. Le solvant (à raison de 500 ml pour 50 g d'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition. Ensuite, les vapeurs sont condensées à l'intérieur de l'extracteur contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais (**William, 2007**).

#### \* Mode opératoire

Le montage comporte un bain marie, un ballon de 500 ml à col rodé et à fond plat, dans lequel le solvant est chauffé jusqu'à environ 78°C (température d'ébullition d'éthanol), un réfrigérant qui condense les vapeurs et un extracteur de 250 ml à l'intérieur duquel on introduit, dans une cartouche poreuse, la poudre végétale à extraire et où retombe le solvant condensé par le réfrigérant. Un siphon permet de vider périodiquement l'extracteur de la solution obtenue (Nous avons besoins de 6 siphonages). La solution retombe alors dans le ballon où se concentrent les extraits. Par ce procédé, la poudre végétale est successivement épuisée à l'aide de l'éthanol.

L'extrait brut issu de l'extraction précédente est soumis à une double filtration, puis concentré à l'évaporateur rotatif et enfin séché à température ambiante.

Le résidu sec obtenu est pesé pour déterminer son rendement et conservé au frais, dans un flacon sombre bien fermé, pour effectuer ultérieurement les tests phytochimiques.

### ❖ Extraction à froid par macération dans l'éthanol

Elle consiste à mettre en contact direct le solvant avec la poudre végétale, durant un temps déterminé à température ambiante, sous agitation continue (**Durling et al., 2007**)

#### \* Mode opératoire

- ✓ Nous avons macéré 10g de poudre végétale dans 100 ml d'éthanol à 80% pendant 72h.
- ✓ Après filtration, le filtrat est évaporé à sec à 50 °C avec un évaporateur rotatif pour obtenir une concrète (extrait sec).
- ✓ Le résidu sec obtenu est pesé pour déterminer son rendement et conservé au frais, dans un flacon sombre bien fermé, pour effectuer ultérieurement les tests phytochimiques.

### ❖ Calcule du rendement

La formule utilisée pour calculer le rendement :

$$R = (P_c - P_v) * 100 / Q$$

Avec R : rendement (en%).

P<sub>c</sub> : poids du ballon avec le contenu (en g).

P<sub>v</sub> : poids du ballon vide (en g).

Q : poids de matériel végétales de départ (en g).

## II.2.2 Etude phytochimique de la plante

### II.2.2.1 Screening phytochimique

L'étude phytochimique qualitative permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans les feuilles de l'olivier sauvage par des réactions de coloration et de précipitation et des observations sous lumière ultra- violette.

#### ✓ Les flavonoïdes

Nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé, auquel nous ajoutons 5 ml de Hcl, 1ml d'alcool iso-amylque puis quelques copeaux de magnésium. Il se produit une réaction de crépitation durant quelques minutes (**Diallo, 2005**).

L'apparition d'une coloration rose orangée indique la présence de flavones, une couleur rose violacée indique la présence des flavonones, alors que le rouge indique la présence de flavanols. Pour rechercher les flavanes, nous ajoutons quelques gouttes d'une solution de vanilline 2% à 2ml d'infusé. L'apparition d'une couleur rouge indique leur présence (**Sanhaji, 2005**).

✓ **Anthocyanines (Leucoanthocyanes)**

A 1 ml de l'extrait est ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1 ml d'alcool iso-amylque. Le mélange est chauffé pendant 15 min. L'apparition d'une coloration rouge- cerise violacée indique la présence de leucoanthocyanes, une couleur brun- rouge indique la présence de catéchols.

✓ **Tanins**

Nous avons introduit 5ml d'infusé dans un tube à essai, puis on lui ajoute 1ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl<sub>3</sub> à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre (**Dahou et al., 2003**).

La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques, et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Ciulei, 1982; Dohou et al.,2003**).

✓ **Les Alcaloïdes**

Par le réactif de « Dragendorff ou de Mayer », au extrait précédent préparés dans l'eau distillée, on ajoute quelques gouttes du réactif de Dragendorff, en présence d'alcaloïdes, on remarque un précipité orange. En remplaçant le réactif de Dragendorff par celui de Mayer, on constate la formation d'un précipité blanc-jaunâtre témoin de la présence d'alcaloïdes (**Dohou et al., 2003**).

✓ **Les glucosides**

Quelques gouttes d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrées sont ajoutées à l'extrait précédent, préparé dans l'eau distillée, le mélange prend une couleur rouge brique-bleue. (**Gherib, 1988**).

✓ **Quinones libres**

Sur un volume de l'extrait aqueux (infusé), nous ajoutons quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune-rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyde, 2005**).

✓ **Saponosides**

A 2 ml d'infusé nous ajoutons quelques gouttes d'une solution saturée d'acétate de plomb, la formation d'une précipité blanc indique la présence de saponosides (**Pharmacopée URSS, 1991**)

✓ **Composés réducteurs**

Nous ajoutons 1 ml de l'extrait à 1 ml de solution Fehling et l'ensemble est porté à 70°C pendant 5 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

### ✓ **Terpénoïdes : Test de Slakowski**

5 ml de l'extrait est ajouté à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron - rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (Khan *et al.*, 2011).

### II.2.2.2 Dosages quantitatives

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les deux extraits éthanoliques (à une concentration de 80mg/ml pour chaque extrait).

### ✓ **Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols de deux extraits éthanoliques est réalisé selon la méthode décrite par Vermerius et Nicholson (2006).

### ✚ **Principe**

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu. Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite dont l'absorption maximum est comprise entre 700 et 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et charpentier, 2006).

### ➤ **Mode opératoire**

- 0.1ml de chaque extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée.
- Le tout est agité par un vortex.
- Après 5 min, 100  $\mu$ l du réactif de Folin-Ciocalteu 1 N sont ajoutés au mélange.
- Le tout est laissé pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g).

### ✓ **Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes des extraits est réalisé par la méthode du trichlorure d'Aluminium  $AlCl_3$  (Kosalec *et al.*, 2004 ; Djeridane *et al.*, 2006 ).

### ✚ **Principe**

Le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 415 nm. Les phénols sont estimés grâce à un spectrophotomètre UV, dont la

quercétine est utilisée comme un standard à une longueur d'onde  $\lambda = 415$  nm (**Chia-chi, 2002**).

➤ **Mode opératoire**

- 1 ml de la solution d'extraits (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 ml d'une solution d' $AlCl_3$  à 2% (dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble est incubé à l'ombre à température ambiante pendant 30 minutes (apparition d'une couleur jaune), l'absorbance est lue à 430 nm.
- La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, la quercétine.
- La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de la plante (mg EQ/g Ps).

### II.2.3 Evaluation du pouvoir antioxydant *in vitro*

▪ **Piégeage du radical libre DPPH**

❖ **Principe**

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH, est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (**Parejo et al., 2003**).

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Benhamou et al.(1999) et Kim et al.(2003)**.

❖ **Mode opératoire**

- Pour ce test, nous préparons une solution de DPPH (solution éthanolique) à une concentration de 0.04mg/ml. En parallèle, deux autres solutions chacune à base d'un des deux extraits (macération à froid et extrait à chaud par soxhlet), sont préparées à différentes concentrations.
- A 100 $\mu$ l de chaque concentration est ajoutée 2ml de la solution de DPPH. Nous avons préparé aussi un tube témoin comportant 100 $\mu$ l d'éthanol et 2ml de DPPH.
- Les tubes sont ensuite incubés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 mn. Enfin, un tube standard est préparé avec la vitamine C (0,14 mg/ml).
- L'absorbance est lue à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 100 $\mu$ l de chaque concentration et 2ml d'éthanol.

**❖ Expression des résultats****✓ Calcul des pourcentages d'inhibitions**

Le pourcentage d'inhibition PI est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI \%} = [(A C - A E) / A C] \times 100$$

- Avec : A C : absorbance du contrôle  
A E : absorbance de l'extrait.

**✓ Calcul des concentrations 50 " IC<sub>50</sub>"**

IC<sub>50</sub> permet de calculer la concentration de l'échantillon testé, nécessaire pour réduire 50% des radicaux DPPH.



## II.2.4 Evaluation des activités biologiques

### II.2.4.1 Activité hypoglycémiant

L'étude de l'activité hypoglycémiant d'extrait aqueux (infusé à 10% et 20%) de la poudre des feuilles d'*Olea europea* spp. *sylvestris* a été réalisée sur 16 lapins.

Le protocole expérimental est inspiré à partir des travaux de **Keita et al.(1998)**, qui ont été fait sur des lapins.

#### ✚ Préparation des extraits de la plante

Nous avons testé l'infusé de poudre des feuilles de *Olea europea* de deux concentrations différentes, à savoir l'infusé à 10 % (100 g de poudre végétale/l) et l'infusé à 20% (200g de poudre végétale /1 l) à raison de 2ml /kg.

#### ✚ Préparation de la surcharge de glucose

L'épreuve de l'hyperglycémie est réalisée par l'administration (voie orale) de solution aqueuse de D<sup>+</sup> glucose monohydrate pure (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>H<sub>2</sub>O) à 50% (50 g /100ml), à raison de 2 g de glucose/kg de poids de l'animal (**Keita et al., 1998**).

#### ✚ Préparation des lots de lapins

Les lapins sont répartis de manière aléatoire en quatre lots à raison de quatre lapins/lot. Tous les lapins ont été soumis à un jeun non hydrique, 18h avant l'expérimentation.

#### ❖ Lots témoins

- **Lot 1** : lapins en état d'hyperglycémie et non traités (témoin négatif).
- **Lot 2** : lapins en état d'hyperglycémie traités par un médicament hypoglycémiant Glibenclamide (Diabenil<sup>®</sup>) à raison de 10mg /kg (témoin positif).

#### ❖ Lots traités par les extraits d'*Olea europea* spp. *sylvestris*

- **Lot 3** : lapins en état d'hyperglycémie traités par l'infusé de la poudre des feuilles de *Olea europea* à 10 % à raison de 2ml/kg.
- **Lot 4** : lapins en état d'hyperglycémie traités par l'infusé de la poudre des feuilles de *Olea europea* à 20% à raison de 2ml/kg.

#### ✚ Administration des traitements

Par voie orale (gavage), 60 minutes avant d'administrer la surcharge de glucose, pour faire coïncider le moment d'activité maximum hyperglycémiant de la surcharge de glucose avec celui de l'activité maximum hypoglycémiant de l'extrait ou du produit de référence Glibenclamide (Diabenil<sup>®</sup>) (**Keita et al., 1998**).

\* Le gavage des lapins, est réalisé à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique (sonde gastrique) (**Figure 10, Annexe I**).

### ✚ Déterminations de la glycémie

La détermination de la glycémie est faite à l'aide du glycomètre « **contour TS** ». La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active d'une bandelette. La lecture de la glycémie se fait automatiquement après 10 secondes (**Figure 11, Annexe I**). Les résultats sont exprimés en g/l.

➤ Le prélèvement de sang se fait par ponction au niveau de la veine marginale de l'oreille avant le gavage pour déterminer la glycémie de chaque lapin à  $T_0$  puis à 30, 60, 90, 120, 150 minutes après le gavage de la surcharge de glucose (**Figure 11, Annexe I**).

➤ La répartition des lots de lapins ainsi que la dose de traitement administrée par lot sont représentés dans le tableau II.

