

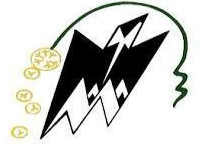
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique Université

Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

**Activité anti-inflammatoire de
l'extrait de l'huile de l'oléastre
(*Olea europaea* subsp *sylvestris*)**

Présenté par :

BENALI Hayette

OUAZENI Lamia

Soutenu le 30 Juin 2024

Devant le jury :

Président du Jury : Mme Iratni-Aiche G.

Maître de conférences à UMMTO

Promoteur : Mme Lahcene S.

Maître de conférences à UMMTO

Co-promotrice : Mme Sadoun N.

Maitre assistante à UMMTO

Examinatrice : Mme Ouzid Y.

Maître de conférences à UMMTO

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce mémoire.

Nous tenons à remercier Mme Iratni-Aiche de nous faire l'honneur de présider le jury de notre mémoire. Nous remercions également Mme Ouzid d'avoir accepté d'examiner ce travail et d'être membre du jury.

Nos vifs remerciements vont à Mme Lahcene pour son suivi, son aide, ses orientations, sa confiance, ses conseils et ses encouragements permanents tout au long de la réalisation de ce mémoire, et d'avoir accepté d'être notre promotrice.

Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements à notre co-promotrice, Mme Sadoun pour nous avoir guidées tout au long de ce travail, pour ses conseils et pour avoir répondu à nos questions.

Nous exprimons notre gratitude à M. Houali pour nous avoir accueillies au sein du LABAB et d'avoir mis à notre disposition toutes les ressources nécessaires à la réalisation de ce travail.

Pour finir, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de notre travail.



Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes parents qui m'ont soutenu et encouragé durant ces années d'études.
Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Grand dédicace A mon chère mari pour son amour, pour sa grande patience, je le remercie chaleureusement surtout son soutien moral, ta présence à mes côtés a été une source de force et de joie et de bonheur et de réconfort inestimable. Que dieu te protège et te garde toujours.

A ma sœur et mes frères qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A tous mes amis Ania.L Hadil.B Meroua.B khadijda.Acyliya.T Amel.B qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

Sans oublier ma chère binôme Lamia , pour sa soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet et elle est toujours à mes côtés.



Dédicaces

C'est avec un grand plaisir que je dédie cet événement marquant de ma vie :

A mon cher père Rachid,

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, la valeur du courage et de la persévérance, tes mots résonnent toujours en moi comme un guide dans les moments difficiles. Je t'aime papa et j'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue.

A mon chère mère Baya,

Lumière de ma vie et source infinie d'amour, quoi que je fasse ou que je dise je ne saurais pas te remercier comme il doit, je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lequel elle m'ont toujours entouré depuis mon enfance, ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Je t'aime maman, mon cœur, j'implore le tout puissant vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A mon cher et unique frère Amine et A ma chère et unique sœur Hanane,

Je vous remercie, qui ne sont pas cessés de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, pour votre longue patience avec moi et votre soutien inestimable et l'attention et l'aide que tu m'as apportée. Mes amoureux Je vous souhaite que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur et une joyeuse vie.

A tous les membres de ma famille OUAZENI et MEHDI,

A tous mes chers ami(e)s,

En particulier, Maroua. B, , Latifa. A, Imene. A, Razika. S, Meryem. C, Sabrina. D, leurs conseils précieux, et tous les sentiments qu'ils me témoignent.

Résumé

L'olivier (*Olea europaea L.*) est l'un des arbres fruitiers les plus importants et répandus dans le bassin méditerranéen. Parmi ses sous-espèces sauvages, l'oléastre (*Olea europaea subsp. sylvestris*) se distingue par sa résistance et ses bienfaits pour la santé. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de l'huile de l'oléastre.

L'extraction des composés phénoliques de cette huile produit un rendement de 0,13 %. L'analyse quantitative de l'extrait révèle une teneur en polyphénols totaux de 18,8 mg EAG/kg d'huile et une teneur en flavonoïdes de 27 mg EQ/kg d'huile.

L'activité anti-hémolytique de l'extrait montre que le pourcentage d'hémolyse diminue de 35,13 % à 0,16 % avec l'augmentation des concentrations d'extrait allant de 20 à 100 mg/ml, indiquant un effet protecteur sur les membranes érythrocytaires. L'évaluation de la protection contre la dénaturation thermique de l'albumine révèle une protection variant de 3 % à 54 % avec une concentration maximale de 100 mg/mL d'extrait. L'IC₅₀ de l'aspirine est de 716 µg/mL, tandis que celle de l'extrait est de 92 310 µg/mL. Cela démontre une activité anti-inflammatoire de la molécule pure et de l'extrait.

L'extrait de l'huile de l'oléastre, riche en polyphénols et en flavonoïdes, présente des propriétés anti-inflammatoires et protectrices notables, soulignant son potentiel thérapeutique.

Mots clés : huile d'olive, Oléastre, polyphénols, flavonoïdes, activité anti- inflammatoire, activité anti hémolytique.

Abstract

The olive tree (*Olea europaea* L.) is one of the most important and widespread fruit trees in the Mediterranean basin. Among its wild subspecies, the oleaster (*Olea europaea* subsp. *sylvestris*) stands out for its resilience and health benefits. The aim of this study is to evaluate the anti-inflammatory activity of the oleaster oil extract.

The yield of phenolic compounds extract from this oil is 0.13%. Quantitative analysis of the extract reveals a total polyphenol content of 18.8 mg GAE/kg of oil and a flavonoid content of 27 mg QE/kg of oil.

The anti-hemolytic activity of the extract shows that the percentage of hemolysis decreases from 35.13% to 0.16% with increasing extract concentrations ranging from 20 to 100 mg/mL, indicating a protective effect on erythrocyte membranes. The evaluation of protection against thermal denaturation of albumin reveals protection ranging from 3% to 54% with a maximum concentration of 100 mg/mL of extract. The IC₅₀ of aspirin is 716 µg/mL, while that of the extract is 92,310 µg/mL. This demonstrates an anti-inflammatory activity of the pure molecule and the extract.

The oleaster oil extract, rich in polyphenols and flavonoids, exhibits notable anti-inflammatory and protective properties, highlighting its therapeutic potential.

Keywords : olive oil, wild olive, polyphenols, flavonoids, anti-inflammatory activity, anti-hemolytic activity.

تلخيص

يعد *Olea europaea subsp sylvestris* واحدًا من أكثر أنواع نباتات البحر الأبيض المتوسط مقاومة للظروف القاسية. وبالإضافة إلى ذلك، فإنها تحتل مكانة أساسية في المجال الاجتماعي والاقتصادي لبلدان البحر الأبيض المتوسط وحتى خارجها. بمثابة الجذر لأشجار الزيتون المزروعة. الأوليستر هو نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي في الجزائر. تتمتع بفضائل علاجية مختلفة، كما أن زيتها وأوراقها مطلوبة بشدة لعلاج ارتفاع ضغط الدم والسكري والالتهابات الفيروسية والبكتيرية. تم إجراء دراسة كيميائية نباتية على المستخلص الميثانولي لزيوت *sylvestris olea europaea* والتي أظهرت ثراء إجمالي محتوى البوليفينول البالغ 18.8 ملجم / EAG كجم من الزيت ومحتوى الفلافونويد الإجمالي 27 ملجم مكافئ / كجم.

ومن ناحية أخرى، قمنا بتقييم قدرة انحلال الدم بقيمة 35.13%. حتى 0.16%. من ناحية أخرى، تم تقييم قدرة المستخلص على تثبيط تمسخ الألبومين الحراري وحماية غشاء خلايا الدم الحمراء وكانت النتائج المتحصل عليها على التوالي من 3 إلى 54%. يعطي مستخلصنا قيمة IC50 تساوي 92,310 ميكروجرام/مل.

من النتائج التي تم الحصول عليها يمكن أن نستنتج أن المستخلص الميثانولي لزيوت *sylvestris subp Olea europaea* له

تأثير

وقائي ضد تمسخ الألبومين الحراري وخاصية مضادة للالتهابات.

الكلمات المفتاحية: زيوت *sylvestris subp Olea europaea* ، إجمالي البوليفينول، إجمالي الفلافونويد، نشاط مضاد

للتهابات، ن

شباط مضاد للانحلال، قيمة IC50.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE 2

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIERE PARTIE : PRESENTATION DE L'OLEASTRE

1.1.1.	Généralités sur l'espèce.....	6
1.1.1.1.	Présentation de l'espèce et historique.....	6
1.1.1.2.	Classification	6
1.1.1.3.	Description botanique	7
1.1.1.4.	Aires de répartition de l'Oléastre	9
1.1.1.4.1.	A l'échelle mondiale	9
1.1.1.4.2.	En Algérie.....	10
1.1.1.5.	Usages et vertus.....	10
1.1.2.	Le régime méditerranéen, les polyphénols et l'inflammation	11

DEUXIEME PARTIE : LES COMPOSES PHENOLIQUES

1.2.1.	Généralités sur les polyphénols... ..	13
1.2.1.1.	Les flavonoïdes.....	15
1.2.1.1.1.	Rôle des flavonoïdes	16
1.2.1.2.	Les tanins.....	16
1.2.1.2.1.	Les tanins hydrolysables	16
1.2.1.2.2.	Les tanins condensés.....	16
1.2.1.2.3.	Rôle des tanins	17
1.2.2.	Activités biologiques des oliviers et leurs extraits	17

TROISIÈME PARTIE : L'INFLAMMATION

1.3.1.	Définition de l'inflammation	19
--------	------------------------------------	----

1.3.2.	Les types d'inflammation	19
1.3.2.1.	L'inflammation aiguë	19
1.3.2.1.1.	Phase vasculaire (réaction vasculo-oxydative).....	19
1.3.2.1.2.	Phase cellulaire (migration des leucocytes)	20
1.3.2.1.3.	Phase de résolution (phase de réparation)	20
1.3.2.2.	Inflammation chronique	20
1.3.3.	Les médiateurs inflammatoires	21
1.3.4.	Traitements préconisés	22
1.3.4.1.	Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	23
1.3.4.2.	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	23

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

2.1.	Matériel	26
2.1.1.	Matériel végétal	26
2.1.2.	Prélèvements sanguins	26
2.2.	Méthodes	26
2.2.1.	Extraction des composés phénoliques.....	26
2.2.2.	Détermination du rendement en composés phénoliques	26
2.2.3.	Analyse quantitative	27
2.2.3.1.	Détermination de la teneur en composés phénoliques.....	27
2.2.3.2.	Détermination de la teneur en flavonoïdes.....	27
2.2.4.	Activité anti-hémolytique.....	27
2.2.4.1.	Préparation de l'hématocrite.....	27
2.2.4.2.	Test de d'hémolyse.....	28
2.2.5.	Activité anti-inflammatoire	28
2.2.5.1.	Évaluation de l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine	28

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1.	Rendement d'extraction des composés phénoliques	31
3.2.	Analyse quantitative	31
3.2.1.	Teneur en polyphénols	31
3.3.	Teneur en flavonoïdes.....	32
3.4.	Activité anti-hémolytique	33
3.5.	Evaluation de la protection contre la dénaturation thermique de l'albumine	35

CONCLUSION.....	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	40

Liste des abréviations

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.

COX : Cyclooxygénase.

DO : Densité Optique.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EQ : Équivalents de Quercétine.

EAQ : Équivalents Acide Gallique.

GR : Globule Rouge.

GC : Glucocorticoïdes.

IC50 : Concentration Inhibitrice 50.

LABAB : Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologique.

PG : Prostaglandine.

PN : Polynucléaire.

PPT : Polyphénols Totaux.

PBS : Tampon Phosphate Salin.

PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns.

PRR : Pattern Recognition Receptors.

NO : Oxyde Nitrique Synthase.