**Tableau II** : Répartition des lots.

N <sup>o</sup> lot	Nature de produit (Traitement)	Dose	Voie d'administration	Poids moyen (kg)
01	Non traités	/	Voie orale (gavage)	3,254 ± 0,15
02	Glibenclamide (Diabenil <sup>®</sup> )	4ml/kg		3,449 ± 0.50
03	L'infusé de la poudre des feuilles de <i>Olea europea</i> var. <i>sylvestris</i> à 10 %	2ml /kg		3,485 ± 0,007
04	L'infusé de la poudre des feuilles de <i>Olea europea</i> spp. <i>sylvestris</i> à 20%	2ml/kg		3,493 ± 0,009

#### II.2.4.2 L'activité antimicrobienne

\* Le but de cette étude repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux extraits, aqueux (l'infusé) et éthanolique des feuilles d'*Olea europea* spp. *sylvestris*.

#### ❖ Les milieux de culture utilisés

- La gélose **soja agar** pour l'isolement et repiquage des souches bactériennes.
- La gélose **Muller Hinton** pour l'étude la sensibilité des bactéries à l'extrait de plante.
- La gélose **Sabouroud** pour l'isolement et l'entretien des souches fongiques, ainsi que pour l'étude de leur sensibilité vis à vis de l'extrait de plante.

### ❖ Préparation des précultures

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de 18 à 24 heures. Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose (nutritive pour les bactéries et Sabouroud pour les levures). Après 18h d'incubation à 37°C, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 0,5 Mc Farland ont été préparées, pour chaque microorganisme, dans 10 ml d'eau physiologique stérile.

### ❖ Préparation de l'extrait à tester (voir Annexe IV)

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait de la plante, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé, utilisant des disques stériles de 9 mm de diamètre (Schleicher & Schuell BioScience GmbH, Dassel, Germany) en cellulose ; appelée antibiose. Le principe de cette méthode tiré à partir du titrage des antibiotiques (**Benjelali et al., 1986; Satrani et al., 2007**).

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien (des disques stériles préalablement imprégnés d'extraits à une dose bien déterminée) dans une boîte de Pétri contenant de la gélose (MH pour les bactéries et Sabouroud pour les champignons) ensemencée, avec création de degré de concentration. Après un certain temps de contact entre le produit et les microorganismes, l'effet du produit sur la cible est apprécié par la mesure de zone d'inhibition et en fonction de diamètre d'inhibition la souche saura qualifie de sensible très sensible extrêmement sensible ou résistantes.

### ✚ Protocole expérimental

Dans une zone septique du bec Bunsen :

- Couler les milieux de culture (MH pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons) en surfusion dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm par boîte .Nous avons laissées refroidir et solidifier sur la paillasse.
- Déposer la suspension de culture bactérienne qui est préparée à partir d'une culture de 18h déposée à la surface du milieu gélosé et ensuite, étalée à la surface à l'aide d'un écouvillon stérile.
- 
- ❖ Le dépôt de disques :

À l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevées un disque de papier wattman stérile (9mm de diamètre) et imbiber avec l'extrait à tester (un disque pour chaque concentration) en mettant seulement en contact le bout du disque. Celui-ci va absorber progressivement l'extrait jusqu'à l'imprégnation totale du disque (30µl) puis déposer sur la gélose.

- Un disque de papier Wattman imprégné de solvant (DMSO) servant de témoin négatif.
- Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à une température ambiante puis mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 48 heures pour les levures et 7 jours pour les champignons à 25°C.

**❖ Lecture des résultats**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes (**Chifundra et al., 1990 ; Ponce et al., 2003**).

- **Résistante (-) :  $D \leq 9$  mm.**
- **Sensible (+) :  $10\text{mm} \leq D \leq 15$  mm.**
- **souche intermédiaire (++) :  $16\text{mm} \leq D \leq 20$  mm.**
- **Très sensible (+++) :  $D > 20$  mm.**

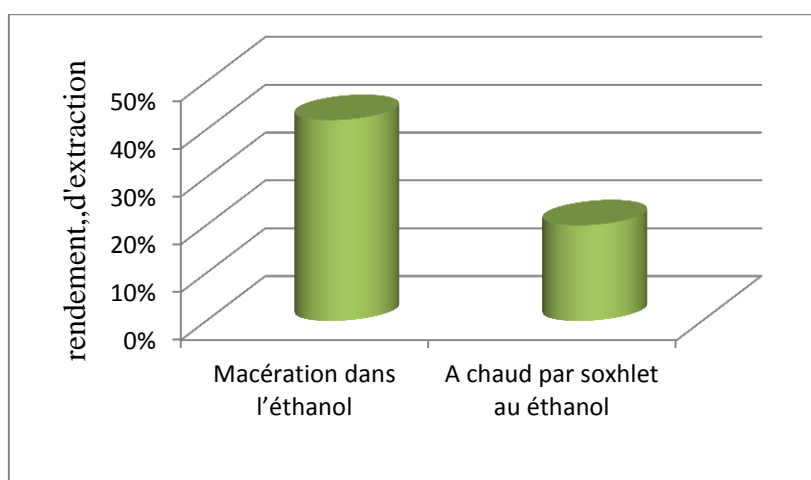
### III. Résultats et discussion

#### III.1 Etude phytochimique de la plante

##### ✚ Rendements des extraits bruts

L'extraction sous reflux des feuilles de l'olivier sauvage *Olea europea* spp. *Sylvestris* est réalisée avec l'éthanol, en adoptant deux méthodes d'extraction différentes (à froid par macération et à chaud par soxhlet).

Le calcul du rendement a permis d'obtenir les résultats regroupés dans le tableau III (**Annexe I**) et illustrés par la figure 11.



**Figure 11:** Rendement de l'extraction par éthanol

La lecture de la figure 11, permet de remarquer que l'extraction éthanolique par macération (le macéré) dont le rendement est de 42% est bien meilleure que celle par soxhlet (extrait éthanolique) (20%).

La différence de rendement entre les extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre. Nos résultats nous amènent à dire que la méthode d'extraction influe sans aucun doute, sur le rendement.

En règle générale, il n'y a pas de solvant type pour une extraction, mais la nature de ce dernier conditionne l'efficacité de l'extrait. La méthode d'extraction doit donc être choisie avec minutie afin de retenir les constituants recherchés dans le produit fini. Donc l'utilisation de l'alcool polaire comme solvant et généralement adaptée car les molécule pharmacologiquement actives s'y dissolvent (**Wichtl et al., 2003**).

Selon **Bruneton (1999)**, les substances extractives sont plus solubles dans les solutions alcooliques polaires que dans d'autres solvants. De plus, et selon le même auteur l'utilisation des extraits alcooliques des feuilles d'oléastre donne de bons résultats en phytothérapie.

### III.1.2 Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimique effectués sont présentés dans le tableau IV et illustré dans la figure 12 (**Annexe I**)

**Tableau IV** : Résultats du screening phytochimiques sur l'extrait aqueux des feuilles de l'olivier sauvage

Famille chimiques	Réaction	L'extrait aqueux (l'infusé)
Les flavonoïdes	Rouge	+
Les flavanes	Rouge	+
Anthocyanines (Leucoanthocyanes)	Rouge- cerise Brune -rouge	- -
Tanins	verdâtre	+
Les Alcaloïdes	précipité orange précipité blanc-jaunâtre	- -
Les glucosides	rouge brique-bleue	-
Les quinones libres	jaune-rouge	+
Saponosides	précipité blanc	+
Composés réducteurs	Précipité rouge brique	+
Terpénoïdes	anneau marron - rouge	+

(+) : présence.

(-) : absence.

D'après les résultats obtenus (**Tableau IV, figure 12**), nous remarquons la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques et les quinones libres, des composée réducteurs, et la présence des terpénoïdes, des saponosides, alors que nous avons noté l'absence des alcaloïdes, anthocyanines et les glucosides. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Bouabdallah (2014)** sur *Olea europea ssp sylvestris* qui rapporte la présence des flavonoïdes, des tanins, des stérols et des triterpènes et des saponosides en quantités importantes, ainsi que des coumarines, des quinones libres, des terpénoïdes et des composés réducteurs avec de faibles quantités ,contrairement, les tests pour rechercher les alcaloïdes et les anthocyanes ont été négatifs.

Ces résultats sont comparables avec ceux mentionnés par **Nacoulma (1996)** et **Scalbert (1991)**, lesquels ont constatés la présence de tanins et de saponosides dans l'extrait de feuilles de l'oléastre.

Ainsi, la technique du screening phytochimique mené sur les feuilles d'olivier sauvage, nous a permis d'identifier les composants chimiques de la plante étudiée « en aspect qualitative » cette composition en métabolites secondaires concorde avec celle rapportée par **Moyse et al (1971)** ; **Loïc(1980)** ; **Bruneton (1999)**.

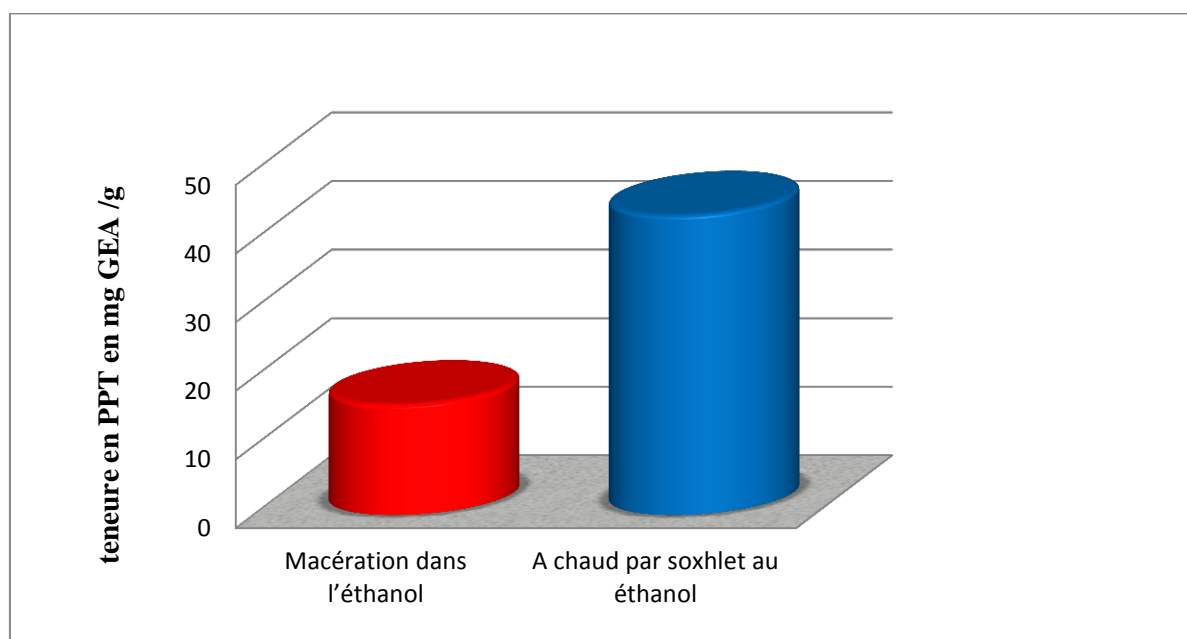
### III.1.3 Dosages quantitatives

#### \* Dosage des polyphénols totaux

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu change sa couleur du jaune au bleue (**Figure 13, Annexe II**), ce qui permet de mesurer l'intensité d'absorbance à une longueur d'onde de 700nm (**Huang et al., 2005**).