Liste des figures

Figure 1. Aspect morphologique l'oléastre(Haniche,2020).....	7
Figure 2. Aspect morphologique des rameaux d'olivier sauvage (Haniche, 2020).....	8
Figure 3. Aspect du fruit de l'oléastre (Chekini et Harouni, 2021).	8
Figure 4. Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivé dans le bassin Méditerranéen (Carrion et al, 2010).....	9
Figure 5. La carte de l'oléiculture de l'Algérie (Khoumeri 2009).....	10
Figure.6 : Structure des bases des flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011).....	15
Figure.7 Structure de différentes familles de flavonoïdes.....	15
Figure 8 : Courbe étalon de l'acide gallique.....	31
Figure 9 : Courbe étalon de la quercétine.....	33
Figure 10 : Histogramme des pourcentages d'hémolyse des différentes concentrations de l'extrait et du DMSO.....	34
Figure 11 : Pourcentages de protection de l'extrait d'huile d'olive (A) et de l'aspirine (B) vis- à-vis de la dénaturation thermique de l'albumine.....	35

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principales classes des composés phénoliques (Boubekri, 2014).....	14
Tableau 2 : Les principaux médiateurs de l'inflammation (Rinkin,2004 ; Henrotin et al., 2001).....	22

Introduction générale

L'inflammation est une réponse biologique du corps à des micro-organismes infectieux tels que les bactéries, virus ou champignons, ainsi qu'à des dommages tissulaires, la mort cellulaire, le cancer, l'ischémie et la dégénérescence (Azab et *al.*, 2016). Elle se manifeste par une augmentation du flux sanguin, provoquant rougeur et chaleur, ainsi qu'un gonflement dû à une perméabilité accrue des capillaires, visant à réparer les tissus endommagés et à protéger l'organisme (Elgorashi et McGaw, 2019). Cependant, lorsque ce processus devient dysfonctionnel ou prolongé, il peut évoluer vers un état chronique, exacerbant des pathologies telles que l'asthme, l'arthrite, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, les maladies cardiovasculaires et les troubles neurodégénératifs (Dvorakova et Landa, 2017).

Pour traiter l'inflammation, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les corticostéroïdes sont couramment prescrits (Dvorakova et Landa, 2017). Toutefois, ces médicaments sont associés à des effets secondaires dangereux comme les lésions gastro-intestinales, le risque accru d'événements cardiovasculaires et l'immunosuppression (Bindu et *al.*, 2020 ; Chattopadhyay, 2022).

Face à ces défis, la recherche de nouvelles classes d'agents thérapeutiques ciblant les mécanismes inflammatoires sans compromettre la santé globale des patients est cruciale (Dvorakova & Landa, 2017). Les plantes médicinales suscitent un intérêt particulier en raison de leurs métabolites secondaires aux effets curatifs bien établis (Nunes et *al.*, 2020). Parmi ces sources prometteuses, l'olivier (*Olea europaea L.*) se distingue comme l'un des arbres fruitiers les plus importants et répandus dans le bassin méditerranéen (Dias et *al.*, 2020). L'huile d'olive, produit majeur dérivé de ses fruits, est hautement appréciée non seulement pour sa saveur et sa valeur nutritionnelle élevée, mais aussi pour ses bénéfices remarquables pour la santé, attribués à sa forte teneur en acide oléique et en polyphénols (Chikhi & Djelloul, 2022; Espínola et *al.*, 2021). Ses composés bioactifs, comme l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine, ont démontré des effets antimicrobiens, antiviraux, antioxydants et anti-inflammatoires dans divers modèles précliniques et études épidémiologiques (Gorzynik-Debicka et *al.*, 2018).

Des recherches indiquent que l'huile d'olive extraite des oliviers sauvages (*Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris*) présente des concentrations plus élevées en phénols, tocophérols et antioxydants par rapport à celle issue de l'olivier cultivé (Bouarroudj et *al.*, 2016) (Dabbou et *al.*, 2011). Cette richesse en polyphénols fait de l'huile d'olivier sauvage une alternative potentiellement plus intéressante pour la santé par rapport à celle issue de l'olivier cultivé.

Dans ce contexte, la présente étude se concentre sur la caractérisation de l'extrait de l'huile de l'olivier sauvage à travers une analyse quantitative et une évaluation de son activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire.

Ce manuscrit se compose de trois chapitres principaux.

Le chapitre I constitue une synthèse bibliographique qui inclut la description botanique de la sous-espèce étudiée (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*), les composés phénoliques, ainsi que l'inflammation en détaillant ses types, ses médiateurs et les traitements associés.

Le chapitre II est dédié à l'expérimentation. Il décrit le matériel utilisé, les protocoles expérimentaux et les méthodologies adoptées.

Le chapitre III présente les résultats expérimentaux obtenus, accompagnés d'une analyse et d'une discussion approfondies.

La conclusion récapitule l'ensemble des résultats et ouvre des perspectives pour de futures recherches.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Première partie
Présentation de l'oléastre

1.1.1. Généralités sur l'espèce

1.1.1.1. Présentation de l'espèce et historique

La méditerranée a toujours été liée à la culture de l'olivier, du fait des différentes conditions écologiques, les premières traces de la présence de l'olivier à l'état sauvage, remontent au tertiaire (Langer, 2008). Le terme oléastre désigne pour le biologiste, un arbre appartenant à une population sauvage vraie, c'est-à-dire une lignée *Olea europaea* qui n'aurait jamais bénéficié d'intervention de l'homme pour se propager (Bervillé et Breton, 2012)

Selon Terral et al. (2009), les origines lointaines de l'olivier (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) remontent à l'ère tertiaire. L'étude des noyaux de fruits d'oléastres et des restes de bois carbonisés a mis en évidence une protoculture et une exploitation de l'olivier avant l'antiquité. C'est ainsi que de nouvelles variétés provenant de nombreuses contrées de la Méditerranée se sont installées suite aux mélanges des techniques et des savoir-faire. Pour Chevalier (1948), tous les oléastres sont issus d'un type ancien spécifique qui présente des formes nombreuses *O. chrysophylla* Lamk. L'oléastre, était considéré comme un taxon sans intérêt par les chercheurs et les oléiculteurs (Breton et Bervillé, 2012), mais il a été utilisé pour la culture de l'olivier dès l'an 37000 avant Jésus-Christ en Grèce (Bolmont et al., 1998). La dénomination d'olivier tient son origine des Grecs antiques « Elaia » puis c'est devenu « Olea » chez les Romains (Rhizopoulou, 2007).

La présence d'oliviers sauvages sur le territoire nord-africain pose l'hypothèse que l'origine de l'olivier est africaine ; sa présence au Sahara date de 120 000 ans (Bolmont et al., 1998).

1.1.1.2. Classification

L'espèce *Olea europaea* L. appartient à la famille des *Oléacées*. Plus de 2 000 variétés sont recensées dans le monde. Les techniques de la biologie moléculaire ont apporté un positionnement exact de l'olivier sauvage et de l'olivier cultivé, depuis le siècle dernier (Artaud, 2008). D'après la classification de Cronquist, (1981), le genre *Olea* appartient :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Scrophulariales*

Famille : *Oleaceae*

Genre : *Olea*

Espèce : *Olea europaea* L.

Sous-espèce : *Olea europaea* L. ssp. *Oleaster* Hoffm. et Link ou *O. europaea* L. subsp. *sylvestris* Miller).

1.1.1.3. Description botanique

Nombreux sont les auteurs qui ont fait une description botanique de l'olivier sauvage. D'après Besnard (2009), l'oléastre, rencontré dans les bois méditerranéens, est décrit comme un arbuste ou arbrisseau, vivace à port buissonnant, rameux. Les rameaux sont raides, quadrangulaires et épineux, contrairement à l'espèce cultivée où le tronc est bien structuré puis ramifié en plusieurs branches (Fig.1).

Le nom d'oléastre est réservé pour des formes d'apparence spontanée, en buissons souvent L'oléastre est un arbuste de 1-3 m, il s'agit d'une plante sempervirente, à feuillage glauque, fleurissant en Mai-Juin. Il se présente sous deux formes non distinguables morphologiquement, « oléastre vrai » qui est la forme sauvage naturelle et « l'oléastre féral », et la forme cultivée retournée à l'état sauvage (Besnard et al., 2000).



Figure 1. Aspect morphologique l'oléastre (Haniche, 2020).

D'après Boucher et al., (2011). L'oléastre possède des feuilles petites 3- 4cm (Fig.2 A). Elles sont blanches argentée sur la face inférieure, vert grisâtre sur la face supérieure. Elles

peuvent subir diverses modifications leur permettant de s'adapter à des situations environnementales particulières (Breton et *al.*, 2006). Les fleurs sont discrètes, blanches, odorantes, forment des grappes courtes et serrées ; elles présentent un calice à 4 sépales, une corolle courte à quatre pétales, deux étamines insérées sur le tube de la corolle. Un ovaire simple, ovoïde à deux loges biovulées, surmonté d'un style simple, très court, épais, terminé par un stigmate épais, allongé, bilobé (Fig.2B).



A : Les feuilles

B : Les fleurs

Figure 2. Aspect morphologique des rameaux d'olivier sauvage (Haniche, 2020).

Les fruits, appelés « drupes », sont nombreux, ovoïdes, petits et peu charnus. Ils sont luisants, verts puis noirs à maturité, à noyau dur fusiforme à arrondi. Ils sont fréquemment consommés par les oiseaux, les noyaux des olives sont disséminés sur d'autres territoires, la dissémination de l'espèce est dite zoochore. (Fig.3)



Figure 3. Aspect du fruit de l'oléastre (Chekini et Harouni, 2021).

1.1.1.4. Aires de répartition de l'Oléastre

1.1.1.4.1. A l'échelle mondiale

Selon Ghedira (2008), le genre *Olea* comprend une trentaine d'espèces différentes dans le monde. *Olea europaea* est la seule espèce portant des fruits comestibles, laquelle se divise en 2 sous espèces : *Olea europaea sylvestris* ou oléastre (l'olivier sauvage) et *Olea europaea sativa* ou l'olivier cultivé. Les formes spontanées ou sub-spontanées d'oléastre se trouvent essentiellement dans les maquis de la région méditerranéenne (Fig.4). Où ils forment de vraies forêts en Espagne, en Algérie et en Asie Mineure (Chevalier, 1948).

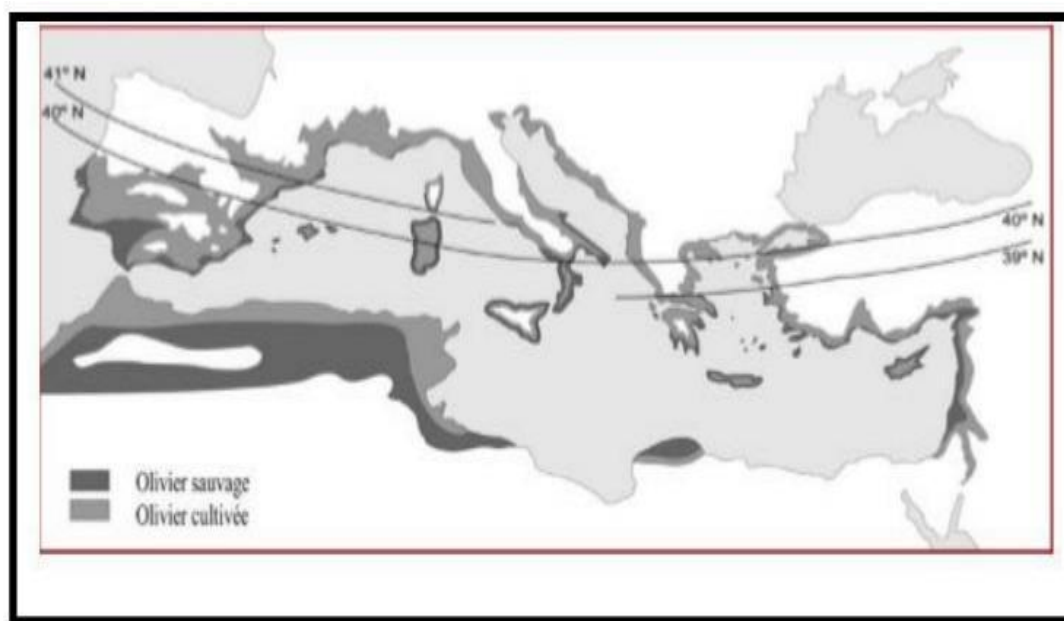


Figure 4. Aire de répartition de l'olivier sauvage et cultivé dans le bassin méditerranéen.
(Carrion et al, 2010).