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g). En utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure14, Annexe II**).

À partir de la courbe d'étalonnage et la figure 15, la concentration des polyphénols totaux est : 43,67-16,09mg GAE/g, pour l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet et le macéré respectivement.



**Figure 15 :** Teneurs en polyphénols totaux pour l'extrait éthanolique

Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet accuse un net enrichissement en PPT par rapport à ce qui est obtenu par macération.

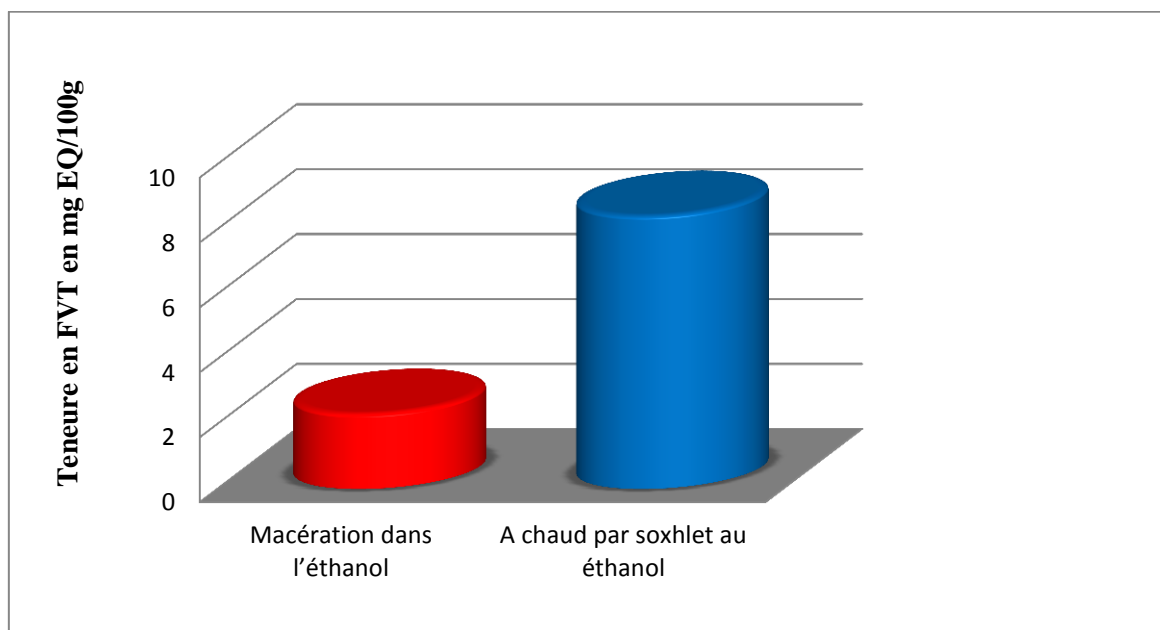
### \* Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes, se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium (de couleur jaune) ayant une absorbance maximale à 430 nm (**Figure 16, Annexe II**).

La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par 1gramme de matière fraîche (mg EQ/g de Ps).

Les taux des flavonoïdes totaux(FVT) des deux extraits ont été obtenus à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée (**Figure 17, Annexe II**).

Nous remarquons d'après les résultats de la figure 18, que la quantité des flavonoïdes varie entre 8,42 et 2,32 mg EQ/g de poids sec. Le taux de flavonoïdes le plus élevé a été détecté dans l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet (8,42 mg EQ/g), il est 3 fois supérieur au taux trouvé dans le macéré (2,32 mg EQ/g).



**Figure 18:** Teneurs en flavonoïde totaux pour l'extrait éthanolique

Les résultats ont montré que l'utilisation de soxhlet permet de concentrer l'extrait éthanolique en composés phénoliques (PPT, FVT), en comparaison au macéré.

Nos résultats montrent que la méthode d'extraction influe sur le rendement et les teneurs en composés phénoliques chez *Olea europea* et que l'extraction par soxhlet permet un enrichissement d'extrait en PPT et en FVT comparée à la macération. Des résultats similaires indiquant une variation significative des teneurs en PPT et en FVT en fonction de la technique utilisée ont été rapportés par plusieurs travaux (**Badereddine et al., 2014 ;Bourgou et al., 2016**)



Conformément à nos résultats, **Annegowda et al. (2011)** ont montré chez *Bauhinia purpurea* que les extraits obtenus par soxhlet présentent des teneurs élevés en PPT et en FVT, comparés à ceux obtenus par macération.

La macération et le soxhlet sont considérés comme étant des méthodes conventionnelles d'extraction des composés phénoliques approuvées par divers auteurs pour leurs efficacités (**Liu et al., 2013**).

Il paraît clairement que l'extraction à chaud (par soxhlet) permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux plus élevé par rapport à l'extraction à froid (macération), ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans le solvant chaud et la libération d'un maximum des molécules poly-phénoliques.

Une étude faite par **Bouabdallah (2014)**, montre que la teneur des phénols totaux dans l'extrait méthanolique des poudres des feuilles de l'olivier de variétés *Sylvestris*, et de l'ordre de 599.12 mg GAE/100 g MS avec une teneur de l'ordre de 99.49 mg CEQ/100g MS de flavonoïdes. Ce taux est nettement inférieur à nos résultats qui révèlent très élevés dans l'extrait éthanolique des poudres des feuilles de la même variété.

Une étude faite en Tunisie par **Ben slimen et al., 2008**, mis en évidence la présence d'une quantité de polyphénol totaux variable entre 1,38 à 2,32 g / 100 g MS dans les extraits méthanoliques des feuilles d'olivier sauvage, ces résultats sont comparables avec ce que nous avons trouvées pour l'extrait éthanolique (obtenus par macération) de poudres des feuilles d'olivier sauvage de variété *sylvestris* (avec un taux de PPT égale à 1.60g/100g MS).

Cette différence de teneurs peut dépendre également du :

- profil variétal (exemple *sylvestris*) et de la zone géographique, ainsi, la variation de teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique oléicole (**Baccouri et al., 2007 ; Rotondi et al., 2004**),
- le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004**).
- La méthode d'extraction et le choix de solvant d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003**).

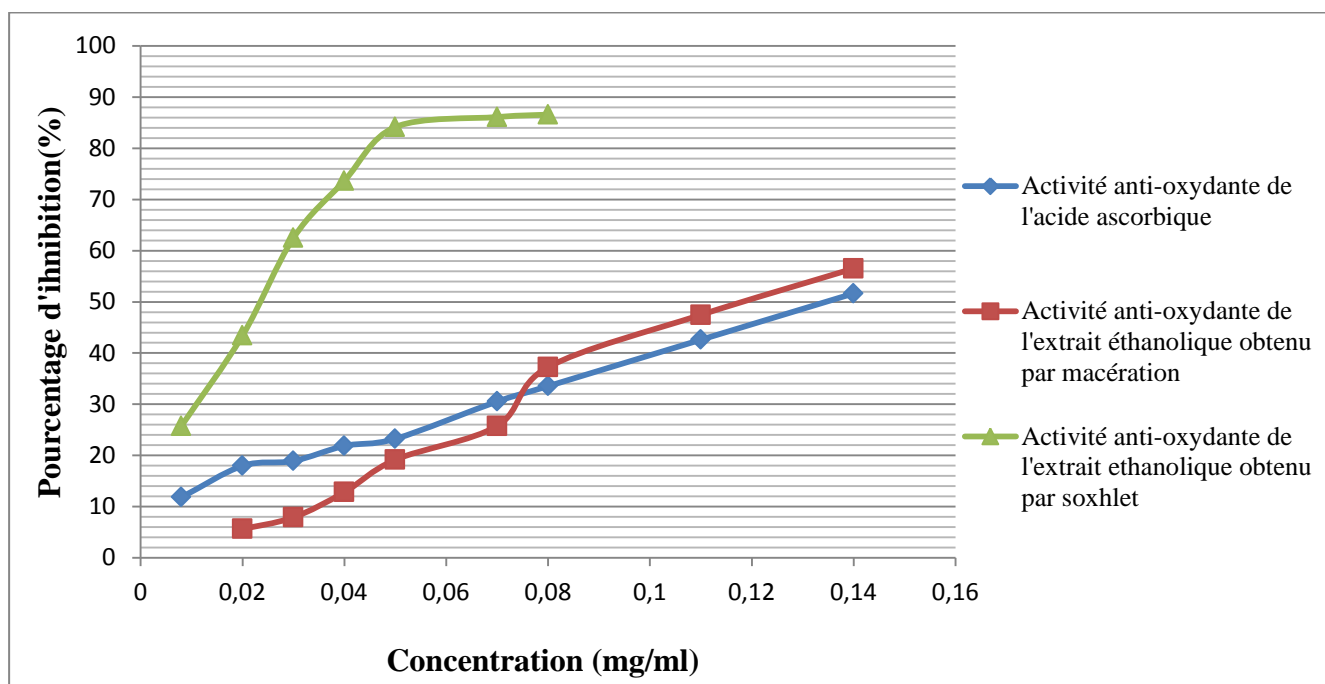
### III.2. 3. Résultats de l'évaluation de l'activité anti-oxydante

#### ▪ Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de la plante étudiée a été évaluée par la méthode d'inhibition du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).

Le radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est généralement l'un des composés les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al., 2008**).

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits (extrait éthanolique obtenu par macération, extrait éthanolique obtenu par soxhlet), et sont représentées dans les tableaux (V, VI, VII, Annexes IV), illustrés par la figure 19.



**Figure 19** : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique (obtenu par soxhlet et le macéré) et l'acide ascorbique.

Les résultats exprimés de l'activité anti-radicalaire, révèlent que l'extrait testé ainsi que l'acide ascorbique pris comme référence, sont des anti-radicalaires (**Figure 19**)

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des dilutions soit pour le standard ou pour les deux extraits éthanoliques.

Nous avons noté que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'extrait éthanolique (obtenu par soxhlet) est légèrement supérieur à celui du macéré (l'extrait éthanolique (obtenu par macération) et de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées (**Tableau V, VI, VII, Annexes IV**).

Nous remarquons qu'à la concentration de 0,02 mg/ml, le pourcentage d'inhibition de l'extrait éthanolique est égal à 43,43%, il est nettement supérieure à celui de l'acide ascorbique et du macéré qui est égal à 17,96%, 5,64% respectivement.

A la concentration de 0,08 mg/ml le pourcentage d'inhibition s'avère plus élevé vis-à-vis de l'inhibition des radicaux libres DPPH qui est égal à 86,59 %, mais elle reste toujours supérieure à celui de l'acide ascorbique et du macéré qui est égal à 33,35%, 37,25% respectivement.

A la concentration 0,14 mg/ml, le pourcentage d'inhibition du macéré est égale à 56,53%, il est très proche de celui de l'acide ascorbique (51,65%).

#### \* Calcul des concentrations IC<sub>50</sub>

C'est un paramètre utilisé pour estimer l'activité anti-oxydante. Plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé (**Brande-Williams et al., 1995; Tsimogiannis et Oreopoulou, 2004; Atoui et al., 2005**).