1.1.1.4.2. En Algérie

L'olivier occupe à l'échelle nationale environ 45 % de la surface arboricole avec plus de 245.500 ha répartis sur tout le territoire national en particulier au Nord de l'Algérie. La surface oléicole en Algérie est répartie sur quatre principales régions à l'an de 1999 (COI, 2010).

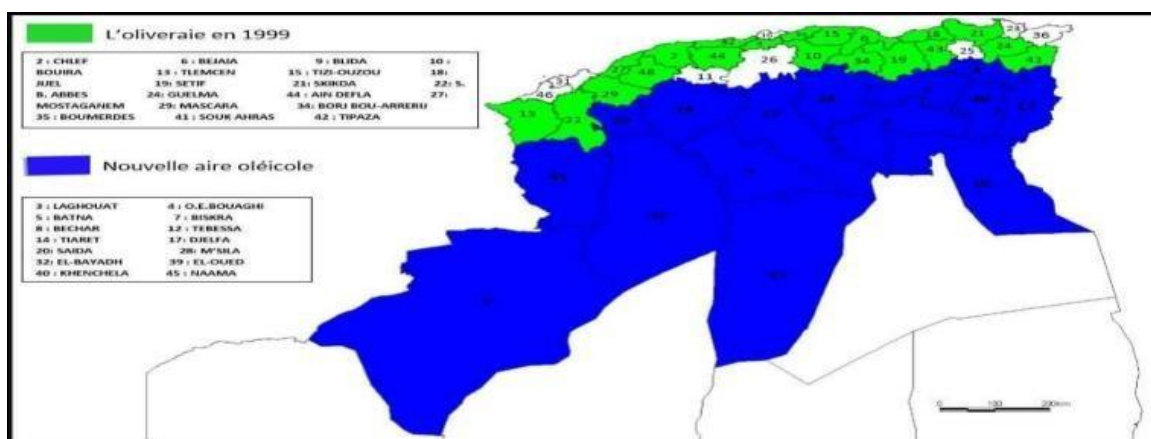


Figure 5. La carte de l'oléiculture de l'Algérie. (Khoumeri, 2009).

Le centre, avec 54.3% de la superficie totale (Sétif, Boumerdes) ;

- L'est, avec 28% (Tlemcen, Bel Abbès, Chlef) ;
- L'ouest, avec 17% (Guelma, Tarf) ;
- Le sud, avec 0.4% (Biskra, Bechar, Saida, Batna).

En 2009 l'olivier est cultivé au Nord de l'Algérie à une distance de 8 à 10 Km de la mer. En 2009, la superficie a été évaluée à plus de 310000 hectares (Fig.5). D'après le (FAO, 2013), la superficie oléicole en Algérie est estimée à 348196 ha

1.1.1.5. Usages et vertus

Les produits végétaux sauvages récoltés ont généralement une valeur soit de consommation ou commerciale. Parmi eux, nous avons les oliviers sauvages. Son huile servait dans la fabrication des parfums, carburant de lampe, de lubrifiants et le bois est employé pour la boiserie et comme carburant (Terral et al., 2009). Comme il est doté de vertus thérapeutiques de ce fait est employées pour des préparations médicinales (Firestone, 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. Ils sont riches en bioactifs (Wainstein et al., 2013). Leur extrait manifeste une certaine utilité thérapeutique, pour modérer l'hypertension artérielle et pour les formes légères de diabète au cours de la grossesse ou en cas d'obésité (Ghedira, 2008). De même pour traiter la fièvre et d'autres maladies comme le paludisme. Les feuilles possèdent également des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoire, hypoglycémique et hypocholestérolémiantes.

1.1.2. Le régime méditerranéen, les polyphénols et l'inflammation

L'huile d'olive est la principale huile alimentaire consommée en région méditerranéenne, elle contribue significativement au profil de santé supérieur observé chez cette population. L'huile d'olive vierge est appréciée pour sa richesse en acides gras mono insaturés, en particulier en acide oléique, cette propriété étant considérée comme la principale caractéristique de l'huile d'olive. Les polyphénols contenus dans l'huile d'olive sont associés à tous ses bienfaits. Leurs propriétés et leurs effets antioxydants seront largement étudiés (Visioli et *al.*, 2002 ; O'Dwod et *al.*, 2004). Actuellement, de nombreuses études ont montré les effets protecteurs de l'oleuropeine et de son métabolite l'hydroxytyrosol contre le stress oxydatif, les maladies neurodégénératives et le cancer. Dans certains travaux, les auteurs ont proposé les mécanismes par lesquels agissent ces deux molécules et exercent leurs effets protecteurs (Giner et *al.*, 2016).

Les activités anti-inflammatoires des polyphénols constituent des mécanismes importants qui seraient à l'origine de leurs potentiels anticancéreux et chémopréventifs. Leurs effets anti-inflammatoires sont attribués à leurs capacités à inhiber les activités du NF- κ B (Rosillo et *al.*, 2014), la cyclooxygénase (COX-2) ainsi que la lipooxygénase (De la Puerta, 1999). O'Dwod et *al.*, (2004) ont montré que l'hydroxytyrosol agit par piégeage des espèces réactives de l'oxygène, à savoir le peroxyde d'hydrogène dans les neutrophiles humains isolés. En outre, l'hydroxytyrosol possède un effet anti-inflammatoire, en inhibant la libération des cytokines inflammatoires (Richard et *al.*, 2011).

L'oleuropeine est décrit comme un inhibiteur efficace de l'invasion et de la prolifération des cellules de gliome (Liu et *al.*, 2016), il induit également une apoptose des cellules d'hépatome humain HepG2 via l'activation de caspases (Yan et *al.*, 2015). Dans le contexte inflammatoire induit par la carragénane, Impellizzeri et *al.*, (2011) ont montré une réduction de l'infiltration des leucocytes chez des souris traitées avec de l'oleuropeine aglycone.

Deuxième partie

Les composés phénoliques

1.2.1. Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont métabolites secondaires spécifiques du règne végétal. Ces biomolécules représentent une large gamme de substances chimiques (Bruneton, 1993). Les composés phénoliques ne sont pas directement impliqués dans la croissance et de la reproduction des plantes. Ils jouent cependant, un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement (Patra et Saxena, 2010), interviennent dans la protection du végétal contre les insectes, les herbivores et les radiations ultra-violettes solaires. Ils jouent par ailleurs un rôle attractif vis à vis des insectes pollinisateurs (Houdjedje et Mehimmedetsi, 2018).

Structurellement, ils englobent un noyau benzénique aromatique (Urquia et Leighton, 2000 et Frankel et al., 1998, Chira et al., 2008) auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction éther, ester ou hétéroside. Le groupement hydroxyle permet aux composés phénoliques simples de se polymériser pour obtenir des phénols complexes ou polymérisés (Nagendran, 2006). Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (Bénard., 2009). Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate (Hoffmann, 2003). Ils sont présents dans toutes les parties de la plante, depuis les racines jusqu'aux fruits, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents organes et tissus (Madi, 2018). Les polyphénols sont principalement répartis dans deux compartiments, les vacuoles et la paroi (Bénard., 2009)

Ces composés formant une grande famille de plus de 8000 composés chimiques (Bouchouka, 2016) sont classés en deux groupes : les composés flavonoïdes et les composés non flavonoïdes dont les tanins (Cathy, 2008). Boubekri (2014), les a organisés en 8 classes selon leurs structures chimiques globales comme le montre le tableau.

Tableau 1 : Les principales classes des composés phénoliques (Boubekri, 2014).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simple	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C3	Acides hydroxy-	p-Hydrox benzoïques	Epices, fraise
	Benzoïques		
C6-C3	Acides hydroxy-	Acide caféique, acide	
	Pomme de terre, Cinnamique		
	Férulique, pomme		
	esculétine,		Citrus
C6-C2-C6	Silènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes :		
□ □	Flavonols	Kamphérol,	Fruits, légu
	Quercétine		mes,
			Fleurs
□ □	Anthocyanes	Cyanidine,	
	Pélagonidine		Fleurs, fruits
			rouges
□ □	Flavanols	Epicatéchine,	
	Catéchine		
□ □	Flavanones	Naringénine	
			Pomme,
□ □			raisin
			Citrus
			Soja
	Isoflavonols	Daidzéine	
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) n	Lignines		Bois, noyau de fruits
(C15) n	Tanins		Raisin rouge, kaki

1.2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent la majorité des composés phénoliques qui sont caractérisés par leurs faible poids moléculaires. Ils flavonoïdes sont responsables de la pigmentation chez les plantes, ces pigments sont responsables des colorations (jaune, orange, rouge) de divers organes de la plante (Chdira, 2005).

Les flavonoïdes partagent tous la même structure de base (squelette) a quinze atomes de carbone qui sont combinés à une configuration C6-C3-C6 (Tapas et al., 2008). Constitué de deux noyaux benzéniques A et B accolés par un cycle pyranique central (Fig.6).

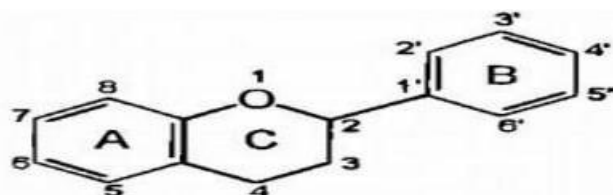


Figure.6 : Structure des bases des flavonoïdes (Collin et Crouzet, 2011)

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes (Fig.7) telles que: les flavones, les flavonols les flavon-3-ols, le s isoflavones, les anthocyanidines (Chira, 2008).

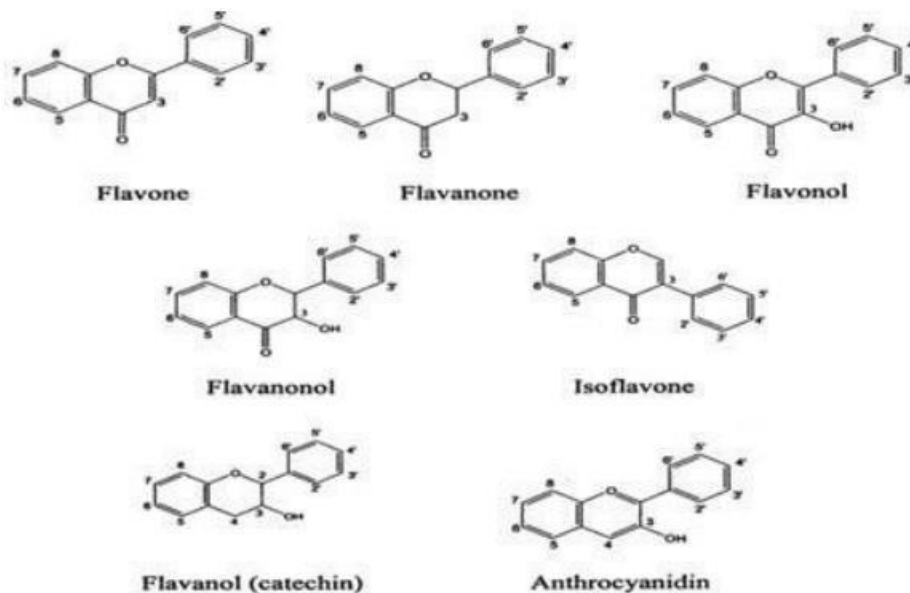


Figure.7 Structure de différentes familles d flavonoïdes

1.2.1.1.1. Rôle des flavonoïdes

Les flavonoïdes agissent comme catalyseurs de la photosynthèse et/ou en tant que régulateurs des canaux ioniques impliqués dans la phosphorylation. Ils fonctionnent également comme des protecteurs du stress oxydatif dans les cellules végétales en éliminant les espèces réactives à l'oxygène et à l'azote, produites par le système de transport d'électrons photosynthétique (Pietta, 2000 ; Stalikas, 2007). Ils repoussent les herbivores par leur goût désagréable, jouant ainsi un rôle protecteur des plantes. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Wetterson et Butler, 1983).

Selon Guillouty (2016), une alimentation riche en flavonoïdes est bénéfique pour la santé humaine. De nombreuses études suggèrent que les flavonoïdes réduisent l'incidence de nombreuses maladies telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires et antivirale (Hanhineva, 2010). Ils présentent, ailleurs des propriétés *antioxydantes* (Pisoschi et al., 2009), activité anti-microbienne (Yala et al., 2001) et activité anti-inflammatoire. Ils pourraient être utilisés comme des agents de prévention dans certains cancers (Stagos et al., 2012), l'athérosclérose, l'obésité, et le diabète (Leonoudakis et al., 2017).

1.2.1.2. Les tanins

La majeure propriété de ces substances est leur capacité à se lier à de grosses molécules comme les protéines (Hagerman et Butler, 1978).

Deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique, ce sont :

1.2.1.2.1. Les tanins hydrolysables

Ces tanins sont des dimères d'acides galliques condensés sur un dérivé glycolyse, ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphéniques. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et aqueuse à l'eau chaude (Conrad et al., 1998).

1.2.1.2.2. Les tanins condensés

Les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavon-3,4-diol liées

majoritairement par les liaisons C4-C8 des unités adjacentes (Wollaston et Anklam, 2000). Leur structure chimique est très variable, mais comporte toujours une partie poly phénolique ; on peut ainsi les classer en : *tanins hydrolysables*, qui donnent après hydrolyse soit de l'acide gallique, soit de l'acide pélagique ; *tanins condensés*, non hydrolysables, qui par oxydation donnent du pyrocatechol (Kholkhal, 2014).

1.2.1.2.3. Rôle des tanins

La synthèse des tanins par les végétaux est un des mécanismes de défense contre les agressions des phytopathogènes (bactéries, champignons, virus) et des prédateurs (Herbivores, insectes). Ils possèdent un large éventail d'activités biologique, antibactériennes, antivirales anti-oxydantes (Rira, 2019). D'après les travaux (Ray et *al.*, 2000) ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, l'apoptose et la nécrose.

1.2.2. Activités biologiques des oliviers et leurs extraits

De nombreuses études scientifiques ont montrés qu'*Olea europaea* L. est une source naturelle de composés phénoliques dont un grand nombre présentent un large éventail d'activités biologiques. L'olivier est utilisé en médecine traditionnelle, ses feuilles sont diurétiques et préconisées dans l'hypertension artérielle en infusion, elles soulagent la fièvre, la malaria (Lee et *al.*, 2009) et le paludisme (Ferreira et *al.*, 2007). Elles sont également utilisées en cosmétiques (Benseddik et Rami, 2021).

L'HPLC obtenue à partir des extraits de feuilles de l'olivier révèlent montre la présence de l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol, la lutéoline, l'apigénine, la catéchine, la vanilline, la rutine, l'acide vanillique, l'acide caféique, le tyrosol et la lutéoline (Benavente-Garcia et *al.*, 2000. Lahcene et *al.*, 2018). Selon le même auteur, l'olivier se caractérise par des activités antifongiques, antidiabétiques, hypoglycémiantes et hypotensives.

De nombreuses études ont montré que l'olivier représente une source très riche de composés phénoliques et possède de nombreuses propriétés biologiques liées au pouvoir antioxydant des principes actifs de ses extraits et leur rôle en tant que piègeurs de radicaux libres (Le Tutour et Guedon, 1992 ; Caturla et *al.*, 2005 ; Visioli et Galli, 2002 ; Bouaziz et Sayadi, 2005 et Lahcene (220)

Troisième partie

L'inflammation

1.3.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est une réaction biologique associée au système immunitaire à une homéostasie tissulaire perturbée, une infections microbiennes et virales ou toute autre forme d'agression physique (radiations, électricité, froid, chaleur, pique, coupure, contusion) ou chimique (acides, bases, substances minérales diverses) et peut être biologique (virus, bactéries, parasites, champignons), dans le but de préserver leur intégrité. Ce processus est généralement bénéfique car il mobilise le système immunitaire pour éliminer les agents pathogènes et réparer les dommages tissulaires. Cependant, dans certains cas, l'inflammation peut devenir néfaste en raison de l'agressivité persistante de l'agent pathogène, de sa localisation spécifique dans le corps, ou encore en raison de dysfonctionnements dans la régulation de la réponse inflammatoire. Elle se caractérise généralement par des signes tels que rougeur, chaleur, gonflement et douleur dans la zone affectée (Barton, 2008).

1.3.2. Les types d'inflammation

Chaque fois que le corps est blessé par des éléments exogènes ou endogènes, celui-ci doit réagir. Il existe généralement deux types d'inflammation : l'inflammation aiguë et chronique selon la durée et la cinétique du processus inflammatoires

1.3.2.1. L'inflammation aiguë

L'inflammation aiguë représente la réponse immédiate de l'organisme face à une agression externe. Sa durée peut varier de quelques jours à quelques semaines en fonction de la gravité de la blessure. Cette réaction inflammatoire initiale est généralement bénéfique, car elle permet à l'organisme de se défendre contre l'agent agresseur et favorise la réparation des tissulaire. Les inflammations aiguës guérissent soit spontanément ou avec un traitement mais dans certains cas elles peuvent prendre des réactions démesurées c'est-à-dire si la destruction tissulaire est importante et ainsi peuvent avoir des conséquences néfastes (Charles et al., 2010). L'inflammation aiguë se déroule en trois phases :

1.3.2.1.1. Phase vasculaire (réaction vasculo-oxydative) :

C'est un événement dynamique qui implique des changements physiologiques et pathologiques, elle commence par une vasoconstriction artériolaire brève, induite par l'action du système sympathique, est initialement observée, suivie d'une vasodilatation rapide des vaisseaux sanguins. Cette transition est marquée par la libération d'histamine, de sérotonine et de kinine, ainsi que par une excitabilité accrue des terminaisons nerveuses, contribuant à la

sensation de douleur. Cette séquence n'est pas anodine pour les plaquettes circulantes, qui sont activées en réponse à la perturbation du flux sanguin. La vasodilatation qui suit entraîne une augmentation du débit sanguin local et une perméabilité accrue des capillaires, facilitant ainsi la diapédèse des cellules sanguines. Ce processus est en partie responsable de la chaleur et de la rougeur observées dans la zone inflammatoire. De plus, la migration cellulaire est accompagnée d'un transfert de plasma, conduisant à la formation d'un œdème (Weill et Batteux, 2003).

1.3.2.1.2. Phase cellulaire (migration des leucocytes) :

Les phénomènes vasculo-exsudatifs initiaux facilitent l'arrivée des leucocytes dans le foyer inflammatoire, Les premiers arrivants sont les polynucléaires neutrophiles (PN) qui vont être progressivement remplacés sur le site inflammatoire par les cellules monocytes principalement les macrophages ont pour fonction d'assurer la déterision grâce à leur capacité de phagocytose Il s'y associe des lymphocytes et des plasmocytes qui participent à la réponse immune spécifique de l'antigène (DOUAOURI, 2018).

1.3.2.1.3. Phase de résolution (phase de réparation)

Elle dépend du degré de lésion au niveau du tissu. Les agents agresseurs sont éliminés par les polynucléaires neutrophiles et les produits de dégradation tandis que les débris cellulaires sont Phagocytés par les macrophages. Les macrophages vont alors sécréter des cytokines et des Médiateurs qui vont induire la phase de cicatrisation et de régénération tissulaire. Le retour à un état physiologique consiste dans un premier temps en la réparation de l'endothélium par Les cellules endothéliales elles-mêmes, ces cellules pouvant produire les éléments de leur stroma. Si l'atteinte est plus sérieuse et entraîne une destruction du tissu atteint, d'autres cellules vont intervenir pour réparer le nouveau tissu. Les macrophages vont participer à l'angiogenèse, mais ce sont surtout les fibrocytes puis les fibroblastes qui vont produire les protéines matricielles des tissus intercellulaires, comme le collagène, la fibronectine et la laminine pour permettre la reconstruction des tissus. Le système de l'angiogenèse est ainsi remis au repos et la réaction inflammatoire peut s'éteindre (Carip, 2010 ; Mebirouk, 2017).

1.3.2.2. Inflammation chronique

Contrairement à l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique est de longue durée et persiste pendant des semaines, des mois ou même des années, La défense de l'organisme doit

continuer de manière chronique lorsque les leucocytes infiltrent excessivement le site inflammatoire et que l'agent causal est mal éliminé, Cette réponse peut également être déclenchée par certaines maladies auto-immunes ce qui peut entraîner l'apparition de nombreuses pathologies (DORWARD et al., 2012).

1.3.3. Les médiateurs inflammatoires

Selon Charles A. Dinarello, (2010) Le déclenchement de l'inflammation peut mobiliser des facteurs synthétisés localement ou à l'échelle systémique. Lorsqu'un pathogène pénètre dans l'organisme, les cellules présentes dans le tissu lésé ou infecté, telles que les cellules immunitaires, reconnaissent les motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes (PAMP) via leurs récepteurs cellulaires PRR. En réponse à cette activation, ces cellules synthétisent et sécrètent de nombreux médiateurs de l'inflammation. Ces médiateurs sont généralement divisés en deux catégories principales : les médiateurs pro-inflammatoires et les médiateurs anti-inflammatoires.

Le tableau 2 : les principaux médiateurs de l'inflammation (Rinkin,2004 ; Henrotin et al., 2001).

Méiateur de l'inflammation	Membres	Origine	Effet biologiques
Amines vasoactives	Histamine	Mastocytes Basophiles Plaquettes	-Vasodilatation, -Activation endothéliale et douleur
Méiateurs lipidiques	Prostaglandine(PG)	Acide Arachidonique	-Vasodilatation -augmentation Perméabilité vasculaire.
	Leucotréine		- Augmentent la sensibilité aux stimuli douloureux -Vasodilatation -participent à la formation de l'œdème. -possèdent des propriétés Chimiotactiques.
Dérivés d'oxygéné et d'azote	NO	Macrophages et Mastocytes	-Induction d'effet cytotoxique et relaxation des muscles .
Cytokines	IL-1 ; IL-6	-Macrophages et Mastocytes et Neutrophiles	-Activation endothéliale - élimination de l'agent pathogène -problèmes métaboliques, Hypotension .