Le calcul de la concentration des extraits qui inhibe 50% des radicaux libres est fait graphiquement à partir des équations des régressions linéaires des graphes représentés dans les **figures 19**. Les résultats d'IC<sub>50</sub> sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau VIII :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits des feuilles de l'olivier sauvage.

IC <sub>50</sub> en mg/ml	Extrait éthanolique obtenu par macération	Extrait éthanolique obtenu par Soxhlet	L'acide ascorbique
	0,12	0.021	0.13

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique présente la plus importante capacité à piéger le radical DPPH (IC<sub>50</sub>=0.021mg/ml) par rapport au macéré (IC<sub>50</sub>=0.12). Nous révélons que les extraits obtenus par soxhlet est plus efficaces à piéger le radical DPPH comparés à ceux obtenus par macération. En accord avec nos résultats **Annegowda et al. (2011)**, ont révélé que l'extrait obtenu par soxhlet est plus efficaces à piéger le radical DPPH comparés à celui obtenu par macération.

La valeur d'IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique (utilisé comme molécule de référence) égale à 0.13 mg/ml est proche de celle trouvé par **benhammou et al. (2009)**. Cette valeur est bien plus supérieure à celle de l'extrait éthanolique (obtenu par soxhlet) et très proche à celle de l'extrait éthanolique obtenu par macération (0,12mg/ml). Donc, l'acide ascorbique possède une faible activité antioxydante par rapport à notre extrait.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapporté par **Lafka et al. (2013)**. Ces derniers ont constaté que l'extrait éthanolique des poudres du feuilles d'olivier sauvage montré une capacité antioxydante plus élevée, une fois comparé à cela des antioxydants synthétiques et normaux de nourriture, tels que butylé hydroxy toluen (BHT) et vitamine E.

**Bensallah et al. (2012)**, ont étudié l'activité antioxydante des feuilles d'une variété de l'olivier cultivé de la région Chemlali en Tunisie. Les auteurs ont obtenu une IC<sub>50</sub> de 0.079mg/ml en utilisant l'eau/éthanol (30/70) (v/v) comme solvant d'extraction. Ce résultat

est nettement inférieur à celui que nous avons obtenu, ce qui montre que l'olivier sauvage pourrait être une nouvelle source des antioxydants naturels.

L'activité anti-oxydante totale, varie significativement en fonction de la méthode d'extraction utilisée. Les résultats montrent une amélioration des pouvoirs antioxydants de l'extrait éthanolique *d'Olea europea spp. Sylvestris* ce en utilisant la méthode d'extraction par soxhlet par rapport à la simple macération. De plus, l'augmentation de l'activité anti-oxydante s'accompagne d'un net enrichissement en PPT et en FVT (la quantité de PPT et de FVT est 3fois supérieure dans l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet à celle qui obtenu par macération). Une amélioration de la capacité antioxydante des extraits obtenus par soxhlet a été révélée par **Annegowda et al. (2011)** et **Bourgou et al. (2016)** qui ont montré que les meilleures activités antioxydantes sont obtenues avec des extraits obtenus par la méthode de soxhlet comparée à la macération.

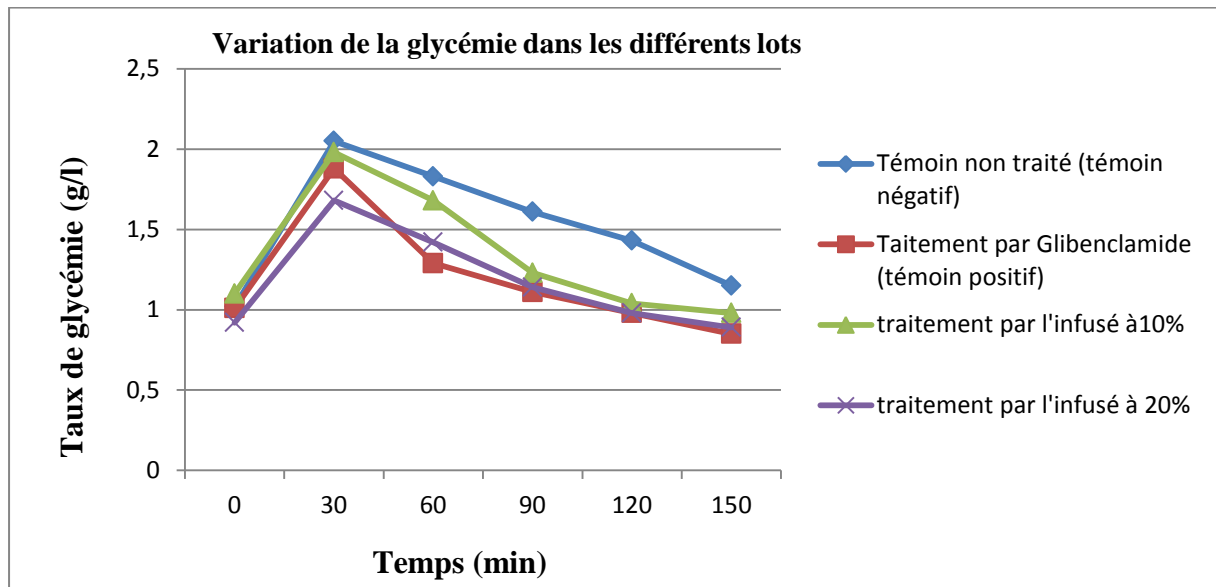
D'après les résultats du dosage quantitatif, il apparaît que l'extrait éthanolique des feuilles de l'olivier sauvage est riche en polyphénols et en flavonoïde. Ces derniers sont connus par leur propriété antioxydant qui permet de neutraliser les formes activées de l'oxygène ou les radicaux libres à caractère toxique, issus de peroxydation lipidique, c'est ce qui explique leur forte pouvoir antioxydant.

Selon **Hayes et al. (2011)**, l'activité antioxydante des composés hydroxyyles phénoliques dans l'extrait des feuilles de l'olivier pourrait être due à la présence des groupements hydroxyle dans leur structure comme l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et l'acide lutéoline-7-O-glucoside.

## III.2 Résultats de l'évaluation des activités biologiques

### III.2.1 Activité hypoglycémiante

Les résultats des taux de la glycémie des différents lots de lapins sont consignés dans le tableau IX (**Annexe III**) et dans la figure 20.



**Figure 20:** Variation de la glycémie dans les différents lots de lapin en fonction du temps.

- D'après le tableau IX (**Annexe III**) et de la glycémie de base ( $T_0$ ), on remarque :

#### Lots 1 :

L'administration de 2g de glucose entraîne en 30 minutes une augmentation significative de la glycémie allant jusqu'à 2,05g/l.

- à la 60<sup>ème</sup> minute, on observe une baisse de la glycémie.
- à la 90<sup>ème</sup> minute, elle continue de baisser.
- à la 150<sup>ème</sup> minute, la glycémie est à 1,15 g/l soit une baisse de 43,90% par rapport à la 30<sup>ème</sup> minute.

#### Lot 2:

- Pour une concentration de 10 mg de Glibenclamide, on observe une baisse considérable de la glycémie dès la 30<sup>ème</sup> minute (8,3 %) par rapport au lot témoin (témoin négatif),
- à la 60<sup>ème</sup> minute, la glycémie continue de la baisse (29,51% par rapport au lot témoin) pour atteindre des taux normaux à la 90<sup>ème</sup> et 120<sup>ème</sup> minute avec une baisse de 31,06 % 31,47% respectivement par rapport au lot témoin.
- à la 150<sup>ème</sup> minute, les lapins sont en état d'hypoglycémie avec un taux de réduction de 26,09% par rapport au lot témoin.

#### Lot3 :

À la 30<sup>ème</sup> minute et pour une concentration de 100mg d'extrait (l'infusé à 10%), il y a une réduction de la glycémie de 3,42% par rapport aux lapins soumis uniquement à la surcharge en glucose.

- à la 60<sup>ème</sup> minute, la baisse est de 8,2% par rapport au lot témoin.
- à la 90<sup>ème</sup> et 120<sup>ème</sup> minute, la glycémie continuée de baisses avec des réductions de l'ordre de 23,60% et 27,27% respectivement, pour atteindre un taux normal à la et 150<sup>ème</sup> minute avec une baisse de 14,78 % par rapport au lot témoin.

**Lot4 :**

Pour ce lot, on note une réduction de la glycémie de 18,05 % par rapport au témoin dès la 30<sup>ème</sup> minute du traitement.

- à la 60<sup>ème</sup> minute, la glycémie continuée de baisses (22,41% par rapport au lot témoin) pour atteindre un taux normaux à la 90<sup>ème</sup> et 120<sup>ème</sup> minute avec une baisse de 29,19 % 31,47% respectivement par rapport au lot témoin.
- à la 150<sup>ème</sup> minute, les lapins sont en état d'hypoglycémie avec un taux de réduction de 22,61% par rapport au lot témoin.

L'analyse de la figure 20, montre que l'administration de la solution de glucose par voie orale (gavage) entraîne une augmentation significative du taux de glycémie après 30 minutes chez tous les lapins, cependant, pour les lots des lapins traités par l'extrait aqueux d'olivier sauvage « *Olea europea* » (l'infusé à 10% et l'infusé de 20%), nous observons une baisse de la glycémie à partir de 30 mn et elle continue de baisser pour atteindre des taux normaux à 120 min et à 90 min respectivement (1,14 et 1,04 g/l respectivement) Par contre, pour le lot traité par le Glibenclamide nous avons noté qu'à la 90 min (1,11 g/l), le taux de glycémie atteint les normes.

Les résultats montrent une légère différence dans la réduction du taux de glycémie entre les différents traitements en rapport avec la nature de l'extrait et la dose administrée. En effet, l'infusé à 20% s'est montré plus efficace et plus rapide pour réduire le taux de glycémie.

Par ailleurs, les résultats de cette étude montrent que tous les traitements (infusé à 10% et l'infusé à 20%) utilisés, ont une activité hypoglycémiant. La meilleure réduction de la glycémie a été obtenu avec l'infusé à 20% donnant un effet comparable à celui de l'hypoglycémiant oral, le Glibenclamide. En effet, à partir de 30 min après le gavage, l'infusé de 20 % et le Glibenclamide ont freiné l'augmentation de la glycémie. Plus encore, ces substances actives ont provoqué une hypoglycémie plus ou moins importante à partir de 120 min de l'administration telle que bien montrée la (**Figure 20**).

Nos résultats sont en accord avec ceux annoncés par **Arab et al. (2013)** les quels ont noté que l'administration d'un volume de 2ml de tisane, préparée à partir des poudres des feuilles d'olivier sauvage, à des rats rendus diabétiques par l'alloxane a provoqué une diminution très hautement significative de la glycémie.

Selon **Bardoulat (2005)**, deux études faite au Maroc sur des rat rendu obèses et diabétique suivant d'un régime hypercalorique, ces rat sont recevant l'infusé des feuille (à 10%) de l'olivier sauvage pendent deux mois, mis en évidence l'efficacité de l'infusé à 10% dans le traitement dans le traitement de diabète et l'hypercholestérolémie.

La présence d'une activité hypoglycémiant de nos extraits peut être justifiée par la présence d'oleuropéine. Selon **Jemai et al. (2009)**, l'administration d'un extrait riche en oleuropeine et hydroxytyrosol avec une dose de 8 mg/kg et 16 mg/Kg respectivement, diminue de façon significative la glycémie. Cet effet antidiabétique des deux principes actifs, peut être expliqué par leur activité antioxydante en diminuant le stress oxydatif qui accompagne le diabète et ses complications.

### III.2.2. Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par **Chifundra et al. (1990)**. Ils ont classées le pouvoir antimicrobienne, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau X**.

Le DMSO (Dimethyl sulfoxyde) a été testé comme solvant, les résultats montrent qu'il est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

**Tableau X:** Diamètre des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne des différents Extraits

Souches bactériennes	Extrait éthanolique		Extrait aqueux (infusé)	
	Par soxhlet	Par macération	10%	20%
<b>Gram –</b>				
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	12	-	-
<i>Serratia spp.</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	11	-	12
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<b>Gram +</b>				
<i>Bacillus subtilis</i>	11	-	-	-
<i>Sarcina lutea</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	13	-	15
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-
<b>Levures</b>				
<i>Candida albicans</i>	12	11	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15	12	-	-

Diamètres des zones d'inhibition en mm



On peut considérer une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition observé autour du disque de papier (Wattman) est supérieur ou égal à 9mm.

Nous constatons d'après ce tableau que l'extrait éthanolique (parsoxhlet) des feuilles d'*Olea europea* a eu un effet sur *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibition de 15, 16, 13, 12,15, 11 mm, respectivement.

L'extrait éthanolique obtenu par macération (le macéré) des feuilles d'*Olea europea* a eu un effet sur *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* avec des zones d'inhibition de 12, 13, 11, 11,12 mm respectivement.

*Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible, à 20% de l'extrait aqueux avec un diamètre d'inhibition de 16 mm, suivie de *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 12 mm. En revanche, toutes les souches bactériennes, n'ont manifesté aucune sensibilité vis-à-vis de l'infusé à 10%.

Par contre nous n'avons noté aucun effet pour les trois extraits sur *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp*, *Escherichia coli*, *Sarcinalutea*, *Enterococcus faecolis*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Djenane et al. (2011)** sur les extraits bruts et polyphénoliques des feuilles d'olivier sauvages qui ont trouvés un effet antimicrobien sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, par contre elle n'a montrée aucun effet sur *Escherichia coli*. Selon certains auteurs, les molécules polyphénoliques comme l'oleuropéine pourraient s'hydrolyser, ce qui provoque une baisse dans l'activité antimicrobienne **Brainte et al. (2000)**.

En accord avec nos observations, **Tassou et Nychas (1994)** ont déjà confirmé la résistance d'*Escherichia coli* envers l'oleuropéine purifiée. **Caturla et al. (2005)**; **Pereira et al. (2007)** ont déjà confirmé l'effet inhibiteur de l'oleuropéine sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*.

Les effets antimicrobiens observés dans ce travail sont comparables dans la plupart des cas à ceux rapportés dans la littérature scientifique. Dans une étude récente **Sudjana et al. (2009)**, ont testé un extrait aqueux de feuilles d'olivier contre 122 espèces microbiennes. Ils ont constatés que cet extrait a exercé un effet antimicrobien trop restreint, car, parmi l'ensemble des microorganismes testés, uniquement *Helicobacter pylori* et *Staphylococcus aureus* ont manifesté une certaine sensibilité envers cet extrait.



Confirmant les résultats précédents, il a été constaté que la puissance et le spectre d'activité antimicrobienne varient selon le type d'extrait et le Gram des bactéries. Cependant, les bactéries à Gram positif sont généralement les plus sensibles aux effets des extraits polyphénoliques, les résultats montrés également que le procédé d'extraction a également des effets remarquables sur l'activité des extraits. Les activités maximum ont été trouvées pour les extraits éthanoliques, ceci pourrait être dû à la bonne efficacité d'extraction du éthanol comparée à autre solvants, nos résultats sont en accord avec ce qui annoncé par **Hussain et al. (2014)**, qui ont montrés que l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier sauvage présente une forte activité antimicrobienne par rapport au extrait aqueux.

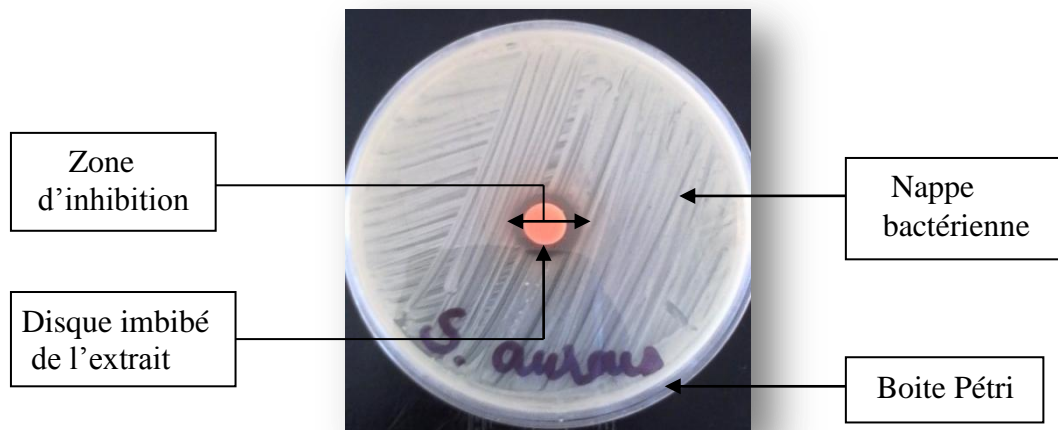
En effet, l'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyle libres, qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (**Rojas et al., 1992 ;Marjorie, 1999**).

Il a été montré que cette activité est due à la richesse de ces extraits en métabolites secondaires notamment l'oleuropeine qui est le composé majoritaire, cette dernière possède divers propriétés pharmacologiques « antioxydante, hypoglycémiant, antivirale » (**Lee-Hauang et al., 2003;Al-Azzawi et al.,2006 ;Ranallietal.,2006**).

La variation de la composition chimique explique donc les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes. L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait (**Essawi et Srour, 2000**), de même **Benavente-Garcia et al.(2000)**, ont suggéré que les extraits de feuilles d'olivier peuvent exercer une action synergique grâce à la présence de l'oleuropéine et autres composés phénoliques.

Selon **Abaza et al. (2007)**, les flavonoïdes et les composés phénoliques obtenus a partir de feuilles d'olivier sauvage, qui constituent nos extraits sont connus pour avoir des activités biologiques diverses et peuvent également être responsable a des actions pharmacologiques de la feuille d'olivier, ou du moins en synergie pour renforces ses action.

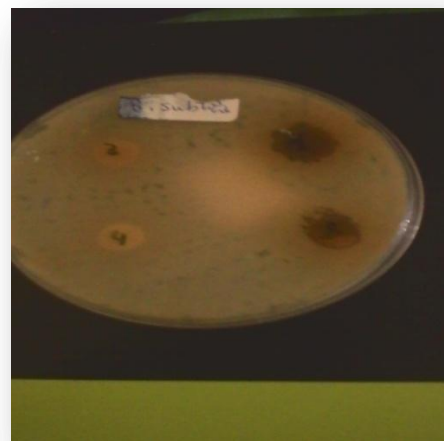
Un grand nombre d'auteurs ont rapporté que l'oleuropéine est parmi les composés phénoliques des feuilles d'olivier le plus puissant pour ses propriétés antimicrobiennes (**Aziz et al., 1998 ;Bisignano et al.,1999 ; Markin et al.,2003 ; Medina et al., 2007**). Il serait donc probable que les résultats obtenus dans ce travail découlent de la présence de l'oleuropéine dans les différents extraits de feuilles d'oliviers utilisés.



**Figure 21** : Effet inhibiteur de l'extrait aqueux à 20% sur *Staphylococcus aureus* (Originale, 2016)



**A.** *Klebsiella pneumoniae*



**B.** *Bacillus subtilis*

**Figure 22:** Effet inhibiteur de nos extraits sur des souches bactériennes (Originale, 2016)



C. *Staphylococcus aureus*

D. *Pseudomonas aeruginosa*

**Figure 23:** Effet inhibiteur de nos extraits sur des souches bactériennes  
(Originale, 2016)



E. *Candida albicans*

F. *Saccharomyces cerevisiae*

**Figure 24:** Effet inhibiteur de deux extraits éthanoliques sur deux souches fongiques  
(Originale, 2016)

## Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans ce contexte, nous avons évalué les pouvoirs hypoglycémiant, antioxydant et antimicrobien des extraits bruts (éthanolique, aqueux) des feuilles d'*Olea europea* spp *sylvestris*, espèce appartenant à la famille des Oleaceae. Plante largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde.

L'analyse phytochimique qualitative de l'extrait aqueux de la poudre des feuilles d'olivier sauvage a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins catéchiques, les quinones libres et les composés réducteurs, de même on note la présence des terpénoïdes, des saponosides, et l'absence totale ou présence à l'état de traces des alcaloïdes, les anthocyanines et les glucosides dans notre extrait.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence de quantités très importantes en polyphénols. De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  qui nous mène à déduire que les deux extraits contiennent une quantité considérable de flavonoïdes. Il ressort de ces analyses qu'*Olea europea* est riche en composés phénoliques qui pourraient être responsables à des propriétés pharmacologiques.

Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH dont les résultats montrent que les deux extraits éthanoliques sont dotés d'un pouvoir antiradicalaire très élevé comparé à celui de vitamine C. En effet, l'étude a révélé que l'extrait obtenu par Soxhlet est plus efficace à piéger le radical DPPH comparativement au macéré. Ceci nous a permis de déduire que l'activité anti-oxydante est en relation avec la quantité des polyphénols présents dans les deux extraits.

L'étude de l'activité biologique de la plante a montré un effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux (10% et 20%) chez les lapins en état d'hyperglycémie. L'extrait aqueux possède une activité hypoglycémiante remarquable, il a donné un pourcentage de réduction de la glycémie de 52,15%, 47,84% respectivement, après 150min de traitement comparable à celle de la Glibenclamide (avec un pourcentage de réduction de 54,78%).

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antimicrobien vis-à-vis 10 bactéries et 2 champignons pathogènes, les résultats obtenus ont montré que les extraits testés ont une action remarquable sur les champignons et les souches bactériennes testées.

Les résultats obtenus dans cette étude, montrent la richesse d'*Olea europea* spp *sylvestris* en substances chimiques et qui pourraient représenter une nouvelle source potentielle de molécules bioactives en thérapeutique.

Afin de compléter la présente étude, d'autres volets de recherche plus approfondis seront nécessaires, ils se résument dans les points suivants :

- L'isolement et l'identification de la ou les molécule (s) bioactive (s) responsables de l'activité anti-oxydante par des techniques chromatographiques et spectrales, et la détermination de leur activité antioxydant séparément et combinés pour faire ressortir l'effet synergique entre ces molécules.
- Evaluer d'autres activités comme : antidiabétiques, hypotensives, anticancéreuses, anticoagulante dans le but d'évaluer le spectre d'action pharmacologique de cette plantes.
- Des études *in vivo* seront souhaitables pour déterminer les tissus et organes cibles, et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire, pour déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif à des médicaments synthétiques.