1.3.4. Traitements préconisés :

On a développé divers médicaments pour traiter les maladies inflammatoires chroniques. Ils se divisent généralement en deux grands groupes les médicaments anti-

inflammatoires stéroïdiens (AIS) Et les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

1.3.4.1. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde (GC) qui sont des hormones stéroïdes produites par la glande surrénale et régulées par l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (Faure, 2009 ; Ayroldi et al., 2012). Les glucocorticoïdes (GC) sont les agents anti-inflammatoires et immunomodulateurs les plus couramment utilisés. Leur valeur thérapeutique est énorme dans un large éventail de maladies Auto-immunes / inflammatoires, et ils sont largement utilisés pour traiter les inflammations aiguës et chroniques, y compris la polyarthrite rhumatoïde, la maladie intestinale inflammatoire, la sclérose en plaques, le psoriasis et l'eczéma, ainsi que dans le traitement de certaines leucémies et dans les régimes immunosuppresseurs après une greffe d'organe. (Barnes et Adcock, 1998 ; Riccardi et al., 2000 ; Rhen et Cidlowski, 2005) Les GCs inhibent plusieurs événements initiaux d'une réponse inflammatoire. De manière aiguë, les glucocorticoïdes inhibent la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité vasculaire à la suite d'une agression inflammatoire et diminuent l'émigration des leucocytes vers les sites enflammés, effets qui nécessitent une nouvelle synthèse protéique (Perretti et Ahluwalia, 2000).

Le mode d'action des GCs est essentiellement génomique ; ils répriment la transcription de nombreux gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires et les chimiokines, les molécules d'adhésion cellulaire et les enzymes clés impliquées dans l'initiation et le maintien de la réponse inflammatoire hôte (Coutinho et Chapman, 2011) .

1.3.4.2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Actuellement, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont parmi l'une des classes thérapeutiques les plus couramment utilisés dans le monde, que ce soit dans le cadre de la prescription médicale ou de celui de l'automédication (Jouzeau et al., 2004). Les AINS sont un large groupe d'inhibiteurs de la biosynthèse des prostaglandines par la cyclooxygénase (COX), soit en modifiant de manière covalente l'enzyme, soit en rivalisant avec le substrat actif (Carbone et al., 2013 ; Ambriz-Pérez et al., 2016). L'acide Arachidonique, qui est produit à partir des phospholipides membranaires par la phospholipase A qui sert de substrat pour la production des eicosanoïdes, leucotriènes, thromboxanes, prostacyclines et prostaglandines. Dans la voie de synthèse des prostaglandines, la production de ces derniers par

les cyclooxygenases jouent un rôle essentiel. Malgré leurs structures chimiques différentes, tous les inhibiteurs de la COX présentent des actions thérapeutiques similaires telles que l'activité anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique. L'enzyme COX existe dans au moins deux formes : une isoforme principalement constitutive (COX-1), produisant du thromboxane qui favorise l'adhésion plaquettaire et la vasoconstriction et d'une importance particulière pour la protection gastro-intestinale (Douaouri, 2018) La COX-2 est une forme inducible dont l'expression est renforcée par des cytokines, des facteurs de croissance et d'autres stimuli ulcérogènes inflammatoires (Seibert et al., 1997 ; Hawkey, 2001 ; Kyrikou et al., 2004). La plupart des AINS inhibent COX-1 et COX-2 avec peu de sélectivité. Cependant, l'inhibition de ces actions est responsable de la majorité des effets indésirables des AINS, tels que l'irritation de l'estomac, les ulcères gastro-intestinaux et toxicité rénale, qui sont principalement liés à l'activité inhibitrice de la COX-1.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériel biologique

La récolte des fruits du sylvestre utilisés au cours de notre expérimentation, est réalisée à 295 m d'altitude sur des pieds mère adultes de la station de Tizi Rached située à 20 km du chef-lieu de la wilaya, soit à 36°41'61.8''N et 04°10'01.6''E. Les fruits représentés par des olives sont récoltés durant le mois de décembre de l'année 2024 et servent de support à l'extraction de l'huile d'olive qui est réalisée selon le procédé semi automatique au niveau de l'huilerie de Tizi-Ouzou.

2.1.2. Prélèvements sanguins

Des prélèvements de sang veineux sont effectués sur des volontaires sains, non fumeurs et ne suivant aucun traitement médicamenteux. Les échantillons sont recueillis dans des tubes héparinés et conservés à 4°C.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction des composés phénoliques

Une extraction liquide-liquide est effectuée selon le protocole décrit par Ollivier et al. (2004). Ainsi, 5 g d'huile sont dissous dans 5 ml de méthanol à 80 % et agités pendant 5 minutes. Puis la solution est centrifugée à 3800 tours par minute pendant 15 minutes pour récupérer le surnageant. Cette étape a été répétée trois fois. Les surnageants obtenus sont par la suite combinés et soumis à un rinçage à l'hexane et ce dans le but d'éliminer toute trace d'huile résiduelle. Pour ce faire, le mélange est vortexé pendant 5 minutes, puis centrifugé à 3800 tours par minute pendant 5 minutes. Enfin, la phase d'hexane est éliminée et la phase aqueuse est récupérée et séchée à température ambiante et à l'obscurité.

2.2.2. Détermination du rendement en composés phénoliques

Le rendement d'extraction a été déterminé selon la formule suivante

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse du résidu sec}}{\text{masse de l'huile initiale}} \times 100$$

2.2.3. Analyse quantitative

2.2.3.1. Détermination de la teneur en composés phénoliques

La teneur totale en polyphénols des extraits obtenus est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton et Rossi (1965). Elle est basée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette réaction engendre un complexe coloré bleu, dont l'intensité varie en fonction de la concentration de polyphénols présents dans l'extrait.

Pour ce faire, 250 µl de l'extrait à 1mg/ml sont mélangés avec le réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10, puis incubés pendant 4 minutes à l'obscurité. Ensuite, 1 ml de la solution de carbonate de sodium (75 g/l) est ajouté et le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité. Après incubation du milieu réactionnel, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La teneur en polyphénols est exprimée en équivalent acide gallique (EAG) par kilogramme d'huile soit mg EAG/kg d'huile en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à partir des concentrations croissantes d'acide gallique (10-100 µg/ml).

2.2.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est évaluée selon le protocole décrit par Chang et al. (2002) basé sur la formation d'un complexe jaune par chélation des flavonoïdes avec du chlorure d'aluminium.

500 µl de l'extrait sont mélangés à 1,5 ml de méthanol, 100 µl de chlorure d'aluminium à 10%, 100 µl d'acétate de potassium 1M, et 2,8 ml d'eau distillée. Ce mélange a été incubé pendant 30 minutes à l'obscurité, à température ambiante. L'absorbance du milieu réactionnel est par la suite mesurée à 415 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en équivalent quercétine (EQ) par kilogramme d'huile, soit en mg EQ/kg d'huile, en se référant à une courbe d'étalonnage établie à partir de concentrations croissantes d'une solution mère de 100 µg/ml de quercétine.

2.2.4. Activité anti-hémolytique

2.2.4.1. Préparation de l'hématocrite

Du sang de donneurs volontaires en bonne santé est recueilli dans des tubes héparinés. Après centrifugation à 2000 tours par minute pendant 5 minutes à 4°C pour éliminer le sérum, les globules rouges obtenus sont lavés trois fois avec du PBS (pH= 7.4, 0,9% d'Na Cl). 2 ml du sang sont prélevés et ajustés à un volume total de 100 ml avec du PBS, donnant ainsi la solution d'hématocrite à 2%.

2.2.4.2. Test de d'hémolyse

L'objectif du test d'hémolyse est d'évaluer l'effet protecteur de l'extrait en stabilisant la membrane érythrocytaire. Une évaluation de l'innocuité de l'extrait solubilisé dans DMSO est effectué, suivie d'une comparaison avec l'innocuité du DMSO seul ce qui permet de mettre en évidence l'effet protecteur de l'extrait. Le protocole suivi au cours de ce test est celui mis au point par Iratni-Aiche et al. (2015).

Pour cela, 0,5 ml de l'hématocrite sont incubés avec 0.5 ml de l'extrait à différentes concentrations (20, 40, 60, 80 et 100 mg/ml) à 37°C pendant 30 minutes sous agitation douce. Suite à quoi le mélange est centrifugé à 2000 tours par minute pendant 5 minutes à 4°C et l'absorbance du surnageant contenant l'hémoglobine est mesurée à 540 nm. La même manipulation est réalisée sur le DMSO pur. L'eau distillée est utilisée comme témoin positif et le PBS comme témoin négatif. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = \frac{\text{DO échantillon} - \text{DO témoin négatif}}{\text{DO témoin positif} - \text{DO témoin négatif}} \times 100$$

2.2.5. Activité anti-inflammatoire

2.2.5.1. Évaluation de l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine

L'évaluation de l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine suit la méthode décrite par Karthik et al. (2013). Pour cela, 50 µl d'extrait à différentes concentrations (20, 40, 60, 80 et 100 mg/ml) solubilisé dans du DMSO sont mélangés à 5ml d'une solution d'albumine à 0,2%, préalablement préparée dans du PBS (pH=6,4, 0,9% NaCl). Le mélange réactionnel est incubé à 72°C pendant 5 minutes. Après refroidissement, une lecture de l'absorbance est

effectuée à 660 nm. Le même protocole est appliqué à l'aspirine, anti-inflammatoire de référence) à différentes concentrations (0,3 ; 0,6 ; 0,9 ; 1,2 ; 1,5 ; 1,8 ; 2,1 ; 2,7 et 3 mg/ml) diluée dans du PBS. Le pourcentage de protection est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{\text{DO controle} - \text{DO échantillon}}{\text{DO controle}} \times 100$$

Avec :

DO contrôle représente l'absorbance du contrôle, où l'extrait est remplacé par du PBS.

DO échantillon représente l'absorbance de l'échantillon, où l'extrait est présent.

Chapitre III

Résultats et discussion

3.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Le rendement d'extraction des composés phénoliques est calculé après une extraction liquide-liquide au méthanol et à l'hexane de l'huile de l'*Olea sylvestris*.

Ainsi, un rendement de 0,13 % est obtenu à partir de l'extrait de l'huile, il est en accord avec les données de la littérature, qui indiquent que les composés mineurs de l'huile d'olive, tels que les polyphénols et les tocophérols, ne représentent généralement pas plus de 2 % de sa composition totale (Jimenez-Lopez et al., 2020).

3.2. Analyse quantitative

3.2.1. Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait est déterminée en équivalent acide gallique (EAG) en mg/kg d'huile, et ce, en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique comme produit de référence. Cette courbe, représentée par l'équation $Y = 0,01118X + 0,0571$ (Fig. 8), et un coefficient de corrélation de 0,99, a permis de calculer une teneur en polyphénols totaux de 18.8 mg EAG/kg d'huile.

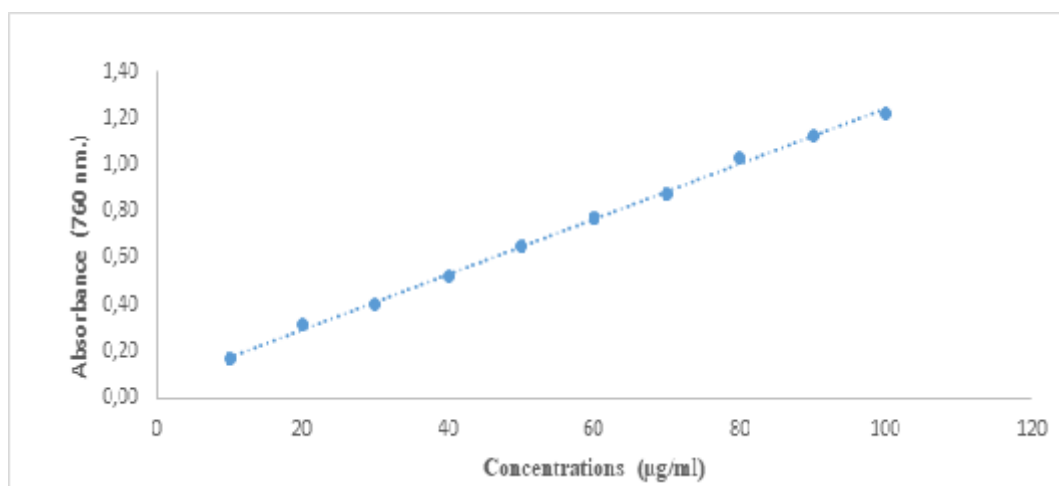


Figure 8 : Courbe étalon de l'acide gallique.