## Référence bibliographiques

---

**Abd el ouahid D.E., Bekhechi C., 2004.** Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha). *Biologie et santé*, Vol n°4, (10), pp91-100.

**Akemi M., Masamichi I., Masanori O., Noriaki O., 2001.** Cosmetic for protecting and improving aged skin having AGEs degrading activity/Cosmetic having AGEs degrading activity and effective in protecting and improving aged skin. Patent written in Japanese. JP 99-300806 19991022, pp 5.

**Ali-Delille L., 2010.** Les plantes médicinales d'Algérie. Edition Berti 2010Alger .239, pp 6-181.

**Amouritti M., Comet G., 1985.** La livre de l'olivier. Ed. Edi sud, pp 161.

**Ait Hatrit M., 2002.** Contribution à l'extraction et à l'étude analytique des essences de l'oléastre, de la forêt dominical de Baïnâm. Thèse ing. Univ de Blida.

**Ait Youssef M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie, Edition : IBIS PRESS, Paris, pp 233-238.

**Al-Azzawi H.F., Al hamdani M.S., 2006.** Hypoglycemic and Antioxidant effect of Oleuropein in Alloxan-diabetic Rabbits. *Life S CIENCE*.78 , pp1371-1377.

**Altioek E., Baycin D., Bayraktar O., Ulku S., 2008.** Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. *Sep. Purif. Technol.*, 62(2), pp 342-348.

**Annegowda H.V., Bhat R., Tze L.M., Karim A.A., Mansor S.M., 2011.** The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchildiana* (Howard) - an underutilized legume. *J Food Sci Technol* 50: pp 535-41.

**APG III, 2009.** An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III , *Bot. J. Linn. Soc.*, vol. 161, October 2009, pp 105-121.

**Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K., 2013.** Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique science* 09(3) (2013).pp 159 – 166.

**Argenson C., Regis S., Jourdain J.M., Vaysse P.1999.** L'olivier. Ed. Ctifl, Paris, pp8-16-18-19.

**Artaud M., 2008.** L'olivier « sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique », P 30.

**Atoui A.K., Mansouri A., Boskou G. Kefalas P., 2005.** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry* 89, pp 27-36

**Aziz NH. , Farag SE. , Mousa LA., Abo-Zaid MA., 1998.** Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*. Vol. 93. (1998). pp. 43-54.



## Référence bibliographiques

---

- Baba aissa F., 2011.** Encyclopédie des plantes utiles flore d'Algérie et du Maghreb. Edition, EDAS, pp190.
- Baccouri B., Zarrouk W., Krichene D., Nouairi I., Ben Youssef N., Daoud D., Zarrouk M., 2007.** Influence of fruit ripening and Crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected Oleasters (*Olea europaea* L.). J. Agro. 6 (3), pp 388-396.
- Badereddine M., Moussaoui H., 2014.** Etude phytochimique comparative des extraits de feuilles de Phoenix dactylifera .L obtenue par différents méthodes.
- Bardoulat M., 2005.** L'olivier, trésor de santé. Un arbre, un fruit, une huile aux vertus millénaires. Ed.Alpen Monaco, France 95.pp 84-88-89.
- Bartels A., 1998.** Guide des plantes du Bassin méditerranéen, 1 er édition, ISBN : 2-84138-091-2, pp 23.
- Battinelli L., Daniele C., Cristiani M., Bisignanob G., Saijab A., Mazzanti G., 2006.** In vitro antifungal and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes *Olea europaea* L.fruit. *Phytomedicine*, 13 : pp 558-563.
- Belouad A., 1998.** Les plantes médicinales d'Algérie. Office de publications Universitaires pp 277.
- Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Ortuno A., Del Rio JA., 2000.** Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. Food Chem. Vol. 68. (2000). pp. 457-462.
- Ben Akacha N., Gargouri M., 2009.** Enzymatic synthesis of green notes with hydroperoxide-lyase from olive leaves and alcohol-dehydrogenase from yeast in liquid /gas reactor. Process Biochemistry, 44 (10), pp 1122-1127.
- Ben Salah M., Abdelmelek H., Abderraba M., 2012.** Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. Medicinal chemistry, pp 2-5.
- Benhammou N., Atik Bekkara F., Panovska TK., 2009.** « Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*». Compte Rendu Chimie, 12(12). pp 12559-1266.
- Benjelali B., tentaqui E.A., Esmaili-Aloui M. ,1986.** Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielle par contact directe an milieu gélosé. Plante médicinale et phytothérapie, pp : 20, 155, 167.
- Ben Slimen I., Bahloul N., Kechaou N., Boudhioua1 N., 2008.** Etude du séchage par infrarouge de feuilles d'olivier d'origine tunisienne. Partie 2: Influence du séchage et du

## Référence bibliographiques

---

blanchiment sur les composés phénoliques totaux. Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger (2008). pp 111 – 116.

**Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N., Saija A., 1999.** On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. J Pharm Pharmacol. Vol. 51. (1999). pp 971-4.

**Bouabdallah A., 2014.** Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles d'olivier sauvage (*Olea europaea sylvestris*). Mémoire de Master Biologie. Option Biochimie Appliquée. Université Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen, pp78.

**Bourgou S., Serairi Bejil R., Medini F., Ksouril R., 2016.** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*, Journal of new Sciences. Volume 28(12). E-ISSN. pp 2286-5314

**Bourgou S., Serairi bejil R., Medini F., Ksouril R., 2006.** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. Journal of new science. Volume 28(12).pp1649-1654.

**Boizot N., Charpentier J., 2006.** Méthode rapid d'évaluation du contenu en composés phénoliques des oranges d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, pp79-82.

**Bozin B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran A., Igc R. 2008.** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), Food Chemistry, 111. pp 925–929.

**Brahmi F., Mechri B., Dhibi M., Hammami M., 2013.** Variations in phenolic compound and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons. Industrial Crops and Products 49 (2013); pp 256–264.

**Brainte R., Francesco L-C., Ferdinando F., Maurizio P., Roberto N., 2000.** Hydrolysis of Oleuropein by recombinant b-glycosidases from hyper thermophilic *Archea sulfolobus* immobilised on chitosan matrix. J. Biotechnol. Vol. 71. (2000). pp. 275-286

**Brande-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Tehnologie* 28, pp 25-30.

**Breton C., Pinatel C., Médail F., Bonhomme F., Berville A., 2008.** Comparison between classical and Bayesian methods to investigate the history of olive cultivars using SSR-polymorphisms; pp 524-200.

**Briante R., Patumi M., Terenziani S., Bismuto E., Febbraio F., Nucci R., 2002.** *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, pp 4934–4940.



## Référence bibliographiques

---

**Bruneton J., Iridoides J., 1993.** In: Pharmacogonie, phytochimie, plantes médicinales (pp. 475-492). Paris, France: EC & DOC.

**Bruneton J., 1999.** Pharmacogonie, phytochimie, plantes médicinales 3<sup>ème</sup> édition Médical Internationales-Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris, pp-370-401.

**Busta F., Foegeding P.M., 1983.** Chemical food preservatives in S. block : « Desinfection, sterilization and preservation ». Lea and Febiger Ed., pp 256-694.

**Caturla N., Perez-Fons L., Estepa A., Micol V., 2005.** Différentiel effects of oleuropein, abiophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. Chem phys lipids, 137, pp 2-17.

**Covas M.I., Nyssönen K., Poulsen H.E., Kaikkonen J., Zunft H.J., Kiesewetter H., 2006.** The effect of polyphenols in olive on heart disease risk factors: a randomized trial. Ann. Intern. Med., 145 : pp 333-341.

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

**Chebaibi A., Rhazi F., Lahlou amine I., Chahlaoui A. et L' kassmi H., 2007.** Etude de l'activité antimicrobienne des feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.). Journée Scientifique « Ressources Naturelles et Antibiothérapie », 22 Juin 2007, Faculté des Sciences – Kenitra.

**Chevallier A., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales identifications, réparation et soin. Ed- mise à jour Vu EF, pp 335.

**Chia-chi C., 2002.** Estimation total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods , journal of food and drug analysis , vol 10, no. 3, pp 178-182.

**Chifundra K., Bury W-M., Kizingub, 1990.** Screening phytochimique et antibactérien des extraits de *Ficus sycomorus* L., short communication phytothérapie. pp 535,539.

**Ciulei I., 1982.** Methodology for analysis of vegetable drugs. Design and make up (Ed). Romania, 67p ; Étude de l'activité biologiques des extraits du fruit de *Crataegus azarolus* L. Thèse magistère. Option : Biochimie Appliquée pp 48.

**Coll D., Mathonnet J.P., Zannini G., 2000.** Composition à destination cosmétique et/ou diététique contenant un mélange de lycopène et d'extrait de feuille d'olivier. Brevet rédigé en français. PCT/FR2000/001105. WO/2000/066078.

## Référence bibliographiques

---

- Diallo A.M., 2005.** Etude des plantes médicinales de Niafunké (région de Tombouctou). Phytochimie et pharmacologie de *Maerua carassifolia* Forsk (capparidacée). These de Doctorat. Bamako, pp 140.
- Djenane D., Yangüela J., Derriche F., Bouarab L., Roncales P., 2011.** Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. Revue « Nature & Technologie ». n° 07. pp 53 - 61.
- Djeridane A., YonsM., Nadjemi B., BoutassounaD., Stocher P.,Vidal N. 2006.** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. Food.chem.97 : pp 654-660.
- Dohou N., Yamni K., TahrouchS., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N., 2003.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro marcaïne, *thymelaea lythroides*. Bull.Soc.pharm., 142: pp 61-78.
- Domar A., Bourneuf J., 1990.** Nouveau Larousse médical. D'après livre des huiles essentielles. pp11.
- Duquenois P., 1968.** L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. Parf. Cosm. Sav, pp 414-418.
- Durling Nicolas E., Catchpole Owen J., Grey John B., Webby Rosemary F., Mitchell Kevin A., Yeap Foo L., Nigel B. Perry 2007.** Extraction of phenolics and essential oil from dried sage *Salvia officinalis* using ethanol-water mixtures, ScienceDirect, Food Chemistry, 101, pp 1417-1424.
- Essawi T., Srour M., 2000.** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. J.Ethnopharm. 70, pp 343-349.
- Farag R.S., Mahmoud E.A., Basuny A.M., 2007.** Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. International Journal of Food Science & Technology, 42, pp 107-115.
- Fegeros K., Zervas G., Apsokardos F., Vastardis J., Apostolaki E., 1995.** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. Small Ruminant Research, 17, pp 9-15.
- Fki I., Bouaziz, M., Sahnoun S., Sayadi S., 2005.** Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of Chemlali olive cultivar in rats fed a cholesterol-rich diet. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 13 : pp5362–5370.
- Frobisher M., Fuerst R., 1976.** Microbiologie clinique. HRW(Ed). Paris, pp507.

## Référence bibliographiques

---

**Ghedira K., 2008.** L'olivier. *Phytothérapie*, 6 (2): pp 83–89.

**Ghanbari k., Farooq A., Alkharfy K. M., Gilani AH., Saari N., 2012.** Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.). A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2012 ; 13, pp 3291-3340.

**Giao M.S., Gonzalez-Sanjose M.L., Rivero-Perez M.D., Pereira C.I., Pintado M.E., Malcata F.X., 2007.** Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture*, 87, pp 2638-2647.

**Hamdaoui O., 2009.** Removal of cadmium from aqueous medium under ultrasound assistance using olive leaves as sorbent. *Chemical Engineering and Processing*, 48, pp 1157-1166

**Hamza N., 2011.** Effet préventif de trois plantes médicinales utilisées dans la Wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime-high fatchez les souris C57BL/6J » These Doctorat. Science alimentaire. Constantine pp16.

**Harzig J., Elias K., 1999.** L'olivier, Ed: CTIFL, pp 8-19.

**Hayouni E.A, Abedrabba M., Bouix M., Hamidi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chem.* (in press). pp 11344.

**Hayes J.E., Stepanyan V., Allen P., O'Grady M.N., O'Brien N.M., Kerry J.P., 2009.** The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, 83 (2), pp 201-208.

**Hayes J.E., Allen P, Brunton N., O'Grady M.N., Kerry J.P., 2011.** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry* 126, pp 948–955.

**Hellefont J. V., 1986.** Compendium de phytothérapie. Bruxelles, pp. 268–270.

**Huang D., Prior R.L., 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 : pp 1841-1856.

**Hussain A., Ahmed Qarshi I., Liaqat R., Akhtar S., Aziz I., Ullah I., Khan Z. 2014.** antimicrobial potential of leaf and fruit extracts and oils of wild and cultivated edible olive *Pak. J. Bot.*, 46(4): pp 1463-1468.

**Iserin P., Biaujeaud M., Bloth J., Botrel A., De Laage de meus A., De la Roque R., De La Roque O., Deelesalle-Feat T., Masson M., Moulard F., Restellini J P., Ringuet J., Vican P., Ybert E., Zha E., 2001.** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Edition Larousse Paris. pp10-17,132.

**Japon-Lujan R., Luque-Rodriguez J.M., Luque de Castro M.D., 2006.** Dynamic ultrasound assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Journal of Chromatography A, 1108, pp 76-82.

**Jemai H, El Feki A., Sayadi S., 2009.** Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. Journal of Agriculture Food Chemistry. 2009 Oct 14; 57(19): pp 798-804.

**Kelley M.S., Wooden D.H., 2009.** The composition of dust in Jupiter-family comets inferred from infrared spectroscopy. Planetary and Space Science, 57 (10), pp 1133-1145.

**Karakaya S., 2009.** Olive tree (*Olea europaea*) leaves : potential beneficial effects on humanhealth. *NutritionReviews*, 67(11): pp 632-8.

**Keita A., Mariko E., Hadara T.K., 1998.** Etude de l'activité hypoglycémiant des feuilles de *sclerocarya birrea* action de la fraction butanolique de l'extrait aqueux. Pharm. Méd. Trad. Afr. 1998, vol 10, pp16-25.

**Kernbaum S., 2008.** Dictionnaire de médecine Flammarion. Edition médecine Science Flammarion (8eme Edition), Paris, France, pp1133.

**Khan A.M., Qureshi R.A., Ullah F., Gilani S.A., Nosheen A., Sahreen S., 2011.** Phytochemical analysis of selected medicinal plants of Margalla Hills and surroundings. J Med Plants Res. 2011 ; 5 (25) : pp 6017 – 6023.

**Kim K.S., Lee S., Lee Y.S., Jung S.H., park Y., Shin K.H., Kim B-K., 2003.** Antioxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*, Journal of Ethnopharmacology, 85. pp 69–72.

**Koane J.N., Syssa-Magale J.L., Ouamba J.M., 2012.** Études phytochimique et pharmacologique de quelques plantes médicinales Centrafricaines à propriétés antidiabétiques. Diabète, pp 127.

**Koffi E., Sea T., Dodehe Y. and Soro S., 2010.** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. Journal of Animal & Plant Sciences, 2010. Vol. 5, Issue 3: pp 550- 558.

## Référence bibliographiques

---

**Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., Vladimir-Knez EICS., 2004.** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm.* 54: pp 65-72.

**Lalas S., Athanasiadis V., Gortzi O., Bounitsi M., Giovanoudis I., Tsaknis J., Bogiatzis F., 2011.** Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*, 127(4), pp 1521-1525.

**Lamnaouar D., 2000:** plantes médicinales du Maroc: usages et toxicité, revue n°1, institute Agro. Vétér., Hassen II, Rabat, Maroc, pp 18-21.

**Lafka T. I., Lazou A. E., Sinanoglou V. J., 2013.** Phenolic extracts from wild olive leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Foods*, 2, pp 18 – 31.

**Lacoste S., 2006.** Les plantes qui guérissent, les secrets de la phytothérapie .Ed LEDUC.S, Paris-France pp18.

**Lee-Huang S., Zhang L., Huang PL., Chang YT., Huang PL., 2003.** Anti-HIV activity of olive leaf extract(OLE) and modulation of host cell gene expressionby HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochemistry and Biophys Research Commun*, 307: pp 1029- 1037.

**Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y., 2003.** Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry.*, 51 : pp7292-7295.

**Lee O.H., Lee B.Y., Lee J., Lee H.B., Son J.Y., Park C.S., Shetty K., Kim Y.C., 2009.** Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100, pp 6107-6113.

**Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., chen F., Tian Y., 2007.** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102 : pp 771-776.

**Liu JB., Chen F., Chen J., Xu Q., Xia D., Wang Z., Li Y., 2013.** Magnetic signature of environmental change reflected by lacustrine sediments from the *Ningwu Gonghai* Lake. Shanxi. China: a record of Humid Medieval Warm Period. *Chinese Sci Bull* 49: pp447–464.

**Lois E., 2001.** L'ABC des plantes aromatiques et médicinales, Ed. Flammarion, France. pp752.

**Loïc G., 1980.** Connaitre et reconnaitre les plantes médicinales. Ed. QUEST, France. pp 239.

**Medina E., Brenes M., Romero C., García A., De Castro A., 2007.** Main Antimicrobial Compounds in Table Olives. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 55. (2007). pp 9817-9823.

## Référence bibliographiques

---

- Maurice N., 1997.** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI<sup>e</sup> siècle. Ed. Lavoisier, Paris; pp12- 14.
- Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z. 2007.** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*; 104: pp 1258-1268.
- Maillard P., 1975.** L'olivier. Comité technique de l'olivier section spécialisée de l'INVFLEC. Paris, 137 p.
- Markin D., Duek L., Berdicevsky I., 2003.** In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses*. Vol. 46. (2003). pp. 132-136.
- Miliauskas G., Venskutonis P.R., Van Beek T.A., 2004.** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry.*, 85 : pp 231-237.
- Mylonaki S., Kiassos E., Makris D.P., Kefalas P., 2008.** Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal. Bioanal. Chem.*, 392(5), 977-985.
- Moyse H. et Paris R., 1971.** Précis de matière médicale. Tome III. Ed. Masson et C<sup>ie</sup> pp. 29-3.
- Marjorie M.C., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. pp 564-582.
- Nacoulma O.G., 1996.** Plante médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina-Faso : cas du plateau central. Thèse doctorat d'état. Université de Ouagadougou, Burkina-Faso. Tome I, 32p. Tome II. pp 261.
- Newman D.J., Cragg G.M., 2007.** Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J. Nat. Prod*, 70, pp 461-477.
- Owen P., Johens T., 1999.** Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*. 64: pp 149-160.
- Oloyede O.I., 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr*. 2005 ; 4 : pp 379 – 381.
- Owen N., Leslie E., Salmon J., Fotheringham M.J., 2000.** Environmental determinants of physical, activity and sedentary behavior. *Exercise and sport Sciences Review*, 28: pp 153-158.
- Paris R., Moyse H., 1971.** Matière médicale, Tome 1-3, Ed : MASSON, volume : 416, pp 29-31.
- Parejo I., Viladomat F., Bastida J., 2003.** Investigation of bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sci*, 73 : pp 1667-81.
- PDR, 1998.** For Herbal Medicines. New Jersey: Medical Economics Company. pp 999–1000.

## Référence bibliographiques

---

- Perrinjaquet-Moccetti T., Busjahn A., Schmidlin C., Schmidt A., Bradl B., Aydogan C., 2008.** Food supplementation with an olive (*Olea europaea* L.) leaf extract reduces blood pressure in borderline hypertensive monozygotic twins. *Phytotherapy Research*, 22, pp 1239-1242.
- Polzonetti V., Egidì D., Vita A. 2004.** Involvement of oleuropein in digestive metabolic pathways. *Food Chemistry*. 88; pp 1-15.
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. Roura S.I., 2003:** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology Elsevier*. pp 684.
- Prescott L., Harley J., Klein D., 2003.** *Microbiologie*. De boeck (Ed). Bruxelles. pp 1135.
- Pereira A.P., Ferreira R.F., Marcelino F., Valentao P., Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A., Pereira P.A., 2007.** Phenolic compound and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv Cobrancosa) leaves. *Molecules*, 12: pp 1153-1162.
- Rameau J.C., Dumé G., mansion D., Gaberville G., Bardat J., Bruno E., Kelles R., 2008.** *Flore forestière française, région méditerranéenne ; Guide écologique illustré, Edition 3*, pp775.
- Ranalli A., Contento S., Lucera L., Febo M. D., Marchegiani D., Fonzo V. D., 2006.** Factors affecting the contents of Iridoid Oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp 775.
- Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R. 1992.** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. 35 : pp 275-283.
- Rotondi A., Magli M., 2004.** Ripening of olives var. Correggiolo: Modification of oxydative stability of oils during fruit ripening and oil storage. *J. Food Agric. Env.* 2, pp193-199.
- Saleh N.K., Saleh H.A., 2011.** Olive Oil effectively mitigates Ovariectomy induced Osteoporosis In Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, pp 11-10.
- Scimeca D., Tetau M., 2005.** *Votre santé par les huiles essentielles*. Ed. Alpen, pp 94.
- Sanhaji O., 2005.** Etude de l'activité antifongique des extraits de cannelle. *Journal de mycologie médicale*. Vol 15. pp 220-229.
- Savournin C., Baghdikian B., Elias R., Dargouth-Kesraoui F., Boukef K., Balansard G., 2001.** Rapid High-Performance Liquid Chromatography Analysis for the Quantitative Determination of Oleuropein in *Olea europaea* Leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 49; pp 618-621.



## Référence bibliographiques

---

**Schauenburg, 1977.** Guide des plantes médicinales, analyse description et utilisation de 400 plantes pp 08.

**Scalbert A., 1991.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*.30(12) : pp 3875-3883.

**Sudjana A.N., D’Orazio C., Ryan V., Rasool N., Islam N., Riley T., Hammer KA., 2009.** Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. I. J. Antimicrob. Agents. Vol. 33. (2009). pp. 461-463.

**Tadashi U., 2006.** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese. Application: JP 2006191845 A 20060727, pp 7.

**Tassou C-C., Nychas G.J.E., 1994.** Inhibition of *Staphylococcus aureus* by olive phenolics in broth and in food model system. *J. Food Prot.* Vol. 57. (1994). pp. 120-124-132.

**Terral JF., Arnold- Simard G., 1996.** Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in relation to Holocene bioclimatic changes. *Quaternary Res.* 46, pp 176-85.