La teneur en composés phénoliques de l'extrait est proche de celle rapportée par Bengana (2017) pour l'huile d'olive vierge extraite de la variété Chemlal de la région de Tizi

Rached, qui est de 15 mg/kg. Cependant, elle est inférieure à celle obtenue à partir de l'huile d'olive de Bouira, qui présentait une concentration de $22,5 \pm 0,321$ mg EAG/kg (Bouchenak et al., 2018).

Bouarroudj et al. (2016), dont les travaux portent sur des populations d'oléastre en Algérie, déterminent des valeurs qui sont comprises entre 150 et 202 mg EAG par kg d'huile. Quant aux travaux de Hannachi et al. (2013), ils ont déterminé une variabilité importante, avec des teneurs allant de 59,6 à 268,32 mg/kg d'huile pour 12 échantillons d'huile d'oléastre en Tunisie. La variabilité des teneurs en composés phénoliques peut être attribuée à divers facteurs. Selon Al-Bachir (2017), l'année de production peut influencer la composition phénolique de l'huile d'olive. Les variations observées peuvent également être dues au cultivar, au climat et aux pratiques agricoles, comme le mentionne Boulfane et al. (2015). En effet, les oliveraies situées en altitude sont plus riches en phénols que celles des plaines (Boulfane et al., 2015).

Par ailleurs, El Qarnifa et al. (2019) soulignent l'impact du stade de maturité des olives avant trituration, avec une récolte précoce favorisant des niveaux plus élevés de phénols. Ils ont également montré que la saison de récolte et les conditions météorologiques, notamment la quantité et la distribution des précipitations influencent la teneur en phénols des huiles d'olive. La variabilité des teneurs en composés phénoliques est influencée par les différents modes d'extraction de l'huile, tels que la malaxation et la température, comme le souligne (Espínola et al., 2021). Ollivier et al. (2004), précisent que le procédé d'extraction utilisé pour séparer la phase huileuse de la phase aqueuse ainsi que les conditions de conservation de l'huile ont un impact sur la teneur en composés phénoliques des huiles d'olive.

La présence des feuilles lors du broyage des olives peut augmenter la concentration en composés phénoliques dans les huiles d'olive (Boulfane et al., 2015)

3.2.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait est déterminée selon le protocole de Chang et al. (2002), qui repose sur la formation d'un complexe jaune par chélation des flavonoïdes avec du chlorure d'aluminium. Cette teneur est exprimée en équivalents de quercétine (EQ) par kilogramme d'huile. La valeur obtenue est de 27 mg EQ/kg, déterminée à partir de l'équation de régression ($Y = 0,0065x + 0,0441$; $R^2 = 0,9937$) de la courbe d'étalon de la quercétine (Fig.9).

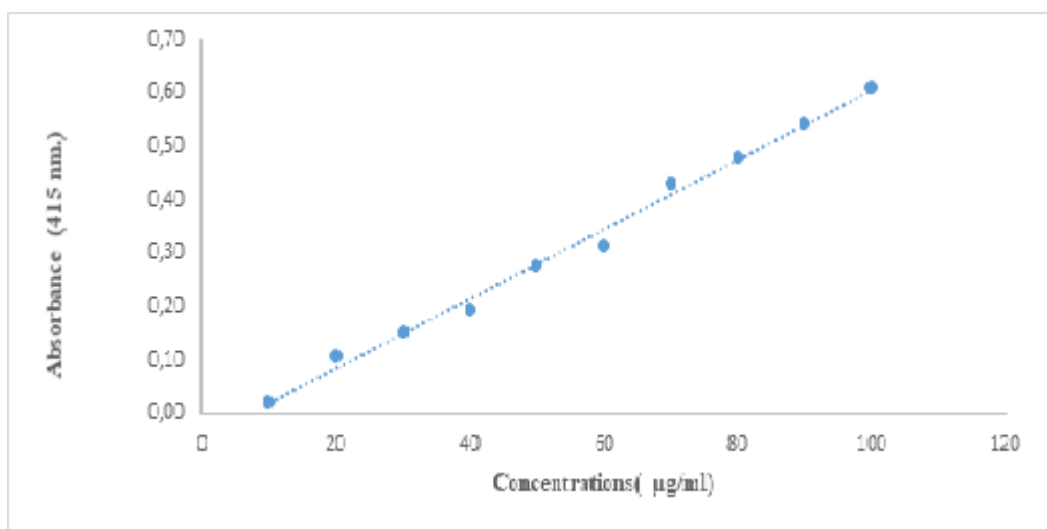


Figure 9 : Courbe étalon de la quercétine.

Nous constatons que la teneur en flavonoïdes de l'extrait de l'huile du sylvestre est similaire à celle des variétés algériennes étudiées par Lincer et *al.* (2014) dont les teneurs varient entre 10 et 44 mg/kg. Elle est également proche de la teneur enregistrée par Rodrigues et *al.* (2020) pour l'oléastre de la région de Vila Nova de Foz Côa au Portugal, qui est de 25,5 mg/kg. Cependant, la teneur totale en flavonoïdes calculée pour notre extrait, est supérieure à celle rapportée par Bouarroudj et *al.* (2016) qui lors de leur étude portant sur quatre populations d'oléastres algériens originaires de Béjaïa (Tifra, Adekar, Sidi-Aich et Tazmalt), ont enregistré une teneur en flavonoïdes variant de 1,3 à 17 mg/kg.

Selon Lapornik et *al.* (2005), la teneur en flavonoïdes totaux est corrélée avec leur capacité à se dissoudre dans des solvants, une propriété qui varie en fonction de la structure des liaisons glucidiques. De plus, le choix du composé de référence ou standard qui nous permet d'établir la courbe de référence, peut influencer les résultats (Ghedadba et *al.*, 2015). Vicario et *al.* (2023) ont également souligné que la teneur en flavonoïdes était corrélée positivement avec l'indice de maturation des olives.

4. Activité anti-hémolytique

L'évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'extrait d'huile de *Olea sylvestris* nous permet de comprendre son potentiel effet protecteur sur les membranes cellulaires et éventuellement son effet anti-inflammatoire. Dans cette étude, l'extrait obtenu à partir de l'huile

d'olive est solubilisé dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à des concentrations variant de 20 à 100 mg/ml puis incubés en présence des érythrocytes. Les taux d'hémolyse obtenus sont calculés en référence à un témoin positif et à un témoin négatif. Une diminution du taux d'hémolyse indique l'effet protecteur de l'extrait. Les résultats sont comparés à ceux obtenus avec le DMSO seul. Les résultats sont regroupés dans l'histogramme représenté par la figure 10.

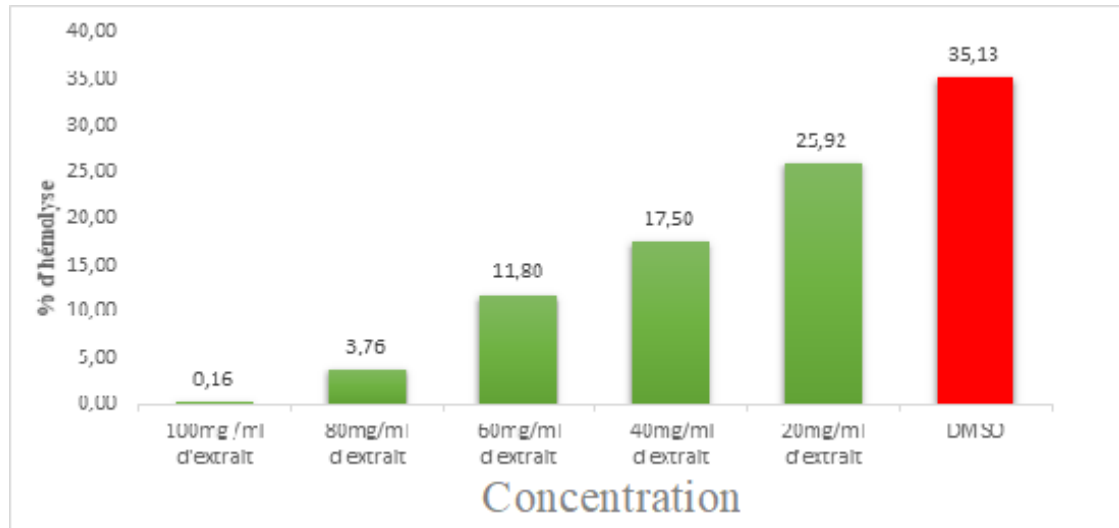


Figure 10 : Histogramme des pourcentages d'hémolyse des différentes concentrations de l'extrait et du DMSO

Nos résultats montrent que l'extrait de l'huile de l'oléastre présente un effet protecteur sur les membranes érythrocytaires, ce qui se traduit par une diminution marquée de l'hémolyse. Lors de l'utilisation du DMSO seul, le pourcentage d'hémolyse correspond à 35,13 %. Cependant, en présence de l'extrait de l'huile de l'oléastre, ce pourcentage diminue de manière marquée pour atteindre une valeur de 0,16 % d'hémolyse à la concentration de 100 mg/ml.

Ces résultats suggèrent que l'extrait stabilise efficacement les membranes érythrocytaires contre l'hémolyse induite par le DMSO. Ces résultats peuvent être attribués aux propriétés antioxydantes et stabilisatrices des membranes de ces extraits. Selon l'étude menée par Qamar et *al.* (2021), les extraits végétaux induisent une action protectrice sur la membrane en modifiant la concentration intracellulaire de calcium dans les érythrocytes.

Pour Ydyrys et *al.* (2023) les extraits de plantes, expriment des propriétés anti-hémolytiques grâce à leurs composants bioactifs tels que les flavonoïdes qui se distinguent par leur capacité à interagir avec les membranes cellulaires.

L'inhibition de la lyse des membranes des globules rouges est un indicateur d'activité anti-inflammatoire. Cette capacité à stabiliser les membranes suggère une action similaire sur les membranes lysosomales, cruciales dans la régulation des réponses inflammatoires en empêchant la libération de composés inflammatoires par les leucocytes activés (Okeke et al., 2020).

5. Evaluation de la protection contre la dénaturation thermique de l'albumine

La dénaturation des protéines est un processus complexe qui peut déclencher des réponses inflammatoires dans des conditions telles que l'arthrite rhumatoïde, le cancer et le diabète. En empêchant cette dénaturation, nous pouvons potentiellement réduire l'inflammation associée à ces maladies (Dharmadeva et al., 2018). Ainsi, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de notre extrait est réalisée en utilisant la méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, telle que décrite par (Karthik et al., 2013). Cette approche permet de mesurer la capacité de l'extrait de l'huile de l'oléastre à prévenir la dénaturation thermique des protéines ; processus associé à l'inflammation.

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation montrent que le pourcentage de protection de l'extrait varie de 3 à 54% avec une concentration maximale de 100 mg/ml (Fig 11 A). L'aspirine, agent anti-inflammatoire bien établi, est utilisée comme produit de référence à des concentrations allant de 0.3 à 1.8 mg/ml (Fig 11B).