**Thomas D., Anemone T., Marianne W.L., Armin W., 2006.** Cosmetic and dermatological composition for the treatment of aging or photodamaged skin. Patent written in German. EP 2005- 20052 20050915, pp 40.

**Trease E., Evans W.C., 1987.** *Pharmacognosy Billiaire.* Editions Tindall London 13, pp 61-62.

**Tsimogiannis D.I., Oreopoulou V., 2004.** Free-radical scavenging and antioxidant activity of 5, 7, 3',4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5, pp 523-528.

**Vladimir A., 2008.** L’olivier et les vertus thérapeutiques de ses feuilles, pp78.

**Vermeris W., Nicholson R., 2006.** Isolation and Identification of Phenolic Compounds, *Phenolic Compound Biochemistry.* Dordrecht : Springer.

**Visioli F., Galli C., 2002.** Biological properties of olive oil phytochemicals. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 42; pp 209-210.

**Visioli F., Poli A., Galli C., 2002.** Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev:* 22; pp 65–75.

**Zohary D., 1973.** Domestication of plants in the Old World. The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. Clarendon Press, Oxford.





### ❖ Préparation de la solution de DPPH

On met 4g de DPPH dans 100 ml d'éthanol, on agite bien à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à la dissolution totale de DPPH pour obtention d'une solution aqueuse de couleur violacée.

### ❖ Résultats de l'activité antioxydante par la technique de piégeage du radical libre DPPH

**Tableaux V** : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanoliques obtenu par macération

<b>Concentration mg/ml</b>	0,14	0.11	0.08	0.07	0.05	0.02
<b>Pourcentage de la réduction (%)</b>	56,53	47,47	37,25	25,76	19,16	5,64

**Tableaux VI** : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanoliques obtenu par soxhlet.

<b>Concentration mg/ml</b>	0.08	0.07	0.05	0.04	0.03	0.02	0.008
<b>Pourcentage de la réduction (%)</b>	86,59	86,12	84,17	73,67	62,51	43,43	25,76

**Tableaux VII** : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

<b>Concentration mg/ml</b>	0.14	0.11	0.08	0.07	0.05	0.02	0.008
<b>Pourcentage de la réduction (%)</b>	51,65	42.60	33.53	30.53	23,24	17,96	11,82

### ✚ Préparation des extraits de la plante

#### ❖ Préparation de l'infusé à 10%

On met 10g de poudre des feuilles dans 100ml d'eau distillé bouillante puis on laissée 20 minute pour infusion avec agitation de temps en temps, puis nous filtrons.

**La dose administrée :**

$$10\text{g} \longrightarrow 100\text{ml}$$

$$X \longrightarrow 2 \text{ ml}$$

$$X=0.2\text{g} = 200\text{mg}.$$

- **200mg /kg** c'est la concentration de l'infusé à 10%.

#### ❖ Préparation de l'infusé à 20%

On met 20g de poudre des feuilles dans 100ml d'eau distillé bouillante puis on laissée 20 minute pour infusion avec agitation de temps en temps, puis en filtrons.

**La dose administrée**

$$20\text{g} \longrightarrow 100\text{ml}$$

$$X \longrightarrow 2 \text{ ml}$$

$$X=0.4\text{g} = 400\text{mg}$$

- **400mg /kg** c'est la concentration de l'infusé a 20 %.

### ✚ Préparation de solution de glucose

On met 50g de glucose (de D<sup>+</sup> glucose monohydrate pure(C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>H<sub>2</sub>O)) dans 100ml d'eau distillé et agité bien jaus qua la dissolution totale de glucose pour obtention d'une solution aqueux.

**La dose administrée**

$$50\text{g} \longrightarrow 100\text{ml}$$

$$2\text{g} \longrightarrow X$$

$$X = 4\text{ml}.$$

 Les résultats obtenus

**Tableau VI** : Résultat de l'activité hypoglycémiante de l'extrait des feuilles d'*Olea europea* var. *sylvestris*.

Lots		Glycémie (g/l de sang)						
		T <sub>0</sub>	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	
Lots témoins	Non traités	1,02±0,007	2,05±0,11	1,83±0,15	1,61±0,16	1,43±0,20	1,15±0,073	
	Glibenclamide 10mg/ml	1,01±0,1	1,88±0,43	1,29±0,20	1,11±0,14	0,98±0,10	0,85±0,14	
	Réduction %	-	8,3	29,51	31,06	31,47	26,09	
Lots d'essais	Extrait de poudre des feuilles (l'infusé à 10%)	100mg/ml	1,1±0,1	1,98±0,15	1,68±0,02	1,23±0,16	1,04±0,05	0,98±0,01
		Réduction %	-	3,42	8,2	23,60	27,27	14,78
	Extrait de poudre des feuilles (l'infusé à 20%)	200mg/ml	0,92±0,025	1,68±0,05	1,42±0,06	1,14±0,07	0,98±0,07	0,89±0,05
		Réduction %	-	18,05	22,41	29,19	31,47	22,61

Remarques : les résultats obtenus, sont la moyenne des lots ; ± l'écart type

### ➤ Préparation de l'extrait à teste

#### ❖ Préparation de l'infusé à 10%

Nous avons posé 10g de poudre des feuilles dans 100ml d'eau distillé bouillante puis on laissée 20 minute pour infusion avec agitation de temps en temps, puis en filtrons.

#### ❖ Préparation de l'infusé de 20%

Nous avons posé 20g de poudre des feuilles dans 100ml d'eau distillé bouillante puis on laissée 20 minute pour infusion avec agitation de temps en temps, puis en filtrons.

### ✚ **Méthode d'ensemencements**

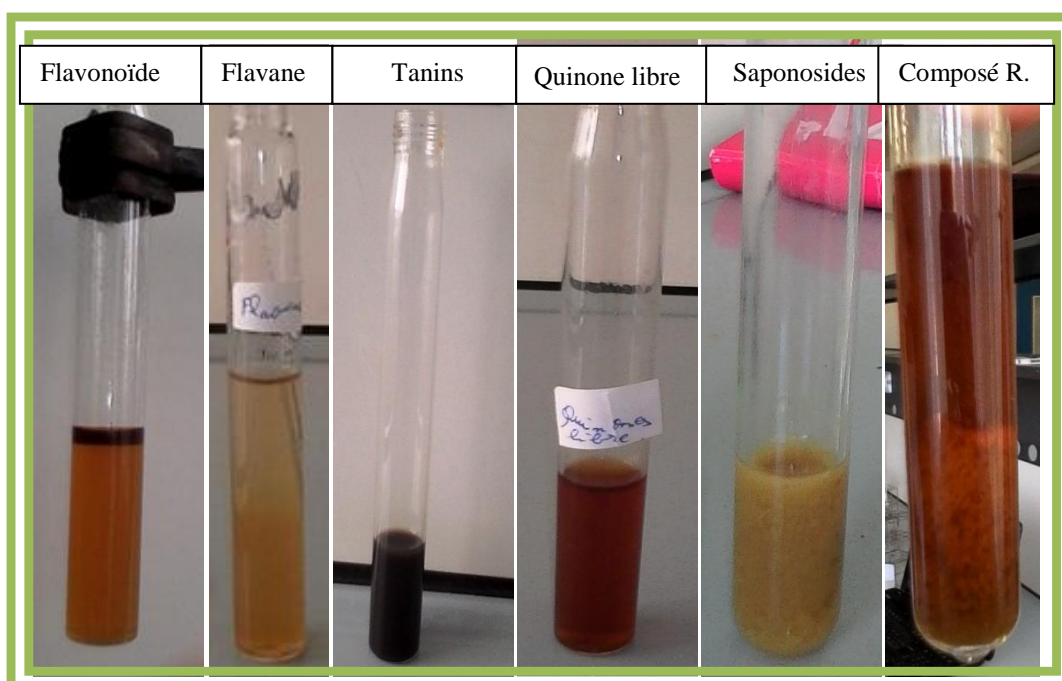
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passe l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où ensemenecer plusieurs boites de Pétri avec la même souche.

✚ Matériel non biologiques

Appareillages	Verreries	Matériel consommable	Produits chimiques et réactifs
<b>-agitateur magnétique</b>	-béchers	-anse de platine	-acide sulfurique.
<b>-autoclave</b>	-entonnoir	-boites de Pétri stériles	- acétate de plomb
<b>-bain marie</b>	-éprouvette	-coton	-hydroxyle de potassium
<b>-balance analytique</b>	graduée	-disques	- alcool iso-amylque
<b>-bec Bunsen</b>	-erlenmeyer	d'antibiogramme stériles	- alcool chlorhydrique
<b>-boîte de contention pour les lapins</b>	-fioles	-Egouilles de seringues	- chlorure ferrique
<b>-balance pour pressée les animaux</b>	-pipettes gradées	-écouvillons	-chlorure d'hydrogène
<b>-chariot pour analyse</b>	-spatules	-micropipettes	- copeaux de magnésium
<b>-étuve à température réglable</b>	-tubes à essai	-pince	-DMSO
<b>-évaporateur rotatif</b>		-pipettes Pasteur	- D <sup>+</sup> glucose monohydrate
<b>-mixeur</b>		- seringue en plastique équipée d'une sonde Œsophagique	-DPPH
<b>-réfrigérateur</b>			-eau distillée
<b>-soxhlet</b>			-eau physiologique
<b>-spectrophotomètre UV-Visible</b>			-éthanol
<b>-Incubateur</b>			- Folin Ciocalteu
			-méthanol
			- réactif de « Dragendorff »
			- solution Fehling
			- trichlorure d'Alumium
			-vanilline

**Tableaux III:** Rendement d'extraction par éthanol.

Méthode d'extraction	Masse de la matière (g)	Masse de l'extrait récupéré (g)	Rendement R%
Macération dans l'éthanol	10	4.2	42%
A chaud par soxhlet à éthanol	20	4	20%

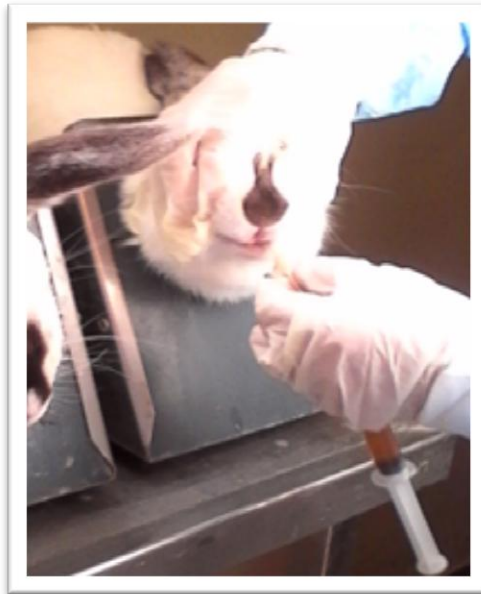
**Figure 12 :** Résultats du screening phytochimiques sur l'extrait aqueux (infusé) des feuilles d'*Olea europea* var. *sylvestris*.



**Figure 07 :** Plante séchée (Original, 2015).



**Figure 08 :** Plante broyée (Original, 2015).



**Figure10 :** Gavage des lapins à l'aide d'une seringue en plastique équipée d'une sonde œsophagique (original, 2016).



**Figure 11:** Détermination du taux de glycémie (Originale, 2016)