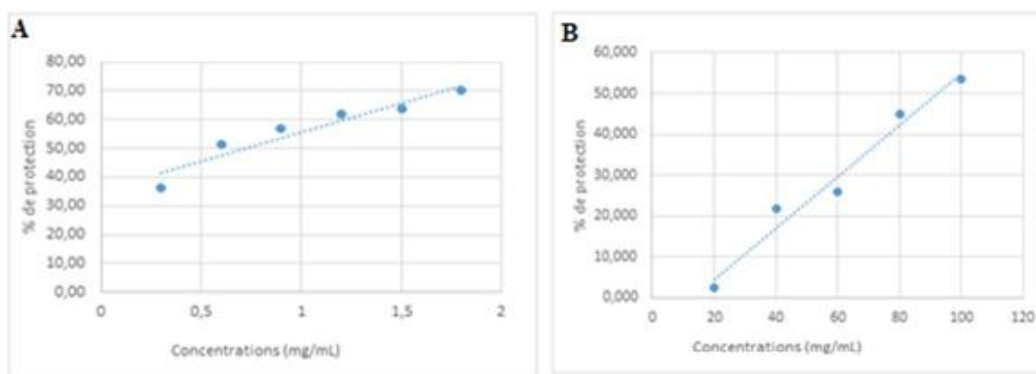


Figure 11 : Pourcentages de protection de l'extrait d'huile d'olive (A) et de l'aspirine (B) vis-à-vis de la dénaturation thermique de l'albumine.

La valeur de l'IC50 de l'aspirine correspond à 716 µg/ml, tandis que celle de l'extrait qui est nettement plus élevé, et correspond à 92 310 µg/ml. Cette différence met en évidence une activité anti-inflammatoire avérée de l'extrait d'huile mais qui est cependant moins prononcée par rapport à l'aspirine qui représente une molécule anti-inflammatoire pure, alors que notre extrait correspond à un mélange de biomolécules régi par des effets synergiques ou au contraire antagonistes. L'IC50 de l'extrait d'huile est plus élevée que celle de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L évaluée à 9,68 µg/ml par Fetni et Bertella, (2020) ainsi que par rapport à l'extrait méthanolique d'*Ocimum gratissimum* (278,3 ± 5,678 µg/ml) et l'extrait acétonique de *Senna occidentalis* (275,9 ± 10,09 µg/ml) obtenues par Akinyemi et al. (2021).

Selon Akinyemi et al. (2021), la dénaturation des protéines d'albumine conduit à la formation d'antigènes qui déclenchent une réaction d'hypersensibilité de type III, conduisant ainsi à l'inflammation. Par conséquent, l'inhibition du processus de dénaturation par l'extrait indique ses propriétés anti-inflammatoires.

De nombreuses études ont montré que la propriété anti-dénaturation des protéines est due à la présence de sites de liaison spécifiques, en particulier dans les régions riches en tyrosine aromatique et aliphatique et les régions de résidu lysine des protéines. Ces sites peuvent être ciblés par des molécules médicamenteuses anti-inflammatoires qui ont la capacité d'influencer les récepteurs protéiques riches en tyrosine et en thréonine, modulant ainsi les voies de signalisation.

En outre, certains composés phénoliques, tels que les polyphénols, les terpénoïdes et les tanins, interagissent principalement avec les régions aliphatiques entourant les résidus de lysine des protéines. Ces interactions sont connues pour leur capacité antioxydante et anti-inflammatoire significative (Fetni et Bertella, 2020). Abdallah et al. (2017) ont démontré le potentiel anti-inflammatoire de la fraction phénolique de l'huile d'olive obtenue à partir de cultivars mineurs tunisiens (Chemchali, Fouji et Zarrazi), en inhibant la libération et l'expression de marqueurs inflammatoires tels que les enzymes NO, iNOS et COX-2 (Abdallah et al., 2018).

Conclusion

Cette étude s'inscrit dans la valorisation du potentiel thérapeutique anti-inflammatoire d'une sous-espèce sauvage de l'olivier : *Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) du nord de l'Algérie. L'extrait phénolique de l'huile d'olive de cette sous-espèce est caractérisé pour évaluer ses activités anti-hémolytique et anti-inflammatoire, révélant des propriétés bénéfiques pour la santé.

L'analyse quantitative de l'extrait a démontré des teneurs significatives en polyphénols totaux et en flavonoïdes, comparables à celles d'autres variétés d'oliviers.

Notamment, l'extrait s'est révélé efficace dans la protection des membranes érythrocytaires contre l'hémolyse, suggérant une action similaire sur d'autres types de membranes biologiques, telles que celles des cellules inflammatoires.

De plus, son activité anti-inflammatoire a été mise en évidence par son potentiel à inhiber la dénaturation thermique des protéines, soulignant ainsi sa capacité à prévenir les processus inflammatoires cellulaires.

Ces résultats ouvrent des perspectives prometteuses pour l'utilisation de cet extrait dans des applications médicales et pharmaceutiques, contribuant ainsi à l'exploitation durable et à la conservation des ressources naturelles.

Pour enrichir cette étude, il serait pertinent d'effectuer une caractérisation approfondie des composés actifs présents dans l'extrait, en utilisant des techniques chromatographiques avancées ce qui permettra de renforcer les résultats obtenus par les méthodes spectrophotométriques.

Des études sur culture cellulaire pourraient également être réalisées afin d'approfondir la compréhension des mécanismes d'action de l'extrait, notamment son potentiel anti-inflammatoire, en utilisant des modèles cellulaires pertinents.

Enfin, il serait judicieux d'explorer une approche *in silico* pour simuler les interactions moléculaires de l'extrait avec les cibles cellulaires impliquées dans l'inflammation, afin de fournir des perspectives complémentaires sur ses effets pharmacologiques.

Références bibliographiques

Abdallah, M., Marzocco, S., Adesso, S., Zarrouk, M., & Guerfel, M. (2018). Olive oil polyphenols extracts inhibit inflammatory markers in J774A.1 murine macrophages and scavenge free radicals. *Acta Histochemica*, 120(1), 1-10.

Akinyemi, E. B., Babatunde, S., Feyisayo, A. K., & Michael, O. W. (2021). Membrane Stabilization and Inhibition of Protein Denaturation as Mecha-. 7(4), 269-278.

Al-Bachir, M. (2017). Comparison of fruit characteristics, oil properties and fatty acid composition of local Syrian Kaissy cv olive (*Olea europaea*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1011-1018.

Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Heredia, J. B. (2016). Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1131412.

Artaud, M. (2008). L'olivier ; sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique. Ed. C.O.I., 30 p.

Ayroldi, E., Cannarile, L., Migliorati, G., Nocentini, G., Delfino, D. V., & Riccardi, C. (2012). Mechanisms of the anti-inflammatory effects of glucocorticoids: Genomic and nongenomic interference with MAPK signaling pathways. *The FASEB Journal*, 26(12), 4805-4820.

Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. N. (2016). Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. *Molecules*, 21(10), Article 10.

Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: Molecular mechanisms. *Clinical Science*, 94(6), 557-572.

Barton, G. M. A. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(2), 413-420.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.

Bengana, M. (2017). Influence de la maturité des olives sur les propriétés chimiques et la composition phénolique de l'huile d'olive vierge extra de la variété Chemlal et étude de la qualité de l'huile produite dans les huileries de la Kabylie. [Thèse de doctorat, Ecole nationale supérieure agronomiques el-harrach].

Bensedike, S., & Rami, K. (2021). Analyse quantitative et évaluation de quelques activités antioxydantes d'extrait de tiges de l'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi). *Mémoire de Master de Biochimie de la Nutrition, UMMTO, Algérie*. 60p.

Besnard, G. (2009). Génétique et évolution des plantes en milieux méditerranéen et tropical. *Thèse de doctorat, habilitation à diriger des Recherches, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, France*. 45p.

Besnard, G., & Bervillé, A. (2000). Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. ssp. *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, 323(2), 173-181.

Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage : A current perspective. *Biochemical Pharmacology*, 180, 114147.

Bolmont, R., Buessler, L., & Jaubert, J. (1993). L'Olivier. Dans : BT 1095, 02/1998, 1-4.

Bouarroudj, K., Tamendjari, A., & Lariat, R. (2016). Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*, 83, 484-491.

Bouarroudj, K., Tamendjari, A., & Lariat, R. (2016). Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*, 83, 484-491.

Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(7-8), 497-504.

Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. *Thèse de Doctorat en Sciences, Faculté des*

Sciences exactes des sciences de la nature et de vie, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie. 210p.

Bouchenak, O., Yahiaoui, Karima, Toubal, S., & Narimen, B. (2018). Étude comparative des huiles d'olives de cinq régions d'Algérie (Bouira, Bejaia, Biskra, Dellys et Jijel).

Boucher, Ch., Yves, D., Chaux, D., & Nestlé, S. (2011). *Guide des arbres et arbustes de méditerranée.* Paris, 291p.

Bouchouka, E. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. *Thèse de Doctorat en Science Phytochimie 2016, Université Badji Mokhtar de Annaba (UBMA).* 126p.

Boulfane, S., Maata, N., Anouar, A., & Hilali, S. (2015). Caractérisation physicochimique des huiles d'olive produites dans les huileries traditionnelles de la région de la Chaouia-Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), 8022.

Breton, C. (2006). Reconstruction de l'histoire de l'olivier (*Olea europaea* subsp. *europaea*) et de son processus de domestication en région méditerranéenne, étudiés sur des bases moléculaires. *Thèse Doctorat Biologie des populations et Écologie, Université Paul Cézanne, France.*

Breton, C., & Bervillé, A. (2012). *Histoire de l'olivier. L'arbre des temps.* Quae Editions, Versailles. 223p.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. *Ed Tec et Doc. Lavoisier, Paris*, 278-279.

Carbone, C., Musumeci, T., & Pignatello, R. (2013). Non-steroidal anti-inflammatory drugs. In *Drug–Biomembrane Interaction Studies* (pp. 281-303).

Carip, C. (2010). *Biologie appliquée à la santé* (2ème édition). Lavoisier.

Carrión, 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(7-8), 952-968.

Cathy, S. (2008). *Mes petites soupes magiques. Mincir grâce aux soupes aromatiques : Tous les bienfaits des légumes et des plantes dans un verre.* Leduc.s éditions. ISBN: 9782848992488. 224p.

Caturla, N., Perez-Fons, L., Estepa, A., & Micol, V. (2005). Differential effects of oleuropein, a biophenol from *Olea europaea*, on anionic and zwitterionic phospholipid model membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 137, 2-17.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.

Charles, N. S., Peter, A. W., & Derek, W. G. (2010). *Fundamentals of Inflammation.* Cambridge University Press.

Chattopadhyay, A. (2022). The adverse effects of corticosteroids. 9, 25-32.

Chevalier, A. (1948). L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Revue internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale*, 28(303-304), 1-25.

Chikhi, K., & Djelloul, M. C.-E. B. (2022). The Olive Oil Market in the Mediterranean : What are Marketing Strategies for Algeria? *Contemporary Agriculture*, 71(1-2), 28-37.

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin, article de synthèse. *Phytothérapie*, 6(2), 75–82.

Collin, S., & Crouzet, J. (2011). *Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire.* Agence Universitaire de la Francophonie. Lavoisier TEC & DOC.

Conrad, J., Volger, B., Klaiber, I., & Roos, P. (1998). Deux esters triterpéniques d'écorce de *Terminalia macroptera*. *Phytochemistry*, 48(4), 647-650.

Conseil oléicole international. (2010). *COI*.

Coutinho, A. E., & Chapman, K. E. (2011). The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 335(1), 2–13.

Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York. 1262 p.

Dabbou, S., Selvaggini, R., Urbani, S., Taticchi, A., Servili, M., & Hammami, M. (2011). Comparison of the Chemical Composition and the Organoleptic Profile of Virgin Olive Oil from Two Wild and Two Cultivated Tunisian *Olea europaea*. *Chemistry & Biodiversity*, 8(1), 189-202.

De la Puerta, R., Gutierrez, V. R., & Hout, J. R. S. (1999). Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochemical pharmacology*, 57(4), 445-449.

Dharmadeva, S., Galgamuwa, L., Prasadinie, C., & Kumarasinghe, N. (2018). In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, 39(4), 239.

Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., Freitas, H., Santos, C., & Silva, A. M. S. (2020). The antioxidant system in *Olea europaea* to enhanced UV-B radiation also depends on flavonoids and secoiridoids. *Phytochemistry*, 170, 112199.

Dorward, D. A., Lucas, C. D., Rossi, A. G., Haslett, C., & Dhaliwal, K. (2012). Imaging inflammation: molecular strategies to visualize key components of the inflammatory cascade, from initiation to resolution. *Pharmacology & Therapeutics*, 135, 182–199.

Douaouri, N. E. H. (2018). Contribution à une étude phytothérapeutique, anti-inflammatoire et antioxydante du grenadier (*Punica granatum* L.) – Étude in vivo. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Dvorakova, M., & Landa, P. (2017). Anti-inflammatory activity of natural stilbenoids : A review. *Pharmacological Research*, 124, 126-145.

El Qarnifa, S., El Antari, A., & Hafidi, A. (2019). Effect of maturity and environmental conditions on chemical composition of olive oils of introduced cultivars in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-14.

Elgorashi, E. E., & McGaw, L. J. (2019). African plants with in vitro anti-inflammatory activities: A review. *South African Journal of Botany*, 126, 142-169.

Espínola, F., Vidal, A. M., Espínola, J. M., & Moya, M. (2021). Processing Effect and Characterization of Olive Oils from Spanish Wild Olive Trees (*Olea europaea* var. *Sylvestris*). *Molecules*, 26(5), 1304.

Faure, S. (2009). Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Actualités pharmaceutiques*, 48(489), 53-58.

Ferreira, I. C., Barros, L., Soares, M. E., Bastos, M. L., & Pereira, J. A. (2007). Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry*, 103(1), 188-195.

Fetni, S., & Bertella, N. (2020). In vitro study of anti-inflammatory properties of methanolic extract fruits from *Rosa canina* L. (Rosaceae). *Nutrition & Santé*, 09(02), 117-125.

Firestone, D. (2005). Olive Oil in Bailey's Industrial Oil and Fat Products. *Sixth Edition, Volume 2, Edited by Fereidoon Shahidi*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, 303-331.

Food and Agriculture Organisation. (2013). *FAO*.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., & Oueld-Mokhtar, S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.

Ghedira, K. (2008). L'olivier, article de synthèse, pharmacognosie. *Phytothérapie*, 6(2), 83-89.

Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Marino Gammazza, A., Knap, N., Wozniak, M., & Gorska-Ponikowska, M. (2018). Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), Article 3.

Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université III Paul Sabatier, Toulouse, France.* 94p.

Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(4), 809-812.

Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., & Poutanen, K. (2010). Métabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 1365-1402.

Hannachi, H., Nasri, N., Elfalleh, W., Tlili, N., Ferchichi, A., & Msallem, M. (2013). Fatty acids, sterols, polyphenols, and chlorophylls of olive oils obtained from Tunisian wild olive trees (*Olea europaea* L. Var. *Sylvestris*). *International Journal of Food Properties*, 16(6), 1271-1283.

Hawkey, C. J. (2001). COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 15(5), 801-820.

Henrotin, Y., Deby-Dupont, G., & Reginster, J. Y. (2001). Les médiateurs biochimiques de l'inflammation. *Revue Médicale de Liège*, 56(6), 433-442.

Hoffmann, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). *Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France.* 289p.

Houdjedje, C., & Mehimmedetsi, D. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des extraits d'olives. *Thèse de Master en Sciences de Toxicologie, Université des Frères Mentouri.*

Impellizzeri, D., Esposito, E., Mazzon, E., Paterniti, I., Di Paola, R., Bramanti, P., Cuzzocrea, S. (2011). The effects of oleuropein aglycone, an olive oil compound, in a mouse model of carrageenan-induced pleurisy. *Clinical Nutrition*, 30(4), 533-540.

Iratni Aiche, G., Moualek, I., Mestar Guechaoui, N., Aichour Mezaache, S., Zerroug, M. M., & Houali, K. (2015). In vitro evaluation of biological activities of *Pistacia lentiscus* aqueous extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(11), 133-

Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. *Foods*, 9(8), 1014.

J. Y., Daouphars, M., Benani, A., & Netter, P. (2004). Pharmacologie et classification des inhibiteurs de la cyclooxygénase. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 28(2), 7-17.

Karthik, K., Kandikattu, K., Kumar, P. B. R., Priya, R. V., & Kumar, K. S. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 729-731.

Kholkhal, F. (2014). Étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp. coloratus* et *ssp. euciliatus*. *Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie*. 200p.

Khoumeri, L. (2009). Influence de la photopériode, des milieux de culture et des hormones de croissance sur le développement in-vitro des embryons et des micro-boutures de l'olivier (*Olea europaea* L.) Var. Chemlal. *Thèse. Ing.*, 100p.

Lahcene, S. (2020). Caractérisation biochimique et activités biologiques des extraits de l'olivier de Laperrine *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Batt. et Trab.) Cifferi. *Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie*. 143p.

Lahcene, S., Taibi, F., Mestar, N., Ali Ahmed, S., Boumendjel, M., Ouafi, S., & Houali, K. (2018). Insecticidal effects of the *Olea europaea* subsp. *laperrinei* extract on the flour Pyralid *Ephestia kuehniella*. *Cellular and Molecular Biology*, 64(11), 6-12.

Laincer, F., Laribi, R., Tamendjari, A., Arrar, L., Rovellini, P., & Venturini, S. (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*, 65(1), e001.

Langer, P. (2008). *L'olivier*. 128p.

Lapornik, B., Prošek, M., & Golc Wondra, A. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71(2), 214-222.

Le Tutour, B., & Guedon, D. (1992). Antioxidative activities of *Olea europaea* related phenolic compounds. *Phytochemistry*, 31(4), 1173-1178. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80275-J](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80275-J)

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(23), 6107-6113.

Leonoudakis, D., Rane, A., Angeli, S., Lithgow, G. J., Andersen, J. K., & Chinta, S. J. (2017). Anti-inflammatory and neuroprotective role of natural product securinine in activated glial cells, implications for Parkinson's disease. *Mediators of Inflammation*, 2017, 1-11.

Madi, A. (2018). Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. *Thèse de Doctorat en Science, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie*. 106p.

Mebirouk, R. (2017). Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydroalcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et antiangiogénique. *Thèse de Doctorat, Université des frères Mentouri Constantine, Algérie*. 172p.

Nagendran, B., Kalyana Sundram, S., & Samir, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.

Nunes, C. dos R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Vieira, I. J. C., & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 25(16), Article 16.

Okeke, E. S., Enechi, O. C., & Nkwoemeka, N. E. (2020). Membrane stabilization, albumin denaturation, protease inhibition, and antioxidant activity as possible mechanisms for the anti-inflammatory effects of flavonoid-rich extract of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) K. Heyne (FREPP) stem bark. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 4(10), 812-816.

Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annal Expert Forum ChemToxicol*, 965, 169-196.

Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guérère, M., & Artaud, J. (2004). Analyse de la fraction phénoliques des huiles d'olive vierges. *Annal Expert Forum ChemToxicol*, 965, 169-196.

Patra, A. K., & Saxena, J. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71(11-12), 1198–1222. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.05.009>

Perretti, M., & Ahluwalia, A. (2000). The microcirculation and inflammation: Site of action for glucocorticoids. *Microcirculation*, 7(3), 147-161.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1043.

Pisoschi, A. M., Cheregi, M. C., & Danet, A. F. (2009). Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: Electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.

Qamar, M., Akhtar, S., Ismail, T., Yuan, Y., Ahmad, N., Tawab, A., Ismail, A., Barnard, R. T., Cooper, M. A., Blaskovich, M. A. T., & Ziora, Z. M. (2021). *Syzygium cumini* (L.) Skeels fruit extracts: In vitro and in vivo anti-inflammatory properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113805.

Rankin, J. A. (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care*, 15(1), 3-17.

Ray, S. D., Wong, V., Rinkovsky, A., Bagchi, M., Raje, R. R., & Bagchi, D. (2000). Unique organoprotective properties of a novel IH 636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity in mice. *Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology*, 107(1-2), 105-128.

Rhen, T., & Cidlowski, J. A. (2005). Antiinflammatory action of glucocorticoids – New mechanisms for old drugs. *New England Journal of Medicine*, 353(16), 1711-1723.

Rhizopoulou, S. (2007). *Olea europaea* L. A Botanical Contribution to Culture. *Environmental Science*, 6.

Richard, N., Arnold, S., Hoeller, U., Kilpert, C., Wertz, K., & Schwager, J. (2011). Hydroxytyrosol is the major anti-inflammatory compound in aqueous olive extracts and impairs cytokine and chemokine production in macrophages. *Planta medica*, 77(17), 1890-1897.

Riccardi, C., Zollo, G. N., Bruscoli, S., Bartoli, A., D'Adamio, F., Cannarile, L., Delfino, D., Ayroldi, E., & Migliorati, G. (2000). Glucocorticoid hormones in the regulation of Cell. *Therapie*, 55, 165-169.

Rira, M. (2019). Les tannins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production de méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *Thèse de Doctorat de l'École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé - Agronomique - Environnement, Université Clermont Auvergne, France*. 231p.

Rodrigues, N., Pinho, T., Casal, S., Peres, A. M., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2020). Chemical characterization of oleaster, *Olea europaea* var. *sylvestris* (Mill.) Lehr., oils from different locations of Northeast Portugal. *Applied Sciences*, 10(18), 6414.

Seibert, K., Zhang, Y., Leahy, K., Hauser, S., Masferrer, J., & Isakson, P. (1997). Distribution of COX-1 and COX-2 in normal and inflamed tissues. In *Eicosanoids and Other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Radiation Injury 2* (pp. 167-170).

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Stagos, D., Amoutzias, G. D., Matakos, A., Spyrou, A. A., Tsatsakis, A. M., & Kouretas, D. (2012). Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 2155-2170. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.061>

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268-3295.

Terral, J. F., Alonso, N., Capdevila, R. B., Chatti, N., Fabre, L., Fiorentino, G., Marinval, P., Pérez Jorda, G., Pradat, B., Rovira, N., & Alibert, P. (2004). Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *Journal of Biogeography*, 31, 63–77.

Terral, J.-F., Durand, A., Newton, C., & Ivorra, S. (2009). Archéo-biologie de la domestication de l'olivier en Méditerranée occidentale : de la remise en cause d'une histoire dogmatique à la révélation de son irrigation médiévale. In : Le retour de l'olivier, l'olivier de retour. Numéro hors série de la revue *Études sur l'Hérault* (éditée par le conseil général de l'Hérault, Montpellier), 233, 13-27.

Urquiaga, I., & Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33(2), 1-11.

Vicario, G., Cantini, C., Francini, A., Raffaelli, A., Cifelli, M., Domenici, V., & Sebastiani, L. (2023). Olive fruit ripening degree and water content relationships with phenolic acids and alcohols, secoiridoids, flavonoids and pigments in fruit and oil. *Molecules*, 28(19), 6943.

Visioli, F., & Galli, C. (2002). Biological properties of olive oil phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(3), 209-221.

Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., & Madar, Z. (2013). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Natural Medicine*, 12, 01-477.

Watterson, J. J., & Butler, L. G. (1983). Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 416-445

Weill, B., & Batteux, F. (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur.

Yala, D., Merad, A. S., Mohamed, D., & Ouar-Korich, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, N° 91.

Ydyrys, A., Zhamanbayeva, G., Zhaparkulova, N., Aralbaeva, A., Askerbay, G., Kenzheyeva, Z., Tussupbekova, G., Syraiyl, S., Kaparbay, R., & Murzakhmetova, M.

(2023). The systematic assessment of the membrane-stabilizing and antioxidant activities of several Kazakhstani plants in the Asteraceae family. *Plants*, 13(1), 96.